



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Faculdade de Engenharia Química
Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos



SHISMANY DE FÁTIMA ASSUNÇÃO ARAÚJO

**Fermentação Controlada do café Bourbon vermelho com
Leveduras Comerciais**

Patos de Minas – MG

2022

Shismany de Fátima Assunção Araújo

Fermentação Controlada de Bourbon vermelho com Leveduras Comerciais

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia campus Patos de Minas como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos, área de concentração em Processos Biotecnológicos.

Orientador(a): Prof. Dra. Líbia Diniz Santos

Coorientadora(a): Prof. Dra. Liliane Maciel Oliveira

Patos de Minas - MG

Fermentação Controlada de Bourbon vermelho com Leveduras Comerciais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Patos de Minas

Av. Getúlio Vargas, 230 - Bairro Centro, Patos de Minas-MG, CEP 38700-103
 Telefone: (34) 3823-3714 - www.ppgae.feq.ufu.br - coordppgea@feq.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Engenharia de Alimentos				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico n. 2/2022 - PPGEA				
Data:	Trinta e um de março de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	09:05	Hora de encerramento:	11:38
Matrícula do Discente:	42012EAL017				
Nome do Discente:	Shismany de Fátima Assunção Araujo				
Título do Trabalho:	Fermentação Controlada do Café Bourbon Vermelho com Leveduras Comerciais				
Área de concentração:	Engenharia de Alimentos				
Linha de pesquisa:	Processos Biotecnológicos				

Reúne-se por webconferência (RNP - MConf) a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, assim composta: Líbia Diniz Santos (Presidente - FEQUI/UFU), Carla Zanella Guidini (UFU) e Eliana Setsuko Kamimura (USP).

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa apresentou a Comissão Examinadora e a discente, agradeceu a participação do público, e concedeu à discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da mesma se deu em conformidade às normas do Programa.

A seguir, a senhora presidente concedeu a palavra às examinadoras, que passaram a arguir a discente. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos legais, a Banca Examinadora, em sessão secreta, atribuiu o conceito final, considerando a discente:

Aprovada.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico integra os requisitos à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme será assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Líbia Diniz Santos, Presidente**, em 31/03/2022, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carla Zanella Guidini, Membro de Comissão**, em 31/03/2022, às 11:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eliana Setsuko Kamimura, Usuário Externo**, em 31/03/2022, às 11:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3462775** e o código CRC **521EBFD8**.

Referência: Processo nº 23117.019417/2022-58

SEI nº 3462775

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

A663f Araújo, Shismany de Fátima Assunção, 1982-
2022 Fermentação controlada de bourbon vermelho com leveduras
comerciais [recurso eletrônico] / Shismany de Fátima Assunção Araújo.
- 2022.

Orientadora: Líbia Diniz Santos.
Coorientadora: Liliane Maciel Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.5046>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Tecnologia de alimentos. I. Santos, Líbia Diniz, 1978-, (Orient.).
- II. Oliveira, Liliane Maciel, 1982-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

CDU: 664

Esse trabalho dedico primeiramente a Deus que é meu esteio.
A minha querida Mãe por toda força, que sempre me deu.
Ao meu Grande Pai, *in memoriam*, que sei que olha por mim onde estiver.
Aos meus irmãos pelo apoio de sempre.

Muito Obrigada!

AGRADECIMENTO

Agradeço sempre a Deus por todos as graças alcançadas.

Um obrigado especial a minha grande mestre, mãe, Fátima Araújo, que sempre me apoia em todos os momentos.

Ao meu Pai, Airton Araújo, *in memorian*, por todo ensinamento me passado em vida.

Aos meus irmãos que me apoiam em todos os desafios.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia campus Patos de Minas, agradeço a oportunidade concedida.

Agradeço em especial as professoras Líbia Diniz e Liliane Oliveira por toda confiança, paciência e ensinamentos no decorrer do mestrado.

Agradeço a professora Carla Guidini por toda a contribuição nesses anos de desenvolvimento da pesquisa.

Agradeço a toda equipe DB que abriu as portas para a realização dessa pesquisa.

Agradeço a Ludmilla Ferreira que muitas vezes me ajudou com os experimentos.

Agradeço aos membros da banca por terem aceitado o convite para avaliação dessa dissertação.

Agradecimento ao apoio financeiro do Produtor Rural Décio Bruxel – DB e aos órgãos de fomento CNPq, FAPEMIG, CAPES e FAPESP.

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

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1.História do Café	6
2.1.1.Evolução do café no cerrado mineiro.....	7
2.1.2.Café.....	8
2.2.Qualidade das bebidas dos cafés.....	13
2.3.Fermentação do café.....	18
2.4.Fermentação induzida ou controlada	21
2.5.Considerações finais.....	23
2.6.REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....	24
CAPÍTULO 3. Avaliação da cultivar de café Bourbon Vermelho utilizando fermentação em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) por leveduras comerciais	34
3.1.Introdução.....	34
3.2.Material e métodos.....	36
3.3.Metodologia.....	37
3.3.1.Caracterização dos grãos.....	37
3.3.2.Determinação de umidade	38
3.3.3.Determinação do teor de cinzas	38
3.3.4.Determinação de compostos nitrogenados – Determinação de proteínas	38
3.3.5.Determinação de lipídeos	38
3.3.6.Determinação de acidez titulável total	39
3.3.7.Determinação de sólidos solúveis totais.....	39
3.3.8.Preparo do Inóculo	39
3.3.9.Capacidade Fermentativa	40
3.3.10.Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) da cultivar Bourbon Vermelho em biorreatores no campo.....	40
3.3.11.Determinação de ácidos orgânicos, álcoois e açúcares	42

3.3.12.Determinação da porcentagem dos grãos verdes	43
3.3.13.Análise estatística.....	43
3.4.Resultados e Discussão	43
3.4.1.Caracterização dos frutos de café <i>in natura</i>	43
3.4.2.Capacidade Fermentativa	47
3.5.Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida – SIAF, cultivar Bourbon Vermelho em biorreatores no campo.	51
3.6.Análise sensorial	54
3.7.Conclusão.....	57
3.8.REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....	59
CAPÍTULO 4. Influência do tempo e temperatura na fermentação em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) da cultivar Bourbon vermelho.....	65
4.1.Introdução.....	65
4.2.Materiais e Métodos	67
4.2.1.Material.....	68
4.2.2.Cultivar do café	68
4.2.3.Coleta e o preparo das amostras.....	68
4.2.4.Preparo do Inóculo	68
4.2.5.Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF), cultivar Bourbon vermelho, realizadas no laboratório.	69
4.3.Secagem.....	71
4.3.1.Determinação de ácidos orgânicos, álcoois e açúcares	72
4.3.2.Análise sensorial	73
4.4.Resultados e discussão.....	73
4.5.Influência do tempo e temperatura no consumo de açúcares ($p \leq 0,10$).....	73
4.6.Influência do tempo e temperatura na produção de álcoois ($p \leq 0,10$).	78
4.7.Influência do tempo e da temperatura na produção de ácidos orgânicos ($p \leq 0,10$).....	83
4.7.1.Ácido Cítrico.....	83

4.7.2.Ácido Málico..	85
4.7.3.Ácido Succínico	86
4.7.4.Ácido Acético.	88
4.8.Análise sensorial	93
4.9.Conclusão	98
5.REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA	100
CAPÍTULO 5. Propostas para trabalhos futuros.	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Morfologia do fruto de café.....	10
Figura 2. Fluxograma do processamento pós-colheita do café.....	11
Figura 3.Roda do sabor e aroma.....	17
Figura 4.Defeitos e alterações de aroma e sabor.	17
Figura 5.Fluxograma com as etapas do projeto.....	36
Figura 6. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida - SIAF safra 2019/2020, cultivar Bourbon Vermelho, realizadas na fazenda Chuá – Patos de Minas	41
Figura 7. Perfil do pH e das concentrações de Açúcares redutores, etanol, glicerol e ácidos orgânicos nas fermentações em meio a base de café utilizando as leveduras FX10 (A e C) e RX60 (B e D)	48
Figura 8.Processamento de imagem para a quantificação dos grãos verdes logo após a colheita do café.	51
Figura 9. Variações da temperatura (A e C) e do pH (B e D) da massa de café nas fermentações com as leveduras FX10 e RX60 com os frutos cereja maduro (CM) e cereja descascado (CD) e sem inóculo (controle).....	52
Figura 10.Fluxograma do projeto.	68
Figura 11.Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) utilizando frutos cereja descascados (CD) da cultivar Bourbon Vermelho realizadas no laboratório de Processos Fermentativos e Enzimáticos (LAPFE)- UFU- Patos de Minas.....	71
Figura 12.Secagem dos cafés fermentados em terreiro suspenso e armazenamento em sacos de juta.....	72
Figura 13.Concentração da Sacarose nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).....	75
Figura 14.Concentração da Glicose nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).....	77
Figura 15. Concentração do Glicerol nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).	80
Figura 16.Concentração do Etanol nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).....	82
Figura 17.Concentração do Ácido Cítrico nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).....	84

Figura 18.Concentração do Ácido Málico nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).	86
Figura 19.Concentração do Ácido Succínico nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).	88
Figura 20.Concentração do Ácido Acético nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).	90
Figura 21.Superfície de resposta obtida através da avaliação sensorial ($p \leq 0,10$).....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.Equivalência de defeitos de SCA para grão verde – categoria 1.....	14
Tabela 2.Equivalência de defeitos de SCA para o grão verde – categoria 2.....	14
Tabela 3.Perfis de torra, classificação e caracterização da bebida de café.	15
Tabela 4. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzidas – SIAF dos frutos cereja maduro (CM) ou cereja descascado (CD),cultivar Bourbon Vermelho, utilizando como inóculo as leveduras FX ou RX, ou sem inóculo (controle).	41
Tabela 5. Caracterização do fruto de café, cultivar Bourbon Vermelho, <i>in natura</i> safra 2019/2020.....	44
Tabela 6.Caracterização do fruto de café CD (cereja descascado), cultivar Bourbon Vermelho, <i>in natura</i> , safras 2019/2020 e 2020/2021.....	44
Tabela 7.Resultado da análise sensorial dos cafés fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) realizadas com os cafés cereja maduro (CM) e cereja descascado (CD) da safra 2019/2020.....	55
Tabela 8.Delineamento composto central rotacional (DCCR)	70
Tabela 9. Regiões de menor concentração de sacarose determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	74
Tabela 10. Regiões de menor concentração de glicose determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	76
Tabela 11. Regiões de maior concentração de glicerol determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	80
Tabela 12. Regiões de maior concentração de etanol determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	81
Tabela 13. Regiões de maior concentração de ácido cítrico determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	84
Tabela 14. Regiões de maior concentração de ácido málico determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	85

Tabela 15. Regiões de maior concentração de ácido succínico determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	87
Tabela 16. Regiões de maior concentração de ácido acético determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	89
Tabela 17. Regiões de melhor nota determinada a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo nas análises sensoriais com as fermentações FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.....	93
Tabela 18. Média das notas finais nos tratamentos FX10, RX60 e Controle.....	94
Tabela 19. Análise sensorial realizadas pelos <i>Q-Graders</i>	96
Tabela 20. Efeitos da fermentação em diversas cultivares com inoculação da <i>S. cerevisiae</i> . 97	

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.Classificação da bebida do café pelo método SCA	16
Quadro 2.Atributos sensoriais nas fermentações inoculadas com FX10, RX60 e o controle sem inoculo.....	56

RESUMO

O Brasil é o maior produtor e exportador de café mundial contribuindo favoravelmente para o superavit na balança comercial nacional. Aumentar a qualidade final da bebida resulta em aumento do lucro para os produtores, já que a busca por cafés especiais aumenta a cada dia. O tipo de processamento pós-colheita afeta as características sensoriais da bebida, sobretudo o processo de fermentação impacta diretamente na qualidade da bebida. O objetivo foi avaliar o processo de fermentação do café Bourbon Vermelho por duas leveduras comerciais, *S. cerevisiae* FX10 que ressalta características do terroir do café e RX60 que contribui para formação de compostos aromáticos como os frutados. Nesta dissertação também se estudaram as características físico-químicas da cultivar Bourbon Vermelho produzido na região do Cerrado Mineiro em Patos de Minas-MG nas safras de 2019/2020 e 2020/2021, colhidos mecanicamente, manualmente, utilizados os frutos cereja e frutos cerejas descascados. A caracterização dos frutos nas duas safras detectou diferenças significativas entre os níveis de umidade, cinzas, proteínas, lipídios e acidez total entre as safras e o tipo de processamento do café o que corrobora com a literatura disponível, dado que ela cita que pode haver diferença significativa entre os constituintes do fruto, pois estes são dependentes de fatores ambientais, nutricionais, método de colheita e processamento. Foi realizado a capacidade fermentativa para avaliar o comportamento de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* FX10 e RX60 comerciais no meio de casca e polpa de café conseguindo produzir metabolitos como etanol, glicerol e ácidos orgânicos. Foram realizadas fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) utilizando às duas leveduras FX10 e RX60 nos cafés Bourbon vermelho em condições de processos estabelecidos por um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) avaliando a influência da temperatura e do tempo nas produções de ácidos orgânicos, álcoois e nas características sensoriais da bebida. As análises sensoriais foram realizadas conforme metodologia Specialty Coffee Association — SCA. Na fermentação foram detectados os ácidos cítrico, málico, succínico e acético em todos os experimentos. Na avaliação sensorial todos os cafés inoculados com as leveduras FX10 e RX60 obtiveram pontuações de 82 a 85 pontos, notas obtidas acima das fermentações controle sem o uso de inóculos, as quais obtiveram notas entre 80 a 82 pontos, já os cafés que não passaram pelo processo fermentativo estabelecido, denominado testemunha, obteve 81 pontos no teste de xícara. Os atributos aroma, doçura, uniformidade e xícara limpa obtiveram pontuação máxima caracterizando uma padronização da bebida de café e a ausência de defeitos. Sendo considerado, portanto, as leveduras FX10 e RX60 comerciais promissoras para a obtenção de cafés com qualidade especial.

Palavras-chave: cafés especiais, fermentação de café, *Saccharomyces cerevisiae*, temperatura, cereja descascado.

ABSTRACT

Brazil is the largest producer and exporter of coffee in the world, contributing favorably to the surplus in the national balance of trade. Increasing the final quality of the beverage results in increased profit for producers, as the search for specialty coffees increases every day. The type of post-harvest processing affects the sensory characteristics of the beverage, especially the fermentation process directly impacts the quality of the beverage. The objective was to evaluate the fermentation process of Bourbon Vermelho coffee by two commercial yeasts, *S. cerevisiae* FX10, which highlights the characteristics of the coffee terroir and RX60, which contributes to the formation of aromatic compounds such as fruity ones. This dissertation also studied the physicochemical characteristics of the cultivar Bourbon Vermelho produced in the Cerrado Mineiro region in Patos de Minas-MG in the 2019/2020 and 2020/2021 harvests, harvested mechanically, manually, using cherry fruits and peeled cherry fruits. The characterization of the fruits in the two harvests detected significant differences between the levels of moisture, ashes, proteins, lipids and total acidity between the harvests and the type of coffee processing, which corroborates the available literature, since it mentions that there may be a difference significant among fruit constituents, as these are dependent on environmental and nutritional factors, harvesting and processing method. Fermentation capacity was carried out to evaluate the behavior of two commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains FX10 and RX60 in the coffee husk and pulp medium, producing metabolites such as ethanol, glycerol, and organic acids. Induced anaerobic solid-state fermentations (SIAF) were carried out using the two yeasts FX10 and RX60 in red Bourbon coffees under process conditions established by a Central Composite Rotational Design (DCCR) evaluating the influence of temperature and time on the production of organic acids, alcohols and in the sensorial characteristics of the drink. Sensory analyzes were performed according to the Specialty Coffee Association — SCA methodology. During fermentation, citric, malic, succinic, and acetic acids were detected in all experiments. In the sensory evaluation, all coffees inoculated with FX10 and RX60 yeasts obtained scores from 82 to 85 points, scores obtained above the control fermentations without the use of inoculum, which obtained scores between 80 to 82 points, whereas the coffees that did not undergo the established fermentation process, called control, obtained 81 points in the cup test. The aroma, sweetness, uniformity, and clean cup attributes obtained the maximum score, characterizing a standardization of the coffee beverage and the absence of defects. Therefore, the commercial yeasts FX10 and RX60 are considered promising for obtaining coffees with special quality.

Keywords: specialty coffees, coffee fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, temperature, peeled cherry.

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

O consumo de café teve crescimento expressivo ao longo dos últimos 50 anos, o que levou o café a ser classificado como a segunda *commodity* mundial mais negociada em termos financeiros e essenciais em países tropicais e subtropicais (RAMÍREZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2015; HAMMEED *et al.*, 2018; FAO, 2020).

Dentre as *commodity* agrícolas, o café ocupa o quinto lugar nas exportações do país, logo, a cafeicultura é uma das cadeias mais importantes do agronegócio brasileiro, sendo o país conhecido por ser líder na produção e exportação de café, com uma contribuição de mais de 30 % da produção mundial, logo abastece o mercado mundial que aprecia a bebida. (VOLPI *et al.*, 2019).

O café é uma das bebidas não alcoólicas de maior consumo mundial sendo reconhecida por propriedades estimulantes devido ao elevado teor de cafeína e de outros compostos nutracêuticos importantes, como os ácidos clorogênicos e outros polifenóis com propriedades antioxidantes que podem proteger contra diversas doenças, além de possuir um respaldo farmacológico bem documentado e importante, obtendo uma maior segurança para o seu consumo (LOTFIELD *et al.*, 2018; TVERDAL *et al.*, 2020). Segundo a Organização Internacional do Café, a ingestão mundial da bebida de café atingiu cerca de 10,1 milhões de kg em 2019/2020 (ICO., 2020).

Dentre as variedades de espécies de café, duas são predominantes: *Coffea arabica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta). O café arábica se sobressai por apresentar bebidas mais finas e requintadas, com suavidade, aromas mais ricos com sabores tradicionais, orgânicos e descafeinados (EVANGELISTA *et al.*, 2014a; SEPÚLVEDA *et al.*, 2016; BOSSO *et al.*, 2021). É cultivado em altitudes acima de 800 metros e principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e em parte do Espírito Santo (MAPA., 2022).

Já o *Coffea Canephora* é utilizado em cafés solúveis e em *blends* com o arábica. Apresenta maior amargor, menor acidez e maior teor de cafeína. É predominante nas lavouras dos estados Espírito Santo, Rondônia e em parte da Bahia e de Minas Gerais (MAPA., 2022).

O Brasil é classificado como o quinto maior país em extensão geográfica e o maior em terras cultiváveis com condições climáticas favoráveis à produção agrícola. Dentre os fatores naturais que contribuem para a produção agrícola estão a intensidade de luz solar, a disponibilidade de recursos hídricos, a diversidade de climas, solos e biomas que favorecem a produção de diferentes culturas (DOS SANTOS *et al.*, 2021).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA., 2022) o Brasil possui diferentes condições climáticas que são favoráveis para a produção de café em 15 regiões e isso garante uma variedade de cafés produzidos no país. Em meio a tantos climas, altitudes e tipos de solo, os produtores brasileiros de café têm obtido diversos padrões de qualidade e aromas (MAPA., 2022)

Segundo Koh *et al.*, 2020 o *C. arábica* se desenvolve em temperatura ambiente de 24 a 26°C, contudo, durante o período de floração, tem-se verificado um aumento na temperatura em torno de 1,2°C nos estados produtores de Minas Gerais, Bahia, e São Paulo. Esse estresse térmico tem sido associado à diminuição pluvial uma redução de quase 10%. Portanto, temperaturas altas associadas à falta de chuvas podem inibir tanto a brotação inicial das flores quanto a maturação dos grãos e impactar reduzindo a qualidade dos frutos produzidos.

A produção de café arábica possui uma característica vegetativa de bienalidade que consiste na alternância de um ano com grande florada seguido por outro com florada menos intensa. Essa característica natural permite que a planta se recupere para produzir melhor na safra subsequente. Nos ciclos de bienalidade negativa, os produtores costumam realizar tratos culturais mais intensos nas lavouras, promovendo algum tipo de manejo como poda, esqueletamento ou recepas em áreas que só entrarão em produção nos próximos anos (CONAB, 2021).

De acordo com o relatório de acompanhamento da safra de café (CONAB) divulgado em setembro de 2021, a presença dos efeitos da bienalidade negativa à safra influenciou a produção do café arábica, que no Brasil corresponde por cerca de 81% da área cultivada, estimou-se uma produção de 46.879 mil sacas beneficiadas, representando redução de 25,7% em relação ao volume colhido na safra de 2020. Tal redução é mais significativa na produção do café arábica em virtude da bienalidade negativa. Além disso, as condições climáticas no início do ciclo foram desfavoráveis, principalmente, com relação às chuvas, ficando abaixo do esperado em várias regiões produtoras (CONAB, 2021).

Já a safra de 2022 é marcada pela bienalidade positiva onde apresenta uma estimativa inicial de produtividade média nacional de 30,6 sacs/ha, indicando um aumento em comparação à safra de 2021 de 16,1%. Esse resultado é impulsionado pelo rendimento das lavouras, onde houve um maior acumulado energético das etapas reprodutivas do ciclo fenológico. Porém, as condições climáticas ainda estão oscilantes e não estão sendo favoráveis à cultura em algumas regiões produtoras, no aspecto pluviométrico, registrando períodos de estiagem em fases importantes para o desenvolvimento do fruto, além de incidência de geadas nas fases iniciais do ciclo de maturação (CONAB, 2022).

Enquanto o consumo mundial de café apresenta uma pequena taxa de crescimento anual, a participação no mercado dos cafés especiais cresce em larga escala exportando cerca de 14,9% no primeiro bimestre de 2021, que corresponde a um milhão de sacas de 60Kg (CNC, 2021). Isso é o reflexo do perfil do novo consumidor de café, que reconhece e valoriza a qualidade e demonstram aceitação em pagar por ela, hábito do qual os norte-americanos e os europeus são os principais entusiastas (BSCA,2021; DOMINGHETTI, 2021).

Os cafés especiais, cuja classificação é definida pela Associação de Cafés Especiais (*Specialty Coffee Association – SCA*), são cafés caracterizados por uma alta qualidade sensorial e ausência de defeitos, e por isso alcançam altos valores no mercado internacional. Estima-se que no mercado mundial de café, os cafés especiais representem cerca de 50% do valor total comercializado, embora o volume de produção seja muito menor que a dos cafés *commodity* (RAFAEL, 2020).

Segundo Malta *et al.*, (2021) a qualidade da bebida dos cafés especiais está intrinsecamente relacionada com a qualidade dos grãos, que origina a composição química pela interação genótipo, ambiente e processamento. Neste contexto a cultivar Bourbon Vermelho é reconhecida mundialmente pelo seu alto potencial em produzir cafés especiais, devido ao seu sabor adocicado, lembrando avelãs, aroma característico e intenso, corpo médio, baixa acidez e notas de chocolate.

Importante ressaltar que a boa qualidade das novas cultivares é muitas vezes atribuída, à própria genética da cultivar Bourbon Vermelho, pois ela influenciou direta ou indiretamente na composição genética das novas cultivares como Bourbon Amarelo, Mundo Novo, Caturra, Icatu Vermelho e Amarelo, Catuaí Amarelo e Vermelho, Acaíá e Acaíá Cerrado (MALTA *et al.*, 2014; PIMENTA., 2020).

Portanto, as tecnologias de melhoramento para a bebida de café podem ser implementadas em diferentes etapas da produção, desde o plantio até o armazenamento, e o processo de fermentação é uma das etapas que pode garantir uma melhor qualidade e potencializar as características sensoriais da bebida (EVANGELISTA *et al.*, 2014a; EVANGELISTA *et al.*, 2014b; PEREIRA *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2019; MOTA *et al.*, 2020; BRESSANI *et al.*, 2021a; BRIOSCHI JUNIOR *et al.*, 2021; ELHALIS *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2021).

O fruto de café possui umidade elevada e tem em sua composição química açúcares, ácidos orgânicos, proteínas que proporcionam condições adequadas para o desenvolvimento de microrganismos. Durante o processo de fermentação ocorrem mudanças físico-químicas nos grãos com a degradação dos açúcares, proteínas e outros componentes e a formação de

precursores de aromas e sabores (VAAST *et al.* 2006). Muitas enzimas, ácidos orgânicos, álcoois e outros metabólitos são produzidos e podem interferir no sabor final da bebida (SCHWAN; SILVA; BATISTA, 2012; SILVA, 2014; TAI; HSIEH; SHEU, 2014; BRESSANI *et al.*, 2018).

Sabe-se que o fruto de café apresenta uma microbiota natural ou nativa e associada ao microbioma da fazenda cafeeira pode ocasionar uma fermentação não controlada e espontânea fatores que ocorrem diversas vezes de forma empírica e ainda predominam em muitas fazendas de café, o que pode produzir cafés com qualidade baixa, inconsistente e imprevisível (ELHALIS *et al.*, 2020; PREGOLINI *et al* 2021). A ausência de padronização do processo pode levar a uma fermentação incompleta ou excessiva. No primeiro caso, a mucilagem do grão não é totalmente degradada, o que propicia o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis durante a secagem, como fungos produtores de micotoxinas. E a fermentação excessiva pode resultar em grãos pretos e/ou ardidos, que são considerados um defeito visual, e podem prejudicar a qualidade sensorial do café devido a produção elevada de ácidos acético, butírico e propiônico (LEE *et al.*, 2015; PEREIRA, SOCCOL, SOCCOL, 2016).

Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas nos últimos anos com o objetivo de compreender melhor o processo de fermentação do café e definir condições adequadas para obter os cafés de qualidade, que apresentem diversidade e complexidade sensorial. Nestas pesquisas, mostrou-se como a fermentação controlada pode ser uma ferramenta útil na obtenção de cafés classificados como especiais (SILVA, BATISTA, SCHWAN, 2008; LEE *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2017; CARVALHO NETO *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2020a; WANG *et al.*, 2020b; BRESSANI *et al.*, 2021b; MARTINEZ *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021). E outros estudos utilizam leveduras isoladas de fermentações espontâneas de frutos de café para realizar as fermentações induzidas (EVANGELISTA *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2019). Porém a maioria dos microrganismos que são isolados da fermentação natural do café carecem de mais pesquisas para entender o seu comportamento a fim de melhorar a qualidade sensorial do café (HAILE *et al.*, 2019).

Mesmo com todo desenvolvimento técnico-científico observado nas últimas décadas, vários fatores relacionados à fermentação do café ainda precisam ser melhor estudados e compreendidos. Dentro da literatura consultada há uma falta de estudos detalhados sobre leveduras comerciais para a utilização como culturas iniciadoras potenciais para fermentação do café, uma vez que elas são muito empregadas em queijos, vinhos, cerveja e outros alimentos e pode ser uma estratégia a ser explorada, pois essas culturas iniciadoras tendem a dominar o meio fermentativo, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis que muitas vezes

estão presentes na microbiota natural do café, contribuindo para uma fermentação controlada, previsível, padronizando o processo de fermentação.

Neste contexto, justifica-se o desenvolvimento desta pesquisa, que teve como objetivo avaliar o uso de duas linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* comerciais que ainda não foram estudadas no processo de fermentação e seu efeito fermentativo na cultivar Bourbon Vermelho de forma a estabelecer as melhores condições para obtenção de cafés especiais diferenciados e complexos.

Os objetivos específicos foram:

- Caracterizar o café Bourbon Vermelho na safra de 2019/2020 e 2020/2021.
- Avaliar a capacidade fermentativa de duas linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, comerciais, como culturas iniciadoras da fermentação em meio de café Bourbon Vermelho.
- Avaliar o perfil sensorial de bebidas produzidas a partir dos cafés cereja e cereja descascado fermentados na fazenda produtora.
- Avaliar o efeito do tempo e da temperatura no processo fermentativo com leveduras comerciais em café cereja descascado.
- Avaliar o perfil sensorial de bebidas produzidas a partir dos cafés cereja descascado, fermentados, em diferentes condições de tempo e temperatura.
- Avaliar os ácidos orgânicos, açúcares e álcoois nos cafés cereja descascados fermentados.

CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.História do Café

O fruto do café tem sua origem da família das Rubiaceae, que cresce em regiões tropicais ou subtropicais e está presente na natureza em mais de sessenta espécies. Sendo considerada a primeira referência ao café, a lenda de Kaldi foi descrita no ano de 575 e descreve que Kaldi era um pastor de cabras na Etiópia, onde, certo dia, notou em seu rebanho o efeito excitante das folhas e frutos de determinado arbusto. O pastor, ao provar os frutos, também verificou que estes tinham propriedades estimulantes. Essa propriedade virou notícia, iniciando o consumo, pela região, na sua forma macerada. A partir do consumo do café nessa região, iniciou-se a propagação da planta pelo mundo (VENQUIARUTO, L. D., DALLAGO, 2018).

No século XIV o café foi levado à Europa e ficou conhecido como “vinho da Arábia”. A grande aceitação do novo produto pelos europeus fez com que o plantio de café se expandisse até chegar por todo mundo. Colonizadores levaram o fruto à Cuba, Guianas, Porto Rico, São Domingos e Suriname (BRAGRANÇA, 2021). Pela Guiana Francesa, o café adentrou no Brasil. Em 1727, o sargento-mor Francisco de Mello Palheta foi enviado pelo governo em missão ao país vizinho, especialmente para conseguir mudas do produto, pois a obtenção das sementes era proibida aos portugueses. Ele trouxe consigo, escondido, mudas de café para o estado do Pará. Entretanto o fruto não se adaptou ao clima quente e úmido do referido estado. Então o cultivo se disseminou pelo estado do Maranhão, para terras da Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Minas Gerais (MOREIRA *et al.*, 2007). A produção inicial era, a priori, apenas para atender o mercado doméstico. Contudo, em pouco tempo o café tornou-se a base da economia brasileira e no final do século XVIII, o Brasil começou a exportar sua produção (BRAGANÇA, 2021).

Atualmente o café é uma *commodity* que apresenta importante relevância econômica em vários países subdesenvolvidos (CONAB, 2019). E o Brasil é um grande produtor e exportador global de café, em 2020, o país exportou cerca de 43,9 milhões de sacas de 60 quilos. Já para os oito primeiros meses de 2021, o Brasil já exportou cerca de 28,4 milhões de sacas de 60 quilos de café verde, o que corresponde a um aumento de 8,7% na comparação com o mesmo período de 2020 (CONAB, 2021).

2.1.1. Evolução do café no cerrado mineiro

A introdução do café na região do cerrado mineiro teve início em 1969, após a ocorrência de geadas nas principais regiões produtoras do fruto. E até 1970 o Cerrado era considerado inapropriado para o cultivo, devido à pouca fertilidade natural do solo. Contudo, a partir da premissa de que a correção e recuperação adequada do solo transformaria a região em grande produtora do fruto, a área transformou-se em um local predileto para o crescimento das fronteiras agrícolas nacionais (MIZUMOTO *et al.*, 2009).

No intuito de modernizar a cafeicultura brasileira, eliminar os cafeeiros com baixa produtividade e reorganizar territorialmente a produção, foi implantado o Plano de Renovação e Revigoramento dos Cafezais (PRRC), que promoveu o Cerrado Mineiro como uma das regiões prioritárias para o recebimento dos incentivos e certificações (ORTEGA; JESUS, 2009; ORTEGA; JESUS, 2011b).

Em 2010, a Federação dos Cafeicultores do Cerrado Mineiro estruturou o projeto de gestão da marca da região do Cerrado, criando a expressão “Região do Cerrado Mineiro”, com o objetivo de atestar sua origem. Em 2014, o Cerrado Mineiro foi a primeira região do mundo a emitir um selo de denominação de origem para o café verde (semente) e para torrefação de café (CONAB,2021).

O café gerado na região do Cerrado brasileiro é considerado um dos melhores do mundo tendo em vista suas condições climáticas excepcionalmente favoráveis nesta área geográfica. As estações do ano são bem definidas e propiciam grãos de altíssima qualidade (EVANGELISTA *et al.*, 2002).

No Brasil, a maior produção de café está concentrada no estado de Minas Gerais, o estado é tradicionalmente reconhecido como grande produtor de café. Na última safra de 2020, a cafeicultura mineira registrou um recorde de produção em sua série histórica, alcançando mais de 34,6 milhões de sacas do grão beneficiado, e esse volume de produção representou cerca de 55% da produção total do país (CONAB,2021).

Já para o ciclo de 2021, a perspectiva é de redução na produção, devido aos efeitos fisiológicos da bienalidade negativa, em virtude dos tratos mais intensos realizados nas lavouras, a fim de recuperar o potencial vegetativo das plantas. Além disso, há uma diminuição da área produtiva que pode influenciar diretamente no resultado da colheita com rendimento baixo, devido a condições climáticas adversas (CONAB,2021).

O Cerrado apresenta dois tipos de relevo, um plano e outro suavemente ondulado, com predominância do solo tipo latossolo, que ocupa quase 46% da extensão da área total. Tais solos

são caracteristicamente profundos, bem drenados, sem impedimento à mecanização, porém, com baixa fertilidade natural, mas que podem ser corrigidos pelo processo de calagem (BERNARDI *et al.*, 2003).

A região do Cerrado apresenta altitudes entre 800 e 1300 metros, com precipitação anual entre 600 e 1000 milímetros e temperatura anual média entre 18 e 23°C (BORÉM; FRIEDLANDER, 2009). No período da colheita, a região apresenta um clima seco e baixa pluviosidade, o que favorece para que o café sofra em menor significância com a umidade após colheita. Estas condições também resultam em menor risco de ocorrência de fermentação indesejada causada por fungos no café colhido e espalhado em terreirões.

A temperatura mais amena permite que o processo de maturação do grão seja por um período mais longo e uniforme (EVANGELISTA *et al.*, 2002; BSCA, 2021). Entretanto, por se tratar de uma área mais seca, faz-se necessária a utilização de técnicas avançadas de irrigação o que permite a expansão da área de cultivo e uma maior produção (BORÉM; FRIDLANDER, 2009).

Os cafés produzidos pela região são caracterizados pelo sabor doce com notas de chocolate; aroma intenso, caramelo e nozes; acidez delicada, moderada e cítrica; encorpado e com finalização de longa duração (BORÉM; FRIEDLANDER, 2009; BSCA, 2021).

Vale destacar que a região do Cerrado Mineiro se caracteriza pelo uso expressivo de tecnologia de ponta no plantio, nos tratos culturais e na colheita do café. A colheita é majoritariamente mecanizada, com grande percentual de áreas irrigadas nos municípios que integram a região. De modo geral, estima-se que 20% das lavouras estejam com bom aspecto vegetativo e bem nutritas o que favorece para uma boa produção cafeeira. (BSCA, 2021).

Dentre os municípios que compõem a região do cerrado mineiro, destacam-se as cidades de Patrocínio, Monte Carmelo, Araguari, Patos de Minas, Campos Altos, Unaí, Serra do Salitre, São Gotardo, Araxá e Carmo do Paranaíba como principais produtoras do fruto (UCOFFEE, 2020).

2.1.2. Café

O café é do gênero *Coffea*, que inclui mais de 103 espécies de árvores e arbustos tropicais. O cafeeiro é cultivado comercialmente em toda a região geográfica entre as latitudes 30 ° N e 30 ° S, conhecidas como o "cinturão do café" (PEREIRA *et al.*, 2019). As espécies mais utilizadas são *Coffea arabica* (arábica) e *C. canephora* (robusta) (HAMDOUCHE, *et al.*, 2016). Essas duas espécies possuem maior valor de mercado a nível mundial, sendo que dentre

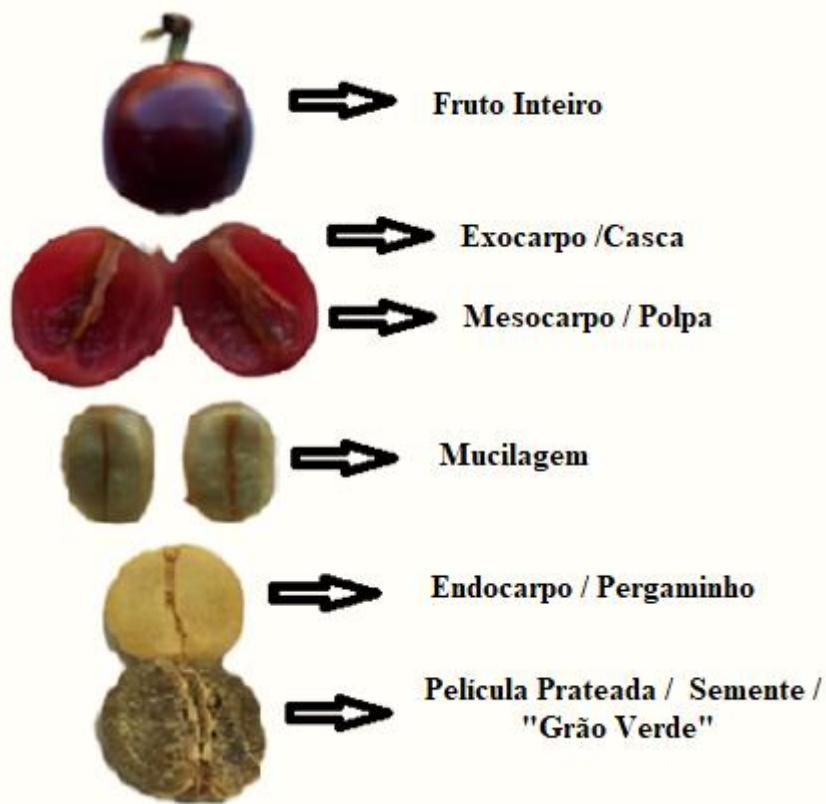
a diversidade das espécies o *Coffea arabica* (arábica) corresponde a 75% da produção mundial e é responsável pela maior parte das bebidas consumidas mundialmente (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; SAKIYAMA; FERRÃO, 2015).

A cultivar Bourbon é considerada nacionalmente como a que possui maior potencial para produção de cafés especiais. Apresenta características sensoriais diferenciadas, como elevada doçura, sabor achocolatado, aroma intenso e agradável. Essas características intrínsecas estão relacionadas ao seu potencial genético para produzir cafés de excelente qualidade (KITBERGER *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2012; FIGUEIREDO *et al.*, 2013; MALTA *et al.*, 2021; OSSANI *et al.*, 2021).

O fruto do café consiste em uma casca externa lisa ou exocarpo que é verde nos estágios iniciais do fruto e, à medida que o fruto amadurece, vai se tornando vermelho-violeta, vermelho profundo (amarelo ou laranja dependendo da variedade específica). Quando maduro o fruto é denominado de cereja. O exocarpo é uma camada monocelular protegida por uma substância cerosa, confere resistência externa e recobre o mesocarpo uma polpa carnuda e fibrosa. Abaixo do mesocarpo encontra-se a mucilagem que é doce translúcida, incolor, fina, viscosa e altamente úmida, rica em carboidratos (glicose, frutose e pectina), proteína, gordura, minerais lipídios e quantidade considerável de taninos, polifenóis (JANISSEN; HUYNH., 2018; MURTHY; NAIDU., 2012).

Sob a mucilagem encontra-se o endocarpo, também chamado de pergaminho, uma camada fina de polissacarídeo, de cor amarelada, quebradiço, parecido com papel, é composto principalmente de alfa-celulose, hemicelulose, lignina e cinzas (ESQUIVEL *et al.*, 2012). O endocarpo recobre a película prateada e o endosperma que é a semente do café. A película prateada ou tegumento cobre cada hemisfério da semente de café e é composta predominantemente por polissacarídeos, celulose, hemicelulose, monossacarídeos, proteínas, polifenóis. (FARAH *et al.*, 2014). A composição química das sementes é extremamente complexa, incluindo mais de mil substâncias com diferentes propriedades químicas, dentre elas estão carboidratos insolúveis (celulose e hemicelulose) cafeína, lipídios, ácidos clorogênicos e compostos nitrogenados (FADAI *et al.*, 2017; POISSON *et al.*, 2017). Na Figura 1 é apresentada a morfologia do fruto de café.

Figura 1.Morfologia do fruto de café.

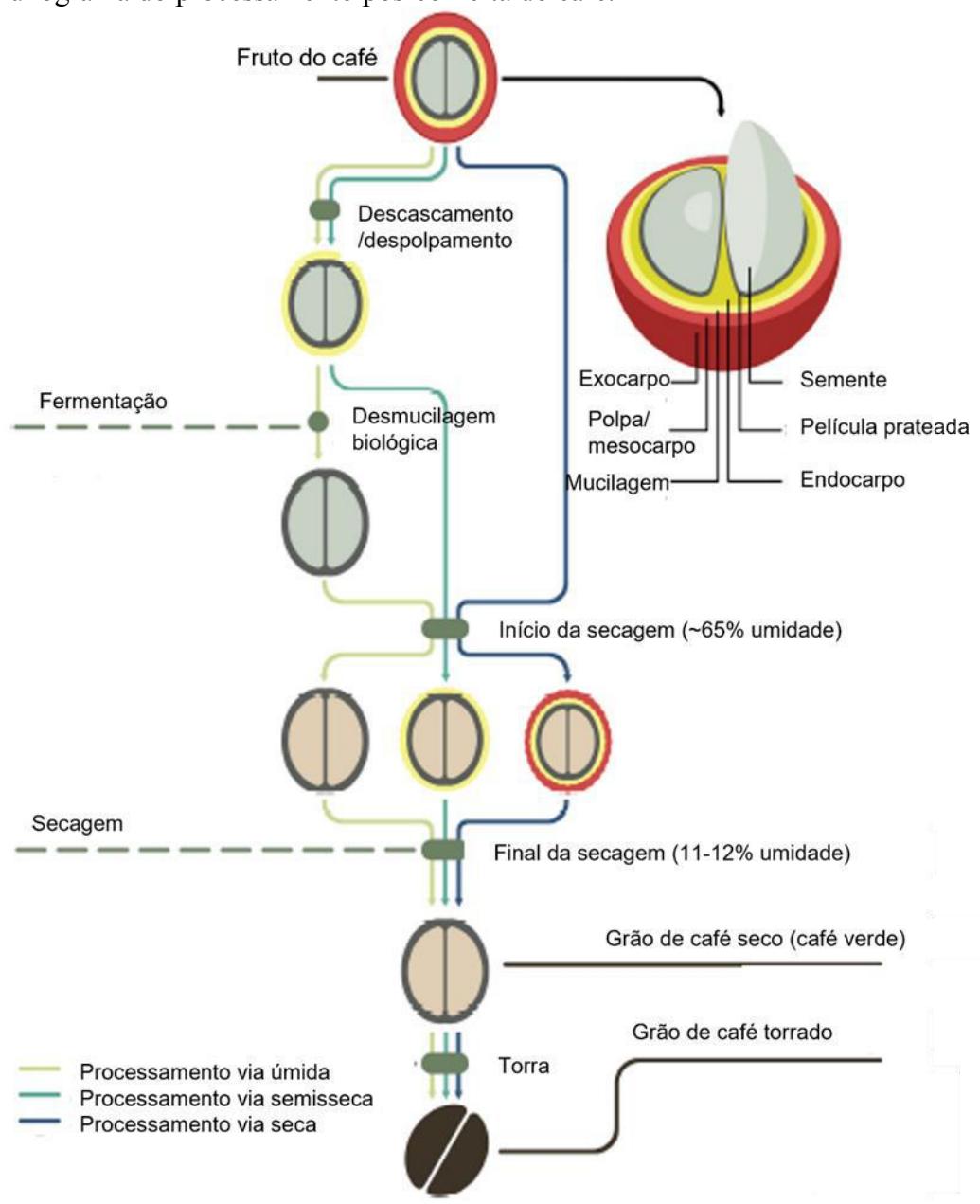


Fonte: Autor, (2021)

2.1.2.1.Processamento do café

O café é comercializado internacionalmente como café verde, coberto ou não com a película prateada. Ele é obtido através do processamento seco, úmido ou semisseco. Embora todos esses métodos visem a remoção da polpa/mucilagem e a diminuição do teor de umidade do fruto cereja do café, eles o fazem de maneiras diferentes (ESQUIVEL *et al.*, 2012). A Figura 2 ilustra as etapas de cada um dos tipos de processamento.

Figura 2. Fluxograma do processamento pós-colheita do café.



Fonte: Adaptado Pereira et al (2019).

As etapas de processamento do café, começam ainda na plantação pois preconiza-se a colheita de frutos maduros.

Após a colheita, os frutos são separados das impurezas (gravetos, caroços e folhas), posteriormente lavados no lavador, onde passam também por uma separação hidráulica. Nesta separação, os frutos verde e cereja, que têm maior densidade, afundam no lavador, e os frutos que já passaram do estágio de maturação, chamados de “bóia”, são menos densos e flutuam na superfície do tanque. Após esta etapa, o café pode ser processado seguindo a via seca, via úmida ou via semisseca, como apresentado na Figura 2.

O processamento seco também chamado de “natural”, é o método mais antigo e simples de processamento do café. O fruto que passou pelo lavador é encaminhado para o terreiro (de terra, suspensos, de concreto ou de asfalto), onde é revolvido diariamente para que seque uniformemente, o processo de fermentação ocorre de maneira simultânea com a secagem, pois a umidade elevada e a composição química do fruto favorecem a uma fermentação microbiana natural, quando enzimas são secretadas pela microbiota do fruto, consumindo a polpa e a mucilagem. Esse processo permanece até o grão atingir de 11-12% de umidade, duração em torno de 20 a 25 dias no terreiro. Os frutos inteiros do café são espalhados em camadas de aproximadamente 3 cm de espessura, e amontoados à noite. (SCHWAN e WHEALS., 2003; SILVA *et al.*, 2008).

No processamento úmido, a casca é removida mecanicamente e os grãos podem ser submetidos a dois processos, fermentação submersa que ocorre em tanques com a presença de água até recobrir os grãos, ou em estado sólido, onde os grãos são submetidos a uma fermentação na ausência ou pouquíssima quantidade de água (TANG *et al.*, 2021). Os grãos são então secos ao sol até atingirem 10-12% de umidade, duração média de 15 a 20 dias. Este processo diminui o tempo e a área necessária para a secagem. No entanto, a necessidade de equipamentos específicos e quantidades substanciais de água acarreta custos adicionais para o processo (BARTHOLO, GUIMARÃES, 1997). Este processo originou-se quando o café arábica passou a ser cultivado em regiões tropicais, como Colômbia, América Central e Havaí. Nestes países, as chuvas abundantes e as temperaturas amenas causavam uma fermentação indesejável. A maneira mais prática de evitar essa fermentação prejudicial era remover o tecido mesocarpo (rico em açúcares e umidade) e submeter os frutos despolpados a um processo em tanque submerso para atingir a fermentação desejável (BRANDO, 1999).

O processamento semisseco, também denominado método cereja descascado, apresenta etapas tanto do método via seca quanto via úmida. Esse processo começou a ser usado no Brasil no início dos anos 90 (DUARTE *et al.*, 2010; VILELA *et al.*, 2010). Os frutos do café são descascados e a mucilagem remanescente que ainda permanece aderida ao pergaminho são transferidos para o terreiro onde a secagem ocorre simultaneamente com a fermentação natural. O objetivo do processo semisseco é ir um passo além do processo de secagem e separar mecanicamente as cerejas verdes das maduras para tratá-las separadamente e melhorar a qualidade do café (BRANDO, 2010). Após a secagem, os grãos são armazenados em sacos de juta, onde aguardam de 20 a 30 dias para serem descascados, remoção do pergaminho. Esta etapa transforma o cereja descascado em café verde / café verde cru (HAILE, KANG., 2019b; PEREIRA *et al.*, 2019).

2.2.Qualidade das bebidas dos cafés

A qualidade da bebida do café é bastante complexa e é influenciada por parâmetros físicos, químicos e sensoriais. A ocorrência de uma sucessão complexa de transformações durante o processamento do grão verde, que é quando o grão após a secagem tem o seu pergaminho removido e o café então seguem para o processo de torra que inevitavelmente promove grandes impactos na qualidade da bebida (WATERS *et al* 2015; PIMENTA, 2020).

A construção dos atributos sensoriais da bebida do café é influenciada pela constituição do fruto, o qual está intimamente relacionado por fatores genéticos, ambientais, tratos agrícolas, a variedade, temperatura, fermentação. Esses aspectos físico-químicos irão se unir ao processo de amadurecimento do fruto cereja. Essa estrutura complexa se expande conforme o processamento pós-colheita do fruto, a secagem, o armazenamento e o processo de torra que irá influenciar no tipo de bebida que se quer obter na xícara (SILVA *et al.*, 2005; SUNARHARUM *et al.*, 2014; PIMENTA., 2020).

A Instrução Normativa nº8 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento é que define a Classificação Oficial Brasileira (COB) os parâmetros utilizados para o sistema de classificação oficial se baseiam no formato do grão (moca e chato), tamanho (peneira 16 acima), cor do grão (verde - azulado), número de defeitos, aparência da torra (clara, média e escura) e qualidade na prova de xícara que é a forma de classificar os cafés arábicas em relação ao sabor e aroma de acordo com a qualidade observada na análise sensorial. A classificação divide os cafés em 7 subgrupos: estritamente mole, mole, apenas mole, duro, riado, rio e rio zona (BRASIL, 2003).

Na década de 80 surgiu o termo “café especial” dado pela *Specialty Coffee Association* (SCA) que tem o objetivo comum de discutir questões sobre qualidade e padrões para o comércio de cafés especiais. Atualmente, o SCA tem padrões para água, semente de café, torrefação, preparo do café e a prova de xícara (SCA, 2021).

Segundo a classificação pelo método SCA, para um lote de café ser considerado especial, ele deve atender a três requisitos em três tipos de verificações, sendo duas de natureza física e uma de natureza sensorial. As classificações físicas são feitas na amostra de grão verde (defeitos) e torrado (grãos *Quackers*) (SCA, 2021). Na Tabela 1, estão classificados os defeitos extrínsecos que se referem à presença de objetos fora do padrão no grão verde de café beneficiado e a Tabela 2 estão classificados os defeitos intrínsecos que são os de causa genética, fisiológica, ou decorrente de falhas nos processos agrícolas, tais como: nutrição, pragas, doenças, secas, geadas, colheita e preparo, ou ainda que podem ocorrer após a retirada dos

frutos da lavoura durante o processo de descascamento, secagem, armazenamento e beneficiamento (SCA, 2021).

Tabela 1. Equivalência de defeitos de SCA para grão verde – categoria 1

Tipo de defeito	Equivalência (para 1 defeito)
Preto (totalmente)	1
Ardido (totalmente)	1
Coco (marinheiro)	1
Atacado por fungos	1
Paus, pedras e outras impurezas	1
Grão brocado	5

Fonte: adaptado SCA, 2020.

Tabela 2. Equivalência de defeitos de SCA para o grão verde – categoria 2

Tipo de defeito	Equivalência (para 1 defeito)
Preto (parcialmente)	3
Ardido (parcialmente)	3
Pergaminho	5
Mofado	5
Imaturo	5
Malformado	5
Concha	5
Quebrado, Cortado	5
Casca	5
Grão Brocado	10

Fonte: adaptado SCA, 2020.

A torra é o processo responsável por grande parte dos aromas e sabores percebidos na bebida do café, seu ponto é determinado por meio do sistema Agtron ou por instrumento similar de detecção eletrônica de cores. Uma torra correta é essencial para que o degustador possa identificar o potencial de qualidade de cada café. A torra média é o ponto mais utilizado para avaliação de cafés especiais, pois obtém-se o potencial máximo de doçura e corpo de um café (ABIC, 2021). Na Tabela 3 estão os perfis de torra com a caracterização da bebida.

Tabela 3. Perfis de torra, classificação e caracterização da bebida de café.

Torra	Disco Agtron	Classificação	Caracterização
Não Recomendável	25	Muito escura	Bebida muito escura com acentuado sabor de queimado pela carbonização dos grãos. Perda de corpo e acidez.
	35	Escura	
Escura	45	Moderadamente Escura	Corpo enfatizado e acidez leve e amargor acentuado
	55	Média	
Média	65	Média Clara	Equilíbrio entre corpo e acidez. Aromas acentuados e profundos
	75	Moderadamente Clara	Acidez enfatizada, pouco corpo e suavidade de aromas
Clara Recomendável	85	Clara	Pouca acidez e corpo. Leve gosto de grãos verdes (adstringente)
	95	Muito Clara	

Fonte: adaptado ABIC, 2021.

De acordo com a correlação entre SCA e Classificação Oficial Brasileira (COB), os cafés podem ser classificados como bebidas moles, o que corresponde a bebidas de sabor suave, agradável, adocicadas, sem qualquer adstringência ou aspereza. Já a bebida estritamente mole possui atributos semelhante à bebida mole, porém com todos os atributos de forma mais acentuada sabor suavíssimo e adocicado. As bebidas apenas mole são caracterizadas com leve adstringência ou aspereza no paladar, possuem baixa doçura e suavidade. As bebidas duras

possuem sabor adstringente e gosto áspero. A bebida riada possui leve gosto de iodofórmio ou ácido fênico. A bebida rio apresenta sabor e cheiro forte e desagradável de iodofórmio e pôr fim a bebida rio zona apresenta sabor e odor intolerantes ao paladar e ao olfato (BRASIL, 2003; SCA, 2019; PIMENTA, 2020).

A SCA estabeleceu uma completa e consistente codificação para a definição e avaliação de café, introduzindo a chamada avaliação objetiva, que quantifica a qualidade do café através de uma escala que vai de zero a cem pontos. Essa qualidade codificada em números, caracteriza a bebida em relação a dez atributos, pontuados de 0 a 10: acidez, aroma, sabor, corpo, docura, balanço, uniformidade, finalização, xícara limpa e qualidade geral. A soma das pontuações de cada atributo constitui a nota final do café em avaliação. De acordo com a pontuação final obtida, o café é classificado em especial ou não especial, como no Quadro 1 (CARDOSO *et al.*, 2021; PIMENTA., 2020).

Quadro 1. Classificação da bebida do café pelo método SCA

Pontuação total	Descrição do café	Classificação
90-100	Excepcional	Especial
85-89,99	Excelente	
80-84,99	Muito Bom	
<80	Abaixo da qualidade <i>Specialty</i>	Não especial

Fonte: adaptado de SCA, 2021

De acordo com SCA os grupos de aromas e sabores representados na Figura 3 e 4, são divididos em quatro grupos principais que consideram à sua natureza e velocidade de ataque (volatilidade) (SCA, 2020):

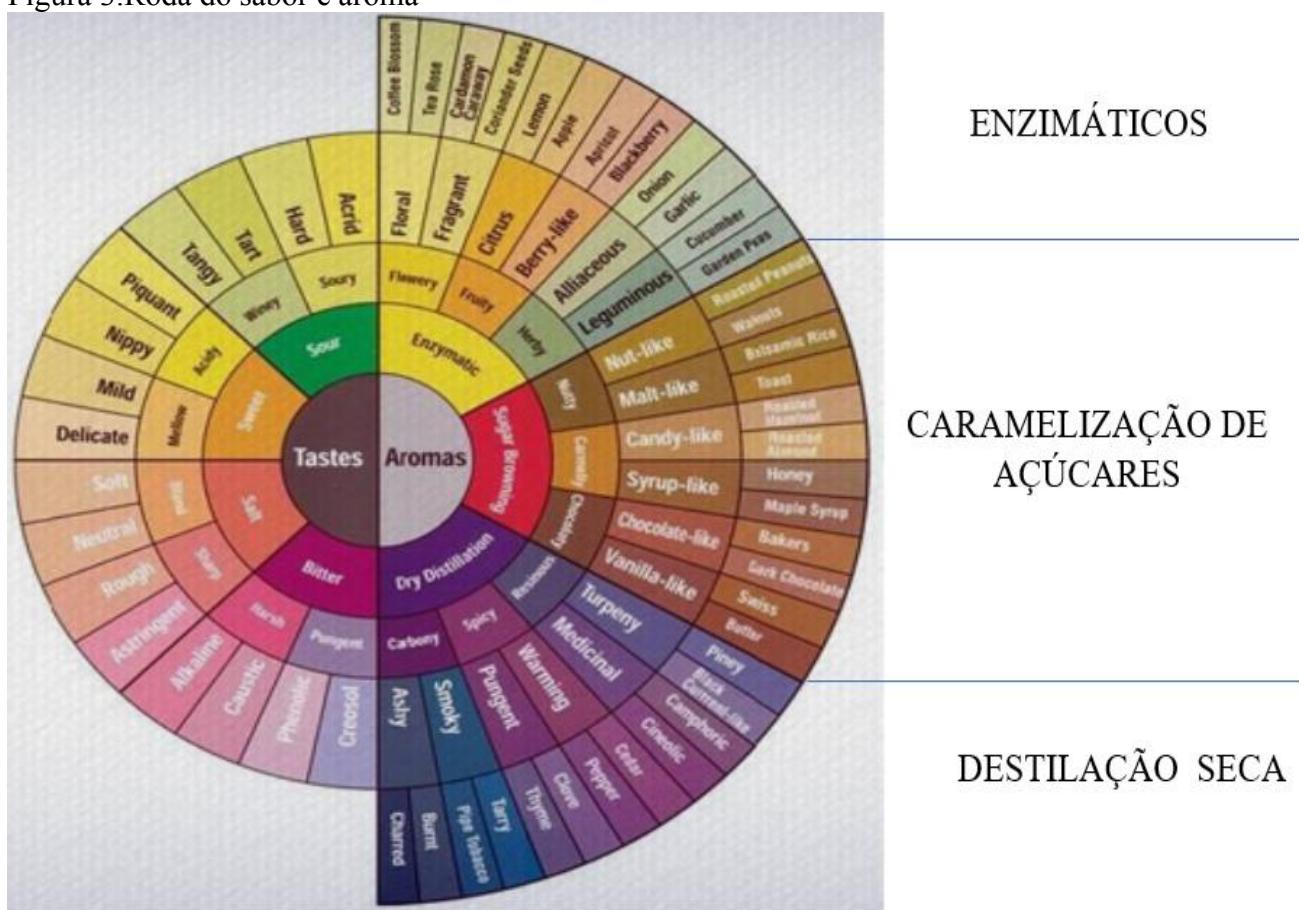
I. ENZIMÁTICOS: aromas com notas mais voláteis, oriundas de processos enzimáticos e fermentativos que podem ocorrer durante o processo de maturação na planta ou imediatamente antes da secagem dos grãos.

II. CARAMELIZAÇÃO DO AÇÚCAR: aromas com notas de volatilidade média, obtidos durante o processo de torra do café.

III. DESTILAÇÃO SECA: aromas com notas de menor volatilidade, decorrentes do processo de torra do café em sua fase de pirólise.

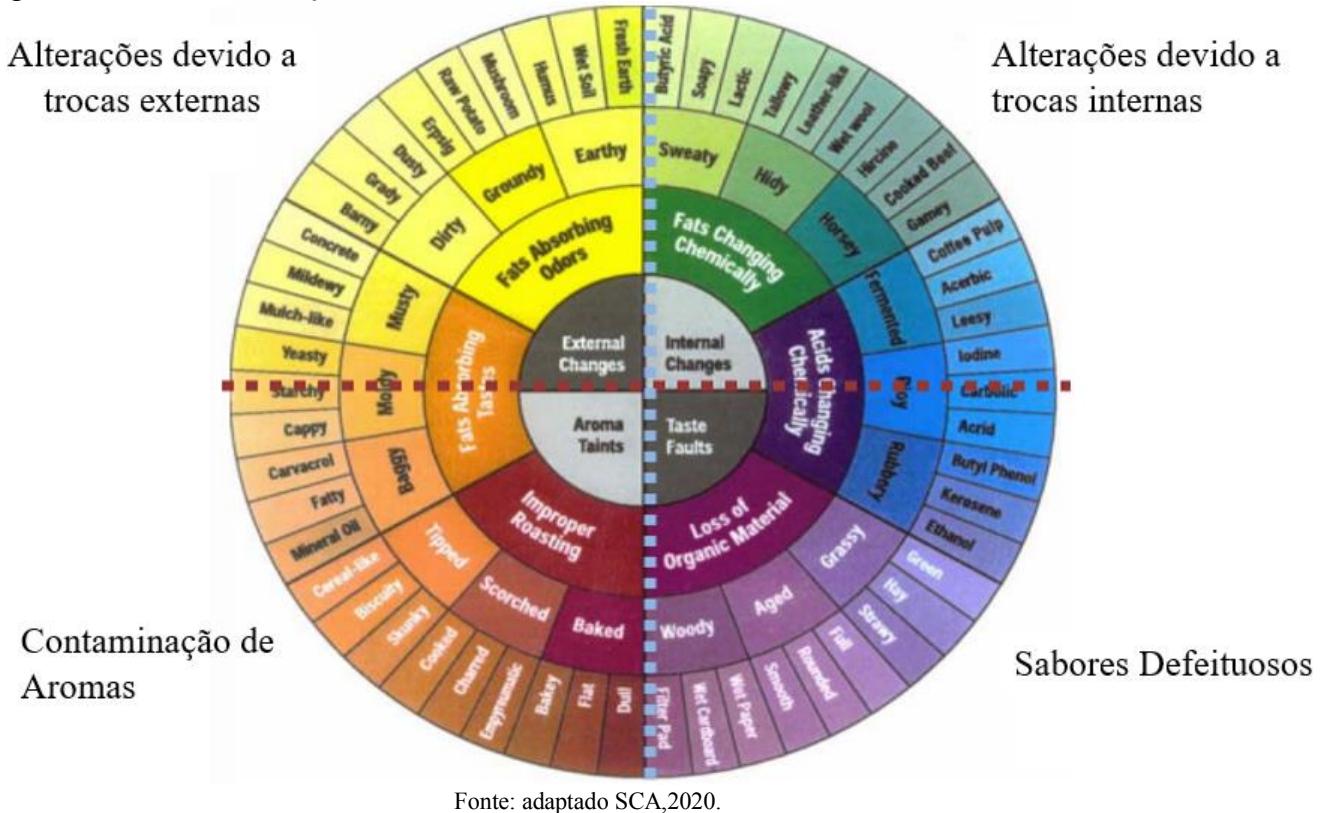
IV. DEFEITOS: aromas com notas de ampla gama de volatilidade que ocorrem por contaminações ou processos fermentativos indesejáveis.

Figura 3.Roda do sabor e aroma



Fonte: adaptado SCA,2020

Figura 4. Defeitos e alterações de aroma e sabor.



2.3.Fermentação do café

A fermentação é um processo natural utilizado pela humanidade há milhares de anos com o propósito fundamental de produzir bebidas alcoólicas e não alcoólicas, e outros alimentos. É a parte da tecnologia de alimento mais antiga, e uma das mais importantes pois desempenha um papel considerável ao melhorar a vida útil e a segurança de vários alimentos. Os processos de fermentação foram realizados espontaneamente antes mesmo de se compreender o processo bioquímico envolvido. Muitos outros produtos industriais importantes são o resultado da fermentação como: vinho, cerveja, queijo, pão, café (MAICAS *et al.*, 2020; RUTA *et al.*, 2021).

Os microrganismos do café estão naturalmente presentes nos grãos utilizam os compostos da mucilagem, que são ricos em açúcares, como nutrientes. Como este processo ocorre com a participação de microrganismos e enzimas, é denominado de fermentação. Por muitos anos, esta etapa microbiológica foi negligenciada, por se acreditar que essa fermentação não era benéfica para a bebida (LOUZADA *et al.*, 2021)

O primeiro estudo foi relatado por Krug em 1940, que observou a incidência dos microrganismos correlacionados com a perda de qualidade do café, onde o autor identificou um micélio de Fusárium nos grãos (KRUG., 1940).

As fermentações já se iniciam no fruto do café desde o seu amadurecimento ainda na planta, até a última etapa do processo de secagem e podem ser favoráveis ou desfavoráveis à qualidade sensorial e da segurança da bebida final (BATISTA *et al.*, 2016).

Neste processo, os microrganismos produzem enzimas como as poligalacturonase e as pectina-liases, necessárias para despolimerizar e hidrolisar a pectina presente na mucilagem ao redor do grão (ÁGATA E BHAT 1966; MASOUD E JESPERSEN 2006).

A remoção da mucilagem pelos microrganismos facilita a secagem do grão e produz metabólitos que se difundem para o interior do grão de café e reagem com substâncias responsáveis pelo sabor da bebida final (SILVA *et al.*, 2013).

Ao longo da fermentação, que a microbiota do café metaboliza os açúcares, proteínas e produzem seus compostos, tais como: álcoois, ésteres, ácidos orgânicos, particularmente o ácido acético, lático, butírico. Estes compostos produzidos durante a etapa de fermentação difundem para o interior do grão e contribuem de forma significativa nas características sensoriais da bebida (SILVA., 2015; PEREIRA *et al.*, 2016).

Os diversos tipos de fermentação ocorrem ininterruptamente, passando de desejáveis a indesejáveis, e são favorecidos por condições de anaerobiose, enquanto houver umidade no

meio. O fruto que foi recém-colhido, associado a elevadas temperaturas, acelera esse processo de fermentação. Logo, a primeira etapa que acontece é o processo de fermentação alcoólica ou lática, benéfica para o grão, podendo ocorrer naturalmente ou induzida. Nesta etapa, desenvolve-se um aroma característico de álcool etílico, conferindo um sabor ácido que é característico do produto final, concedendo atributos de melhor qualidade à bebida (PIMENTA., 2020).

Se a fermentação não é interrompida ou cessada, inicia-se a fermentação acética, na qual são produzidos metabólitos prejudiciais à qualidade sensorial do produto, caracterizado pelo odor de vinagre. Já a fermentação butírica quase sempre está associada ao manejo inadequado dos frutos pós-colheita, como amontoamento dos frutos, armazenados durante muito tempo nos sacos depois de colhidos na lavoura, condições climáticas período muito quente e úmido durante a colheita, falta de condições higiênico-sanitárias dos equipamentos, tempo de espera longo para o beneficiamento. É caracterizada pelo odor desagradável de ranço e é um dos principais fatores de deterioração do café e, portanto, oferece uma pior qualidade da bebida (CORTEZ, 1993).

A fermentação que origina o ácido propiônico ocorre quando com o fruto passa, nos locais de clima quente e úmido no período de maturação e colheita, ainda possuem umidade suficiente para prosseguir sua atividade fermentativa, obtendo um gosto de cebola em função do ácido propiônico desenvolvido (AMORIN, AMORIN, 1977).

O processo de fermentação pode ser obtido de duas maneiras: a fermentação submersa e a fermentação seca. A fermentação submersa ocorre com adição de água em tanques de fermentação e a fermentação seca ocorre na ausência ou quase ausência de água, onde o crescimento microbiano e a formação de produtos ocorrem na superfície de substratos sólidos (BRANDO, BRANDO, 2015).

Em cada tipo de processamento do café existe uma correlação entre fermentação, microrganismos inoculados e a variedade do cultivar do café (SILVA *et al.*, 2013). A junção desses fatores resulta em uma qualidade de café distinta, com característica sensorial única. Portanto, o processo de fermentação é realizado com o intuito de ter um aumento na qualidade sensorial da bebida, principalmente quando se utiliza as culturas iniciadoras (EVANGELISTA *et al* 2014).

A microbiota do café é complexa e diversificada, por isso, encontra-se muitas espécies diferentes nas diferentes partes do fruto. É o que acontece na casca, na polpa e na semente. Dentre as pesquisas realizadas nos últimos anos sobre a microbiota do café, poucas correlacionam o efeito desses microrganismos à qualidade da bebida (CARDOSO *et al.*, 2020).

Geralmente, nas etapas iniciais do processo fermentativo, a população de bactérias se encontra em número mais elevado do que as leveduras, independentemente se a via é úmida ou seca. Os gêneros bacterianos frequentemente encontrado são: *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Weissella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Microbacterium*, e *Leuconostoc* (SILVA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2008; VELMOUROUGANE *et al.*, 2008; VILELA *et al.*, 2010; EVANGELISTA *et al.*, 2014a). Muitas dessas espécies bacterianas são reconhecidas como microrganismos pectinolíticos (SILVA *et al.* 2008).

As leveduras são o segundo grupo mais encontrado e tendem a se elevar no decorrer do processo chegando a alcançar concentrações maiores do que a população bacteriana no final do processo. Os gêneros de leveduras frequentemente encontrados são *Saccharomyces*, *Torulospora*, *Pichia*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Hanseniaspora* e *Kluyveromyces* (SCHWAN; WHEALS, 2003; SILVA, 2014).

Ribeiro *et al.* (2017) constataram que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0200 (antiga UFLA CA11- isolado da cana-de-açúcar) e *S. cerevisiae* CCMA 0543 (antiga UFLA YCN 727- isolada durante a fermentação semisseca do café) na concentração de 10^5 células/g apresentaram maior persistência ao longo do processo fermentativo e proporcionou uma composição bioquímica favorável no grão de café e na bebida. Sendo assim, a levedura pode ser inoculada no processo de fermentação do café, de forma a acelerar o processo pelo consumo mais rápido da mucilagem, e melhorar a qualidade sensorial da bebida através da metabolização dos compostos gerados pela fermentação.

Os fungos filamentosos, por estarem em pequena quantidade, não participam do processo de fermentação. As espécies de maior ocorrência são *Aspergillus sp*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides* e *P. decumbens*. Algumas espécies estão associadas à boa qualidade do café, como *C. cladosporioides* (VILELA *et al.*, 2010), enquanto outras depreciam a qualidade sensorial (*Fusarium* e *Penicillium*) e sanitária (*Aspergillus ochraceus*). Os fungos filamentosos podem aparecer durante a secagem e ainda aumentar durante o armazenamento. Atrasos no processo de secagem e na fermentação podem permitir o crescimento de *A. ochraceus* e a produção de ocratoxina em níveis acima de 2 ppb, o que seria prejudicial à qualidade da bebida, tendo comprometimento sanitário da mesma (VELMOUROUGANE., *et al* 2011; CARDOSO *et al*, 2020).

2.4.Fermentação induzida ou controlada

Sabe-se que existe uma fermentação natural no grão pelos seus próprios microrganismos endógenos e que esta ocorre de forma descontrolada e empírica, sem identificação dos microrganismos presentes e sem conhecimento dos produtos finais gerados. Por esses motivos é que foi desenvolvido através da aplicação de técnicas biotecnológicas a fermentação induzida ou controlada. Nesta forma de fermentação, ocorre a adição de uma cultura iniciadora, que são selecionadas em grande concentração celular, preferencialmente acima de 10^6 , no pós-colheita para sobressair aos microrganismos naturalmente presentes no meio de café suprimindo o crescimento de microrganismos deteriorantes, com a finalidade de produzir cafés sensorialmente diferenciados, controlando os parâmetros temperatura, pH e meio, proporcionando assim uma melhor garantia e qualidade do processo de padronização da bebida de café (CARDOSO *et al.*, 2020; PREGOLINI *et al.*, 2021).

O uso de culturas iniciadoras é uma prática cada vez mais comum e tem mostrado resultados positivos para vários tipos de alimentos fermentados como - vinho (SUN *et al.*, 2014); queijo (GALLI *et al.*, 2016); cacau (VISINTIN *et al.*, 2017).

O uso de leveduras na fermentação do café tem sido amplamente estudado (EVANGELISTA *et al.*, 2014a, 2014b). As leveduras no processo de fermentação atuam de acordo com o que está disponível no fruto, portanto só podem revelar ou aprimorar certos componentes aromáticos devido aos seus diferentes processos metabólicos, obtendo como resultado cafés especiais (SILVA *et al.*, 2013).

A *Saccharomyces* sp. têm sido utilizadas devido à sua capacidade de produzir compostos aromáticos durante o processo de fermentação (OLANIRAN *et al.*, 2017; CANONICO *et al.*, 2020).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é bastante conhecida por possuir alto poder fermentativo e características tecnológicas que permitem a obtenção de produtos de qualidade uniforme, padronização e suportam condições adversas estabelecidas pelo meio. Tais condições abrangem altos níveis de etanol e ácidos orgânicos, baixos valores de pH, escassez de oxigênio, alta temperatura e esgotamento de certos nutrientes e também por melhorar a qualidade sensorial do café, contribuindo para o aroma frutado do café após a torra (GODDARD, 2008; SILVA *et al.*, 2013; EVANGELISTA *et al.*, 2014a, 2014b; RIBEIRO *et al.*, 2017a; MARTINEZ *et al.*, 2017; BRESSANI *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2020; FILETE *et al.*, 2020., CARDOSO *et al.*, 2020, WANG *et al.*, 2020).

Além disso, *S. cerevisiae* foi relatada como levedura produtoras de toxinas “assassinas”, ou seja, ela destrói leveduras que competem com ela no mesmo meio, porém não prejudica o indivíduo (BRANCO *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2000). Ademais, previne o crescimento de microrganismos indesejáveis, por exemplo, o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes que produzem ocratoxina (MASSAWE; LIFA, 2010).

Para que a fermentação controlada ou induzida seja bem-sucedida, além da escolha do inóculo, alguns outros parâmetros devem ser monitorados como: o pH e a temperatura (SILVA *et al.*, 2013; MARTINEZ *et al.*, 2019).

Lee *et al.* (2015) relatam que a medição do pH é um potencial indicador e confiável para avaliar o progresso e o ponto final da fermentação. Os autores relataram que por uma diminuição do pH na massa de fermentação de 5,5 - 4 permaneceu em inúmeras repetições e de tamanhos de lote de seus experimentos. O declínio do pH durante a fermentação do café é atribuído essencialmente à degradação de substâncias orgânicas complexas, no caso da mucilagem, em açúcares mais simples, que, por ação dos microrganismos, produzem compostos ácidos à massa de café em fermentação (VELMOUROUGANE, 2012).

Posteriormente, em um estudo separado, foi avaliado os impactos do ponto final de pH na qualidade do aroma do café, avaliando a interrupção dos lotes de fermentação em diferentes valores de pH de 4,6; 4,3 e 3,9. Com base nos resultados de degustação dos respectivos lotes, concluiu-se que um pH final muito baixo, pH 3,9, corresponde a uma diminuição na qualidade da degustação e isso foi atribuído à fermentação descontrolada (JACKELS *et al.*, 2005).

Um aumento na temperatura da massa no processo de fermentação foi registrado tanto no café arábica (24°C–29°C) quanto no café robusta (25,3°C–25,8°C) (VELMOUROUGANE, 2012). Em geral, as temperaturas de fermentação foram mantidas em 1°C a 4°C de diferença. Variações de temperatura de até 6°C ou mais podem caracterizar um caso de fermentação excessiva ou “descontrolada”. Observações semelhantes sobre o aumento da temperatura durante a fermentação do café foram relatadas anteriormente em que o aumento é atribuído ao processo de degradação e reação exotérmica durante processo de fermentação (WILBAUX, 1963; ROTHFOS, 1985).

Na literatura os primeiros estudos com culturas iniciadoras foram realizados por Agate e Bhat, (1966) onde os autores demonstraram que a inoculação de um mix de três *Saccharomyces* (*S. marxianus*, *S. bayanus*, *S. cerevisiae* var. *elipsoideus*) auxiliou no processo de degradação da mucilagem.

Avallone *et al.* (2002) estudaram os aspectos físico-químicos e microbianos da fermentação inoculada por diferentes cepas de microrganismos pectolíticos isolados de um

processo espontâneo (*Lactobacillus brevis* L166, *Erwinia herbicola* C26, *B. subtilis* C12, *Kluyveromyces fragilis* K211). Os autores também observaram que os microrganismos poderiam limitar o desenvolvimento de sabor estranho e padronizar a qualidade final da bebida do café e sugeriram que ao utilizar bactérias lácticas a fermentação ficaria mais próxima ao natural.

Massawe e Lifa., (2010) utilizaram cepas de levedura de *Pichia anomala* e *P. kluyveri*, bactérias ácido lácticas como *Leuconostoc*, *Weissella sp.*, *Homofermentativo Lactobacillus spp.*, *Heterofermentativo Lactobacillus spp.* e *Enterococcus*. As cepas foram utilizadas como culturas iniciais com a finalidade de inibir a produção de ocratoxina *Aspergillus ochraceus*. O resultado foi que duas espécies de levedura em combinação com cepas selecionadas de bactérias de ácido láctico podem ser usadas como agentes de biocontrole contra *A. ochraceus*.

Mais recentemente, o uso de cepas de *Candida parapsilosis*, *S. cerevisiae* e *P. fermentans* tem sido utilizadas para promover o desenvolvimento de sabor em bebidas de café durante o processamento seco (EVANGELISTA *et al.*, 2014b), semisseco (EVANGELISTA *et al.*, 2014b) e úmido (PEREIRA *et al.*, 2015; SOCCOL *et al.*, 2013) demonstrado que a atividade metabólica de culturas iniciadoras em qualquer método de processamento influencia a fração volátil final de grãos torrados e a qualidade sensorial das bebidas.

Estudo conduzido por Filete *et al.* (2020) evidenciou que a inoculação com a levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) comercial da marca Fleischmann em ambiente anaeróbico e sem adição de água melhorou significativamente a qualidade da bebida obtendo cafés acima de 80 pontos. Bressani *et al.* (2018) evidenciou que o café inoculado com *S. cerevisiae* CCMA 0543 apresentou diferença significativa na análise sensorial, indicando o melhor resultado em grãos de café verde com sabores frutados.

2.5.Considerações finais

Com exigência dos consumidores em obter um café de boa qualidade e a crescente explosão mundial por cafés especiais tem cada vez mais tomado o mercado em detrimento dos cafés regulares. Por esses fatores, é de fundamental importância se conhecer os diferentes processos utilizados e como essas etapas impactam na qualidade da bebida. E um dos fatores de impacto é a fermentação controlada que utiliza leveduras, em especial a *S. cerevisiae*, como uma cultura iniciadora nas fermentações de cafés, devido a sua diversa característica de adaptabilidade ao meio sendo selecionada neste estudo para avaliar seus efeitos frente ao processamento adotado, e sua inoculação inibe a proliferação de microrganismos indesejáveis contribuindo assim para uma melhor qualidade do produto e sua padronização.

2.6.REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

- ABIC-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Recomendações técnicas da torra - 2021 (Acesso Outubro 21 de 2021). Disponível em: <<https://www.abic.com.br/institucional/recomendacoes-tecnicas-da-abic>>
- AGATE, AD, BHAT, JV (1966). Papel das leveduras pectinolíticas na degradação da camada de mucilagem de cerejas de coffeea robusta. **Appl. Environ. Microbiol.**, 14 (2), 256-260.
- AMORIM, H. V., & AMORIM, V. L. (1977). Coffee enzymes and coffee quality. **Enzymes in food and beverage processing**, 27–56. Doi:10.1021/bk-1977-0047.ch003
- AVALLONE, S, BRILLOUET, JM, GUYOT. B, OLGUIN. E, GUIRAUS. JP (2002) Involvement of pectolytic micro-organism in coffee fermentation. **Int j food sci technol** 37:191–198.
- BATISTA, L.R., CHALFOUN, S.M., C.F.S. BATISTA, R.F. SCHWAN. Coffee: types and production b. Caballero, p. Finglas, f. Toldrá (eds.), the encyclopedia of food and health, academic press, **Oxford** (2016), p. 244
- BARTHOLO, G. F. AND GUIMARAES, P. T. G. (1997). Cuidados na colheita e preparo do café. **Informe agropecuário**. 18:5–20
- BERNARDI, A. C. DE C.; ALMEIDA MACHADO, P. L. O.; FREITAS, P. L; COELHO, M. R.; LEANDRO, W. M.; OLIVEIRA JÚNIOR, J. P.; OLIVEIRA, R. P.; SANTOS, H. G.; MADARI, B. E.; CARVALHO, M. C. S. Correção do solo e adubação no sistema de plantio direto no cerrado. Rio de janeiro: **Embrapa**, 2003.
- BSCA - Centro de comercio de café do estado de minas gerais. <<http://cccmg.com.br/bscadivulga-os-vencedores-do-cup-of-excellence-brazil-2017/>> acesso em 21 de janeiro 2021.
- BOREM, F. M.; FRIEDLANDER, D. Navigatin origins. **Roast magazine**, v. 4, p. 94–95, 2009.
- BOSSO, H., ET AL (2021) GREEN COFFEE: Economic Relevance And A Systematic Review Of The Effects On Human Health, **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, Doi: 10.1080/10408398.2021.1948817.
- BRANCO, P., ET AL. (2014). Identification of novel gapdh-derived antimicrobial peptides secreted by *saccharomyces cerevisiae* and involved in wine microbial interactions. **Applied microbiology and biotechnology**, 98, 843e853.
- BRANDO, C. H. (1999). Cereja descascado, desmucilado, fermentado, despolpado ou lavado? In: congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras, pp. 342–346. **Anais, Franca**
- BRANDO, CHJ, BRANDO MF (2015) Métodos de fermentação de café e secagem. Em: schwan rf, fleet gh (eds) cacau e fermentação de café. **Crc taylor & francis, boca raton**, PP 367 – 398.
- BRANDO, C. H. (2010). Alternativas a la cosecha selectiva. **TBWA Nicar**. 6:64–66
- BRAGANÇA, G. G. F (2021). Poder de mercado do café brasileiro nos eua: abordagem via demanda residual. Disponível em:< <http://epge.fgv.br/portal/arquivo/1755.pdf>>. Acesso em 15 de janeiro 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N.8, de 11 de julho de 2003. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para classificação do café beneficiado e de café verde. (Acesso 20 outubro de 2021) Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao/sislegis>

BRESSANI, A. P. P. ET AL. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **Food science and technology**, 92:212-219, 2018.

BRESSANI, A. P. P., MARTINEZ, S. J., SARMENTO, A. B. I., BORÉM, F. M., & SCHWAN, R. F. (2021a). Influence of yeast inoculation on the quality of fermented coffee (*Coffea arabica* var. Mundo Novo) processed by natural and pulped natural processes. **International Journal of Food Microbiology**, 343, 109107. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.10

BRESSANI, A. P. P., MARTINEZ, S. J., BATISTA, N. N., SIMÃO, J. B. P., DIAS, D. R., & SCHWAN, R. F. (2021b). Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee. **Food Chemistry**, 361, 130133. doi:10.1016/j.foodchem.2021.13013

BRIOSCHI JUNIOR, D., CARVALHO GUARÇONI, R., de CÁSSIA SOARES DA SILVA, M., GOMES REIS VELOSO, T., CATARINA MEGUMI KASUYA, M., CATARINA DA SILVA OLIVEIRA, E., PEREIRA, L. L. (2021). Microbial fermentation affects sensorial, chemical, and microbial profile of coffee under carbonic maceration. **Food Chemistry**, 128296. doi:10.1016/j.foodchem.2020.12829.

CANONICO, L. ET AL. Evolution of aromatic profile of *torulaspora delbrueckii* mixed fermentation at microbrewery plant. **Fermentation**, 6(7):1-9, 2020.

CARDOSO, W. S., et al., **Aspectos Bioquímicos de Fermentação do Café**. Livro: Determinantes da Qualidade na Produção de Café, Editora Springer, p. 149-208, 2021.

CARVALHO NETO, D. P., de MELO PEREIRA, G. V., FINCO, A. M. O., LETTI, L. A. J., da SILVA, B. J. G., VANDENBERGHE, L. P. S., & SOCCOL, C. R. (2018). Efficient coffee beans mucilage layer removal using lactic acid fermentation in a stirred-tank bioreactor: Kinetic, metabolic and sensorial studies. **Food Bioscience**. doi:10.1016/j.fbio.2018.10.005

CNC - Conselho nacional do café. Relatório mensal fevereiro 2021 disponível em <<https://cncafe.com.br/exportacoes/>>. Acesso outubro 21, 2021.

CNC - Conselho nacional do café. relatório mensal fevereiro 2022 disponível em <cecafe-fevereiro-2022.pdf (consorciopesquisacafe.com.br)>. Acesso março 18, 2022.

CONAB – Companhia nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: café. Brasília: **Conab**, 2019. 61P

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café, Brasília, DF, v.1 safra 2020/21, n. 1, setembro 2021. Disponível em <www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. ACESSO OUTUBRO 21, 2021. ISSN: 2318-7913.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café, Brasília, DF, v.6 safra 2020/21, n. 4, setembro 2021. Disponível em <www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. ACESSO OUTUBRO 21, 2021. ISSN: 2318-7913.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café, Brasília, DF, v.8 safra 2020/21, n. 3, setembro 2021. Disponível em

<www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. ACESSO OUTUBRO 21, 2021. ISSN: 2318-7913.

CONAB - Companhia nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café, BRASÍLIA, DF, v.9 **Safra** 2022, n. 1, primeiro levantamento janeiro 2022.

CORTEZ, J.G. Controle das fermentações do café e a qualidade da bebida. In: congresso brasileiro de pesquisa cafeeira, 19.,1993. Três pontas. Resumo... Rio de janeiro, 1993. P.86.

DOMINGHETTI, A. F. Caracterização agronômica e sensorial de diferentes genótipos de bourbon visando à produção de cafés especiais / andré dominghetti ferreira, gladyston rodrigues carvalho, denis henrique silva nadaleti. – BRASÍLIA, DF: **Embrapa Café**, 2021. Pdf (40 p.). – (boletim de pesquisa e desenvolvimento / embrapa café, issn 2237-9738; 2)

DOS SANTOS, D.G.; COELHO, C.C.D.S.; FERREIRA, A.B.R.; FREITAS-SILVA, O. Brazilian coffee production and the future microbiome and mycotoxin profile considering the climate change scenario. **Microorganisms** 2021, 9, 858. [Https://doi.org/10.3390/microorganisms9040858](https://doi.org/10.3390/microorganisms9040858).

DUARTE, G.S.; PEREIRA, A.A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food chemistry**, v.118, p.851-855, 2010. Doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.042.

ELHALIS, H., COX, J., & ZHAO, J. (2020A). Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of australian coffee beans. **International journal of food microbiology**, 321, 108544.

ELHALIS, H.; COX, J; FRANK, DAMIAN; ZHAO, J (2020b). The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. **International journal of food microbiology**, [s.l.], v. 333, p. 108796-108796,

ELHALIS, H., COX, J., FRANK, D., & ZHAO, J. (2021). Microbiological and biochemical performances of six yeast species as potential starter cultures for wet fermentation of coffee beans. **LWT**, 110430. doi:10.1016/j.lwt.2020.110430.

EVANGELISTA, ADÃO W. P., CARVALHO, LUIZ G. DE, & SEDIYAMA, GILBERTO C. (2002). Zoneamento climático associado ao potencial produtivo da cultura do café no estado de minas gerais. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, 6(3), 445-452. [Https://doi.org/10.1590/s1415-43662002000300011](https://doi.org/10.1590/s1415-43662002000300011)

EVANGELISTA SR, MIGUEL MGCP, CORDEIRO CS, SILVA CF, PINHEIRO ACM, SCHWAN RF (2014A) Inoculação de culturas iniciais em um café semi-seco (*coffea arabica*) processo de fermentação. **Microbiol alimentar** 44: 87 – 95.

EVANGELISTA, S. R., SILVA, C. F., MIGUEL, M. G. P. C., CORDEIRO, C. S., PINHEIRO, A. C. M., DUARTE, W. F., & SCHWAN, R. F. (2014B). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. **Food research international**, 61, 183–195.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee byproducts. **Food research international**, v. 46, p. 488-496, 2012.

FADAI, N. T., MELROSE. J., C.P. P. A. SCHULMAN, R.A. VAN GORDEN. A heat and mass transfer study of coffee bean roasting international journal of heat and mass transfer, 104 (2017), pp. 787-799.

- FARAH, A., SANTOS T.F. The coffee plant and beans: an introduction v.r. preedy (ed.), coffee in health and disease prevention, **Academic Press** (2014), pp. 73-81
- FERREIRA, A.D, MENDES, A.N.G, CARVALHO, G.R, BOTELHO, C.E, Gonçalves FMA, MALTA, M.R (2012) Análise sensorial de diferentes genótipos de café Bourbon. **Interciênciam** 37(1):390–394.
- FIGUEIREDO, L. P., BORÉM, F. M., CIRILLO, M.A., RIBEIRO, F. C., GIOMO, G. S., & SALVA, T. D. J. G. (2013). The potential for high quality bourbon coffees from different environments. **Journal of agricultural science**, 5(10), 87–98. [Http://dx.doi.org/10.5539/jas.v5n10p87](http://dx.doi.org/10.5539/jas.v5n10p87).
- FIGUEIREDO, L. P. ET AL. The potential for high quality bourbon coffees from different environments. **Journal of agricultural science**, v. 5, n. 10, p. 87-98, 2013.
- FILETE, C. A. et al. Fermentação anaeróbica no café arábica e seu impacto no perfil sensorial. **Revista Eletrônica Sala de Aula em Foco**, v. 6, n. 3, p. 112-123, 2020. <https://doi.org/10.36524/ric.v6i3.859>.
- GALLI, BD, MARTIN, JGP, DA SILVA, PPM, PORTO, E., & SPOTO, MHF (2016). Qualidade sensorial de queijo do tipo camembert: relação entre culturas iniciadoras e moldes de maturação. **International journal of food microbiology**, 234, 71-75. Doi: 10.1016 / j. ijfoodmicro.2016.06.025.
- GODDARD, M. R. (2008). Quantifying the complexities of *saccharomyces cerevisiae*'secosystem engineering via fermentation. **Ecology**, 89, 2077e2082.
- HAILE, M.; KANG, W. H. Isolation, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. **Microorganisms**, 7(10):401, 2019b.
- HAMMEED, A, S.A. HUSSAIN, M.U. IJAZ, S. ULLAH, I. PASHA, H.A.R. SULERIA. Farm to consumer: factors affecting the organoleptic characteristics of coffee. II: postharvest processing factors. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 17 (5) (2016), pp. 1184-1237. Doi: 10.1111/1541-4337.12365
- HAMMEED, A, S.A. HUSSAIN, M.U. IJAZ, S. ULLAH, I. PASHA, H.A.R. SULERIA. Farm to consumer: factors affecting the organoleptic characteristics of coffee. II: postharvest processing factors. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 17 (5) (2018), pp. 1184-1237. Doi: 10.1111/1541-4337.12365.
- International Coffee Organization (**ICO**), 2020. What's new. <http://www.ico.org/>. Accessed on 23 February 2021.
- JACKELS, S.C.; JACKELS, C.F. Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicators: a field study in nicaragua. **Food Chemistry And Toxicology**, Nicaragua, v. 70, n. 5, p. 321-325, 2005.
- JANISSEN, B., & HUYNH, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: a review. **Resources, conservation and recycling**, 128, 110–117.
- LEE, ET AL., (2015) Coffee fermentation and flavor – an intricate and delicate relationship. **food chem** 185: 182-191.

- LEE, L. W., TAY, G. Y., CHEONG, M. W., CURRAN, P., Yu, B., & LIU, S. Q. (2019). Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica* : II. **Roasted coffee**. *LWT*, 80, 32–42. doi:10.1016/j.lwt.2017.01.070
- LIU, Y., YUAN, W., LU, Y., & LIU, S. Q. (2021). Biotransformation of spent coffee grounds by fermentation with monocultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lachancea thermotolerans* aided by yeast extracts. *LWT*, 110751. doi:10.1016/j.lwt.2020.110751.
- LOUZADA, P. L., & RIZZO, M., T. (EDS.). (2021). Quality determinants in coffee production. **Food engineering series**. DOI:10.1007/978-3-030-54437-9
- LOTIFIELD, E., ET AL. Association of coffee drinking with mortality by genetic variation in caffeine metabolism: findings from the uk biobank. *Jama intern med.* 2018 aug 1;178(8):1086-1097. Doi: 10.1001/jamainternmed.2018.2425. Pmid: 29971434; pmcid: pmc6143111.
- KITZBERGER, C.S.G, SCHOLZ, M.B.S, SILVA, G.D, TOLEDO, J.B, BENASSI, M. (2011) Caracterização sensorial de cafés arabica de diferentes cultivares produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas. *Braz J Food Technol* 14:39–48
- KOH, I.; GARRETT, R.; JANETOS, A.; MUELLER, N.D. Climate risks to brazilian coffee production. *environ. Res. Lett.* 2020, 15.
- KRUG III, H. P. Cafés duros III. Relação entre a porcentagem de microrganismos e qualidade do café. *Revista do instituto do café*, v. 27, p. 1827-1831, 1940.
- MAICAS, S. The role of yeasts in fermentation processes. *Microorganisms*. 2020;8(8):1142. Published 2020 jul 28. Doi:10.3390/microorganisms8081142.
- MASSAWE, G.A, & LIFA, S.J (2010). Culturas iniciais de fermentação de café com leveduras e bactérias lácticas. *International journal of postharvest technology and innovation*, 2 (1), 41. DOI: 10.1504 / IJPTI.2010.038187
- MARTINEZ, S. J., BRESSANI, A. P. P., MIGUEL, M. G. D. C. P., DIAS, D. R., & SCHWAN, R. F. (2017). Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. *Food research international*, 102, 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.096>
- MARTINEZ, S.J, BRESSANI, A.P.P, DIAS, D.R, SIMÃO, J.B.P AND SCHWAN, R.F (2019) Effect of bacterial and yeast starters on the formation of volatile and organic acid compounds in coffee beans and selection of flavors markers precursors during wet fermentation. *Front. Microbiol.* 10:1287. Doi: 10.3389/fmicb.2019.01287
- MARTINEZ, S. J., RABELO, M. H. S., BRESSANI, A. P. P., DA MOTA, M. C. B., BORÉM, F. M., & SCHWAN, R. F. (2021). Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. *Food Research International*, 139, 109921. doi:10.1016/j.foodres.2020.109921
- MALTA MR, OLIVEIRA ACB, LISKA GR, CARVALHO GR, PEREIRA AA, SILVA AD, ALVARO LN and MOTA DM (2021) Selection of Elite Genotypes of Coffee arabica L. to Produce Specialty Coffees. *Front. Sustain. Food Syst.* 5:715385. doi: 10.3389/fsufs.2021.715385
- MALTA, M. R. ET AL. Alterações na qualidade do café submetido a diferentes formas de processamento e secagem. *Revista engenharia na agricultura-reveng*, v. 21, n. 5, p. 431-440, 2014.

MALTA M. R ET AL., (2021). Selection of elite genotypes of coffee arabica I. To produce specialty coffees. **Frontiers in sustainable food systems.** V5. <Https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsufs.2021.715385> doi=10.3389/fsufs.2021.715385. ISSN=2571-581x

MALTA, M. R.; THEODORO, V. C. DE A.; CHAGAS, S. J. DE R. Caracterização físico-química e sensorial de café beneficiado conduzido sob o sistema orgânico no município de paraisópolis-mg. In: **simpósio de pesquisa dos cafés do brasil**, 3., 2003, porto seguro. Resumos. Brasília, df: embrapa café, 2003. P. 258.

MAPA. Ministério da Agricultura, P. e A. Cafeno Brasil. Available online: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira> (accessed on 21 fevereiro 2022).

MASOUD, W; JESPERSEN, L. Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of coffeea arabica in east africa. **Int j food microbiol.** 2006 aug 1;110(3):291-6. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.030. Epub 2006 jun 19. Pmid: 16784790.

MIZUMOTO, C. N.; CRUZ, J. C. A. S.; OGURA, Y. IN: SOUZA JÚNIOR, A. S. ET AL. O cerrado e o seu brilho. São paulo: **Caramuru**, 2009. CAP. 2, P. 30-49

MOREIRA, A. V. B, SILVA, D. C. F.; NASCIMENTO, M. A. Verification of the presence of phenolic compounds with antioxidant properties in coffee samples. Nutrire: **rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= j. Brazilian soc. Food nutr.**, são paulo, sp, v. 32, n. 1, p. 41-58, abr. 2007.

Mota, M.C.B., Batista, N.N., Rabelo, M.H.S., Ribeiro, D.E., Borém, F.M., Schwan, R.F., 2020. Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. **Food Res. Int.** 136, 10948.

MURTHY, P.S., NAIDU, M.M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—a review resources, **conservation and recycling**, 66 (2012), pp. 45-58

OLANIRAN, A. O. ET AL. Flavour-active volatile compounds in beer: production, regulation and control. **Journal of institute of brewing**, 123(1):13-23. 2017.

OSSANI, P. C.; ROSSONI, D. F.; CIRILLO, M. Ângelo.; BORÉM, F. M. Classification of specialty coffees using machine learning techniques. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. e13110514732, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i5.14732. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14732>

ORTEGA, A. C.; JESUS, M. C.; MOURO, M DE. C. (2009); Mecanização e emprego na cafeicultura do cerrado mineiro. **Revista Associação Brasileira De Estudos Do Trabalho.** 8(2) 58-82

ORTEGA, A. C.; JESUS, M. C.(2011B); Território café do cerrado: transformações na estrutura produtiva e seus impactos sobre o pessoal ocupado. **Revista de economia e sociologia rural.** 49(3), 771-800.

PEREIRA, G. V. de M., SOCCOL, V. T., & SOCCOL, C. R. (2016). Current state of research on cocoa and coffee fermentations. **Current Opinion in Food Science**, 7, 50–57. doi:10.1016/j.cofs.2015.11.001.

PEREIRA, G. V. M., CARVALHO N., JUNIOR, D. P., VASQUEZA, A. I., MEDEIROS, A. B. P., VANDERBERGUE, L. P. S., ET AL. (2019). Exploring the impacts of postharvest

processing on the aroma formation of coffee beans—a review. **Food chemistry**, 272, 441–452. [Https:// doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.06](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.06).

PEREIRA, G. V. de M., de CARVALHO NETO, D. P., MEDEIROS, A. B. P., SOCCOL, V. T., Neto, E., WOICIECHOWSKI, A. L., & SOCCOL, C. R. (2016). Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. **International Journal of Food Science & Technology**, 51(7), 1689–1695. doi:10.1111/ijfs.13142.

PREGOLINI V.B *et al.* Influence of Environmental Microbiota on the Activity and Metabolism of Starter Cultures Used in Coffee Beans Fermentation. **Fermentation** 2021, 7, 278.

POISSON, L., N. AUZANNEAU, F. MESTDAGH, I. BLANK, T. DAVIDEK. New insight into the role of sucrose in the generation of α -diketones upon coffee roasting. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, 66 (2017), pp. 2422-2431.

PIMENTA, C.J. **Qualidade do café/ Carlos Jose Pimenta.** – 2. ed. – Lavras: Ed. UFLA, 2020. 273p

RAFAEL, E. V. A Business Case to Increase Specialty Coffee Consumption in Producing Countries. **First edition** (2020) 22p. Disponível em: < <https://sca.coffee/sca-news/read/recently-published-a-business-case-to-increase-domestic-consumption-in-producing-countries>>. Acesso novembro 21, 2020.

RAMIREZ-MARTINEZ, A., SALGADO-CERVANTES, M. A., RODRÍGUEZ-JIMENES, G. C., GARCÍA-ALVARADO, M. A., CHERBLANC, F., & BÉNET, J. C. (2013). Water transport in parchment and endosperm of coffee bean. **Journal of food engineering**, 114(3), 375–383. Doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.08.02.

RIBEIRO, L. S. ET AL. (2017A) Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. **Food research international**, 92:26-32, 2017 ^a.

ROTHFOS, N. B. (1985). **Coffee production**. Hamburg: gordian-max-rieck.

RODRIGUES, S. D. et al. Sensory q-grader evaluation of fermented arabica coffees by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and lactic bacteria (*Pediococcus acidilactici*) cultures. **Coffee Science**, v. 15, 2020.

RUTA LL, FARCASANU IC. Coffee and yeasts: from flavor to biotechnology. **Fermentation**. 2021; 7(1):9. [Https://doi.org/10.3390/fermentation7010009](https://doi.org/10.3390/fermentation7010009).

SANTOS, A., MARQUINA, D., LEAL, J. A., & PEINADO, J. M. (2000). B-dglucan as cell wall receptor for pichia membranifaciens killer toxin. **Applied and environmental microbiology**, 66, 1809e1813.

SAKIYAMA, N. S., & FERRÃO, M. A. G. (2015) Botany and production of coffee. in schwan, r.f., & fleet, g. h. (eds.), cocoa and coffee fermentations (pp.341-365). florida: **Crc Press**, taylor & francis group.

SCAA Protocols | Cupping Specialty Coffee: Published by the Specialty Coffee Association of America. **Published by the Specialty Coffee Association of America**. 2015. Disponível em: <<http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>> Acesso em: 10 out. 2021.

SCAA - Specialty Coffee Association of America: Metodologia SCAA de avaliação de cafés especiais guia rápido–GreenCoffee2020. Disponível em: <http://coffeetraveler.net/wp-content/files/903SCAACuppingMethod_RESUMO_3a.pdf>. Acesso em: 11 out. 2021

SCA - SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2020. DISPONÍVEL EM: <HTTP://WWW.SCAA.ORG>. ACESSO: 14.02.2021

SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. Mixed microbial fermentations of chocolate and coffee. Yeasts in food. [s.l.]: Elsevier, 2003. P. 429–449.

SEPÚLVEDA, W. S., CHEKHAM, L., MAZA, M. T., & MANCILLA, N. O. 2016 consumers' preference for the origin and quality attributes associated with production of specialty coffees: results from a cross-cultural study. **Food research international**, v. 89, p. 997–1003.

SILVA,C.F.,SCHWAN,R.F.,DIAS,E.S.,WHEALS,A.E.,2000.microbialdiversityduring aturation and natural processing of coffee cherries of *coffea arabica* in brazil. **Int. J. Food microbiol.**60,251–260.

SILVA, E.A. da; MAZZAFERA, P.; BRUNINI, O.; SAKAI, E.; ARRUDA, F.B.; MATTOSO, L.H.C.; CARVALHO,C.R.L.;PIRES, R.C.M. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, p.229 238, 2005. DOI: 10.1590/S1677 04202005000200006

SILVA, C.F., BATISTA, L.R., ABREU, L.M., DIAS, E.S., SCHWAN, R.F., 2008. Sucession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*coffea arabica*) fermentation. **Food microbiol.** 25, 951e957.

SILVA CF, VILELA DM, CORDEIRO CS, DUARTE WF, DIAS DR AND SCHWAN RF, evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World j microbiol biotechnol** 29:235–247 (2013).

SILVA, C. (2014). Microbial activity during coffee fermentation. In cocoa and coffee fermentations (pp. 368-423). CRC PRESS.

SILVA, C. F. (2015). Microbial activity during coffee fermentation. In: r. F. Schwan, & g. H. Fleet (eds.), cocoa and coffee fermentations (pp. 398423). New york: Crc Press.

SILVA, B. L., PEREIRA, P. V., BERTOLI, L. D., SILVEIRA, D. L., BATISTA, N. N., PINHEIRO, P. F., ... BERNARDES, P. C. (2021). Fermentation of *Coffea canephora* inoculated with yeasts: Microbiological, chemical, and sensory characteristics. **Food Microbiology**, 98, 103786. doi:10.1016/j.fm.2021.103786.

SCHWAN, R. F.; SILVA, C. F.; BATISTA, L. R. Coffee fermentation. In: hui, y. H. (ed), handbook of plant-based fermented food and beverage technology. Boca raton, flórida: Crc Press, p.677-690, 2012.

SOCCOL, C. R., PEREIRA, G. V. M. and SOCCOL, V. T. (2013). Culturas Iniciadoras de Leveduras Para o processamento de Café. Patente (BR1020130295400). **Instituto Nacional de Propriedade Industrial**, São Paulo

SUN, SY, GONG, HS, JIANG, XM, & ZHAO, YP (2014). Leveduras de vinho não *saccharomyces* selecionadas em fermentações multistarter controladas com *saccharomyces cerevisiae* no comportamento da fermentação alcoólica e no aroma do vinho de cereja. **Food Microbiology**, 44, 15-23. doi: 10.1016 / j.fm.2014.05.007

- SUNARHARUM, WB, WILLIAMS, DJ, & SMYTH, HE (2014). Complexidade do sabor do café: uma perspectiva composicional e sensorial. **Food research international**, 62, 315–325. doi: 10.1016 / j. foodres.2014.02.030.
- TAI, E. S.; HSIEH, P. C.; SHEU, S. C. Effect Of Polygalacturonase And Feruloyl Esterase From Aspergillus Tubingensis On Demucilage And Quality Of Coffee Beans. **Process Biochemistry**, 49(8):1274-1280, 2014.
- TANG, V. C. Y *et al.*, (2021). Effect of solid-state fungal fermentation on the non-volatiles content and volatiles composition of Coffea canephora (Robusta) coffee beans. **Food Chemistry**, 337, 128023.
- TVERDAL A, SELMER R, COHEN JM, THELLE DS. Coffee consumption and mortality from cardiovascular diseases and total mortality: does the brewing method matter? **eur j prev cardiol**. 2020 dec;27(18):1986-1993. doi: 10.1177/2047487320914443. epub 2020 apr 22. pmid: 32320635.
- UCOFFEE,2020. Jornada Do Café: vamos conhecer o café do cerrado mineiro? <<https://blog.ucoffee.com.br/cerrado-mineiro/>>. acesso em 21 de janeiro 2021.
- VAAST, P.; BERTRAND, B.; PERRIOT, J.J.; GUYOT, B.; GÉNARD, M. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.86, p.197-204, 2006. DOI: 10.1002/jsfa.2338.
- VILELA, D. M., PEREIRA, G. V. M., SILVA, C. F., BATISTA, L. R., & SCHWAN, R. F. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*coffea arabica* l.). **Food microbiology**, 27(8), 1128–1135.
- VELMOUROUGANE, Kulandaivelu. Impact of Natural Fermentation on Physicochemical, Microbiological and Cup Quality Characteristics of Arabica and Robusta Coffee. Proceedings Of The National Academy Of Sciences, India Section B: **Biological Sciences**, [s.l.], v. 83, n. 2, p.233-239, 5 dez. 2013. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/s40011-012-0130-1>
- VENQUIARUTO, D. R, DALLAGO, M. **Química das bebidas [recurso eletrônico]** – Erechim, RS: EdiFAPES, 2018. 1 recurso online. ISBN 978-85-7892-146-0.
- VISINTIN, S. ET AL. Impact of *saccharomyces cerevisiae* and *torulaspora delbrueckii* starter cultures on cocoa beans fermentation. **International journal of food microbiology**, [s.l.], v. 257, p. 31-40, 2017
- VOLPI, P. S; POSSE, S. C. P.; RODRIGUES, W. N.; COMÉRIO, M; VERDIN FILHO, A. C.; POSSE, R. P.; OLIVEIRA, V. DE S.; ARANTES, S. D. Impact of drying methods over the germinative potential of conilon coffee of late maturation 2019. **Coffee science - ISSN 1984-3909**, v. 14, n. 4, p. 484-492.
- WANG, C., SUN, J., LASSABLIERE, B., YU, B., & LIU, S. Q. (2020a). Coffee flavour modification through controlled fermentations of green coffee beans by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kluyveri*: Part I. Effects from individual yeasts. **Food Research International**, 109588. doi:10.1016/j.foodres.2020.109588
- WANG, C., SUN, J., LASSABLIRe, B., YU, B., & LIU, S. Q. (2020b). Coffee flavour modification through controlled fermentation of green coffee beans by *Saccharomyces*

cerevisiae and Pichia kluyveri: Part II. Mixed cultures with or without lactic acid bacteria. **Food Research International**, 109452. doi:10.1016/j.foodres.2020.109452.

WATERS, D. M., ARENDT, E. K., & MORONI, A. V. (2015). Overview on the mechanisms of coffee germination and fermentation and their significance for coffee and coffee beverage quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 57(2), 259–274. doi:10.1080/10408398.2014.902804.

WILBAUX, R. Agricultural Engineering. ROME: FAO, 1963.

CAPÍTULO 3. Avaliação da cultivar de café Bourbon Vermelho utilizando fermentação em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) por leveduras comerciais.

3.1. Introdução

O café é cultivado em mais de 50 países sendo os maiores produtores o Brasil que é o maior produtor e exportador de café verde em grão, seguido do Vietnã, Colômbia, Indonésia, Etiópia e Honduras (ICO., 2021; MARIYAM *et al.*, 2022).

O café (*Coffea arabica* L.) é um dos produtos agrícolas mais importantes no mercado internacional é a segunda commodities mais comercializada em termos de volume perdendo apenas para o petróleo (DA CRUZ CORREIA *et al.*, 2021).

Segundo dados do Conselho dos Exportadores de Café do Brasil - CECAFE para a safra de 2021 o Brasil exportou 40 milhões de sacas de 60 kg de café verde em grão, commodities, obtendo uma receita US\$ 6,242 bilhões. Em relação aos cafés especiais, que são aqueles que possuem qualidade superior aos commodities, responderam por 19% das exportações em 2021, com o envio de 7,669 milhões de sacas ao exterior, um recuo de 2,7% na comparação com as 7,877 milhões de sacas em 2020. A nível mundial, a produção global para a safra de 2021 aumentou 2%, totalizando uma produção de 172 milhões de sacas (OIC, 2021).

Já para a safra de 2020, o Brasil produziu 63 milhões de sacas, o que corresponde um aumento de 28% em relação à safra de 2019, um recorde, e um aumento da área cultivada de 1,4%, totalizando 2 milhões de hectares (CECAFE., 2020)

O aumento expressivo observado na safra de 2020 foi influenciado pelo efeito positivo da bienalidade, onde consiste na alternância de um ano com maior floração e outro ano seguido de floração menos intensa. E vale ressaltar que os investimentos em tecnologias e condições climáticas favoráveis foram fatores significativamente importantes para explicar esse aumento no desempenho geral da safra de 2020 (Conab, 2020).

O Parque cafeeiro em produção no Brasil concentra-se na região centro-sul do País, sendo a cafeicultura da região do cerrado mineiro reconhecida como uma das mais inovadoras e organizadas, apesar de jovem, com cerca de 50 anos em 2022, conseguiu conquistar um grande destaque no mercado global, enquanto marca e Denominação de Origem (DO), a primeira a ser reconhecida no Brasil (BLYENY, 2004; PINO; VEGRO, 2008; CARVALHO, *et al.*, 2021). Minas Gerais é o estado com maior produção 34,65 milhões de sacas, seguido pelo Espírito Santo com produção de 13,96 milhões de sacas e São Paulo com 6,18 milhões de sacas (Conab, 2020).

O café da região do Cerrado Mineiro é considerado um dos melhores do mundo por apresentar condições climáticas favoráveis com a estações do ano bem definida e com dois tipos de relevo: sendo um plano e outro suavemente ondulado, solos profundos e bem drenados (EVANGELISTA, *et al.* 2002). A região do cerrado apresenta altitude entre 800 e 1300 metros o que favorece a um retardo na maturação dos frutos contribuindo assim para um aumento da acidez e elevação dos carboidratos (BORÉM; FRIEDLANDER, 2009).

Pimenta., (2020) relata que conhecer o local de cultivo, escolher as espécies e cultivares que melhor se adaptam ao local é de suma importância pois garante uma maior uniformidade na maturação e menor incidência de microrganismos indesejáveis, esses fatores fazem parte do começo para se ter uma plantação de sucesso da atividade cafeeira e na obtenção de grãos de qualidade.

Oliveira *et al.*, (2006) relatam que a composição química do grão de café recebe influência da sua genética, do ambiente, do clima, do solo, manejo pré-colheita e pós-colheita, e altitude e essas variações influenciam as inúmeras características e compostos químicos desenvolvidos no grão.

O processo de maturação do fruto de café inicia-se com o aumento da atividade respiratória e síntese de etileno, acompanhado do metabolismo de açúcares e ácidos, degradação da clorofila e a síntese de pigmentos responsáveis pela mudança de coloração da casca que passa de verde para vermelho-cereja ou amarela dependendo da cultivar, além do decréscimo de adstringência e a síntese de compostos voláteis como aldeídos, ésteres, cetonas, e álcoois, que caracterizam o aroma do fruto maduro. Subsequente ao processo de amadurecimento, os grãos se transformam em “passas ou boias” em consequência das oxidações, fermentação natural e secagem do fruto na planta, logo, esses frutos poderão proporcionar um defeito alterando a qualidade da bebida (LEE *et al.*, 2005; CHENG *et al.*, 2018; BASTIAN *et al.*, 2021).

Como visto o processo de fermentação do café ocorre naturalmente com o desenvolvimento do fruto. Logo os microrganismos utilizam os açúcares presentes na mucilagem, produzindo compostos, como álcoois, ésteres, ácidos orgânicos que afetam diretamente as características sensoriais da bebida. Se a remoção dessa mucilagem não for eficiente ela pode prolongar o tempo de secagem do grão e com isso impactar de forma negativa a qualidade da bebida produzindo sabores estranhos como iodofórmio, cebola e vinagre (HAILE *et al.*, 2019; MARTINS *et al.*, 2020).

Por isso um biorreator é o ambiente ideal pois simula as condições necessárias para o desenvolvimento de qualquer sistema biológico alcançando o seu potencial rendimento (WANG & ZHONG, 2007). Dois tipos de fermentação podem ser realizados nos biorreatores:

a fermentação submersa (FSM), que utiliza o meio líquido ou caldos de cultura, e a fermentação em estado sólido (FSS), que utiliza substratos sólidos, como bagaço, farelo, com umidade controlada, sem ou pouca adição de água (PRADO BARRAGÁN, FIGUEROA, RODRÍGUEZ DURÁN, AGUILAR GONZÁLEZ, & HENNIGS, 2016).

A implementação de biorreatores para a fermentação em estado sólido anaeróbia induzida - SIAF proporciona um ambiente favorável ao desenvolvimento dos microrganismos sendo menos suscetível a contaminação e associado com as culturas iniciadoras que já são amplamente conhecidas pela indústria de queijo, iogurte, cerveja, vinho, padronizam o processo de produção, porém sua utilização no café ainda requer mais estudos (SCHWAN *et al.*, 2014; SOCCOL *et al.*, 2017; HAILE *et al.*, 2019; DA MOTA *et al.*, 2020 RUTA., *et al.*, 2021; BRESSANI *et al.*, 2021; MARTINEZ *et al.*, 2021; PEREIRA *et al.*, 2022).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar a composição química do fruto de café da cultivar Bourbon Vermelho, que ainda é pouco estudada, na região do Cerrado Mineiro em duas safras consecutivas 2019/2020 e 2020/2021. Além de estudar a capacidade fermentativa de duas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* comerciais, como culturas iniciadoras, em meio de polpa e casca de café e na fermentação em estado sólido anaeróbia induzida, SIAF, nos frutos de café, sendo analisados pelas características sensoriais.

3.2.Material e métodos

O fluxograma que descreve o estudo é apresentado na Figura 5.

Figura 5. Fluxograma com as etapas do projeto



Fonte: Autor., (2022)

3.2.1. Material

3.2.1.1.Café

Foi utilizou o café da variedade Bourbon vermelho, produzido na Fazenda Chuá, de propriedade do produtor rural Décio Bruxel, e localizada no Município de Patos de Minas com latitude 18° 35' 15, altitude 1050 m e longitude de 46° 25'35, no estado de Minas Gerais, Brasil.

As amostras de café foram colhidas mecanicamente na safra de 2019/2020 e manualmente na safra 2020/2021. Foram utilizados os frutos cerejas e cerejas descascados na safra 2019/2020 e apenas os frutos cerejas descascados na safra 2020/2021.

3.2.1.2.Microrganismos

Os microrganismos comerciais utilizados foram as cepas de *Saccharomyces cerevisiae* Zymaflore FX10 que é específica para expressar as características do terroir e Zymaflore RX60 que possui maior resistência ao álcool, alta redondez, suavidade e ressalta características aromáticas como frutado, sendo ambos liofilizados fornecidos pelo laboratório LAFFORT.

3.2.1.3.Reagentes

Todos os reagentes utilizados nessas pesquisas foram de grau analítico, com exceção do açúcar, o qual foi substituído pelo açúcar cristal comercial.

3.3.Metodologia

3.3.1. Caracterização dos grãos.

As amostras de café *in natura* para as duas safras estudadas, 2019/2020 e 2020/2021, foram caracterizadas em termos de umidade, teor de cinzas, proteína, lipídeos, acidez titulável total e sólidos solúveis, sendo todos determinados de acordo com a metodologia descrita pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

As amostras de 150 g de café cereja e cereja descascado (safra 2019/2020) e cereja descascado (safra 2020/2021) foram congeladas a - 80°C em ultrafreezer, em seguida liofilizadas durante 48h em liofilizador (Liotop, modelo L108) a 214 µHg e temperatura de - 60°C. Após liofilização, as amostras foram moídas em moinho de facas (SO-LAB) em

granulometria fina de 20 mesh, embalados e armazenados em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises (PEREIRA et al, 2018).

Todos os procedimentos analíticos foram realizados nos Laboratórios didáticos de engenharia de alimentos da UFU.

3.3.2. Determinação de umidade

A determinação do teor da umidade do resíduo foi realizada segundo metodologia proposta pela AOAC (1995) que consiste em pesar de 3 a 5 g de amostra em cadinhos, previamente secos e tarados, e submetidos à secagem em estufa a 105°C durante 24 horas ou até massa constante. Após a retirada da estufa os cadinhos foram resfriados a temperatura ambiente em dessecador e pesados em balança analítica. O resultado foi expresso em porcentagem (m/m).

3.3.3. Determinação do teor de cinzas

O método empregado foi o da incineração em mufla, no qual toda a matéria orgânica fora queimada. Para isso, cada amostra proveniente da análise de umidade, que já estava em um cadinho de porcelana, com massa previamente estabelecida, foi inserida e permaneceu na mufla a 550°C, por um período de 6 horas. A diferença entre a massa da amostra final e a massa do cadinho forneceu a massa das cinzas da amostra (AOAC,1995). O resultado foi expresso em porcentagem relacionado a massa seca do café

3.3.4. Determinação de compostos nitrogenados – Determinação de proteínas

O teor de compostos nitrogenados e o teor de proteínas totais foram determinados pelo método adaptado Macro-Kjeldahl, descrito pela AOAC (1995). Aproximadamente 0,1 g de amostra foram submetidas a digestão junto com 2 g de mistura catalítica. Foi utilizado o fator de conversão geral de alimentos (6,25) para conversão de nitrogênio em proteína e os resultados foram expressos em porcentagem em base seca (PEREIRA et al., 2018).

3.3.5. Determinação de lipídeos

O teor de lipídeos foi determinado nas amostras em pó utilizando 180 mL de éter de petróleo e o aparelho de Soxhlet. Em papéis de filtro, foram colocados aproximadamente 2g de

amostra de café. Os cartuchos foram colocados em tubos no aparelho de Soxhlet e submetidos a 6 horas de aquecimento a uma temperatura de 60°C. Após o resfriamento, os balões de fundo redondo foram retirados do aparelho e levados à estufa convectiva, onde permaneceram por 1 hora a 105°C, para a completa evaporação do solvente. Posteriormente, os balões contendo o óleo extraído foram levados para o dessecador, onde permaneceram por aproximadamente 30 minutos, até atingir a temperatura ambiente e em seguida pesados em balança analítica. O resultado foi expresso em % (g de lipídeos/100g de amostra em base seca) (AOAC, 1995).

3.3.6. Determinação de acidez titulável total

A acidez titulável total foi determinada após reidratação das amostras em pó (2 g de amostra em 50 mL de água destilada). As suspensões foram tituladas com solução de NaOH 0,1 N, até atingirem o pH de 8,3 de acordo com método descrito pela AOAC (1995).

3.3.7. Determinação de sólidos solúveis totais

Foi medido o teor de sólidos solúveis dos cafés cereja íntegros, *in natura* no momento da colheita por refratômetro digital (Hanna HI 96801). Esta medida também foi realizada nas amostras liofilizadas e moídas nos cafés cereja descascados (CD), sendo reidratados o pó para aferição dos sólidos solúveis pelo refratômetro. Para reidratação do pó, utilizou-se 2 g de amostra em 50 mL de água destilada, seguindo metodologia descrita na AOAC (1995). Esta suspensão foi inserida no refratômetro digital para determinação do teor de sólidos solúveis.

3.3.8. Preparo do Inóculo

A preparação dos inóculos para utilizar nas fermentações induzidas foi realizada nos Laboratórios Didáticos da Engenharia de Alimentos e no Laboratório de Processos Fermentativos e Enzimáticos (LAPFE), localizados no campus de Patos de Minas da Universidade Federal de Uberlândia. Cada cepa foi reativada em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultivo estéril, onde foram adicionados 30 g de levedura liofilizada. O meio de cultivo teve a seguinte composição: 30 g/hL Superstart, probiótico para as leveduras (LAFFORT), 6g/L de Extrato de levedura, 10g/L sacarose, 45g/L de KH₂PO₄, 1g/L de MgSO₄.7H₂O, 2g/L de (NH₄)₂SO₄ em pH 5,5. Os frascos foram incubados a 30°C e colocados em incubadora rotativa (TE-421 TECNAL) a 100 rpm até atingir a concentração de

10^9 células/mL, verificados pela contagem em câmara de Neubauer. Para produzir o inóculo adicionado às bombonas foi realizado uma diluição de 10 vezes.

3.3.9. Capacidade Fermentativa

O meio utilizado para a análise da capacidade fermentativa das leveduras foi formulado a partir do extrato de café, constituído pela casca e polpa de café fresco, adicionados de alguns açúcares. O extrato foi preparado com 200 g da casca e polpa de café, triturados por 5 minutos em 1 L de água destilada e depois filtrado. O filtrado teve o pH ajustado para 5,5. Em seguida, o meio foi esterilizado à 121°C por 20 minutos. Após a esterilização adicionou-se soluções de frutose e glicose previamente esterilizadas de forma a obter uma concentração final no meio de 15 g/L para cada um dos açúcares, para padronização. Em seguida retirou-se 15 mL de cada meio de inóculo preparado com as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e adicionados separadamente aos frascos de Erlenmeyer contendo 150 mL do meio de extrato de café, e foram mantidos estáticos a 30°C por 72h em incubadora rotativa. Amostras foram retiradas nos tempos de 0h, 24h, 48h e 72h, e logo após a retirada foram determinados os valores de pH e sólidos solúveis. As amostras foram mantidas à -80°C para posterior determinação de ácidos, álcoois e açúcares.

3.3.10. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) da cultivar Bourbon Vermelho em biorreatores no campo.

Cafés da variedade Bourbon vermelho da safra 2019/2020 foram colhidos mecanicamente da Fazenda Chuá, separados por densidade nos lavadores e selecionados manualmente os cafés cerejas, para descarte dos cafés verdes. Os cafés cerejas descascados (CD) e cerejas maduros (CM) foram utilizados nas fermentações em bombonas de 200 L na fazenda Chuá. Foram realizados seis processos fermentativos variando o uso de inóculos (Fermentações induzidas FX10, RX60 e sem inóculo-controle) e a condição do fruto (CD e CM), conforme Tabela 4 e Figura 6.

Tabela 4. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzidas – SIAF dos frutos cereja maduro (CM) ou cereja descascado (CD), cultivar Bourbon Vermelho, utilizando como inóculo as leveduras FX ou RX, ou sem inóculo (controle).

Tratamentos	Inóculo	Café Cereja	Café Cereja
		Maduro (CM)	Descascado (CD)
1 Controle CM	-	X	-
2 Controle CD	-	-	X
3 Induzida FX - CM	FX10	X	-
4 Induzida FX - CD	FX10	-	X
5 Induzida RX – CM	RX60	X	-
6 Induzida FX - CD	RX60	-	X

Figura 6. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida - SIAF safra 2019/2020, cultivar Bourbon Vermelho, realizadas na fazenda Chuá – Patos de Minas



Fonte: Autor, 2020.

As fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) foram realizadas em biorreatores de bombonas de polietileno de 200 L, fechadas hermeticamente e acopladas com um airlock. Em cada bombona, foram adicionados 200 kg de café CM ou CD, e, nas

fermentações induzidas, adicionou-se também 10% (m/v) de inóculo, de forma a obter uma concentração final de 10^8 células/mL de microrganismos em cada bombona. As fermentações tiveram duração de 90 horas e duas vezes ao dia foram aferidas o pH e a temperatura dos cafés para acompanhar os processos fermentativos. Também foram feitas medidas diárias da umidade e temperatura ambiente. Utilizou-se uma bombona para cada tratamento. Ao final do processo fermentativo, o café foi lavado e enviado para o terreiro para a secagem até a obtenção de cafés com 11% de teor de umidade, e após 30 dias, estes foram descascados obtendo o café verde. O café verde foi armazenado ao abrigo da luz e em temperatura ambiente para as análises sensoriais.

3.3.10.1. Análise sensorial dos cafés fermentados da safra 2019/2020

Na safra de 2019/2020 as amostras foram preparadas de acordo com a metodologia da *Specialty Coffee Association* (SCA). Foram torrados, com intensidade de torra média, 150g de café verde descascado em torrador Carmomaq de 4 bocas com duração entre 8 e 12 minutos e então os grãos foram moídos em moedor de café Tramontina em Aço Inox com 60 Níveis de moagem.

Um painel de cinco especialistas em café treinados, com *Q-Grader Coffee Certificate*, avaliaram as amostras. A metodologia aplicada para avaliar o café foi conduzida segundo os padrões SCA, que avaliam dez atributos sensoriais: aroma, doçura, geral, sabor, corpo, uniformidade, balanço, limpeza, acidez, finalização (SCA, 2015). Estas análises foram realizadas por Q-graders de Patos de Minas e região.

3.3.11. Determinação de ácidos orgânicos, álcoois e açúcares

Os ácidos orgânicos (málico, lático, acético, butírico, propiônico, cítrico e succínico), álcoois (glicerol, etanol) e açúcares (sacarose, frutose e glicose) foram analisados utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) do Laboratório didático da Engenharia de Alimentos.

As amostras foram filtradas em filtro de acetato de celulose de 0,22 µm e injetadas no sistema cromatográfico (HPLC) de marca Shimadzu, modelo LC-20A Prominence, coluna SUPELCOGEL C-610H (30 mm × 7,8 mm). A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de ácido fosfórico a 0,1%, vazão do eluente de 0,5 mL/min, temperatura do forno de 32 °C, duração de 35 min e volume de injeção de 20,0 µL. A concentração de açúcares e etanol foram

determinadas por índice de refração e os ácidos foram detectados usando um detector de arranjo de fotodiodos (PDA) a 210 nm (LOPES., 2017). Os resultados foram processados usando o software LC-Solutions a partir de suas respectivas curvas de calibração.

3.3.12. Determinação da porcentagem dos grãos verdes

Para a determinação dos frutos verdes foi realizado um processamento de imagem que permitiu obter a porcentagem de frutos verdes presentes nas amostras, utilizando o software *Scilab*.

3.3.13. Análise estatística

As médias das análises foram submetidas ao teste de normalidade pelo software Past. 4.3, para os resultados que apresentaram distribuição normal, utilizou-se o teste de análise de variância ANOVA e de comparação de médias de Tukey a nível de significância de 5% para identificar os resultados significativos.

3.4.Resultados e Discussão

3.4.1. Caracterização dos frutos de café *in natura*

Os sólidos solúveis totais dos cafés *in natura* encontrados utilizando o refratômetro foram de $14,74\% \pm 4,5$ e $22,2\% \pm 3,63$ para 2019/2020 e 2020/2021, respectivamente, essa diferença deve-se a qualidade dos grãos colhidos manualmente na safra de 2020/2021. Uma maior quantidade de sólidos solúveis totais é desejada para assegurar o corpo da bebida, propiciando a obtenção de bebida de boa qualidade (MENDONÇA *et al.*, 2007).

Os resultados das análises de caracterização dos frutos de café *in natura* Cereja maduro (CM) e cereja descascado (CD) da variedade Bourbon vermelho da safra de 2019/2020 estão apresentados na Tabela 5. Os resultados mostraram diferença significativa de umidade, cinzas, proteína, e de acidez total entre os cafés CM e CD a um nível de significância 5%.

Tabela 5. Caracterização do fruto de café, cultivar Bourbon Vermelho, *in natura* safra 2019/2020

AMOSTRAS	UMIDADE	CINZAS	PROTEÍNA	ACIDEZ
	(%)	(%) *	(%)*	TOTAL* (mL/G)
CEREJA 2019/2020	67 ± 0,02 ^a	6,29 ± 0,47 ^a	8,86 ± 0,02 ^a	102,77 ± 0,13 ^a
CD 2019/2020	56 ± 0,01 ^b	4,53 ± 0,62 ^b	8,49 ± 0,04 ^b	85,96 ± 0,17 ^b

Médias que apresentam letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

*Valores percentuais em base seca.

As análises da caracterização dos frutos de cafés da safra do ano 2020/2021 foram realizadas apenas com os cafés CD uma vez que nesta safra seriam fermentados apenas este tipo de café. Os resultados da caracterização dos cafés CD da safra 2020/2021 foram comparados aos resultados do café CD da safra 2019/2020 (Tabela 6) e mostraram diferença significativa de umidade, cinzas, proteína, e acidez total a um nível de significância de 5%. Na Tabela 6 estão demonstrados os resultados das análises de caracterização dos frutos de cafés da safra 2019/2020 e 2020/2021 com as respectivas médias e os desvios-padrões.

Tabela 6. Caracterização do fruto de café CD (cereja descascado), cultivar Bourbon Vermelho, *in natura*, safras 2019/2020 e 2020/2021.

AMOSTRAS	UMIDADE	CINZAS	PROTEÍNA	LIPÍDIOS	ACIDEZ
	(%)	(%) *	(%)*	(%)*	TOTAL* (mL/g)
CD 2019/2020	56,00 ± 0,01 ^a	4,53 ± 0,6 ^a	8,49 ± 0,04 ^a	5,54 ± 0,03 ^a	85,96 ± 0,16 ^a
CD 2020/2021	52,58 ± 0,01 ^b	3,78 ± 0,1 ^b	9,58 ± 0,19 ^b	6,44 ± 0,01 ^b	107,78 ± 3,38 ^b

Médias que apresentam letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

*Valores percentuais em base seca.

Os resultados obtidos através da caracterização da cultivar Bourbon Vermelho em duas safras consecutivas e processamentos distintos pode-se ratificar o que está disponível no levantamento bibliográfico exposto, ressaltando que a composição química do fruto é complexa e sofre influência de múltiplos fatores como o tipo de cultivar, colheita, nutrição do cafeiro,

tipo de processamento do fruto, fatores ambientais. Todos estes fatores iram impactar diretamente na qualidade e na concentração dos macro e micronutrientes dos frutos obtidos, logo cada safra tem sua característica e identidade única para cada grão.

Para Malta *et al.* (2003), a composição química do café está correlacionada a fatores genéticos, ambientais, culturais, bem como os métodos de colheita, o tipo de processamento e armazenamento, esses fatores afetam diretamente a qualidade e composição dos grãos verdes de cafés.

A umidade do fruto íntegro quando colhido é em torno de 65% a 30% (b.u) (BOREM et al., 2008; MORGANO et al., 2008). Os resultados obtidos pela caracterização como mencionados nas Tabelas 5 e 6 estão de acordo com a bibliografia disponível onde os valores encontrados foram de 67% para o CM e 56% para o CD safra 2019/2020 e 52% CD para a safra 2020/2021 do café Bourbon vermelho analisados. Essa umidade alta facilita a atividade enzimática dos microrganismos que alteram os metabólitos no grão. Estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2018) em CM nas variedades Ouro amarelo, Mundo novo, Catuaí vermelho encontraram a umidade inicial de 63,27%, 63,68% e 62,64%, respectivamente.

Já o processamento do cereja descascado pela remoção da casca e parte da polpa promoveu uma redução na umidade para 56%, o que representa uma vantagem na obtenção de lotes de bebidas mais homogêneos facilitando o processo subsequente da secagem, permitindo assim um maior controle da qualidade final da bebida (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Os teores de cinzas encontrados pela análise de caracterização do fruto foram de 6,29 \pm 0,47% para o CM e 4,53 \pm 0,62% CD da safra 2019/2020 e 3,78 \pm 0,1% para o CD para safra 2020/2021. Pelo processamento do cereja descascado se justifica esta redução no teor de cinzas, pois a casca e a polpa são responsáveis por 8,9% de cinzas e a mucilagem apresenta 0,7% (ESQUIVEL e JIMENEZ., 2012; JANISSEN e HUYNH., 2018).

Teores de cinzas, em base úmida, dos frutos CM foram encontrados por Ribeiro *et al.*, (2018), em torno de 1,71% para a variedade Ouro amarelo, 1,77% para a variedade Mundo novo e 1,58% para a variedade Catuaí vermelho. Para os grãos crus das espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabica*, Pinheiro *et al.* (2021) relataram valores de cinzas, em base seca, de 4,2 e 4,4%, respectivamente. O conteúdo de cinzas está relacionado ao teor de minerais da amostra. Na literatura, os teores encontrados de minerais para o café verde estão estabelecidos entre 3 a 5,4% (MUSSATO *et al.*, 2011). Os minerais correspondem ao potássio, magnésio, fosforo e cálcio e, dentre estes, o potássio é o que apresenta maior proporção de 1,54% (b.s) (BOREM *et al.*, 2008).

A análise de cinzas é importante para informar a deficiência nutricional na lavoura de café. A planta é composta de macronutrientes e, dentre eles, se destaca o potássio seguido do nitrogênio, fósforo, magnésio, cálcio e enxofre. A deficiência de potássio leva a uma “queima foliar”, que é a necrose marginal nas bordas das folhas mais velhas apresentando uma coloração castanha escura o que afeta a qualidade do fruto, gerando frutos pequenos, cochos e mal granados com menor resistência da planta à seca (MARTINEZ *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2015). Então o aporte nutricional da lavoura deve ser muito bem estabelecido e mensurado para que a mesma possa desenvolver frutos com qualidade superior (MARTINEZ *et al.*, 2014).

Os teores de proteínas encontrados no estudo foram de 8,86 % para o CM e 8,49% para o CD na safra de 2019/2020 e 9,58% para o CD na safra de 2020/2021, que apresentou um teor de proteína um pouco maior que os obtidos na safra do ano anterior. Assim, os valores mensurados estão de acordo com os estudos realizados na literatura que afirmam que os cafés verdes apresentam de 8,6% a 16% de proteína (UKERS., 2009; PIMENTA., 2020).

No trabalho De Maria *et al.* (1996), os autores obtiveram teores de 7% de proteína no grão cru do *Coffea arabica*. Teores de proteína obtidos pelo estudo de Nogaim *et al.* (2013) variaram de 7,00 a 16,16% em grãos crus do *Coffea arabica*. Ribeiro *et al.* (2018) encontrou níveis de proteína, em base úmida, nos grãos CM de 4,34% para a variedade Ouro amarela, 4,72% para a variedade Mundo novo e 3,99% para variedade Catuaí vermelho. As proteínas do café são importantes para a qualidade final pois o aroma da bebida é devido, em sua grande maioria, às reações químicas envolvendo proteínas no processo de torra. Assim, quanto maior os níveis de proteína no grão, maior a possibilidade de formação de compostos aromáticos. Além disso, as proteínas também são responsáveis pela formação da cor da bebida (UKERS., 2009; SCHOLZ *et al.*, 2011 PIMENTA., 2020).

O teor de lipídios encontrado na safra de 2020/2021 foi de 6,44% no cereja descascado, próximo ao valor encontrado na safra 2019/2020 de 5,54% no CD. O teor de lipídios do café no grão verde encontra-se entre 7 e 17% (SPEER *et al.*, 2006).

No trabalho de Mazzafera *et al.* (1998) encontrou-se para as variedades Mundo Novo e Bourbon vermelho, teores de lipídios para o grão verde, em média de 13,96% e de 13,33%, acima dos encontrados neste estudo. Por outro lado, os resultados obtidos por Nogaim *et al.* (2013) foram de 6,13%, no grão verde do *Coffea arabica*, semelhante ao que foi encontrado no presente estudo. No trabalho de Ribeiro *et al.* (2018) foi encontrado 1,28% para a variedade Ouro amarelo, 1,25 % para Mundo novo e 1,40% para o Catuaí vermelho, valores obtidos em base úmida para o fruto CM.

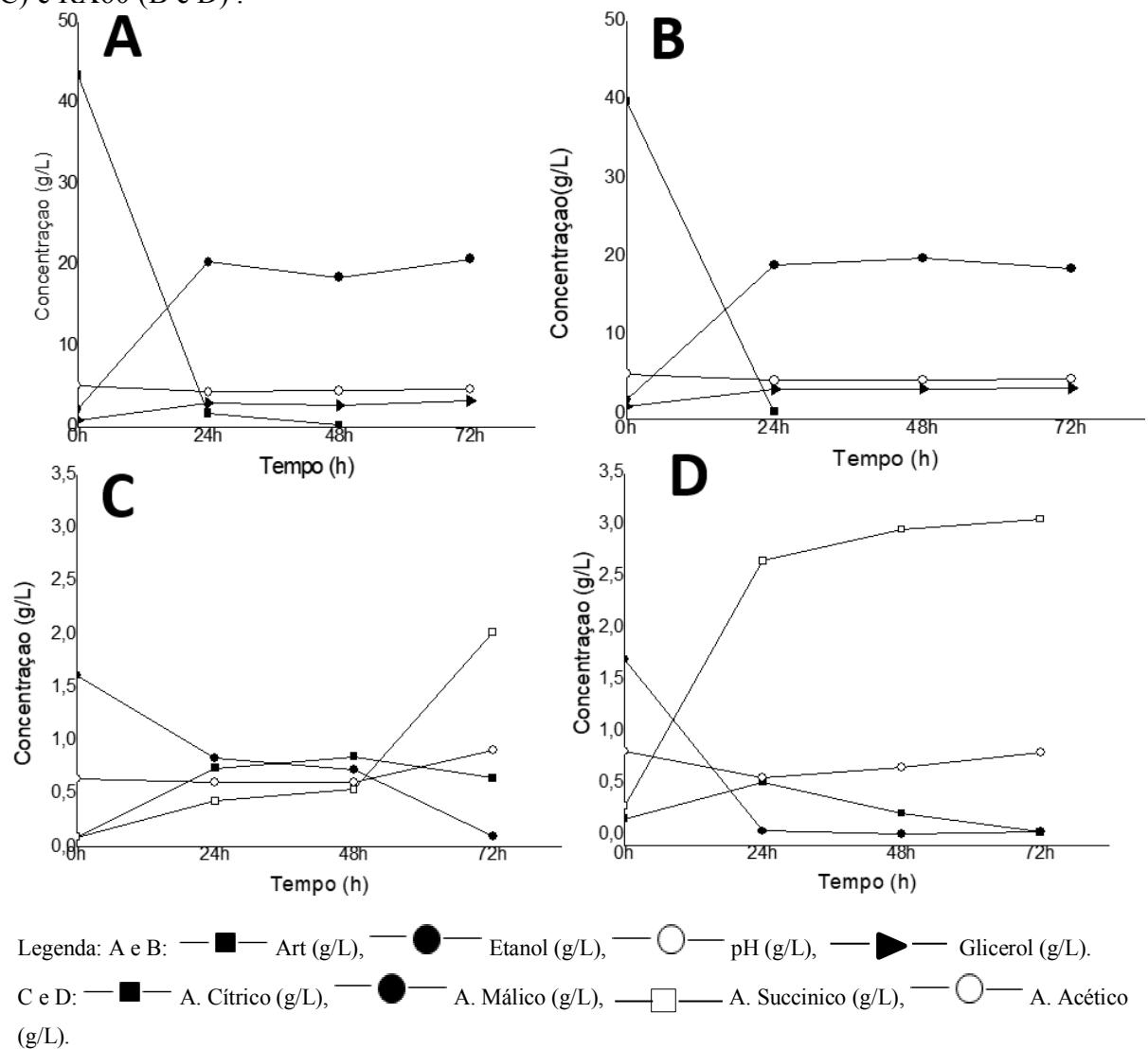
O teor de lipídios desempenha um papel importante pois atuam como precursores do aroma do café (MAZZAFERA *et al.*, 1998; SPEER *et al.*, 2006). Quando ocorre a ruptura da parede do endosperma dos grãos verdes expõe-se os óleos aos processos de oxidação lipídica, levando a obtenção de aldeídos voláteis indesejáveis ao sabor, contribuindo para um aumento na acidez da bebida (CRUZ *et al.*, 2015). Goulart *et al.* (2007) observaram que a maior concentração de lipídios estava presente na borda externa dos grãos e quanto mais essas membranas se mantinham íntegras, melhor era a qualidade da bebida do café. Os autores observaram também que em cafés com qualidade inferior, havia ruptura dessas paredes e membranas e os lipídios migravam para o centro da célula.

Os níveis de acidez encontrados neste estudo foram de $102,77 \pm 0,13$ mL/g para o CM e $85,96 \pm 0,16$ mL/g para o CD na safra 2019/2020 e $107,78 \pm 3,38$ mL/g para o CD na safra 2020/2021. Carvalho *et al.* (1994) encontraram diferentes níveis de acidez nos grãos de cafés verde do *Coffea arabica* e concluíram que um menor nível de acidez contribuía para bebidas classificadas como mole e extremamente mole com níveis de acidez até 175 mL/g. Na pesquisa realizada por Mendonça *et al.* (2005) foram encontrados valores de 224,06mL/g para a variedade Mundo novo. Alguns pesquisadores sugerem que a acidez total titulável é a que apresenta melhor correlação para determinar a acidez do café (VOILLEY *et al.*, 1981).

3.4.2. Capacidade Fermentativa

Os resultados obtidos durante a realização dos experimentos da capacidade fermentativa utilizando as leveduras FX10 e RX60 estão apresentados na Figura 7. Como o meio de casca e polpa de café foi esterilizado, os resultados obtidos durante os experimentos da capacidade fermentativa demonstram o comportamento das leveduras comerciais no consumo dos açúcares redutores totais e na produção de etanol, glicerol e ácidos orgânicos.

Figura 7. Perfis de pH e das concentrações de açúcares redutores totais (Art), etanol, glicerol e ácidos orgânicos nas fermentações em meio a base de café utilizando as leveduras FX10 (A e C) e RX60 (B e D).



O consumo dos açúcares redutores tanto na levedura FX10 e RX60 foram semelhantes, os açúcares se esgotaram em 48h para FX10 e 24 h para a RX60. Essa diferença entre FX10 e RX60 pode ser devido aos açúcares remanescentes do inóculo. Observou-se rápida produção de glicerol e etanol em 24 h de fermentação, que atingiram concentrações de 0,81g/L (0h) e 3,17g/L (72h); 1,73g/L (0h) e 18,40g/L (72h) para a RX60, respectivamente, 0,81g/L (0h) e 3,18g/L (72h); 2,16 g/L (0h) e 20,69g/L (72h) para a FX10, respectivamente.

O pH inicial foi de 5,04 e 5,05 para RX60 e FX10, respectivamente, e ao final da fermentação (72 horas) caíram para 4,39 e 4,65, provavelmente devido a produção de ácidos orgânicos pelas leveduras.

As concentrações iniciais (0h) e finais (72h) dos ácidos orgânicos para a levedura FX10 foram de 0,09-0,65 g/L de ácido cítrico, 1,61-0,10g/L de ácido málico, 0,09-2,02g/L de ácido succínico, 0,64-0,91g/L de ácido acético. Já para a levedura RX60 foi de 0,16-0,03g/L de ácido cítrico, 1,70-0,03g/L de ácido málico, 0,28- 3,05g/L de ácido succínico e 0,81-0,80g/L de ácido acético. Não foram identificados os ácidos láctico, propiônico e butírico, sendo esses dois últimos relatados como prejudiciais para a qualidade da bebida (PIMENTA., 2020).

As concentrações do ácido málico para ambas as leveduras FX10 e RX60 foram diminuindo com o passar do tempo, o que não aconteceu com o ácido cítrico para a levedura FX10 houve um aumento na concentração do cítrico final e para a levedura RX60 houve uma diminuição em relação à concentração no tempo inicial. Segundo Yeager *et al.*, (2021) ácido cítrico e málico podem servir de precursores para outros produtos de degradação ácida o que os torna dependente do tipo do processo fermentativo.

Essa variação nas concentrações dos ácidos orgânicos encontrados no referido estudo, podem ser elucidados por diversos fatores, tais como: condições ambientais; microbiota nativa do fruto; o tipo de levedura utilizada; estresse oxidativo sofrido pelas leveduras; processo de metabolização dos açúcares; adaptação e crescimento das leveduras; os nutrientes e vitaminas disponíveis no meio fermentativo, a disponibilidade de fontes de carbono; a via de metabolização escolhido pelas leveduras (SHIMAZU & WATANABE, 1981 e MILAN & ORTEGA, 1988).

Pode-se observar que o comportamento das leveduras FX10 e Rx60 em relação ao ácidos succínico foram semelhantes ocorrendo um aumento na concentração final da fermentação. Segundo Elhalis *et al.* (2021) o ácido succínico é um dos principais metabólitos finais produzidos por leveduras em fermentações alcoólicas, e tem um impacto potencial na acidez final do produto pois está envolvido na formação de ésteres que podem transmitir aromas frutados aos produtos finais de café.

O etanol e o ácido acético foram identificados no estudo de Evangelista *et al.*, 2015. Esses voláteis são conhecidos metabólitos produzidos durante as fermentações pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Segundo Bertrand *et al.*, (2012) baixas concentrações de ácido acético contribuem para um sabor agradável e doce, enquanto altos níveis (mais de 1 mg/ml) conferem um sabor de vinagre indesejável.

Elhalis *et al.* (2021) em estudo com 6 cepas de leveduras (*Hanseniaspora uvarum*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia fermentans*, *Candida railensis*, *Candida xylopsoci*,

Wickerhamomyces anomalus) inoculadas em meio de café estéril relataram que a glicose e a frutose foram os principais açúcares redutos encontrados com concentração inicial de 16,9 e 13,4 g/L, respectivamente. Durante as fermentações com *P. kudriavzevii* e *P. fermentans*, a glicose diminuiu para cerca de 3,52 g/L e 3,10g/L, respectivamente, enquanto para as outras leveduras foi quase que totalmente consumida. A concentração de frutose também diminuiu, porém, com taxas mais lentas, deixando resíduos altos de frutose no meio para todas as espécies de levedura, exceto *P. kudriavzevii*, em que a frutose foi totalmente consumida. O glicerol não foi detectado inicialmente em nenhuma das fermentações, mas posteriormente foi identificado com uma concentração máxima de cerca de 0,13 g/L sem diferenças significativas entre as fermentações com diferentes leveduras. A concentração inicial de 17,1g/ L de etanol, de 33,64 g/L para *a Hanseniaspora uvarum*, de 37,35 g/L para *Pichia kudriavzevii*, 37,72 g/L para *Pichia fermentans*, 27,831 g/L para *Candida railensis*, 35,632 g/L para *Candida xylopsoci* e 31,234 g/L para *Wickerhamomyces anomalus*. Ambas com 36 h de fermentação final.

Neste mesmo estudo, Elhalis *et al.* (2021) mensuraram cinco ácidos orgânicos principais dentre eles o ácido cítrico, succínico. O ácido cítrico foi o ácido mais abundante com concentração inicial de 4,01 g/L e diminuição para 0,03-0,06 g/L entre as fermentações. O ácido succínico foi detectado no início da fermentação a 0,06 g/L, que variou após a fermentação com diferentes leveduras e aumentou 0,16 g/L para *P. kudriavzevii*, 0.18 g/L *C. railenensis* e 0.16 g/L *C. xylopsoci*, declinou 0.04 g/L para *H. uvarum* e 0.03 g/L para *P. fermentans* e não foi detectado com *W. anomalus* no final.

A produção de etanol no mosto com a levedura *Sacharomyces cerevisiae* é uma resposta do seu metabolismo pois, na ausência de oxigênio no processo fermentativo, ela produz etanol e dióxido de carbono, além de ácidos orgânicos e glicerol (GÓES-FAVONI *et al.*, 2018).

A produção do glicerol é importante pois confere à bebida de café um sabor adocicado com sensação de suavidade (SWIEGRS *et al.*, 2005). Entretanto, não foi encontrado na literatura valores desejáveis de glicerol que favoreçam a qualidade da bebida.

O papel das leveduras é bem conhecido por sua produção de metabólitos de sabor secundário, como ésteres, cetonas, álcoois superiores, aldeídos e ácidos orgânicos (ELHALIS *et al.*, 2020b). Os metabólitos produzidos acabam sendo benéficos pois migram para o interior do grão e influenciam a qualidade da bebida (SILVA *et al.*, 2008). No entanto, há poucas informações sobre sua contribuição ao sabor do café e mais estudos são necessários para preencher essa lacuna de conhecimento (EVANGELISTA *et al.*, 2014a;2014b; PEREIRA *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*,2015; RIBEIRO *et al.*, 2017).

Porém, no presente estudo as leveduras FX10 e RX60 foram eficientes no processo de fermentação uma vez que fermentaram o meio de café, que se encontrava estéril, consumindo os açúcares redutores e obtendo como produto álcool, glicerol e ácidos orgânicos.

3.5.Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida – SIAF, cultivar Bourbon Vermelho em biorreatores no campo.

As fermentações ocorreram entre os dias 11/08/2020 à 16/08/2020 na fazenda Chuá no município de Patos de Minas. Durante esses dias a umidade do ar ficou entre 56,82 à 47,71 % e a temperatura ambiente da fazenda variou de 19,51 a 22,7°C.

A detecção de 15% de frutos verdes no café recém-colhido foi obtida pelo processamento de imagem apresentado na Figura 8, assim após os frutos passarem pelo lavador foi realizada a seleção manual para retirada dos frutos verdes que são considerados imaturos pela pouca presença de mucilagem, deixando apenas 3% de frutos verdes para ser utilizado nas fermentações. A presença do fruto verde junto ao café cereja maduro é um dos principais problemas para a produção de café especiais, pois a maioria dos produtores rurais não possuem condições para executar uma colheita seletiva. É preconizado que a quantidade de frutos verdes não ultrapasse os 3% (BOREM *et al.*, 2008). Os grãos verdes são provenientes de frutos imaturos que não apresentam boa quantidade de mucilagem que servirá de substrato para o processo fermentativo, sendo assim e podem conferir um sabor adstringente para a bebida de café e também os estudos na área de genética ainda não conseguiram proporcionar uma melhor uniformidade no florescimento (VASCONCELOS *et al.*, 2007)

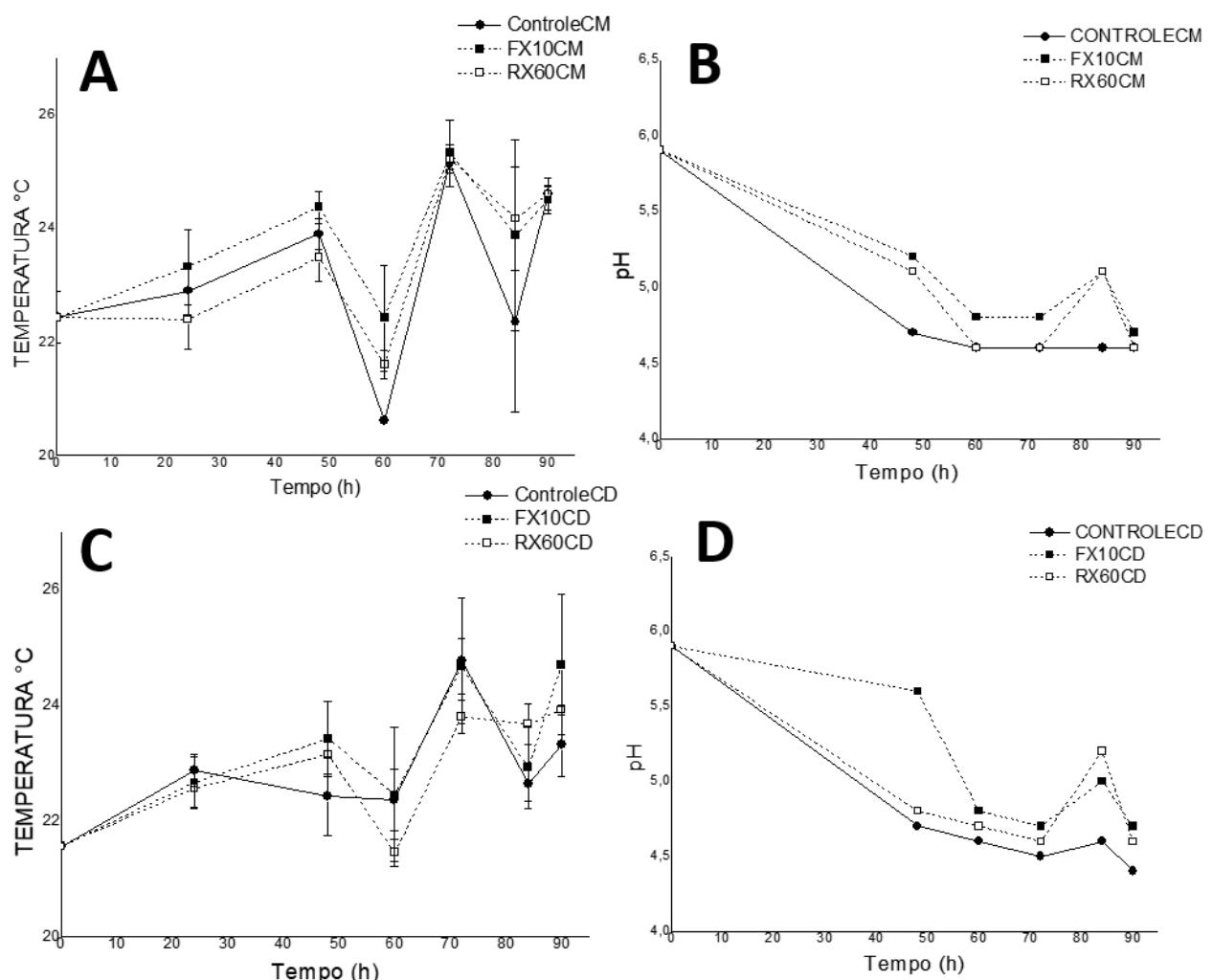
Figura 8.Processamento de imagem para a quantificação dos grãos verdes logo após a colheita do café.



Fonte: Autora, 2020

Com intuito de finalizar a fermentação baseada na estabilidade da temperatura do processo foram monitorados a temperatura e o pH na massa de café dentro dos biorreatores durante toda a fermentação utilizando as leveduras como inóculos e nas fermentações controle sem a inoculação de leveduras, conforme apresentado na Figura 9.

Figura 9. Variações da temperatura (A e C) e do pH (B e D) da massa de café nas fermentações com as leveduras FX10 e RX60 com os frutos cereja maduro (CM) e cereja descascado (CD) e sem inóculo (controle).



O comportamento da temperatura na massa de café nos biorreatores com a cultivar Bourbon vermelho foi semelhante tanto para as fermentações sem inóculo e inoculado com as leveduras FX10 e RX60 tanto para os cafés cereja descascado (CD), Figura 9C, quanto para o cereja maduro (CM), Figura 9A. Nota-se nas primeiras 45 horas uma tendência de aumento da temperatura, provavelmente pelo aumento da atividade das leveduras juntamente com a microbiota endógena do café, pois o processo fermentativo é processo exotérmico, onde os

microrganismos consomem os açúcares redutores e liberam energia, em forma de ATP, para o meio aumentando assim a temperatura.

No tempo de 60 h houve um decréscimo na temperatura para as fermentações utilizando as leveduras RX60 e FX10 e seus respectivos controles. Observa-se que neste período os biorreatores passaram pelo período noturno e a temperatura ambiente interferiu na temperatura da massa dos biorreatores onde houve uma diminuição da mesma como observado na Figura 9. Em seguida com 70 horas observou-se que a temperatura voltou a subir provavelmente ainda pela atividade dos microrganismos presentes. Porém, observa-se que com 90 horas a variação da temperatura não foi significativa, praticamente, semelhante ao observado com 70 horas. Logo, concluiu-se que a atividade fermentativa havia cessado. Então o processo fermentativo foi finalizado. A temperatura ambiente mínima registrada foi de 19,5°C.

À medida que o processo fermentativo ocorreu o meio foi se tornando mais ácido devido a produção de álcool, ácidos pelos microrganismos e com o acompanhamento do pH, observado na Figura 9, observou-se que para todas as fermentações cereja maduro, cereja descascado quanto o controle de ambas o pH inicial foi 5,9.

Para as fermentações cereja maduro, Figura 9B, observou-se que o controle apresentou maior decréscimo do pH, de 5,9 para 4,7, respectivamente, e já para as fermentações FX10 e RX60 foi de 5,2 e 5,1, respectivamente, com 48 horas de fermentação. Com 60 horas o pH foi para 4,8 FX10, 4,6 para RX60 e controle, manteve-se até 72 horas. Com 80 horas apresentou um pH de 5,1 para FX10 e RX60 e 4,6 para o controle. Ao final de fermentação com 90 horas o pH foi de 4,7 para FX10 e 4,6 RX60 e controle.

Para as fermentações cereja descascado, Figura 9D, observou-se que o pH de 5,6 foi para a fermentação FX10 e para RX60 o pH foi de 4,8 e para o controle foi de 4,7 com 50 horas. Com 60 horas observou-se que o pH foi de 4,8 para FX10, 4,7 para RX60 e 4,6 para o controle. Com 72 horas observou-se um pequeno decréscimo de 4,7 FX10; 4,6 RX60 e 4,5 controle. Com 80 horas observou-se que o pH foi de 5,2 RX60; 5,0 FX10 e 4,6 para o controle. Já no final da fermentação com 90 horas o pH foi de 4,7 FX10; 4,6 RX60 e 4,4 para o controle. Essa variação observada no pH é devido a atividade dos microrganismos presentes no meio fermentativo.

Peñuela-Martínez *et al*, (2018) refere que a fermentação é uma reação exotérmica na qual a energia é liberada pelas reações bioquímicas produz substâncias como álcoois e ácido que acidificam o meio e baixam o pH. A temperatura pode influenciar a taxa de degradação da mucilagem e o tempo de fermentação, influenciando nas espécies microbianas presentes no café, nas culturas iniciais e o seu grau de crescimento no meio (QUINTERO E MOLINA, 2015; CÓRDOBA CASTRO E GUERRERO FAJARDO, 2016). Conforme estudo realizado por

Peñuela-Martínez *et al.* (2018), a fermentação de 24-30 h com temperatura entre 18-26 °C é favorável para a obtenção de cafés de melhor qualidade. Além disso, pode ocorrer uma produção, mais significativa, de compostos voláteis desejáveis (QUINTERO E MOLINA, 2015).

Segundo Rothfos, (1985) cita que o ideal é que a temperatura não ultrapasse a amplitude térmica de 4°C para que o processo fermentativo seja realizado com qualidade. O que corrobora com os resultados obtidos com as leveduras FX10, RX60 e controle tanto para o CM quanto para CD, em estudo, onde não houve diferença de temperatura acima de 4°C evidenciando que o processo fermentativo foi bem conduzido para obtenção de cafés com qualidade superior.

Conforme Martinez *et al.*, (2014) refere que o pH é o resultado de uma transformação metabólica pelo processo de fermentação onde os ácidos orgânicos como o cítrico, málico, succínico, acético, são produzidos contribuindo para uma acidez desejada no café, ressaltando que o pH deve estar na faixa de 4,0 a 5,5 para que a bebida seja considerada de qualidade. O que foi evidenciado pelo estudo onde o pH monitorado nos processos fermentativos com as leveduras FX10, RX60 e controle CM e CD se mantiveram na faixa de 4,5 o que também configura que o processo fermentativo foi bem executado contribuindo para a obtenção dos cafés especiais.

3.6.Análise sensorial

A avaliação dos atributos sensoriais das fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) realizadas com os cafés CM e CD da safra 2019/2020 foram realizadas por profissionais *Q-graders*. O formulário de degustação fornece os resultados das avaliações dos 10 atributos: Fragrância/Aroma, uniformidade, xícara limpa, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, geral e equilíbrio (SCA, 2015). Os resultados da análise sensorial dos 6 tratamentos estão representados na Tabela 7.

Como a análise sensorial foi realizada em ambiente cego, os provadores desconheciam o estudo, evitando qualquer tendência positiva ou negativa na avaliação sensorial das amostras. De acordo com a metodologia SCA, as amostras com pontuação maior ou igual a 80 pontos são classificadas como cafés especiais - muito bom quando as pontuações estão na faixa de 80-84 pontos e excelente para pontuações de 85 a 89 pontos. Pontuações abaixo de 80 desqualificam o café como café especial (BOREM *et al.*, 2021).

Tabela 7.Resultado da análise sensorial dos cafés fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) realizadas com os cafés cereja maduro (CM) e cereja descascado (CD) da safra 2019/2020.

FERMENTAÇÕES	AROMA	DOÇURA	GERAL	SABOR	CORPO	UNIFOR MIDADE	BALANÇO XÍCARA LIMPA	ACIDEZ	FINALIZAÇÃO	TOTAL	
RX60 CM	8,13±0 ,170	10	7,63± 0,171	8,00±0, 01	7,38±0, 175	10	7,63±0,1 76	10	8,00±0, 0	7,63±0,171	84,38±0,17
FX10 CM	7,75±0 ,01	10	7,63± 0,171	7,75±0, 35	7,88±0, 171	10	7,63±0,1 7	10	8,13±0, 17	7,50±0,35	84,25±1,06
CONTROLE CM	7,50±0 ,53	10	7,63± 0,172	7,50±0, 01	7,38±0, 53	10	7,63±0,1 71	10	8,00±0, 01	7,25±0,35	82,88±1,23
RX60 CD	8,25±0 ,35	10	7,75± 0,351	7,75±0, 353	7,50±0, 01	10	7,75±0,0 1	10	8,13±0, 171	7,63±0,53	84,75±1,41
FX10CD	8,00±0 ,01	10	7,63± 0,17	7,88±0, 17	7,88±0, 17	10	7,75±0,0 2	10	8,00±0, 02	7,75±0,35	84,88±0,53
CONTROLE CD	7,88±0 ,02	10	7,50± 0,01	7,50±0, 01	7,50±0, 01	10	7,50±0,0 1	10	7,63±0, 176	7,50±0,7	83,00±0,01

Todos os cafés avaliados tiveram pontuação acima de 80 pontos, o que os caracteriza como cafés especiais, segundo classificação da *Specialty Coffee Association - SCA* (SCA.,2015). Percebe-se que os cafés que obtiveram maior pontuação foram aqueles que passaram pelo processo fermentativo utilizando as leveduras FX10 e RX60 como inóculo, isso aconteceu tanto para os cafés CD quanto para os CM.

Conforme Lee *et al.* (2015) as leveduras podem exercer diferentes processos metabólicos excretando diferentes enzimas extracelulares que catalisam reações bioquímicas em componentes químicos do frutos do café, levando a produção de outros compostos como ácidos graxos, ácidos orgânicos, ésteres, cetonas, os quais podem ser deslocados para o interior do grão de café afetando de forma positiva a qualidade final da bebida.

No presente estudo as leveduras utilizadas foram *Saccharomyces cerevisiae* RX60 a qual é adaptada para vinhos tintos suaves e frutados combinando excelente capacidade fermentativa com excelente produção e revelação de aromas. Já para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* FX10 foi desenvolvida para um vinho com aroma fino e sensação na boca cheia (KENEDY e REID., 2008). Portanto, a diferença na pontuação da bebida era esperada, visto que as leveduras possuem comportamento diferentes especialmente em relação ao aroma, doçura, sabor, uniformidade, xícara limpa e acidez.

Os atributos sensoriais descritos pelos *Q-graders* que classificam as amostras em aroma, corpo, acidez e notas aromáticas obtidas pelos processos de fermentação estão no Quadro 2, e foram diferentes entre os tratamentos com as leveduras RX60 e FX10 e controle.

Quadro 2. Atributos sensoriais nas fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) realizadas com os cafés CM e CD da safra 2019/2020 com FX10, RX60 e o controle.

Amostras	Aroma	Corpo	Acidez
RX60 CM	Floral/Baunilha/Chocolate ao leite/Morango	Denso	Suave
FX10 CM	Caramelo/ Laranja/Maracujá	Macio	Cítrica leve
Controle CM	Chocolate, Maracujá	Leve	Cítrica marcante
RX60 CD	Floral/Chocolate branco/Cereja /Morango	Leve	Cítrica vinhosa
FX10 CD	Floral/Castanha caramelizada/Ameixa preta seca	Macio	Vinhosa
Controle CD	Floral/Chocolate meio amargo/Mel de café	Macio	Cítrica leve

A uniformidade, doçura e xícara limpa obtiveram pontuação máxima (10 pontos), o que configura que nas amostras avaliadas não se encontrou adstringência, sabores verdes, nem impressões negativas, indicando consistência de sabor nas cinco xícaras de cada amostra avaliada pelos *Q-graders*. Segundo a *Specialty Coffee Association – SCA* (2015) a uniformidade apresenta a consistência nas diferentes xícaras provadas. Se essas xícaras com a mesma amostra tiverem sabores diferentes, o valor atribuído deverá ser baixo pois não apresenta um padrão nas bebidas avaliadas (SCA, 2015). A xícara limpa representa os defeitos sensoriais e nela são avaliadas interferências negativas desde o primeiro momento da prova até sua ingestão (SCA, 2015). Os atributos sensoriais descritos considerados especiais apresentam uma doçura mais acentuada, com notas de chocolate, mel, caramelo. Já os que possuem pouca doçura são considerados adstringentes, cafés verdes, ou amargos (SCA, 2015).

Ferreira *et al.* (2012) avaliaram 20 diferentes genótipos de cafeiro Bourbon e dentre eles avaliou dois genótipos de Bourbon vermelho da fazenda Procafé e da fazenda São João Batista, esses genótipos foram cultivados em cinco regiões diferentes: Campos Altos, no Cerrado Mineiro; Santo Antônio do Amparo, no Sul de Minas; Patrocínio, no Cerrado Mineiro; Lavras, no Sul de Minas; Três Pontas, também no Sul de Minas. Após avaliação sensorial seguindo a metodologia *Cup of Excellence* (BSCA, 2007). As bebidas obtiveram notas de 86 a

83,17 pontos, o que permitiu inferir que esses genótipos apresentam qualidade superior para produção de cafés especiais, sendo menos influenciada pelos fatores ambientais. E as características mais relevantes que apresentaram na bebida foram, gosto remanescente e xícara limpa.

Kitzberger *et al* (2011) avaliaram o Bourbon vermelho cereja maduro em 2009 com 15 pessoas comuns, sem experiência ou certificado *Q-graders*, mas que tinham o hábito de consumir café (filtrado, expresso ou solúvel). A equipe foi composta por dois homens e 13 mulheres. Após a degustação os atributos mais levantados pela equipe foram de aroma de café, doce, verde, queimado, sabor amargo, adstringente e ácido. O que caracteriza como bebidas bastantes diferenciadas, ou seja, não apresenta uma uniformidade nas xícaras avaliadas. Apesar do cultivar ser conhecido pela qualidade sensorial, neste trabalho foi observado uma bebida com menor corpo e turbidez, menor intensidade da cor e dos aromas. A autora atribuiu a pouca qualidade obtida as condições ambientais (local e clima) de cultivo, os cafés obtidos para o estudo foram da cidade de Mandaguari-PR a uma altitude de 650m e temperatura média anual de 22 a 23°C, pois os atributos avaliados foram associados a imaturidade dos grãos.

Elhalis *et al.* (2020) em seu estudo com a cultivar Bourbon demonstraram através da análise sensorial que foi conduzida por três especialistas com certificações de café *Q-graders* que as leveduras desempenham um papel crucial para o café fermentado pois favoreceu para a produção de cafés com aroma, sabor e qualidade sensorial superior. O painel de *Q-graders* relatou aroma frutado de uva e maçã amarela, baunilha, amendoim, notas de chocolate e corpo liso para o café de grãos de fermentação espontânea, enquanto notas frutadas e leve sabor de cacau caracterizaram café de grãos fermentados na presença de natamicina, antifúngico utilizado junto com o processo de fermentação para inibir o crescimento de leveduras indesejadas.

3.7.Conclusão

A influência da qualidade da bebida está diretamente relacionada ao tipo de manejo, genética, região de cultivo associado a composição química dos grãos. Observou-se diferença significativa na composição dos frutos entre os tipos de processamento do fruto do café e entre as safras. Uma vez que os componentes do fruto de café servirão de substrato para a microbiota, e que metabólitos produzidos durante a fermentação influenciam na característica final da bebida, é possível que sejam obtidos cafés diferentes entre as safras distintas, mesmo utilizando

o mesmo café e aplicando o mesmo processamento. O mesmo pode ocorrer utilizando-se a mesma variedade de café da mesma safra, mas aplicando-se processamentos diferentes.

Os experimentos da capacidade fermentativa das duas linhagens de leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* FX10 e RX60 demonstraram capacidade das leveduras de desenvolvimento e produção de metabólitos em meio à base de café, consumindo os açúcares, produzindo etanol e glicerol e ácidos orgânicos.

A aplicação das leveduras FX10 e RX60 na fermentação SIAF com o café Bourbon Vermelho nos tratamentos Cereja Madura e Cereja descascado apresentaram melhores resultados sensoriais em detrimento do controle. Já entre as leveduras, as duas foram consideradas potenciais para o uso como culturas iniciadoras na fermentação em estado sólido anaeróbia induzida do café. A linhagem do inóculo e o processamento do fruto do café influenciaram na descrição sensorial do café final obtido.

3.8.REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

Official Methods of Analysis - AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, md, 1995.

ALVES, B. H. P., do Nascimento, E. A., de Aquino, F. J. T., Chang, R., & de Morais, S. A. L. (2007). Composição química de cafés torrados do Cerrado e do Sul de Minas Gerais. *Ciência & Engenharia*, 16(1/2), 9-15.

BASTIAN, F., HUTABARAT, O. S., DIRPAN, A., NAINU, F., HARAPAN, H., EMRAN, T. B., & SIMAL-GANDARA, J. (2021). From plantation to cup: changes in bioactive compounds during coffee processing. *Foods* (basel, switzerland), 10(11), 2827.

BERTRAND B, BOULANGER R, DUSSEZ S, RIBEYRE F, BERTHIOT L, DESCROIX F, JOËT T. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. *Food Chem.* 2012 Dec 15;135(4):2575-83. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.06.060. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22980845.

BORÉM, F.M.; FRIEDLANDER, D. Navigating origins. *Roast Magazine*, Portland, p.94-95, 2009.

BOREM, F.M. **Processamento do Café**. In: _____. pós-colheita do café. lavras: ufla, 2008. cap.5, p.127-158.

BOREM, F. M., ABREU, G. F. DE, ALVES, A. P. DE C., SANTOS, C. M. DOS, & TEIXEIRA, D. E. (2021). Volatile compounds indicating latent damage to sensory attributes in coffee stored in permeable and hermetic packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100705. doi:10.1016/j.fpsl.2021.100705

BRESSANI, A. P. P., MARTINEZ, S. J., SARMENTO, A. B. I., BORÉM, F. M., & SCHWAN, R. F. (2021a). Influence of yeast inoculation on the quality of fermented coffee (*Coffea arabica* var. Mundo Novo) processed by natural and pulped natural processes. *International Journal of Food Microbiology*, 343, 109107. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.10.

BSCA (2007) Cafés Especiais. **Brazil Speciality Coffee Association**. Varginha, Brasil.

CARVALHO, V. D.ET AL. Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e qualidade de bebida do café. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 29(3):449-454, mar.1994.

CARVALHO, DENIS HENRIQUE SILVA NADALETI. – BRASÍLIA, DF: Embrapa café, 2021. pdf (40 p.). – (boletim de pesquisa e desenvolvimento / embrapa café, issn 2237-9738; 2)

CNC - Conselho Nacional do Café. Relatório mensal novembro 2020 disponível em < cecafe-fevereiro-2020.pdf (consorciopesquisacafe.com.br) />. Acesso Dezembro 5, 2020.

CNC - Conselho Nacional do Café. Relatório mensal fevereiro 2021 disponível em < cecafe-fevereiro-2021.pdf (consorciopesquisacafe.com.br) />. Acesso Março 18, 2021.

CONAB - Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de café, Brasília, DF, v.1 safra 2020/21, n. 1, setembro 2021. Disponível em <www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. Acesso Outubro 21, 2021. ISSN: 2318-7913.

CÓRDOBA-CASTRO, N. M., & GUERRERO-FAJARDO, E. E. (2016). Caracterización de los processos tradicionales de fermentación de café en el departamento de nariño. **Biotecnología em el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, 14(2), 75–83

CHENG B., FURTADO A., HENRY R.J. The coffee bean transcriptome explains the accumulation of the major bean components through ripening. **Sci. Rep.** 2018;8:1–11. doi: 10.1038/s41598-018-29842-4.

CRUZ, R., MORAIS, S., & CASAL, S. (2015). Mineral Composition Variability of Coffees. **Processing and Impact on Active Components in Food**, 549–558. doi:10.1016/b978-0-12-404699-3.00066-4

DA CRUZ CORREIA F. et al. (2021), Cadena productiva del café: un estudio de caso del flujo logístico de granos del campo para exportación. **Revista Cubana de Ingeniería**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. e290. Disponível em: <https://rci.cujae.edu.cu/index.php/rci/article/view/788>. Acesso em: 13 mar. 2022.

DA MOTA, M.C.B., BATISTA, N.N., RABELO, M.H.S., RIBEIRO, D.E., BORÉM, F.M., SCHWAN, R.F., 2020. Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. **Food Res. Int.** 136, 10948.

DE MARIA, C. A. B., TRUGO, L. C., AQUINO NETO, F. R., MOREIRA, R. F. A., and AIVIANO, C. S. 1996. Composition of green coffee water-soluble fractions and identification of volatiles formed during roasting. **Food Chemistry**, 55:203–207.

DE MELO PEREIRA, G. V., SOCCOL, V. T., PANDEY, A., MEDEIROS, A. B. P., LARA, J. M. R. A., GOLLO, A. L., & SOCCOL, C. R. (2014). Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. **International journal of food microbiology**, 188, 60-66.

ELHALIS, H., COX, J., FRANK, D., & ZHAO, J. (2021). Microbiological and biochemical performances of six yeast species as potential starter cultures for wet fermentation of coffee beans. **LWT**, 110430. doi:10.1016/j.lwt.2020.110430.

ELHALIS, H., COX, J., & ZHAO, J. (2020A). Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of australian coffee beans. **International journal of food microbiology**, 321, 108544.

ELHALIS, H.; COX, J; FRANK, DAMIAN; ZHAO, J (2020b). The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. **International journal of food microbiology**, [s.l.], v. 333, p. 108796-108796.

EVANGELISTA, ADÃO W. P., CARVALHO, LUIZ G. DE, & SEDIYAMA, GILBERTO C. (2002). Zoneamento climático associado ao potencial produtivo da cultura do café no estado de minas gerais. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, 6(3), 445-452. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662002000300011>.

EVANGELISTA, S. R., MIGUEL, M. G. P. C., SILVA, C. F., PINHEIRO, A. C. M., & SCHWAN, R. F. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. **International journal of food microbiology**, 210, 102 112.

EVANGELISTA SR, MIGUEL MGCP, CORDEIRO CS, SILVA CF, PINHEIRO ACM, SCHWAN RF (2014A) Inoculação de culturas iniciais em um café semi-seco (coffea arabica) processo de fermentação. **Microbiol alimentar** 44: 87 – 95.

EVANGELISTA, S. R., SILVA, C. F., MIGUEL, M. G. P. C., CORDEIRO, C. S., PINHEIRO, A. C. M., DUARTE, W. F., & SCHWAN, R. F. (2014B). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. **Food research international**, 61, 183–195.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee byproducts. **Food research international**, v. 46, p. 488-496, 2012.

FERREIRA, A.D, MENDES, A.N.G, CARVALHO, G.R, BOTELHO, C.E, GONÇALVES FMA, MALTA, M.R (2012) Análise sensorial de diferentes genótipos de café Bourbon. **Interciênciac** 37(1):390–394.

GOULART, P. D. F. P., ALVES, J. D., CASTRO, E. M. D., FRIES, D. D., MAGALHÃES, M. M., & MELO, H. C. D. (2007). Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. **Ciência**.

GÓES-FAVONI, S. P., et. al. Fermentação alcoólica na produção de etanol e os fatores determinantes do rendimento. **Ibero-American de Ciências Ambientais**, São Paulo, v. 9, n. 4, abr./maio 2018.

HAILE, M.; KANG, W. H. Isolation, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. **Microorganisms**, 7(10):401, 2019b.

International Coffee Organization (ICO), 2021. What's new. <http://www.ico.org/>. Accessed on 23 February 2021.

JANISSEN, B., & HUYNH, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: a review. **Resources, conservation and recycling**, 128, 110–117.

LEE, ET AL., (2015) Coffee Fermentation and Flavor – An intricate and delicate relationship. **food chem** 185: 182-191.

LEE D. **Pigmentos vegetais e sua manipulação**. Ana robô. 2005; 96 :1332-1333. DOI: 10.1093/AOB/MCI287.

LOPES, VERÔNICA DOS SANTOS, 2017- **Prospecção de biomassas lignocelulósicas para coprodução de etanol de segunda geração e biossurfactante empregando processos químicos e enzimáticos** / Verônica dos Santos Lopes. - 1988.

KENNEDY, K., & REID, G. (2008). Yeast nutrient management in winemaking. **The australian & new zealand grapegrower and winemaker**, 50-56.

KITZBERGER, C.S.G, SCHOLZ, M.B.S, SILVA, G.D, TOLEDO, J.B, BENASSI, M. (2011) Caracterização sensorial de cafés arabica de diferentes cultivares produzidos nas mesmas condições edafoclimáticas. **Braz J Food Technol** 14:39–48

MALTA, M. R. ET AL. Alterações na qualidade do café submetido a diferentes formas de processamento e secagem. **Revista engenharia na agricultura-reveng**, v. 21, n. 5, p. 431-440, 2013.

MARTINEZ, S. J., RABELO, M. H. S., BRESSANI, A. P. P., DA MOTA, M. C. B., BORÉM, F. M., & SCHWAN, R. F. (2021). Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. **Food Research International**, 139, 109921. doi:10.1016/j.foodres.2020.109921

- MARTINEZ, H. E. P. et al. Nutrição mineral do cafeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres [online]**. 2014, v. 61, n., pp. 838-848. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0034-737x201461000009>>.
- MARTINS, P. M. M., BATISTA, N. N., MIGUEL, M. G. D. C. P., SIMÃO, J. B. P., SOARES, J. R., & SCHWAN, R. F. (2020). Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. **Food Research International**, 129, 108872.
- MARIYAM, S., KISTANTI, A., KARYADI, J.N.W. AND WIDIYASTUTI, R.J., 2022, MARCH. Improving coffee quality through yeast addition in the fermentation process to support sustainable coffee production. In IOP Conference Series: **Earth and Environmental Science** (Vol. 1005, No. 1, p. 012012).
- MAZZAFERA, P. SOAVE, D, ZULLO, M.A.T., GUERREIRO FULHO, O. Oil content of green beans from some coffee species. **Bragantia**, v.57, n. 1, p. 45-49. 1998.
- MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. ParâmetroS bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 239-243, 2005
- MENDONCA, L. M. ET AL. Composição química de grãos crus de cultivares de *coffea arabica* l. Suscetíveis e resistentes à *hemileia vastatrix* berg et br. **Ciênc. Agrotec.** [conectados]. 2007, vol.31, n.2, pp.413-419. ISSN 1981-1829.
- MILLAN, C., & ORTEGA, J. M. (1988). Production of ethanol, acetaldehyde, and acetic acid in wine by various yeast races: role of alcohol and aldehyde dehydrogenase. **American Journal Of Enology And Viticulture**, 39(2), 107-112.
- MORGANO, A. M.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M. M. C.; Determinação de umidade em café cru usando espectroscopia NIR e regressão multivariada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 12-17, 2008.
- MUSSATO, S.I., BALLESTEROS, L.F., MARTINS, S., TEIXEIRA, J.A., 2011A. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Sep. Purif. Technol.** 83, 173–179. [Https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.09.036](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.09.036)
- NOGAIM, Q. ET AL. (2013). The chemical composition of yemeni green coffee. **Journal of food chemistry and nutrition**, 1(2), 42-48. Retrieved from <https://esciencepress.net/journals/index.php/jfcn/article/view/162>
- OLIVEIRA, P. D. et al. Aspectos fisiológicos de grãos de café, processados e secados de diferentes métodos, associados à qualidade sensorial. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 2, p. 211-220, abr./jun. 2013
- PEÑUELA-MARTÍNEZ, A. E.; ZAPATA-ZAPATA, A. D.; DURANGO-RESTREPO, D. L. Performance of different fermentation methods and the effect on coffee quality (*Coffea arabica* L.). **Coffee Science**, 13(4):465-476, 2018.
- PEREIRA, G. V. de M., SOCCOL, V. T., & SOCCOL, C. R. (2016). Current state of research on cocoa and coffee fermentations. **Current Opinion in Food Science**, 7, 50–57. doi:10.1016/j.cofs.2015.11.001.
- PEREIRA, PRISCILA VARGAS, 2018-Dinâmica microbiana e aspectos físicos e químicos de café conilon (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) cultivado em diferentes ambientes e processado por via natural. –1994

PEREIRA, THAYANNA SCOPEL, ET AL. "Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial communities, chemical composition and sensory quality of coffee. **Food Microbiology** 103 (2022): 103962.

PIMENTA, C.J. **Qualidade do café/ Carlos Jose Pimenta.** – 2. ed. – Lavras: Ed. UFLA, 2020. 273p

PINO, F. A.; VEGRO; C. L. R. **Café: um guia do apreciador.** 4a Edição. São Paulo: Saraiva, 2008

PINHEIRO, P.F., PINHEIRO, C.A., OSÓRIO, V.M., PEREIRA, L.L., 2021. Chemical constituents of coffee, in: quality determinants in coffee production. **Springer nature switzerland**, alegre, p. 443. [Https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9_5#doi](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9_5#doi).

PUERTA - QUINTERO, G. I. P.; MOLINA, J. G. E. Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad. Avances Técnicos. **Cenicafé**. abr. 2015.

PRADO BARRAGAN, L. A., FIGUEROA, J. J. B., RODRÍGUEZ DURAN, L. V., AGUILAR GONZALEZ, C. N.,& HENNIGS, C. (2016). Fermentative production methods. In P. Poltronieri, & O. F. D'Urso (Eds.), **Biotransformation of Agricultural waste and by-products** (pp.189–217).

RIBEIRO, L. S. ET AL. (2017A) Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. **Food research international**, 92:26-32, 2017 ^a.

RIBEIRO, L.S., EVANGELISTA, S.R., Da CRUZ PEDROZO, M., et al. Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. **Ann Microbiol** 68, 705–716 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1377-4>.

ROTHFOS, N. B. (1985). **COFFEE PRODUCTION.** HAMBURG: GORDIAN-MAX-RIECK.

RUTA LL, FARCASANU IC. Coffee and yeasts: from flavor to biotechnology. **Fermentation**. 2021; 7(1):9. [Https://doi.org/10.3390/fermentation7010009](https://doi.org/10.3390/fermentation7010009).

SCAA - Protocols | Cupping Specialty Coffee: Published by the Specialty Coffee Association of America. **Published by the Specialty Coffee Association of America.** 2015. Disponível em: <<http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>> Acesso em: 10 out. 2021.

SCHWAN, ROSANE F., AND GRAHAM H. FLEET, EDS. *Cocoa and coffee fermentations.* CRC Press, 2014.

SCHOLZ, M.B. DOS S.; FIGUEIREDO, V.R.G. DE; SILVA, J.V.N. DA; KITZBERGER, C.S.G. Características físico-químicas de grãos verdes e torrados de cultivares de café (coffea arabica l.) Do Iapar. **Coffee science**, v.6, p.245-255, 2011.

SHIMAZU Y. & WATANABE M. (1981). Effects of yeast strains and environmental conditions on formation of organic acids in must during fermentation. **Journal of Fermentation Technology** 59, 27–32.

SILVA, C.F., BATISTA, L.R., ABREU, L.M., DIAS, E.S., SCHWAN, R.F., 2008. Sucession of bacterial and fungal communities during natural coffee (coffea arabica) fermentation. **Food microbiol.** 25, 951E957

- SOCCOL, C. R., DA COSTA, E. S. F., LETTI, L. A. J., KARP, S. G., WOICIECHOWSKI, A. L., & VANDENBERGHE, L. P. S. (2017). Recent developments and innovations in solid-state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, 1(1), 52–71.
- SPEER, Karl; KÖLLING-SPEER, Isabelle. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201-216, 2006.
- SWIEGERS, J., BARTOWSKY, E., HENSCHKE, P. and PRETORIUS, I. (2005), Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, 11: 139-173. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285>
- UKERS, W. 2009. **All about Coffee**. New York, Benediction Classics. 804pp
- VASCONCELOS, A. L. S.; FRANCA, A. S.; GLÓRIA, M. B. A.; MENDONÇA, J. C. F A comparative study of chemical attributes and levels of amines in defective green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 26–32, 2007.
- VOILLEY, A., SAUVAGEOT, F., SIMATOS, D. & WOJCIK, G. (1981). Influence of some processing conditions on the quality of coffee brew. **J. Food process eng.**, 3,135-43.
- WANG, S.-J., & ZHONG, J.-J. (2007). Bioreactor engineering. In S.- T. Yang (Ed.), **Bioprocessing for value-added products from renewable resources** (pp. 131–161).
- YEAGER, S. E. et al (2021) Acids in coffee: A review of sensory measurements and meta-analysis of chemical composition, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, DOI: 10.1080/10408398.2021.1957767.

CAPÍTULO 4. Influência do tempo e temperatura na fermentação em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) da cultivar Bourbon vermelho.

4.1.Introdução

O potencial dos cafés especiais continua aumentando principalmente pelo consumo dos mercados emergentes. Consequentemente o valor de mercado se torna inseparável da qualidade do café, impulsionando constante melhorias nas etapas de produção, para garantia da qualidade e segurança da bebida (BRESSANI *et al.* 2018).

No Brasil, o mercado de café especial está em plena expansão, estimulado por eventos relacionados ao produto, pesquisas e abertura de lojas especializadas (GUIMARÃES *et al.*, 2019; MALTA *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2021).

O termo “café especial” refere-se a uma bebida que possui qualidade superior aos tradicionais, chamados de cafés *commodity*, além de sabor e características únicas. São bebidas que alcançam pontuações acima de 80 pontos, segundo a metodologia de classificação da *Specialty Coffee Assocition* (SCA) (QUINTÃO, BRITO, & BELK, 2017).

Conforme relatório da CECAFÉ de fevereiro de 2022, os cafés especiais corresponderam por 16,4% das exportações totais brasileiras do produto no primeiro bimestre de 2022, exportando cerca de 1,120 milhão de sacas. Representando um crescimento de 9,2% na comparação com as 1,026 milhão de sacas exportadas no ano de 2021. O preço médio foi de US\$ 300,54 por saca, proporcionando uma receita de US\$ 336,5 milhões nos dois meses, o que corresponde a 22,1% do obtido com os embarques totais. No comparativo anual, o valor é 93,7% maior do que o aferido no ano anterior. No *ranking* dos principais destinos dos cafés especiais no primeiro bimestre, os Estados Unidos estão na ponta, com a aquisição de 287.496 sacas, equivalente a 25,7% de cafés especiais exportados. Na sequência, vêm Alemanha, com 167.880 sacas e representatividade de 15%; Bélgica, com 114.877 sacas (10,3%); Itália, com 92.457 sacas (8,3%); e Japão, com 52.159 sacas (4,7%).

Atualmente a cultivar Bourbon Vermelho é indicada para aqueles cafeicultores que desejam obter um café especial, diferenciado em relação à qualidade da bebida que possam agregar valor ao seu café por apresentar características como aroma intenso; notas doces que lembram avelã; notas de chocolate; e baixa acidez. (CPC., 2021).

Como os cafés com diferentes perfis sensoriais estão em alta demanda, isso chamou a atenção dos produtores de café que os fizeram buscar alternativas para obter esses perfis sensorialmente diferentes, através do processo de fermentação (EVANGELISTA *et al.*, 2014a; BRESSANI *et al.*, 2018, MARTINS *et al.*, 2019; BRESSANI *et al.*, 2020, DA MOTA *et al.*,

2020; MARTINS *et al.*, 2020). O processo de fermentação é uma etapa essencial, uma vez que ela ocorre naturalmente pela ação microbiana presente no ambiente e no fruto, e que produz enzimas que hidrolisam as pectinas, presente na mucilagem, degradam os carboidratos, proteínas, e ácidos e os convertem em álcool, ácidos, ésteres e cetonas e outros compostos que se transformarão em precursores de sabor (SILVA *et al.*, 2000; AVALLONE *et al.*, 2001, MASOUD *et al.*, 2004, SILVA *et al.*, 2015).

Na fermentação anaeróbia induzida (SIAF), estimula a produção de metabólitos como ácidos orgânicos, álcoois e compostos voláteis, favorecendo a formação de sabores (DA MOTA *et al.*, 2022)

Puerta - Quintero *et al.*, (2015) refere que a fermentação pode produzir bebidas mais aromáticas e sabores especiais, como doces, cítricos e frutados que melhoram a consistência e agregam valor ao produto final, porém também ressalta que esta deve ser muito bem acompanhada uma vez que se for mal conduzida pode gerar perdas na qualidade da bebida.

Portanto, a fermentação é uma das etapas de processamento pós-colheita que requer uma maior atenção por ser mais delicada e crítica (DUARTE *et al.*, 2010; LEOULP *et al.*, 2004). A disponibilidade de oxigênio, amplitude térmica, a temperatura, e o tempo estão entre os parâmetros que podem interferir no perfil de compostos produzidos, voláteis e não voláteis, que estão relacionados à formação do sabor do café (DE BRUYN *et al.*, 2017; RODRIGUEZ *et al.*, 2017; Mota *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2020).

Segundo Puerta - Quintero., (2012) a temperatura durante a fermentação pode variar de 12 a 34°C, com média de 20,7°C, sendo que a velocidade da fermentação não é constante, pois depende de fatores favoráveis para o desenvolvimento de determinados microrganismos e essas variações podem ser maiores para alguns microrganismos em detrimento de outros. Já em relação ao tempo para Puerta - Quintero., (2012) recomenda-se definir as horas de fermentação, pois o tempo, pode estar relacionado com o declínio do pH que pela produção dos ácidos orgânicos pelos microrganismos, acidificam o meio.

E a utilização de um biorreator acaba sendo uma ferramenta valiosa pois controla, melhora, otimiza, reduz o tempo de fermentação, evita contaminação microbiana e contribui para a reproduzibilidade (FIGUEROA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019).

A fermentação em estado sólido é uma etapa realizado em materiais sólidos, sem adição de água ou pouca quantidade de água, que pode ser feita em biorreatores que fornecem condições apropriadas para o seu desenvolvimento, logo os frutos de café fornecem o substrato necessário para o crescimento de bactérias, leveduras e fungos filamentosos, nutrindo-os de

fontes de carbono e nitrogênio, devido à sua composição química (SILVA *et al.*, 2000; TANG *et al.*, 2021).

De acordo com as características desejáveis pode-se utilizar a aplicação de microrganismos selecionados, culturas iniciadoras, com a finalidade de se obter um impacto positivo no perfil sensorial da bebida (SILVA *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2017; HAILE *et al.*, 2019)

Diversos estudos tem amplamente discutido e mostrado que o perfil sensorial das bebidas varia e uma das razões para essas variações é o tipo de processamento em associação com a cultivar do café (Schwan *et al.* 2012; Evangelista *et al.*, 2014a, Evangelista *et al.*, 2014b, Evangelista *et al.*, 2015, Martinez *et al.*, 2017, Bressani *et al.*, 2018, Borém *et al.*, 2019, Martins *et al.*, 2019, Martins *et al.*, 2020; Elhalis *et al.*, 2020). Por exemplo, em tanques abertos, a fermentação aeróbica associada a culturas iniciadoras melhorou a qualidade do café de 80 para 84 pontos (BRESSANI *et al.*, 2018; MARTINEZ *et al.*, 2017). Já em biorreatores fechados, os cafés atingiram 87 pontos, aumentando em 5 pontos em relação ao controle que obteve 82 pontos (Da Mota *et al.*, 2020).

A levedura *Saccharomyces spp* tem tido atenção especial de diversos pesquisadores justamente por se adaptar melhor a diferentes processos, redução de oxigênio, falta de nutrientes, pH mais ácido, atividade pectinolíticas elevadas e também por melhorar a qualidade sensorial do café, contribuindo para o aroma frutado após a torra (SILVA *et al.*, 2013; EVANGELISTA *et al.*, 2014a, 2014b; RIBEIRO *et al.*, 2017a; MARTINEZ *et al.*, 2017; BRESSANI *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2020; FILETE *et al.*, 2020., CARDOSO *et al.*, 2020, WANG *et al.*, 2020).

Visto que a fermentação é um dos estágios mais delicados e críticos o objetivo desse estudo é estudar a influência dos parâmetros de tempo e temperatura, no processo fermentativo e analisar o consumo de açúcares e produção de ácidos que são importantes para a obtenção de perfis sensoriais do grão de café.

4.2.Materiais e Métodos

O fluxograma que descreve as etapas do estudo é apresentado na Figura 10.

Figura 10. Fluxograma do projeto.



Fonte: Autor., (2022).

4.2.1. Material

4.2.2. Cultivar do café

A cultivar escolhida do café arábica foi Bourbon Vermelho colhido na fazenda Chuá do proprietário Décio Bruxel localizada no Município de Patos de Minas com latitude 18° 35' 15, e longitude de 46° 25'35; altitude 1050 m no estado de Minas Gerais - Brasil.

4.2.3. Coleta e o preparo das amostras

O café foi colhido manualmente para a seleção de apenas cereja maduras, pois no estágio cereja produzem café de melhor qualidade. A porcentagem de frutos verdes encontradas nas amostras foi de 0,13%. Os frutos cerejas foram lavados e separados dos frutos secos ou com algum defeito no grão. Os frutos que são menos densos, flutuaram na água e foram descartados para não comprometer a qualidade. Após esta etapa os frutos foram descascados em descascador mecânico e envasado em garrafas polietileno de 1,5L e encaminhados para o laboratório da UFU Campus Patos de Minas.

Um experimento denominado de testemunha foi realizado conforme os procedimentos da fazenda, onde o fruto após passar pelo lavador é descascado e encaminhado para a secagem no terreiro.

4.2.4. Preparo do Inóculo

Foram utilizadas as leveduras comerciais *Saccharomyces cerevisiae*, da marca comercial LAFFORT - Zymaflore FX 10 e Zymaflore RX 60 (2.10^{10} UFC/g). Para a reativação de cada cepa foram utilizados frascos de Erlenmeyer de 250 ml e adicionados 30 g de levedura

lioofilizada em 100 mL de meio de cultivo com a seguinte composição: 30g/L Superstart, probiótico para as leveduras (LAFFORT), Extrato de levedura 6g/L, sacarose 10g/L, 5g/L de KH₂PO₄, 1g/L de MgSO₄.7H₂O, 2g/L de (NH₄)₂SO₄, pH 5,5. Os fracos foram colocados em incubadora rotativa (TE-421 TECNAL) a 28°C a 100 rpm. Para a contagem das células foi utilizado câmara de Neubauer com diluição 1ml para 100ml. Após a contagem nas câmaras de Neubauer foram encontrados cerca 3,50x10⁸ /mL de Zymaflore FX10 e 1,33x10⁸/mL de Zymaflore RX60.

4.2.5. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF), cultivar Bourbon vermelho, realizadas no laboratório.

Para realização das fermentações, foram utilizadas garrafas de polietileno de 2 L de volume, fechados com rolha de algodão. Assim, ao longo da fermentação, os microrganismos consumiam o oxigênio dentro da garrafa, produzindo CO₂, e como o tampão é uma barreira à entrada de ar, é possível que pouco oxigênio do ar externo entrasse, criando um ambiente anaeróbio induzido com baixa concentração de oxigênio.

As fermentações foram realizadas em batelada, sendo o volume útil de 1,5 L de café (Figura 11). Foram aspergidos em cada garrafa 15 mL de inóculo, sendo inóculos de FX 10 ou RX 60 e o controle sem adição de leveduras. Em seguida, as garrafas foram acondicionadas em ambiente de temperatura controlada, por tempos pré-determinados. O controle de temperatura externa das fermentações foi realizado por BOD (Tecnal, modelo TE-421). Ao final de cada fermentação amostras de 100 g foram retiradas das garrafas e armazenadas em ultrafreezer (-80°C), para as análises de açúcares, álcoois e ácidos. O café restante foi retirado das garrafas, lavado para cessar a fermentação e encaminhado para a secagem em terreiro suspenso.

Para avaliar a influência da temperatura e do tempo de fermentação nos metabólitos produzidos durante a fermentação e nos atributos sensoriais da bebida, foram realizados experimentos através de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Variou-se a temperatura externa e o tempo das fermentações utilizando o alfa de rotacionalidade de 1,4142, totalizando 11 experimentos para as fermentações induzidas com os inóculos de FX10 e RX60 e 11 experimentos para o controle (sem inóculo). Todas as fermentações foram realizadas em triplicata para se ter maior confiabilidade nos dados.

Escolheu-se como ponto central do planejamento um valor de temperatura comum nesta época do ano na cidade de Patos de Minas (julho), que é de 22°C, e a partir do ponto central, obteve-se as seguintes temperatura de 13,5; 16; 22; 28 e 30,48°C. O ponto central para o tempo de

fermentação, 72 h, foi escolhido baseado em estudos preliminares, em que foram obtidas bebidas de alta qualidade utilizando esta mesma cultivar e os mesmos inóculos. O tempo de fermentação variou de 38,05; 48; 72; 96 e 105,94 horas, valores encontrados na literatura (EVANGELISTA *et al.*, 2014; FILETE *et al.*, 2020).

Na Tabela 8 encontram-se os valores codificados e não codificados do DCCR. As variáveis independentes foram transformadas na sua forma adimensional de acordo com a equação codificada proposta para o tempo (1.2) e temperatura (1.3).

Tabela 8.Delineamento composto central rotacional (DCCR)

	Variável não Codificada		Variável Codificada		
	Tempo	Temperatura	Tempo	Temperatura	
FX CD ou RX CD ou CONTROLE	1	48(h)	16°C	-1	-1
	2	96(h)	16°C	1	-1
	3	48(h)	28°C	-1	1
	4	96(h)	28°C	1	1
	5	38,05(h)	22°C	- α	0
	6	105,94(h)	22°C	α	0
	7	72(h)	13,51°C	0	- α
	8	72(h)	30,48°C	0	α
	9	72(h)	22°C	0	0
	10	72(h)	22°C	0	0
	11	72(h)	22°C	0	0

$$t_i = \frac{t(h) - 72}{24} \quad (1.2)$$

$$T_i = \frac{T(^{\circ}\text{C}) - 22}{6} \quad (1.3)$$

Figura 11. Fermentações em estado sólido anaeróbia induzida (SIAF) utilizando frutos cereja descascados (CD) da cultivar Bourbon Vermelho realizadas no laboratório de Processos Fermentativos e Enzimáticos (LAPFE)- UFU- Patos de Minas.



Fonte: Autor, 2021.

4.3.Secagem

O processo de secagem (Figura 12) iniciou-se logo após o final da fermentação e foi realizado em terreno suspenso com altura de 60cm, até a umidade final dos grãos atingirem 10 a 12%, com duração média de 15 dias para completa secagem. Depois as amostras foram retiradas dos terrenos e armazenadas por 20 dias em sacos de juta ao abrigo de umidade e incidência de luz. Posteriormente aos 20 dias de descanso as amostras foram encaminhadas para a propriedade rural para o processo de remoção do pergaminho por um moinho mecânico (Modelo DRC; Pinhalense). Esta etapa transforma o cereja descascado em café verde cru sem classificação e em seguida os grãos crus foram armazenados até o momento das análises sensoriais.

Figura 12. Secagem dos cafés fermentados em terreiro suspenso e armazenamento em sacos de juta



Fonte: Autor, 2021.

4.3.1. Determinação de ácidos orgânicos, álcoois e açúcares

Os açúcares (sacarose, frutose e glicose), álcoois (glicerol, etanol), ácidos orgânicos (cítrico, málico, lático, succínico, acético, propiônico, butírico) foram analisados utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

As amostras de cafés coletadas ao longo da fermentação foram pesadas (10g) e colocadas em um Becker de 150mL com 90mL de água deionizada, em seguida trituradas em liquidificador industrial (Camargo, 2L 800W/22000rpm) por 2 minutos em temperatura ambiente. Os extratos foram decantados e centrifugados a 10.000 rpm, 17°C por 15 minutos em centrifuga (Heal Force, modelo Neofuge15R). As amostras foram filtradas em filtro de acetato de celulose de 0,22 µm e injetadas no sistema cromatográfico (HPLC) de marca Shimadzu, modelo LC-20A Prominence, coluna SUPELCOGEL C-610H (30 mm × 7,8 mm). A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa de ácido fosfórico a 0,1%, vazão do eluente de 0,5 mL/min, temperatura do forno de 32°C, duração de 35 min e volume de injeção de 20,0 µL. A concentração de açúcares e etanol foram determinadas por índice de refração e os ácidos foram detectados usando um detector de arranjo de fotodiódos (PDA) a 210 nm (LOPES., 2017). Os resultados foram processados usando o software LC-Solutions a partir de suas respectivas curvas de calibração. Todos os resultados obtidos foram em base seca.

4.3.2. Análise sensorial

Para a análise sensorial as amostras do grão verde foram classificadas de acordo com os protocolos de *Cupping Specialty Coffee Association* (SCA., 2015). Cada amostra foi torrada com 24 horas de antecedência para avaliação. A intensidade da torra foi média. Um painel de cinco especialistas em café treinados, com *Q-Grader Coffee Certificate*, avaliaram as amostras. A metodologia aplicada para avaliar o café foi conduzida segundo os padrões SCA, que avaliam dez atributos sensoriais: aroma, docura, geral, sabor, corpo, uniformidade, balanço, limpeza, acidez, finalização (SCA, 2015). Estas análises foram realizadas na Fazenda Chuá em Patos de Minas-MG.

4.4.Resultados e discussão

Com os dados experimentais obtidos pelo delineamento composto central rotacional (DCCR) realizou-se uma regressão múltipla obtendo um modelo matemático reduzido. Avaliou-se através do diagrama de Pareto as variáveis, tempo e temperatura, que influenciaram nas respostas analisadas ($p \leq 0,10$). Observou-se efeitos significativos do tempo e da temperatura no consumo dos açúcares, produção de álcoois e ácidos orgânicos durante o processo fermentativo, dentro das condições estudadas.

Nas Tabelas de 9 a 17, estão os ajustes do modelo matemático reduzido com os intervalos de tempo e temperatura com às regiões obtidas pelo ajuste do modelo aos dados experimentais que correspondem às melhores condições de resultado obtido para as concentrações de açúcares, álcoois e ácidos. O critério foi um número utilizado para delimitar os resultados dessas regiões obtidas pelos ajustes.

4.5.Influência do tempo e temperatura no consumo de açúcares ($p \leq 0,10$).

A concentração inicial da sacarose para os cafés cereja descascados foi de 15,13 (g/Kg) e o mínimo de sacarose obtido pelos modelos reduzido de regressão múltipla das fermentações utilizando leveduras FX10, RX60 e sem inóculo, foram 2,18; 2,84 e 1,62 g/Kg, respectivamente (Tabela 9). O café testemunha apresentou 14,53g/Kg de sacarose no final da secagem, indicando que ocorreu baixa hidrólise da sacarose sem o uso de fermentação controlada.

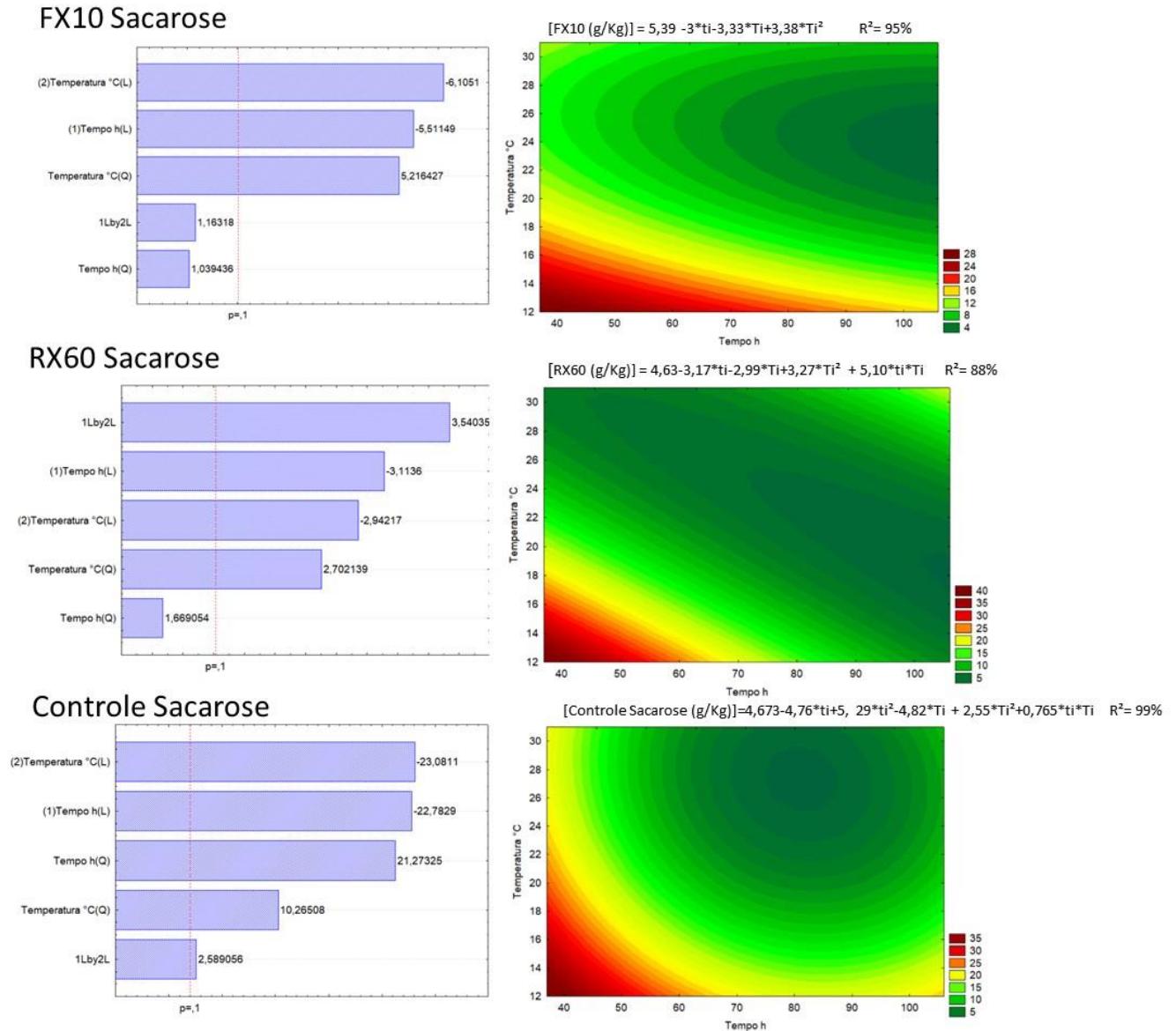
A partir dos resultados obtidos para a sacarose nos processos fermentativos com as leveduras FX10, RX60 e na fermentação controle observou-se que o maior consumo de sacarose durante a fermentação ocorreu nas regiões em verde escuro, demonstrados na Figura 13 e as melhores faixas de tempo e temperatura, conforme o modelo reduzido foram descritos na Tabela 9.

Pelas equações dos modelos reduzidos, presentes na Figura 13, constata-se que o aumento do tempo e da temperatura influenciaram na diminuição da concentração da sacarose para os três processos fermentativos. Em relação ao coeficiente de determinação encontrado foi de 95% para FX10, 88% para RX60 e 99% para o controle mostrando um bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

Tabela 9. Regiões de menor concentração de sacarose determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo nas fermentações com as leveduras FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de menor concentração de sacarose			Ponto de mínimo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério (g/Kg)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Valor (g/Kg)
FX10	77,73 < t < 105,94	19,43 < T < 28,22	<4	105,94	23,82	2,18
RX60	70,73 < t < 105,94	14,56 < T < 25,49	<4	105,94	18,13	2,84
Controle	74,82 < t < 87,73	24,99 < T < 29,65	<2	81,27	27,32	1,62

Figura 13. Concentração da Sacarose nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).



A concentração inicial da glicose para o café cereja descascado foi de 4,05 g/Kg. O tratamento denominado de testemunha alcançou uma concentração final de 0,72g/Kg no final do processo de secagem e fermentação ocorridos simultaneamente no período de 23 dias em terreiro suspenso, concentração mensurada pelo testemunha foi menor do que os valores encontrados nas fermentações com a levedura FX10 e controle como demonstrados na Tabela 10.

Em relação ao coeficiente de determinação, R^2 , para o modelo matemático em relação a concentração da glicose nas fermentações foi de 88%, 90% e 94% utilizando as leveduras FX10, RX60 e controle, respectivamente. A menor concentração de glicose encontrada nas

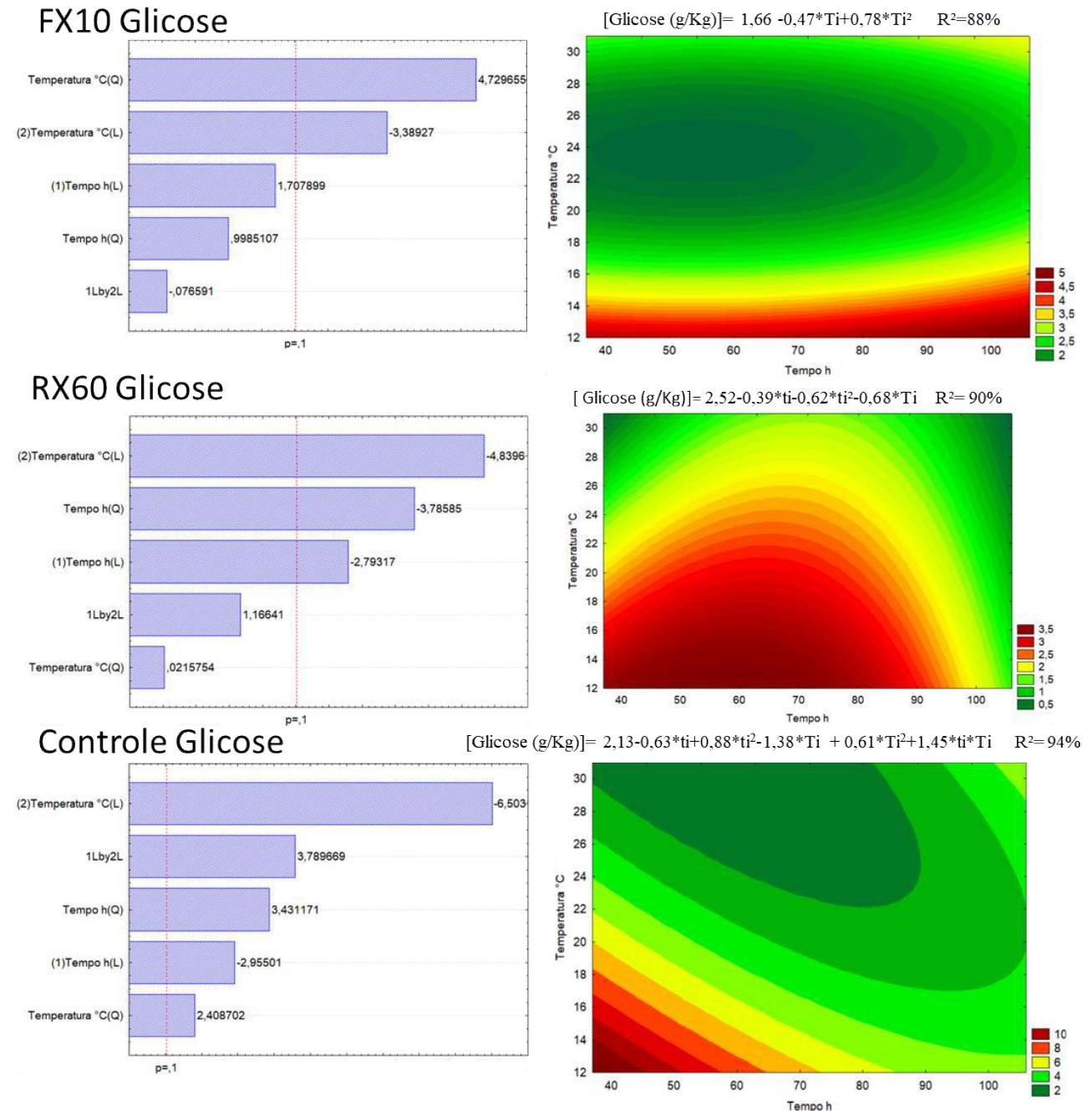
fermentações FX10, RX60 e controle foi obtida com a levedura RX60 e segundo o modelo reduzido a melhor região de consumo da glicose foi na temperatura de 30,48°C no tempo de 105,94h identificadas na Tabela 10.

Como observado no modelo matemático do ajuste reduzido aos dados experimentais citados na Figura 14, o aumento da temperatura influenciou no aumento do consumo da glicose nos três processos de fermentação e o aumento do tempo contribuiu para queda na concentração da glicose nas fermentações utilizando a levedura RX60 e fermentação controle.

Tabela 10. Regiões de menor concentração de glicose determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de menor concentração de glicose			Ponto de mínimo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério (g/Kg)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Valor (g/Kg)
FX10	41,11 < t < 67,68	22,16 < T < 25,11	< 1,6	54,43	23,63	1,55
RX60	38,05 < t < 105,94	16,74 < T < 30,48	< 1	105,94	30,48	0,22
Controle	38,05 < t < 89,36	22,10 < T < 30,48	< 2	58,30	30,48	1,09

Figura 14. Concentração da Glicose nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).



Em todos os tratamentos realizados pelo estudo em questão a concentração da frutose, ver Apêndice – A, foi maior em relação as concentrações da glicose e resultados semelhantes também foram observadas pelos pesquisadores Martinez *et al.*, (2017). Isso pode ser explicado por que o microrganismo consome primeiramente as fontes de glicose para depois consumir a frutose e também o nível de maturação do fruto cereja e o método de processamento utilizado podem influenciar na concentração dos açúcares (KNOPP *et al.*, 2006; QUINTERO *et al.*, 2012).

Elhalis *et al.*, (2020a) estudaram a influência da presença do antifúngico Natamicina nas fermentações de café com a cultivar Bourbon. Os autores encontraram nas fermentações sem Natamicina que a sacarose foi totalmente hidrolisada no final das fermentações, a glicose e frutose diminuíram 9% e 4%, respectivamente. Em comparação, as taxas de utilização dos açúcares foram muito mais lentas nas fermentações com a presença de Natamicina, onde os níveis de sacarose, glicose e frutose caíram para 5%, 13% e 12%, respectivamente.

Da Mota *et al.*, 2022 realizaram fermentação aeróbia auto induzida (SIAF) e o método convencional realizado com bombonas de Polietileno de alta densidade com a cultivar Catuaí amarelo, frutos cereja (C) e cereja descascado (CD), em 87 horas de fermentação sendo as amostras retiradas com temperaturas específicas de 18, 22 e 30°C. Segundo os autores, o método SIAF e o método convencional influenciaram na concentração dos compostos no café. No método SIAF com café cereja, as concentrações de sacarose observadas foram de 4,466 g/Kg em zero hora, 1,328g/Kg em 22h e não foi detectado em 87h. As concentrações de glicose foram de 9,806 g/Kg em zero horas, 4,358g/Kg em 22h e 0,448 com 87h. As concentrações de frutose observadas foram de 17,75 g/Kg em zero hora, 6,76 g/Kg com 22h e 1,31g/Kg final. No processo SIAF com o café cereja descascado, a sacarose foi detectada apenas no tempo inicial numa concentração de 0,548 g/Kg. Já as concentrações de glicose e frutose foram de respectivamente 4.581 e 4,84 g/Kg em zero hora, 1,152 e 0,21g/Kg com 22h e 0,939 e 0,06 g/Kg em 87h. No método convencional tanto nos cafés cereja e cereja descascado os açúcares foram praticamente todos consumidos com 22h para a sacarose, glicose e frutose com 87 horas.

Segundo Martinez *et al.*, (2017) no processo fermentativo ocorre uma hidrólise dos açúcares, uma vez que eles são consumidos pela microbiota afim de produzir metabolitos (ácidos, álcoois) que irão se difundir para o interior do grão modificando os perfis sensoriais.

4.6. Influência do tempo e temperatura na produção de Álcoois ($p \leq 0,10$).

No café cereja descascado, glicerol e etanol não foram detectados antes do processo fermentativo. Pelas equações dos modelos reduzido de regressão múltipla observa-se que para cada fermentação as variáveis tempo e temperatura influenciaram na concentração de glicerol e álcool de uma maneira específica.

As regiões de obtenção das maiores concentrações de glicerol obtidas no estudo pelo planejamento DCCR foram bem definidas, sendo destacadas na coloração vermelho escuro, como observado na Figura 15 para todos os processos fermentativos realizados tanto para as leveduras FX10 e RX60 e para o controle. Através do modelo matemático reduzido pode-se

obter a faixa experimental de tempo e temperatura onde as concentrações máximas encontradas foram de 1,29 g/Kg FX10, 1,58 g/Kg RX60 e 0,90 g/Kg para o controle. Em relação ao coeficiente de determinação R^2 foi 89% para FX10, 94% para RX60 e 96% para o controle.

Nas fermentações estudadas as concentrações de glicerol foram maiores nas fermentações utilizando os inóculos RX60 e FX10 se comparada à fermentação controle, como representados na Tabela 11. Nas fermentações com 105,94h de duração e temperatura de 22°C, foi mensurado zero concentração de glicerol para o controle e para a levedura FX10, já para a levedura RX60 foi mensurado 0,97g/Kg de glicerol, ver Apêndice – A, com os dados obtidos.

No café testemunha foi detectado a concentração de 0,21 g/Kg de glicerol com 23 dias em terreiro suspenso, o aumento da concentração indica que o glicerol é um produto obtido através do processo fermentativo, pois, ele não foi detectado anteriormente pela análise inicial do grão cereja descascado.

Nas fermentações utilizando as leveduras RX60 observa-se que a região de maior concentração alcançou resultados acima 1,4 g/Kg de glicerol, demonstrados na Tabela 11, próximo ao resultado que Elhalis *et al.*, (2020a) relataram, onde o glicerol, no processo fermentativo natural, sem inóculo, e em processo úmido, só foi detectado após 24h de fermentação na cultivar de café Bourbon, com concentração inicial de 0,9g/100g, e depois aumentou lentamente para 1,2g/100g no final da fermentação com tempo de 36h na ausência de um antifúngico Natamicina.

Os resultados obtidos nas fermentações com as leveduras FX10 e RX60 e fermentação controle, necessitaram de um tempo maior se comparada ao tempo obtido por VAZ., (2021) o qual relata que a maior concentração de glicerol observada foi entre o tempo de 30 a 50h de fermentação com temperatura acima de 24°C.

O resultado da concentração de glicerol encontradas nas fermentações com FX10, RX60 e controle ratifica que o glicerol só é encontrado quando o grão passa por um processo fermentativo (ELHALIS *et al.*, 2020a; ELHALIS *et al.*, 2020b).

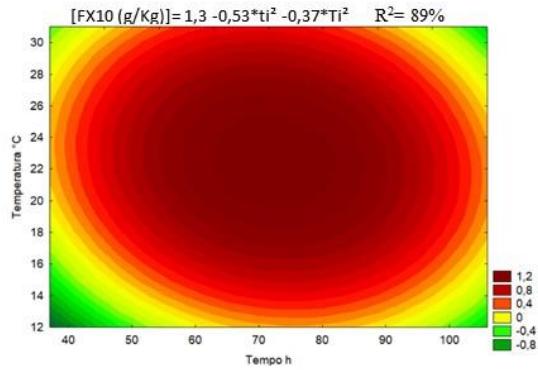
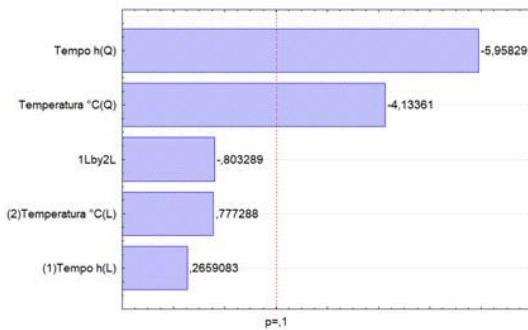
O glicerol é um poliol com um caráter incolor, inodoro e viscoso, além de ter uma sensação oleosa, confere corpo a bebida. Possui um gosto adocicado e contribui para qualidade e características sensoriais, porém, não impacta diretamente nas características aromáticas (ZHENG-XIANG *et al.*, 2001; SWIEGERS *et al.*, 2005; DU *et al.*, 2012).

Tabela 11. Regiões de maior concentração de glicerol determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

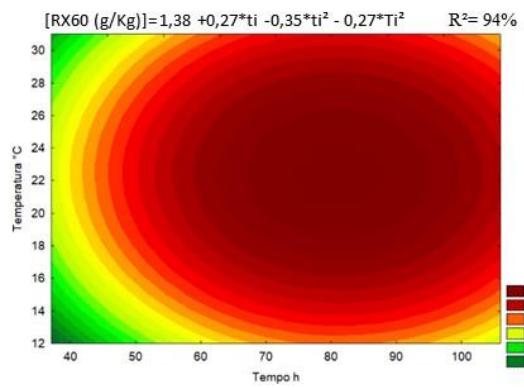
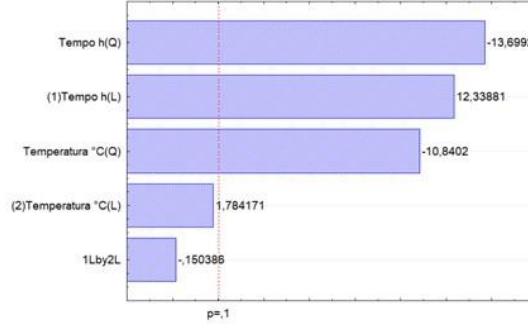
Fermentações	Faixa experimental com a região de maior concentração de glicerol			Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Valor (g/Kg)
FX10	62,24 < t < 82,36	19,47 < T < 25,49	>1,2	72,30	22,48	1,29
RX60	65,03 < t < 96,77	21,51 < T < 30,48	>1,4	80,93	26,08	1,58
Controle	59,39 < t < 84,60	22,21 < T < 30,48	>0,8	72,03	26,50	0,90

Figura 15. Concentração do Glicerol nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle (p ≤0,10).

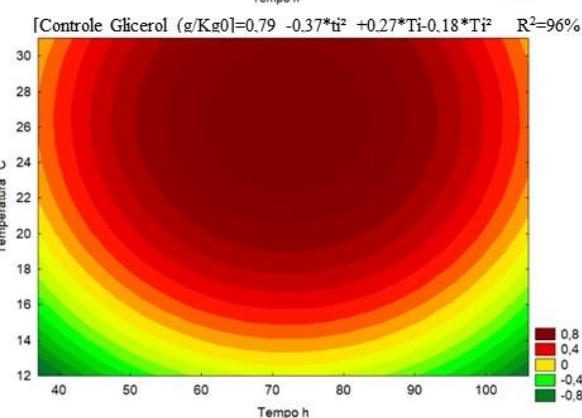
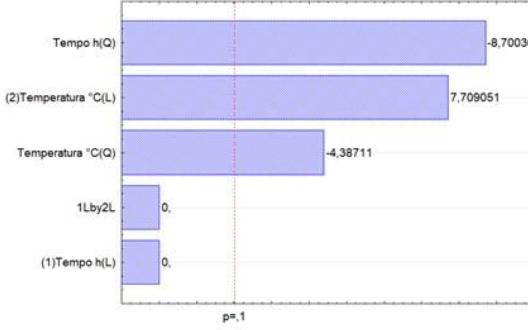
FX10 Glicerol



RX60 Glicerol



Controle Glicerol



Para a produção do etanol nas fermentações controle, sem inóculo, a região de maior concentração de etanol está dispersa ao longo do intervalo de tempo e temperatura estudado, já para as fermentações utilizando as leveduras FX10 e RX60 as regiões que apresentam maiores concentrações de etanol estão definidas na Tabela 12 e apresentadas em vermelho escuro na Figura 16.

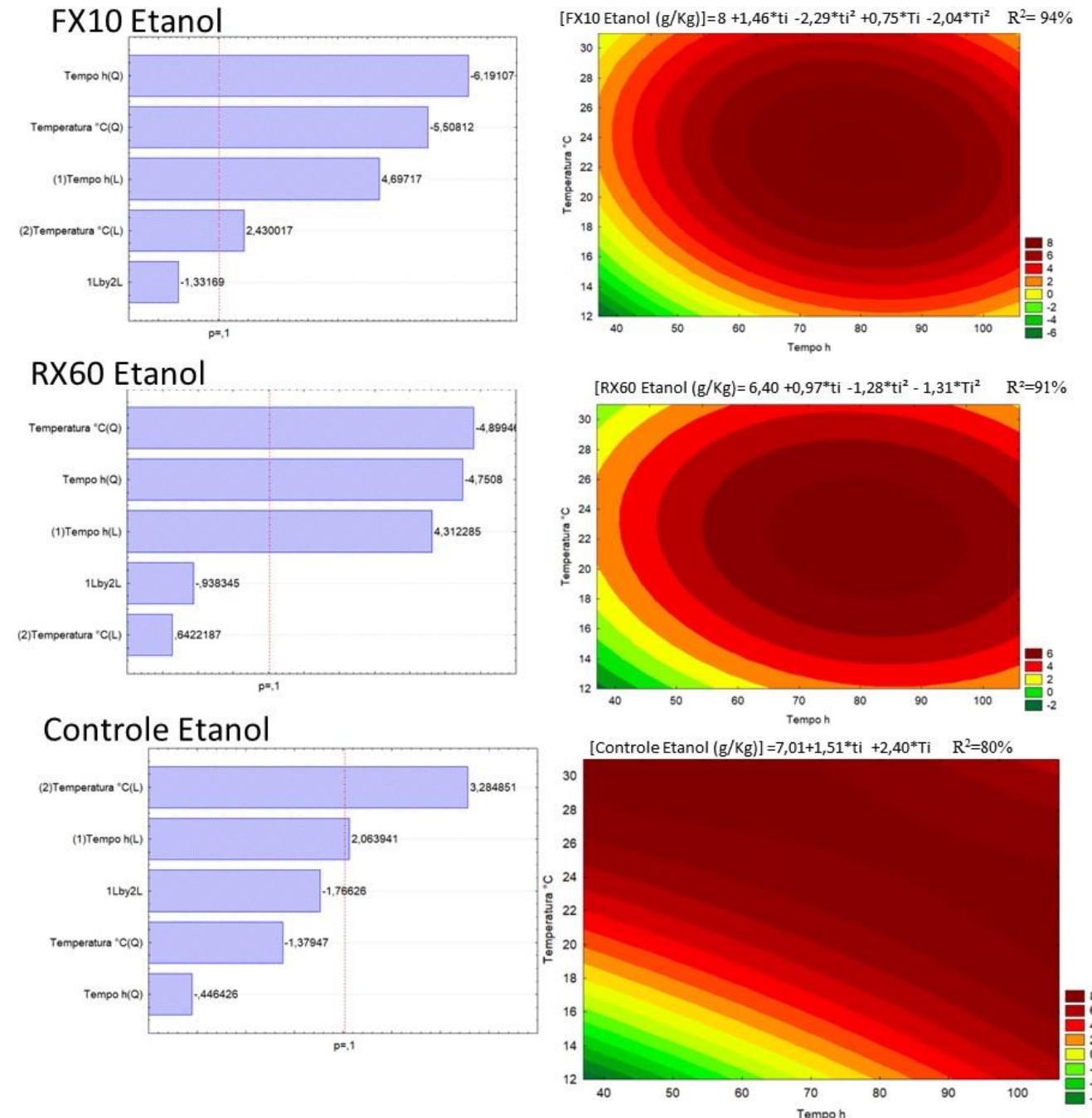
Observou-se que o aumento do tempo e da temperatura influenciaram no aumento da produção de etanol nas fermentações utilizando FX10 e controle, enquanto para as fermentações com leveduras RX60 a influência direta no aumento da produção de etanol foi apenas com o aumento do tempo, como pode-se observar pelo modelo matemático ajustado na Figura 16.

Inicialmente não detectou-se a presença de etanol no café cereja descascado e no final das fermentações as concentrações máximas obtidas pelo ajuste do modelo reduzido foram de 8,27 g/Kg FX10, 6,60 g/Kg RX60 e 8,73 g/Kg controle, evidenciados na Tabela 12. Em relação ao coeficiente de determinação R^2 foi 94% para FX10, 91% para RX60 e 80% para o controle.

Tabela 12. Regiões de maior concentração de etanol determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de maior concentração de etanol			Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério	Tempo	Temperatura	Valor
				(g/Kg)	(h)	(°C)
FX10	70,87 < t < 87,46	20,64 < T < 25,04	>8	79,16	22,84	8,27
RX60	64,76 < t < 97,58	18,01 < T < 26,15	>6	81,20	22,07	6,60
Controle	38,05 < t < 105,94	18,28 < T < 30,48	>8	39,68	30,48	8,73

Figura 16. Concentração do Etanol nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).



O etanol apresenta gosto levemente adocicado, auxiliando em estrutura para a bebida e dilui os compostos voláteis (FILHO, 2016). Durante a fermentação do café, os açúcares que são consumidos produzem álcoois no meio, o que favorece para um controle biológico evitando multiplicação de organismos indesejáveis. O etanol quando liberado adere na superfície do grão e inibe crescimento microbiano indesejável (Carvalho *et al.*, 2010). As leveduras principalmente, *Saccharomyces cerevisiae*, foram relatadas para responder a esses estresses

ativando diferentes genes reguladores de estresse, que quando em altas concentrações de etanol induz uma via de resposta de glicerol e o acumula como um soluto compatível (AVALLONE *et al.*, 2001b; HOHMANN *et al.*, 2009; SAITO & POSAS., 2012; BABAZADEH *et al.*, 2017; ELHALIS *et al.*, 2020).

Fleet. (2007) refere que o etanol produzido pelas leveduras estimula o crescimento de bactérias ácido acéticas que oxidam o etanol ao ácido acético. Este ácido é importante para inibir o grão, semente, e desencadear o metabolismo endógeno do grão que gera os precursores do sabor.

4.7.Influência do tempo e da temperatura na produção de ácidos orgânicos ($p \leq 0,10$).

Os ácidos orgânicos detectados nas fermentações FX10, RX60 e controle foram os ácidos cítrico, málico, succínico e acético. Já os ácidos lático, propiônico e butírico não foram detectados nas fermentações .

4.7.1. Ácido Cítrico.

A única região bem definida que maximiza a concentração de ácido cítrico, nos intervalos estudados de temperatura e tempo, foram demonstrados para as fermentações utilizando as leveduras RX60, observado na Figura 17. As concentrações de ácido cítrico tiveram influência significativa da temperatura para todas as fermentações estudadas, apresentada pelo modelo ajustado, o que demonstra ser uma variável importante para a obtenção desse ácido que pode ser relacionado com a acidez encontrada na xícara.,

Nas fermentações controle o aumento da temperatura implica em diminuição da concentração do ácido, observa-se que a maior concentração do ácido cítrico foi obtida para temperatura de 13,51°C (Tabela 13).

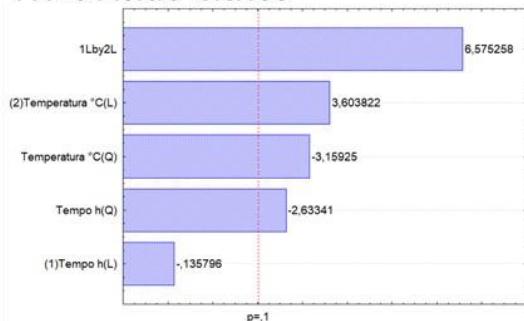
Em relação ao coeficiente de determinação R^2 foram encontrados 93%, 99% e 98% para as fermentações com a FX10, RX60 e controle, respectivamente. Inicialmente a concentração inicial do ácido cítrico para o cereja descascado foi de 2,53g/Kg e no final das fermentações as concentrações máximas obtidas foram de 6,98 g/Kg FX10, 5,83 g/Kg RX60 e 7,22 g/Kg controle, apresentando um grande aumento com o processo fermentativo. Porém os resultados encontrados nas fermentações foram menores em relação à testemunha que obteve a concentração final de 13,05 g/Kg.

Tabela 13. Regiões de maior concentração de ácido cítrico determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

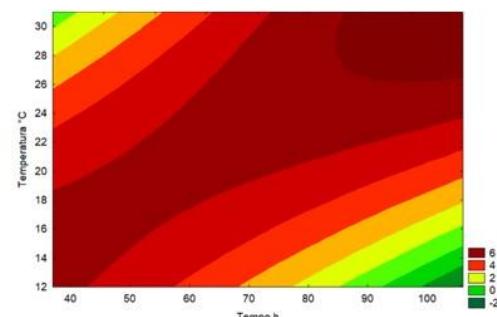
Fermentações	Faixa experimental com a região de maior concentração de ácido cítrico			Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Valor (g/Kg)
FX10	84,60 < t < 105,94	26,14 < T < 30,48	>6	105,94	30,48	6,98
RX60	54,22 < t < 91,53	17,34 < T < 28,79	>5	72,84	23,06	5,83
Controle	101,65 < t < 105,94	13,51 < T < 16,77	>7	105,94	13,51	7,22

Figura 17. Concentração do Ácido Cítrico nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).

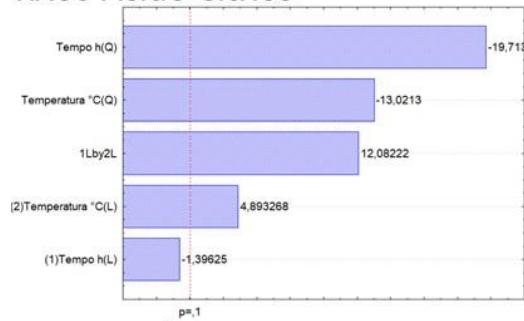
FX10 Ácido Cítrico



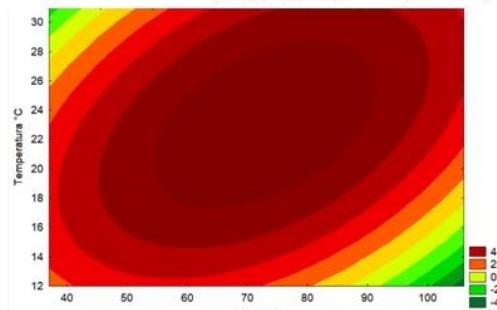
$$[\text{FX10 Ácido Cítrico (g/Kg)}] = 5,36 -0,53*t^2 +0,60*Ti -0,63*Ti^2 +1,56*t*Ti \quad R^2= 93\%$$



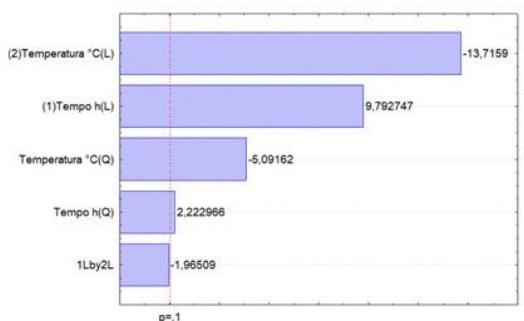
RX60 Ácido Cítrico



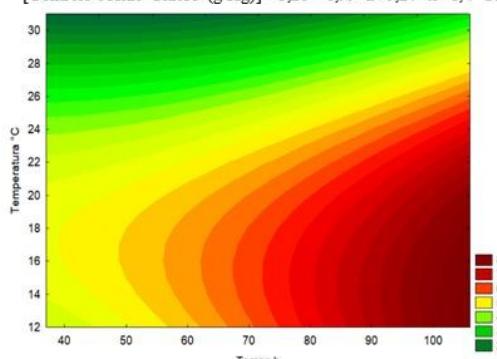
$$[\text{RX60 Ácido Cítrico (g/Kg)}] = 5,79 -1,72*t^2 +0,36*Ti -1,13*Ti^2 +1,25*t*Ti \quad R^2=99\%$$



Controle Ácido Cítrico



$$[\text{Controle Ácido Cítrico (g/Kg)}] = 5,20 +0,99*t +0,27*t^2 -1,4*Ti -0,61*Ti^2 \quad R^2= 98\%$$



4.7.2. Ácido Málico.

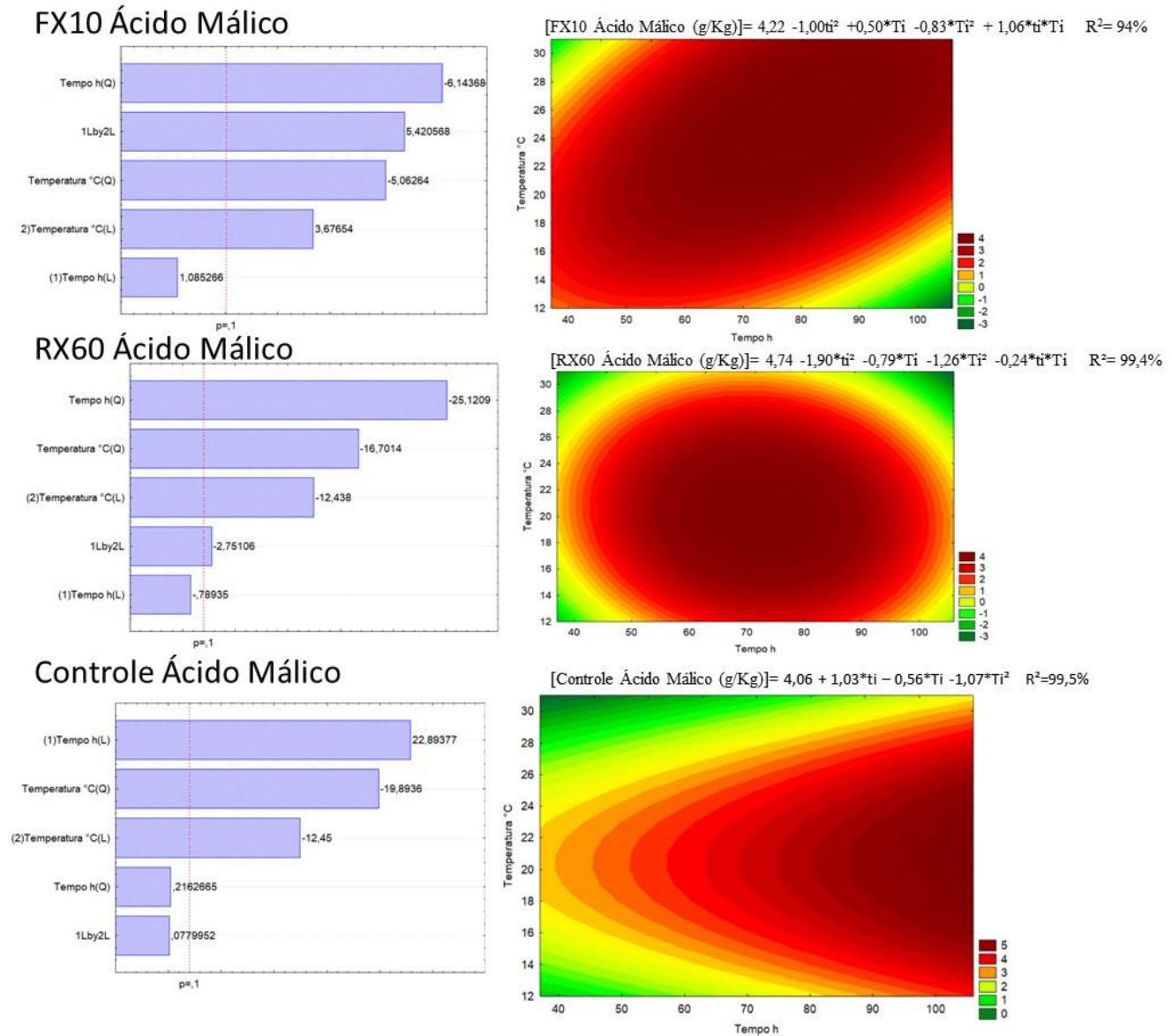
As concentrações máximas de ácido cítrico estão bem definidas para todas as fermentações apresentadas na Figura 18, sendo os critérios adotados para a obtenção dessa região de maior concentração que 4 g/Kg nas fermentações inoculadas e maior que 5 g/Kg no controle, Tabela 14 . A maior concentração de ácido málico encontrada pelo ajuste do modelo reduzido foi para a fermentação controle, 5,63 g/Kg na temperatura 20,34°C e 105,94 h, Tabela 14.

Observa-se que pelas equações do modelo em todas as fermentações o termo linear da temperatura foi significativo, sendo que nas fermentações RX60 e controle o aumento da temperatura influência na queda da concentração do ácido málico, ao contrário das fermentações com FX10. O aumento do tempo influenciou no aumento da concentração do ácido málico para as fermentações controle.

Tabela 14. Regiões de maior concentração de ácido málico determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de maior concentração de ácido málico			Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Valor (g/Kg)
FX10	62,45 < t < 98,60	20,22 < T < 30,19	>4	80,52	25,19	4,38
RX60	55,86 < t < 88,47	15,23 < T < 25,08	>4	72,16	20,15	4,87
Controle	91,67 < t < 105,94	15,74 < T < 24,94	>5	105,94	20,34	5,63

Figura 18. Concentração do Ácido Málico nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).



4.7.3. Ácido Succínico

O termo linear de tempo e temperatura foram significativos nos modelos para obtenção da concentração do ácido succínico para todas as fermentações estudadas, sendo que o aumento no tempo de fermentação implica em aumento da concentração do ácido, já o aumento da temperatura implica no aumento do ácido nas fermentações com FX10 e controle, e diminuição do ácido na fermentação RX60, demonstrados na Figura 19.

Nas fermentações utilizando as leveduras FX10 foi possível definir uma região ótima nos tempos e temperaturas estudados, sendo encontrada para valores de tempo 68,29 a 84,81h e temperatura 19,81 a 24,39°C, representados na Tabela 15.

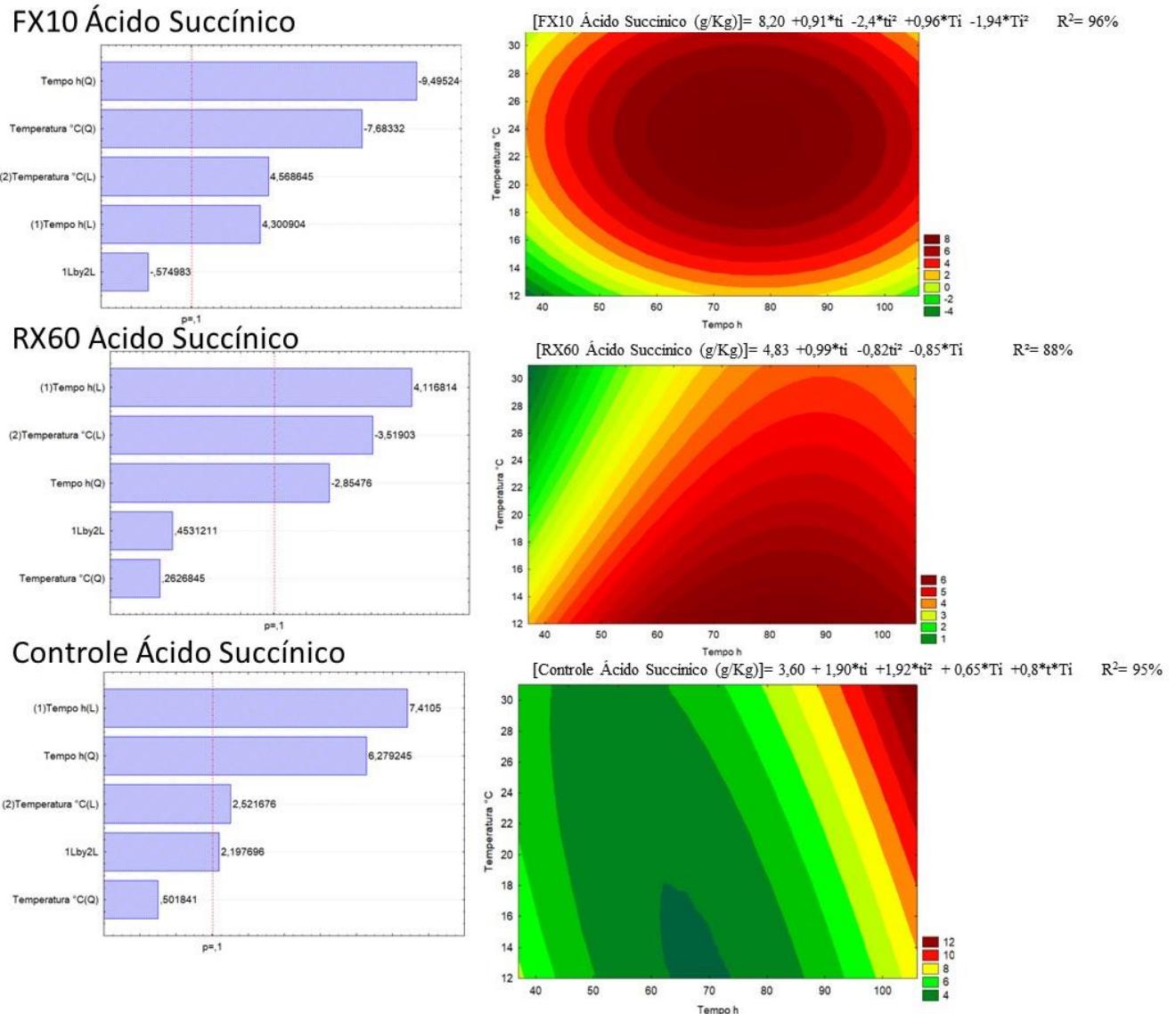
O coeficiente de determinação R^2 foi de 95%, 96%, 88% para as fermentações controle, FX10 e RX60, respectivamente, indicando um bom ajuste dos dados experimentais ao modelo, Figura 19.

No final das fermentações nas condições ótimas apresentadas na Tabela 15. As concentrações de ácido succínico obtidas foram de 8,28 g/Kg FX10, 9,79 g/Kg RX60 e 12,94 g/Kg controle, no testemunha foi mensurado uma concentração final de 1,08 g/Kg de ácido succínico, menor que os valores encontrados nas fermentações controladas.

Tabela 15. Regiões de maior concentração de ácido succínico determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de maior concentração de ácido succínico			Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério	Tempo	Temperatura	Valor
				(h)	(°C)	(g/Kg)
FX10	68,29 < t < 84,81	19,81 < T < 24,39	>8	76,51	22,10	8,28
RX60	46,61 < t < 93,91	13,51 < T < 18,19	>9	70,26	13,51	9,79
Controle	103,22 < t < 105,94	27,84 < T < 30,48	>12	105,94	30,48	12,94

Figura 19. Concentração do Ácido Succínico nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).



4.7.4. Ácido Acético

A região definida para obtenção das maiores concentrações de ácido acético apresentados na Figura 20, está bem definida para as fermentações com a levedura FX10 e controle, sendo elas definidas para concentrações maiores que 6 e 4 g/Kg, respectivamente na Tabela 16. As influências das variáveis tempo e temperatura na concentração de ácido acético foram específicas para cada processo fermentativo, é o que demonstra os modelos ajustados

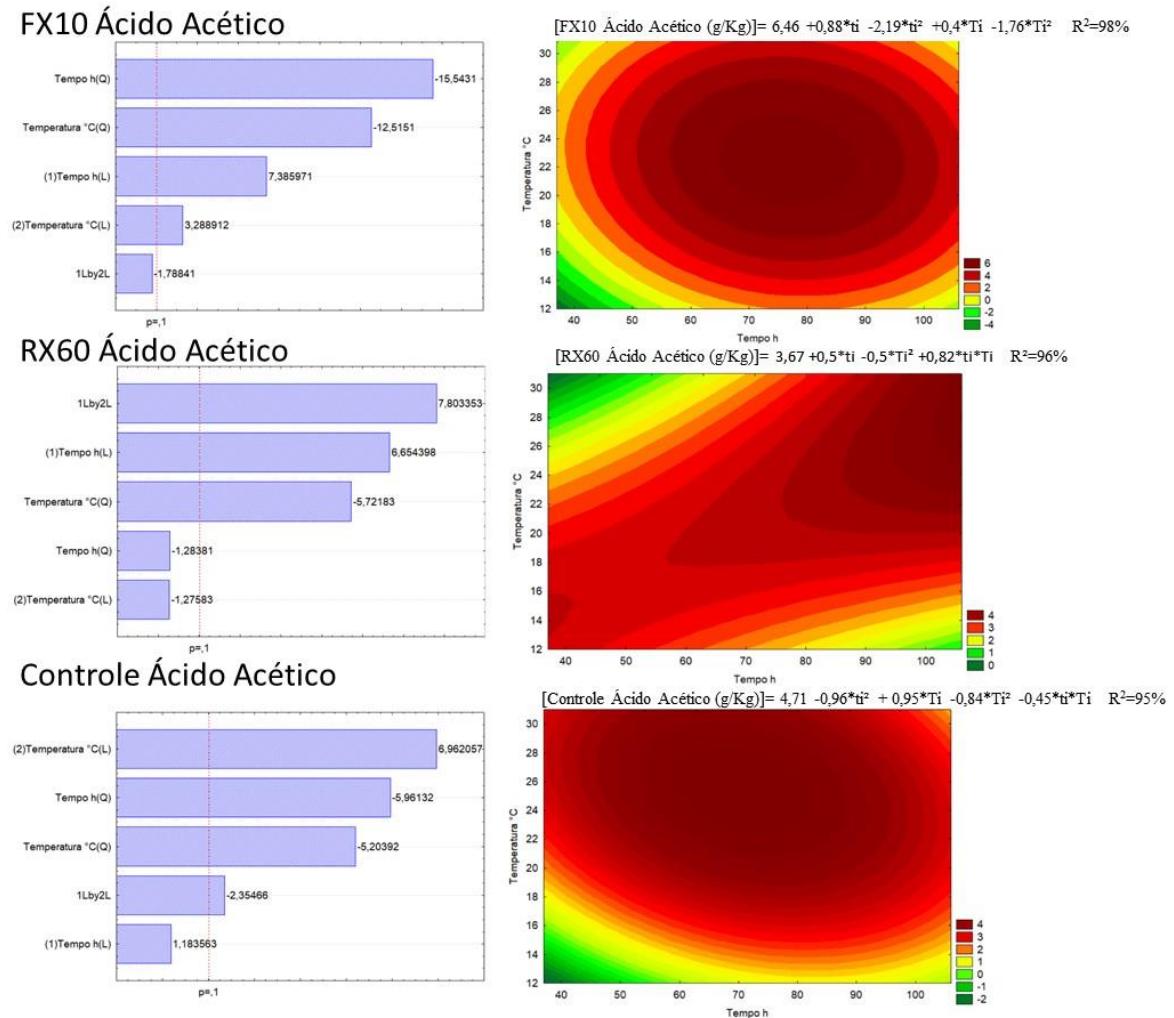
O coeficiente de determinação R^2 foi 98%, 95%, 96% para as fermentações com a FX10, controle e RX60, respectivamente, indicando um excelente ajuste dos dados experimentais ao modelo reduzido obtido.

A concentração inicial do ácido acético para o cereja descascado foi de 0,5g/Kg e as concentrações finais máximas obtidas foram 6,56; 4,70; 4,98 e 12,22 g/Kg, para fermentações com FX10, RX60, controle e testemunha. Observa-se que o valor encontrado nos cafés que não passaram pelo processo de fermentação controlada encontrara valores bem maiores da concentração de ácido acético o que pode influenciar na qualidade da bebida.

Tabela 16. Regiões de maior concentração de ácido acético determinadas a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo na fermentação FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de maior concentração de ácido acético				Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Critério (g/Kg)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Valor (g/Kg)	
FX10	64,48 < t < 88,88	19,18 < T < 25,97	>6	76,65	22,58	6,56	
RX60	86,30 < t < 105,94	21,26 < T < 30,48	>4	105,94	28,29	4,70	
Controle	45,73 < t < 95,75	18,79 < T < 30,48	>4	70,74	25,48	4,98	

Figura 20. Concentração do Ácido Acético nas fermentações utilizando FX10, RX60, Controle ($p \leq 0,10$).



No presente estudo constatou-se concentração dos ácidos cítrico, málico, succínico e acético no café cereja descascado iguais a 2,54; 1,76; 0,74 e 0,49, respectivamente, estes são considerados como os ácidos dos grãos verdes favorecendo características sensoriais do café (BRESSANI et al., 2020)

O ácido málico, acético e succínico detectados neste trabalho provavelmente aumentaram a acidez no produto final contribuindo para uma boa avaliação na análise sensorial (EVANGELISTA et al., 2014).

As culturas iniciadoras *S. cerevisiae* FX10 e RX60 não favoreceram a produção de ácidos indesejáveis como o ácido butírico e propiônico, portanto influenciaram positivamente a qualidade final do café sendo muito promissor para uso como inoculadores na fermentação do café. A acidez desejável, como ácidos cítricos e málicos, auxilia para formação do frescor

do sabor frutado, a percepção da doçura, e o brilho percebido no sabor (VANDENBERGHE *et al.*, 2018; FARAH & DE LIMA, 2019).

Da Mota *et al.*, (2022) realizaram fermentação aeróbia auto induzida-SIAF com 22 h de fermentação o ácido cítrico, ácido acético e ácido málico foram detectados em concentrações mais elevadas no café cereja, enquanto o ácido cítrico foi detectado apenas no café cereja descascado. O ácido succínico manteve uma concentração constante nas primeiras 22h de fermentação no café cereja descascado. No final da fermentação, ácido málico, etanol e glicerol não foram detectados para nenhum dos experimentos.

Bressani *et al.*, (2020) realizaram um estudo de fermentação com quatro leveduras dentre elas a *S. cerevisiae* (CCMA 0543) nos dois tipos de processamento cereja (C) e cereja descascado (CD) com as cultivares Bourbon amarelo (BA) e Canário amarelo (CA) no período de 40h e temperatura de 15 a 27 °C (BA) e 18 a 28°C (CA). Em relação a levedura *S. cerevisiae* (CCMA 0543) o ácido cítrico na cultivar BA obteve concentração inicial e final, respectivamente, de 3,82 - 0,75g /Kg, na BA (C), 0,82 - 1,43g/Kg BA (CD), 1,18 - 1,46g /Kg CA (C) e 0,65 - 2,08g/Kg CA (CD). Em relação ao ácido málico a concentração inicial e final foi de 2,21 - 0,15g/Kg, na BA (C), 0,37 - 0,20g/Kg BA (CD), 3,90 - 0,18g/Kg CA (C) e 0,46 - 0,03g/Kg CA (CD). Em relação ao ácido succínico a concentração inicial e final, respectivamente, foi de 1,60 - 0,09g/Kg, na BA (C), 0,33 - 0,15g /Kg BA (CD), 0,18 - 0,17g /Kg CA (C) e 0,42 - 0,12g /Kg CA (CD).

Evangelista *et al.*, (2014) utilizou a *S. cerevisiae* UFLA YCN727, *S. cerevisiae* UFLA YCN724 nos processamentos cereja e cereja descascado com a cultivar Acaíá e foram detectados os ácidos cítrico, málico, succínico e acético. O ácido cítrico e o ácido málico foram detectados na fermentação inicial 0,57g/kg para o ácido cítrico e 0,15g/Kg para o málico que foi detectado apenas no tempo inicial. No tempo de 321h foi mensurado 0,02g/kg de ácido cítrico e não foi detectado no tempo final de 720h. O ácido succínico foi detectado no início com a 0,29g/Kg, 0,94g/Kg com 312h e 0,47 g/Kg com 720h. O ácido acético não foi detectado no início, 0,34g/Kg com 312h e 0,10g/Kg com 720h para a *S. cerevisiae* UFLA YCN727. Para a segunda levedura *S. cerevisiae* UFLA YCN724 também foram encontrados os mesmos ácidos. O ácido cítrico foi mensurado nas concentrações de 0,46g/Kg no tempo inicial, 0,06g/Kg no tempo de 312h e não foi detectado no tempo final de 720h, o ácido málico 0,23g/Kg no tempo inicial apenas. O succínico foi detectado 0,93g/kg no tempo inicial, 0,52 g/Kg no tempo de 312h e 0,10 no tempo de 720h. O acético não foi detectado no tempo inicial, 0,08g/Kg no tempo de 312h e 0,21g/Kg no tempo 720h.

Bressani *et al.*, (2021) em seu estudo com a cultivar Catuaí Vermelho IAC-44 detectou a concentração de ácido cítrico que variou de 2,78 a 4,65 g/Kg antes do processo de fermentação. Após a fermentação com *S. cerevisiae* CCMA 0543 em um biorreator fechado, juntamente com o controle apresentaram queda na concentração de ácido cítrico, indicando o consumo desse ácido em condições anaeróbias. Resultado diferente ao obtido no estudo com as leveduras *S. cerevisiae* FX10 e RX60 que apresentaram um aumento na produção do ácido cítrico.

O consumo de ácido cítrico e málico pode indicar uma mudança no metabolismo microbiano por meio do uso de outras vias metabólicas, como nas fermentações vegetais e frutíferas (ZHANG *et al.*, 2019). O ácido málico confere a bebida um sabor leve, menos ácido que o ácido cítrico, e é mais persistente, com notas frutadas, principalmente maçã verde (FARAH & DE LIMA, 2019). Além disso, as leveduras também podem consumir ácido málico convertendo em etanol por desacidificação malo-etanol (VILELA, 2017).

A produção de ácido succínico por levedura é feita principalmente pelo ciclo glicerato e pelo ciclo de redução do ácido cítrico (JAYARAM, CUYVERS, VERSTREPEN, DELCOUR, & COURTIN, 2014). Em concentrações moderadas, o ácido acético também contribui para formação de aroma frutados, vinhosos (SENINGE & CHAMBERS, 2020). Segundo Gänzle, 2015, o ácido málico pode ser convertido em ácido láctico através da fermentação malolática, porém o ácido láctico não foi detectado no presente estudo com as leveduras FX10 e RX60 e nem no controle, enquanto o ácido cítrico pode ser convertido em ácido láctico e/ou ácido acético, seguindo o metabolismo do piruvato, ou ácido succínico através do ramo redutivo do ciclo do ácido tricarboxílico.

Segundo Yeager *et al.*, 2021 na revisão dos ácidos orgânicos presentes no café, referem que não existe um critério universal para definir os níveis de ácidos encontrados nos grãos de café, tornando-o especialmente difícil de comparar as concentrações que dependem de vários fatores como ambientes, cultivar, manejo e nutrição do cafeeiro, método de colheita e processamento, secagem e torra. Portanto, são muitos fatores que aumentam a complexidade de se definir uma faixa ótima para a produção dos ácidos orgânicos no café.

Como observado no presente estudo, a acidez desempenha um papel importante que precisa estar em equilíbrio, pois, a acidez adiciona uma maior complexidade e profundidade na avaliação da análise sensorial da bebida de café. Sabe-se que no café existem muitos ácidos, no entanto, o perfil ácido de uma xícara é definido e moldado ao longo da cadeia de produção, desde a semente, passando pelo fruto até o grão verde. Então, todos esses fatores afetam tanto o tipo quanto a quantidade de acidez percebida pela avaliação sensorial na bebida final.

4.8.Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada conforme o protocolo de *Cupping Specialty Coffee Association* (SCA., 2015). Constou pela avaliação física onde a cor de todos os experimentos apresentaram-se com coloração verde azulado característico de cafés normais, a aparência normal e sem odor estranho.

Nas análises de superfície de resposta para as fermentações apresentadas na Figura 21, observa-se a região de maior nota na coloração vermelho escuro, cujos intervalos das regiões são específicos para cada fermentação, na Tabela 17. É interessante observar que a temperatura de 25°C é comum em todos os intervalos de maximização da nota para as fermentações estudadas. Para a levedura FX10 a melhor faixa que se obteve para produção de cafés especiais foi no tempo de 90,85 a 97,79 horas e temperatura de 26,37 a 28,99°C com nota final acima de 84,0 pontos.

Os critérios adotados para obtenção das regiões de maior nota obtida pelo modelo matemático ajustado aos dados experimentais foram maiores que 84 pontos para as fermentações com FX10, maior que 85 pontos para RX60 e maior que 83 pontos para o controle, conforme demonstrado na Tabela 17. Os cafés que alcançaram a maior pontuação, 85,27 pontos, foram aqueles das fermentações com leveduras RX60 à 73,25 horas na temperatura de 26,76°C.

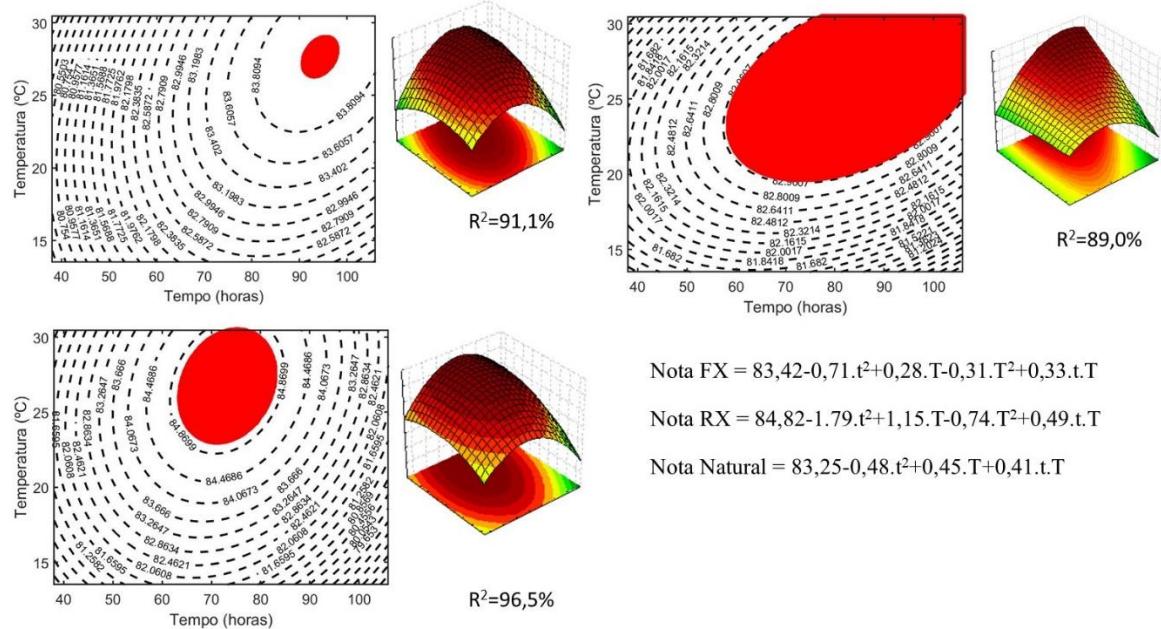
Tabela 17. Regiões de melhor nota determinada a partir da superfície de resposta que apresenta o efeito da temperatura e do tempo nas análises sensoriais com as fermentações FX10, RX60 e controle, do café Bourbon Vermelho.

Fermentações	Faixa experimental com a região de maior nota			Ponto de máximo		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Nota	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Nota
FX10	90,85< t < 97,79	26,37 < T < 28,99	>84	94,32	27,68	84,01
RX60	63,67 < t < 82,77	23,06 < T < 30,48	>85	73,25	26,76	85,27
Controle	58,51 < t < 105,94	19,69 < T < 30,48	>83	83,51	25,72	83,44

Os coeficientes de determinação R² obtidos foram 91%, 96% e 88% para Fx10, RX60 e controle, respectivamente.

De acordo com a metodologia SCA, as amostras com pontuação maior ou igual a 80 pontos são classificadas como cafés especiais - muito bom quando as pontuações estão na faixa de 80-84 pontos e excelente para pontuações de 85 a 89 pontos (BOREM *et al.*, 2021).

Figura 21. Superfície de resposta obtida através da avaliação sensorial ($p \leq 0,10$).



Nos experimentos centrais, apresentados na Tabela 18, utilizou-se 72 horas de fermentação com temperatura de 22°C obteve-se pontuações médias muito próximas entre os fermentados com as leveduras FX10 (83,42) e Controle (83,25), já para as fermentações com leveduras RX60 apresentaram pontuação média de 84,8 pontos, sendo esta levedura mais promissora para obtenção de cafés especiais.

Tabela 18. Média das notas finais nos tratamentos FX10, RX60 e Controle

Experimentos		(<i>S. Cerevisiae</i>) FX10	(<i>S. Cerevisiae</i>) RX60	Controle Sem inóculo
Tempo	Temperatura	Total	Total	Total
1	48(-1)	16(-1)	82,25±0,58	81,87±0,39
2	96(+1)	16(-1)	81,81±0,83	80,33±0,53
3	48(-1)	28(+1)	82,12±1,46	82,87±0,82
4	96(+1)	28(+1)	83±1,59	83,31±1,01
5	38,05(-α)	22(0)	82±0,25	81,62±1,13
6	105,94(+α)	22(0)	82,25±1,02	81,25±0,77
7	72(0)	13,51(-α)	82,5±0,84	81,68±1,69
8	72(0)	30,48(+α)	83,33±1,26	85,37±1,78
9	72(0)	22(0)	83±0,57	85,25±1,22
10	72(0)	22(0)	83,75±1,15	85±1,03
11	72(0)	22(0)	83,5±1,14	84,2±1,10

Os dados experimentais na Tabela 18 mostraram que nos pontos centrais de todas as fermentações apresentaram os melhores resultados sensoriais. Um experimento denominado de testemunha, onde o processo de fermentação e secagem ocorrem simultaneamente no terreiro, foi utilizado para comparar com os resultados dos experimentos. Essa testemunha obteve pontuação sensorial de 81 pontos, resultados que indicam que utilizando o processo de fermentação controlada com as leveduras *S. cerevisiae* FX10, RX60 e sem inóculo, apresentaram melhores resultados sensoriais em detrimento do testemunha.

Bressani *et al.*, (2019) obteve pontuação de 84 pontos em cafés inoculados com *S. cerevisiae* CMA0543 no processamento seco. Carvalho Neto *et al.*, (2018) relatou em seu estudo que ao controlar a temperatura em 30°C, no processamento úmido conseguiu melhorar a qualidade do café.

Evangelista *et al.*, (2014) em seu estudo com a cultivar Acaiá e as leveduras *S. cerevisiae* UFLA YCN727, *S. cerevisiae* UFLA YCN724, *C. parapsilosis* UFLA YCN448 e *Pichia guilliermondii* UFLA YCN731 no processamento semisseco obtiveram que no café inoculado com UFLA YCN448 e o controle do café com UFLA YCN727 marcaram 80 pontos no geral, o que indica uma qualidade boa do café. Já o café inoculado com UFLA YCN724 e UFLA YCN731 obtiveram pontuação total de 79,33 e 74,17, portanto não sendo considerado como especial.

Ribeiro *et al.*, (2017) utilizaram as leveduras *S. cerevisiae* CCMA 0543 e CCMA 0200 com as cultivares ouro amarelo (OA) e mundo novo (MN) também no processamento semisseco por um período de 284 h. O café mundo novo apresentou pontuação total de 84,25 (controle), 80,13 inoculados com CCMA 0200 e 82,63 inoculados com CCMA 0543. Para a cultivar ouro amarelo foram de 81,38 pontos para o controle, 83,25 inoculados com CCMA 0200 e 82,88 para a fermentação com CCMA 0543, respectivamente.

Martinez *et al.*, (2017) utilizaram três leveduras para fermentação *S. cerevisiae* (CCMA 0543), *C. parapsilosis* (CCMA 0544) e *T. delbrueckii* (CCMA 0684) na variedade Catuaí amarelo no processamento semisseco com o tempo de 352 h. Alcançaram resultados sensoriais parecidos não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos e os métodos de inoculação. Porém, todos os tratamentos obtiveram pontuação acima de 80. As bebidas de cafés produzidas obtiveram pontuações de 81,4 para o controle, 81,0 para a *T. delbrueckii* (CCMA 0684), 81,3 com *C. parapsilose* (CCMA 0544) e 81,4, com a *S. cerevisiae* (CCMA 0543).

Muitas vezes a descrição científica da acidez com a descrição da acidez sensorial do café é confundida. Na ciência, a acidez é classificada em uma escala de pH onde abaixo de 7 é

considerado ácido, acima de 7 é considerado básico e igual a 7 é considerado neutro. No entanto, essa percepção na análise sensorial do café não costuma-se pensar onde ele cai na escala de pH. Portanto, mesmo quando o pH indica um certo nível de acidez, a experiência sensorial pode ser percebida de maneira diferente (SIVETZ *et al.*, 1979). E nesse contexto, a análises dos ácidos orgânicos, a acidez predominante foi a cítrica, e os atributos sensoriais mais relevantes destacados pelos *Q-grades* em relação as análises do café Bourbon Vermelho com as leveduras FX10 e RX60 e o controle estão apresentados na Tabela 19.

As leveduras FX10 e RX60 tiveram um papel fundamental visto que aprimoraram os atributos da cultivar Bourbon Vermelho que é conhecida pelo seu sabor adocicado, que pelo processo de quebra dos carboidratos, durante a torra, produzem os furanos que explicam os aromas doces e caramelo, notas de chocolate e avelãs. Em relação ao testemunha os atributos sensoriais descritos pelos *Q-grades* foram avelã, chocolate ao leite, caramelo, limão e chá preto, o que não houve muita diferença dos atributos característicos da cultivar Bourbon Vermelho, exceto pelo limão e o chá preto que pode ter sido mais evidente pelos altos níveis de ácido cítrico 13g/Kg.

Segundo dados do Laboratório LAFFORT a levedura FX10, ver Apêndice – C, é recomendada para vinhos elegantes e estruturados destinados ao envelhecimento, e definido pela sua elegância, combinando estrutura, paladar e intensidade da cor e possui tolerância a alta temperatura, garantindo uma fermentação segura mesmo em condições desfavoráveis. E a levedura RX60, ver Apêndice – D, é indicada para vinhos tintos frutados e picantes com boa sensação na boca, possui alta tolerância ao álcool presente no meio fermentativo e adaptado a fermentação em condições adversas. E possui alta produção de aroma frutado.

Tabela 19. Análise sensorial realizadas pelos *Q-Graders*

Análise Sensorial					
FX10	Avelã	Chocolate amargo	Creme	Nozes	
	Amêndoas	Cacau	Flor de laranjeira	Rapadura	
	Baunilha	Castanha	Manteiga	Limão	
	Caramelo	Creme de leite	Mel		
RX60	Chocolate	Cereal	Morango		
	Avelã	Chocolate ao leite	Chocolate amargo	Laranja	Vinho tinto
	Amendoim	Chocolate	Doce de leite	Nozes	
	Amêndoas	Caramelo	Floral	Pimenta	
	Baunilha	Cereal	Frutado	Pão torrado	
Controle	Cacau	Chá de rosas	Frutas amarelas	Rapadura	
	Avelã	Chocolate	Herbal	Morango	

Amêndoas	Castanha	Laranja	Nozes
Baunilha	Frutas amarelas	Licores	Uva
Caramelo	Floral	Mel	Vinho

Na Tabela 20 estão apresentados os atributos sensoriais encontrados em diversos processamento fermentativos com a leveduras *S. cerevisiae*, que foram isoladas do próprio café a *S. cerevisiae* CCMA 0543 foi isolada da cultivar Acaíá que é a antiga *S. cerevisiae* YCN727, e a *S. cerevisiae* YCN724 que foi isolada da cana de açúcar, em diferentes cultivares, tempos e temperaturas da literatura.

Tabela 20. Efeitos da fermentação em diversas cultivares com inoculação da *S. cerevisiae*.

Autores	Cultivar	Processamento	Microrganismos	Temperatura/ Tempo	Atributos Sensoriais
Bressani <i>et al.</i> , (2021)	Mundo Novo	Seco / semisseco	<i>S. cerevisiae</i> (CCMA 0543)	27 h 16,5°C a 24 °C(massa) 18 a 22 °C(ambiente)	Acidez, doçura média a alta, corpo denso a médio e predomínio de ácido málico (seco), ácido cítrico, Frutas cítricas, açúcares caramelizados (semisseco)
Martinez <i>et al.</i> , (2021)	Catuaí Vermelho	Seco/Semisseco	Natural / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CCMA 0543	16h 23 a 27°C	Chocolate, frutado, floral, ameixa e pêssego (Nat)
Da Mota <i>et al.</i> , (2020)	Bourbon Amarelo, Catucaí e Rubi	Seco/Semisseco	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (CCMA 0543)	70 h 18°C, 22°C e 30°C	Corpo, acidez, doçura
Bressani <i>et al.</i> , (2018)	Catuaí amarelo	Seco	<i>S. cerevisiae</i> 0543	16h	Notas sensoriais exóticas de caju
Martinez <i>et al.</i> , (2017)	Catuaí Amarelo	Semisseco	<i>S. cerevisiae</i> 0543	Temperatura ambiente/ 352h	sabores e cheiros parecidos com frutas, doces, caramelos, nozes e florais
Pereira <i>et al.</i> (2015)	Catuaí	Úmido	<i>Saccharomyces sp.</i>	Temperatura ambiente / 24h	Produção de bebidas de café com altas pontuações sensoriais para frutas, amanteigadas
Evangelista <i>et al.</i> , (2014b)	Acaíá	Semisseco	<i>S.cerevisiae</i> YCN724 e 727	Temperatura ambiente/ 720h	sabor frutado caramelado seguido pelo sabor amargo

Observa-se pelos resultados sensoriais apresentados na Tabela 20, a influência do tempo e da temperatura nas características sensoriais relatadas nos trabalhos científicos, o que corrobora com o objetivo do presente estudo que foi detectar essa influência no café Bourbon vermelho cereja descascado. Assim, as fermentações conduzidas pelas leveduras FX10 e RX60 comerciais inoculada na cultivar do café Bourbon Vermelho contribuíram positivamente para formação de novos atributos sensoriais, como evidenciados na Tabela 19 de avaliação dos *Q-Graders* que os qualificam como especiais.

4.9. Conclusão

Como apresentado pelo estudo, as leveduras FX10 e RX60 obtiveram um papel fundamental para a produção de bebidas com qualidade superior bem como para o aumento dos atributos sensoriais.

A cultivar Bourbon Vermelho se mostrou apta para a produção de cafés fermentados com características sensoriais positivas.

A influência do tempo e temperatura nos resultados das fermentações controle e com os inóculos FX10 e RX60 foi constatada nas análises sensoriais do café, nas concentrações de ácidos orgânicos obtidos, no consumo de açúcares e na produção de álcoois.

A fermentação realizada nos biorreatores obteve um impacto positivo pois manteve o ambiente controlado e favorável para o desenvolvimento das leveduras em consumir os açúcares presentes no meio e produzir os ácidos orgânicos do café como ácido cítrico, málico e succínico e obter atributos sensoriais definidos pelos *Q-graders*.

As concentrações de açúcares, álcool e ácidos orgânicos estudados pelo delineamento composto central rotacional com tempo e temperatura fixos não apresentaram concentrações próximos ao da literatura. E em relação a análise sensorial o tempo e a temperatura que obtiveram as bebidas com melhores pontuações foram 72h e 26°C, respectivamente, com pontuação de 85,27 pontos com a levedura RX60, já para as bebidas fermentadas com a levedura FX10 o tempo foi de 94h e a temperatura de 27°C que alcançaram pontuações de 84,01 pontos e para o controle o tempo de 83h e temperatura de 25°C obtiveram pontuações de 83,44 pontos. Portanto, as leveduras RX60 e FX10 que alcançaram melhores pontuações em relação ao testemunha que obteve 81 pontos.

A utilização das leveduras FX10 e RX60 não favoreceram o desenvolvimento dos ácidos butírico e propiônico que são associados ao gosto estranho na bebida como cebola, iodofórmio, que podem depreciar a qualidade e desclassificar os cafés como especiais.

Portanto, as leveduras FX10 e RX60 podem ser utilizadas como culturas iniciadoras, com segurança, por manter os padrões de qualidade da bebida.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

- AVALLONE, S., GUYOT, B., BRILLOUET, J.-M., OLGUIN, E., & GUIRAUD, J.-P. (2001b). Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. **Current Microbiology**, 42(4), 252–256.
- BABAZADEH, R., LAHTVEE, P.-J., ADIELS, C. B., GOKSOR, " M., NIELSEN, J. B., & HOHMANN, S. (2017). The yeast osmostress response is carbon source dependent. **Scientific Reports**, 7(1), 1–11.
- BORÉM, F. M., RIBEIRO, F. C., FIGUEIREDO, L. P., GIOMO, G. S., SIQUEIRA, V. C., & DIAS, C. A. (2019). Sensory analysis and fatty acid profile of specialty coffees stored in different packages. **Journal of food science and technology**, 56(9), 4101-4109.
- BOREM, F. M., ABREU, G. F. DE, ALVES, A. P. DE C., SANTOS, C. M. DOS, & TEIXEIRA, D. E. (2021). Volatile compounds indicating latent damage to sensory attributes in coffee stored in permeable and hermetic packaging. **Food packaging and shelf life**, 29, 100705. Doi:10.1016/j.fpsl.2021.100705
- BRESSANI, A. P. P. ET AL. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **Food science and technology**, 92:212-219, 2018.
- BRESSANI, A.P.P.; MARTINEZ, S.J.; VILELA, L. DE F.; DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F. Coffee protein profiles during fermentation using different yeast inoculation methods. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.55, e01159, 2020. doi: <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2020.v55.01159>
- BRESSANI, A. P. P., MARTINEZ, S. J., SARMENTO, A. B. I., BORÉM, F. M., & SCHWAN, R. F. (2021a). Influence of yeast inoculation on the quality of fermented coffee (*Coffea arabica* var. Mundo Novo) processed by natural and pulped natural processes. **International Journal of Food Microbiology**, 343, 109107. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.10
- CARDOSO, W. S., et al., **Aspectos Bioquímicos de Fermentação do Café. Livro: Determinantes da Qualidade na Produção de Café**, editora Springer, p. 149-208, 2021.
- CARVALHO, I.T. **Microbiologia de alimentos** / Irineide Teixeira de Carvalho. – Recife: EDUFRPE,2010. 84p.:il. ISBN:978-85-7946-071-5.

CARVALHO NETO, D. P., de MELO PEREIRA, G. V., FINCO, A. M. O., LETTI, L. A. J., da SILVA, B. J. G., VANDENBERGHE, L. P. S., & SOCCOL, C. R. (2018). Efficient coffee beans mucilage layer removal using lactic acid fermentation in a stirred-tank bioreactor: Kinetic, metabolic and sensorial studies. **Food Bioscience**. doi:10.1016/j.fbio.2018.10.005

CNC - Conselho nacional do café. Relatório mensal fevereiro 2021 disponível em <<https://cncafe.com.br/exportacoes/>>. Acesso outubro 21, 2021.

CNC - Conselho nacional do café. Relatório mensal fevereiro 2022 disponível em <cecafe-fevereiro-2022.pdf (consorciopesquisacafe.com.br)>. Acesso dia março 18, 2022.

DA MOTA, M.C.B., BATISTA, N.N., RABELO, M.H.S., RIBEIRO, D.E., BORÉM, F.M., SCHWAN, R.F., 2020. Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. **Food Res. Int.** 136, 10948.

DA MOTA, M.C.B., BATISTA, N.N., RIBEIRO, D.E., SCHWAN, R.F., 2022. Impact of microbial self-induced anaerobiosis fermentation (SIAF) on coffee quality. **Food Bioscience**. Int. 47, 101640.

DUARTE, G.S.; PEREIRA, A.A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food chemistry**, v.118, p.851-855, 2010. Doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.042.

DE BRUYN F, ZHANG SJ, POTAKOS V, TORRES J, LAMBOT C, MORONI AV, CALLANAN M, SYBESMA W, WECKX S, DE VUYST L. Exploring the Impacts of Postharvest Processing on the Microbiota and Metabolite Profiles during Green Coffee Bean Production. **Appl Environ Microbiol**. 2016 Dec 15;83(1):e02398-16. doi: 10.1128/AEM.02398-16. PMID: 27793826; PMCID: PMC5165123.

DU, G.; ZHAN, J.; LI, J.; YOU, Y.; ZHAO, Y.; HUANG, W. (2012). Effect of fermentation temperature and culture medium on glycerol and ethanol during wine fermentation. , 63(1), 132–138. DOI:10.5344/AJEV.2011.11067

ELHALIS, H., COX, J., & ZHAO, J. (2020A). Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of australian coffee beans. **International journal of food microbiology**, 321, 108544.

ELHALIS, H.; COX, J; FRANK, DAMIAN; ZHAO, J (2020b). The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. **International journal of food microbiology**, [s.l.], v. 333, p. 108796-108796.

EVANGELISTA, S. R., MIGUEL, M. G. P. C., SILVA, C. F., PINHEIRO, A. C. M., & SCHWAN, R. F. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. **International journal of food microbiology**, 210, 102–112.

EVANGELISTA SR, MIGUEL MGCP, CORDEIRO CS, SILVA CF, PINHEIRO ACM, SCHWAN RF (2014A) Inoculação de culturas iniciais em um café semi-seco (*coffea arabica*) processo de fermentação. **Microbiol alimentar** 44: 87 – 95.

EVANGELISTA, S. R., SILVA, C. F., MIGUEL, M. G. P. C., CORDEIRO, C. S., PINHEIRO, A. C. M., DUARTE, W. F., & SCHWAN, R. F. (2014B). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. **Food research international**, 61, 183–195.

FARAH, A., & DE LIMA, Â.G. (2019). Organic Acids. In A. Farah (Ed.), Coffee: Chemistry, Quality and Health (pp. 517–536). **United Kingdom: The Royal Society of Chemistry**. <https://doi.org/10.1039/9781782622437>

FILETE, C. A. et al. Fermentação anaeróbica no café arábica e seu impacto no perfil sensorial. **Revista Eletrônica Sala de Aula em Foco**, v. 6, n. 3, p. 112-123, 2020. <https://doi.org/10.36524/ric.v6i3.859>.

FILHO, W. G. V. **Bebidas Alcóolicas: Ciência e Tecnologia**. 2a ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2016.

FIGUEROA-HERNANDEZ, C., MOTA-GUTIERREZ, J., FERROCINO, I., HERNANDEZ-ESTRADA, Z. J., GONZALEZ-RÍOS, O., COCOLIN, L., & SU'AREZ-QUIROZ, M. L. (2019). The challenges and perspectives of the selection of starter cultures for fermented cocoa beans. **International Journal of Food Microbiology**, 301, 41–50.

FLEET, G.H., 2007. Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety Curr. **Opin. Biotechnol.**, 18 (2007), pp. 170-175

GÄNZLE, MICHAEL G (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. **Current Opinion in Food Science**, 2(), 106–117. doi:10.1016/j.cofs.2015.03.001

GUIMARÃES, et al. (2019), “The brand new Brazilian specialty coffee market”, **Journal of Food Products Marketing**, Vol. 25 No. 1, pp. 49-71, doi: 10.1080/10454446.2018.1478757 (accessed 22 June 2020)

HAILE, M.; KANG, W. H. Isolation, identification, and characterization of pectinolytic yeasts for starter culture in coffee fermentation. **Microorganisms**, 7(10):401, 2019b.

HOHMANN, S. (2009). Control of high osmolarity signalling in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Letters**, 583(24), 4025–4029

JAYARAM V.B., CUYVERS. S, VERSTREPEN, K.J, DELCOUR.,J.A., COURTIN., C.M.. Succinic acid in levels produced by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) during fermentation strongly impacts wheat bread dough properties. **Food Chem.**, 151 (2014), pp. 421-428, 10.1016/j.foodchem.2013.11.025

KNOPP, S., BYTOF, G. AND SELMAR, D., 2006. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, 223(2), pp.195-201.

LELOUP., V, PROCEEDINGS ASIC 2006, Montpellier – Evaluation of the nutritive value of soluble coffee.

LOPES, VERÔNICA DOS SANTOS, 2017- **Prospecção de biomassas lignocelulósicas para coprodução de etanol de segunda geração e biossurfactante empregando processos químicos e enzimáticos / Verônica dos Santos Lopes.** - 1988.

MALTA MR, OLIVEIRA ACB, LISKA GR, CARVALHO GR, PEREIRA AA, SILVA AD, ALVARO LN and MOTA DM (2021) Selection of Elite Genotypes of Coffee arabica L. to Produce Specialty Coffees. **Front. Sustain. Food Syst.** 5:715385. doi: 10.3389/fsufs.2021.715385

MARTINS, P. M. M., RIBEIRO, L. S., MIGUEL, M. G. D. C. P., EVANGELISTA, S. R., & SCHWAN, R. F. (2019). Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99(13), 5638-5645.

- MARTINS, P. M. M., BATISTA, N. N., MIGUEL, M. G. D. C. P., SIMÃO, J. B. P., SOARES, J. R., & SCHWAN, R. F. (2020). Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. **Food Research International**, 129, 108872.
- MARTINEZ, S. J., BRESSANI, A. P. P., MIGUEL, M. G. D. C. P., DIAS, D. R., & SCHWAN, R. F. (2017). Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. **Food research international**, 102, 333–340. <Https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.096>.
- MARTINEZ, S. J., RABELO, M. H. S., BRESSANI, A. P. P., DA MOTA, M. C. B., BORÉM, F. M., & SCHWAN, R. F. (2021). Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. **Food Research International**, 139, 109921. doi:10.1016/j.foodres.2020.109921
- MASOUD, W, JESPERSEN, L. Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *coffea arabica* in east africa. **Int j food microbiol**. 2006 aug 1;110(3):291-6. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.030. Epub 2006 jun 19. Pmid: 16784790.
- PEREIRA, G. V., NETO, E., SOCCOL, V. T., MEDEIROS, A. B. P., WOICIECHOWSKI, A. L., & SOCCOL, C. R. (2015). Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: Growth, metabolic analyses and sensorial effects. **Food Research International**, 75, 348-356.
- PUERTA - QUINTERO, G. I. P.; MOLINA, J. G. E. Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad. Avances Técnicos. **Cenicafé**. abr. 2015.
- PUERTA-QUINTERO, G. (2012). Factores, Procesos y Controles en la Fermentación del Café. Manizales: Sanra Milena Marín López.
- QUINTÃO., (2017b), “The taste trasformation ritual in the specialty coffee market”, **Revista De Administração De Empresas**, Vol. 57 No. 5, pp. 483-494, available at: <https://doi:10.1590/s0034-759020170506> (accessed 22 June 2020).
- RIBEIRO, L. S. ET AL. (2017A) Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. **Food research international**, 92:26-32, 2017 ^a.

RODRIGUES, S. D. et al. Sensory q-grader evaluation of fermented arabica coffees by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and lactic bacteria (*Pediococcus acidilactici*) cultures. **Coffee Science**, v. 15, 2020.

RODRIGUES, G. Z., PETRIM, I. C., CARVALHO, J. W. M., PEREIRA, M. G., FLAUSINO, S., REIS, A. M., ... & ALMEIDA, G. R. R. (2017). Avaliação do processo de fermentação controlada do café em diferentes condições de tempo, temperatura e umidade.

SAITO, H., & POSAS, F. (2012). Response to hyperosmotic stress. **Genetics**, 192(2), 289–318.

SANTOS, P.M.D., CIRILLO, M.Â. AND GUIMARÃES, E.R. (2021), "Specialty coffee in brazil: transition among consumers' constructs using structural equation modeling", **British food journal**, vol. 123 no. 5, pp. 1913-1930. [Https://doi.org/10.1108/bfj-06-2020-0537](https://doi.org/10.1108/bfj-06-2020-0537).

SCAA - Protocols | Cupping Specialty Coffee: Published by the Specialty Coffee Association of America. **Published by the Specialty Coffee Association of America**. 2015. Disponível em: <<http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>> Acesso em: 10 out. 2021.

SCHWAN, R. F.; SILVA, C. F.; BATISTA, L. R. COFFEE FERMENTATION. IN: HUI, Y. H. (ED), Handbook of plant-based fermented food and beverage technology. boca raton, flórida: **Crc Press**, p.677-690, 2012.

SENINDE, DENIS R., AND EDGAR CHAMBERS IV. 2020. "Coffee Flavor: A Review" **Beverages** 6, no. 3: 44. <https://doi.org/10.3390/beverages6030044>

SILVA, C.F., SCHWAN,R.F., DIAS,E.S., WHEALS,A.E., 2000. Microbial diversity during aturation and natural processing of coffee cherries of coffeea arabica in brazil. **Int. J. Food microbiol.** 60,251–260.

SILVA CF, VILELA DM, CORDEIRO CS, DUARTE WF, DIAS DR AND SCHWAN RF, Evolution of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World j microbiol biotechnol** 29:235–247 (2013).

SILVA, C. F. (2015). Microbial activity during coffee fermentation. In: r. F. Schwan, & g. H. Fleet (eds.), cocoa and coffee fermentations (pp. 398423). New York: **Crc Press**.

SOUZA, CAROLINA AUGUSTO, RODRIGO BARROS ROCHA, ENRIQUE ANASTÁCIO ALVES, ALEXSANDRO LARA TEIXEIRA, JANDERSON RODRIGUES DALAZEN,

AND AYMBIRÉ FRANCISCO ALMEIDA DA FONSECA. "Characterization of beverage quality in *Coffea canephora* pierre ex a. froehner." (2018): 210-218.

SIVETZ, M., & DESROSIER, N. W. (1979). **Coffee technology**. AVI Pub. Co..

SWIEGERS, J., BARTOWSKY, E., HENSCHKE, P. and PRETORIUS, I. (2005), Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, 11: 139-173. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285>

TANG, V. C. Y., SUN, J., CORNUZ, M., YU, B., & LASSABLIERE, B. (2021). Effect of solid-state fungal fermentation on the non-volatiles content and volatiles composition of *Coffea canephora* (Robusta) coffee beans. **Food Chemistry**, 337, 128023.

VANDENBERGHE, L. P., KARP, S. G., DE OLIVEIRA, P. Z., DE CARVALHO, J. C., RODRIGUES, C., & SOCCOL, C. R. (2018). Solid-state fermentation for the production of organic acids. In **Current developments in biotechnology and bioengineering** (pp. 415-434). Elsevier.

VAZ, CARLOS JOHNANTAN TOLENTINO, 2021 **Efeito da fermentação na qualidade físico-química e sensorial do café arábica variedade Catuaí Amarelo (*Coffea arabica*)** [recurso eletrônico] / Carlos Johnantan Tolentino Vaz. - 2021.

VILELA, ALICE (2017). Biological demalication and deacetification of musts and wines: can wine yeasts make the wine taste better? **Fermentation**, 3(4), 51. [Https://doi.org/10.3390/fermentation3040051](https://doi.org/10.3390/fermentation3040051).

YEAGER, S. E. et al (2021) Acids in coffee: A review of sensory measurements and meta-analysis of chemical composition, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, DOI: 10.1080/10408398.2021.1957767.

WANG, C., SUN, J., LASSABLIERE, B., YU, B., & LIU, S. Q. (2020a). Coffee flavour modification through controlled fermentations of green coffee beans by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kluyveri*: Part I. Effects from individual yeasts. **Food Research International**, 109588. doi:10.1016/j.foodres.2020.109588

ZHANG, S. J., DE BRUYN, F., POTAKOS, V., TORRES, J., FALCONI, C., MOCCAND, C., ... & DE VUYST, L. (2019). Following coffee production from cherries to cup:

Microbiological and metabolomic analysis of wet processing of Coffea arabica. **Applied and Environmental Microbiology**, 85(6), e02635-18.

ZHENG-XIANG WANG; JIAN ZHUGE; HUIYING FANG; BERNARD A PRIOR (2001). Glycerol production by microbial fermentation: **A review**., 19(3), 201–223. doi:10.1016/s0734-9750(01)00060-x.

CAPÍTULO 5. Propostas para trabalhos futuros.

- Avaliar outras cultivares com a inoculação das leveduras FX10 e RX60.
- Efetuar a inoculação em cultivares que não são consideradas para a produção de cafés especiais.
- Análise dos ácidos orgânicos pela cromatografia gasosa.
- Combinar as leveduras FX10 e RX60 com bactérias ácido lácticas.
- Avaliar o processo fermentativo em outras regiões com as leveduras FX10 e RX60.
- Avaliar outros faixas de tempo e temperatura em tratamentos submerso com o cereja descascado e ou cereja maduro.

APÊNDICE – A. Média dos dados obtidos através do planejamento para obtenção dos carboidratos, álcool e ácidos orgânicos.

	Valor Codificado		Carboidratos(g/Kg)			Álcool (g/Kg)		Ácidos Orgânicos (g/Kg)				
	Tempo(H)	Temperatura (°C)	Sacarose	Glicose	Frutose	Etanol	Glicerol	Cítrico	Málico	Acético	Succínico	
Inoculação levedura FX10 (<i>S. Cerevisiae</i>)	1	48(-1)	16(-1)	15,23	2,69	6,55	1	0,17	4,86	2,89	1,06	1,66
	2	96(+1)	16(-1)	8,54	2,08	6,71	2,87	0,41	2,73	1,34	2,28	3,52
	3	48(-1)	28(+1)	7	3,56	12,33	6,09	0,66	1,96	1,19	3,34	3,71
	4	96(+1)	28(+1)	3,9	2,89	8,88	5,62	0,56	6,07	3,87	3,36	4,88
	5	38,05(-1,41)	22(0)	11,48	1,72	5,77	1,84	0,34	4,82	2,13	0,77	2,45
	6	105,94(+1,41)	22(0)	3,57	1,87	9,18	4,55	0	4,38	2,39	3,35	5,2
	7	72(0)	13,51(-1,41)	18,91	3,9	11,66	2,06	0,38	3,38	1,58	2,25	3,07
	8	72(0)	30,48(+1,41)	6,99	2,15	8,09	5,34	0,61	5,4	3,65	3,58	6,41
	9	72(0)	22(0)	5,5	1,72	15,17	8	1,19	5,04	3,83	6,96	8,17
	10	72(0)	22(0)	5,76	1,67	16,07	7,73	1,44	5,66	4,61	5,96	8,23
	11	72(0)	22(0)	4,91	1,6	14,27	8,26	1,24	5,37	4,22	6,46	8,2
Inoculação levedura RX60 (<i>S. Cerevisiae</i>)	1	48(-1)	16(-1)	23,49	3,2	10,85	3,11	0,34	4,08	2,14	3,32	3,79
	2	96(+1)	16(-1)	5,75	1,85	5,54	3,52	0,44	2,35	1,16	1,52	2,14
	3	48(-1)	28(+1)	2,81	1,89	9,5	5,17	0,98	1,28	2,42	2,88	5,66
	4	96(+1)	28(+1)	5,47	1,45	7,11	4,38	1,06	4,57	0,45	4,36	4,63
	5	38,05(-1,41)	22(0)	10,8	1,58	4,04	1,89	0,22	2,3	0,97	2,93	1,94
	6	105,94(+1,41)	22(0)	7,68	0,61	5,44	5,34	0,97	2,13	0,99	4,03	4,49
	7	72(0)	13,51(-1,41)	14,89	3,6	12,18	2,99	0,7	2,92	3,45	2,85	6,47
	8	72(0)	30,48(+1,41)	8,6	1,09	5,74	4,08	0,81	3,85	1,06	2,54	3,55
	9	72(0)	22(0)	4,54	2,31	8,04	5,75	1,28	5,95	4,97	3,48	3,83
	10	72(0)	22(0)	4,73	2,68	8,3	6,82	1,45	5,8	4,52	3,95	5,83
	11	72(0)	22(0)	4,64	2,59	8,17	6,65	1,4	5,64	4,75	3,59	4,83
Controle Sem Inóculo	1	48(-1)	16(-1)	23,06	7,16	20,83	1,42	0	4,78	2,52	1,63	4,08
	2	96(+1)	16(-1)	12,14	2,24	9,65	10,7	0,58	2,66	1,49	4,41	4,15
	3	48(-1)	28(+1)	11,18	2,67	9,3	6,13	0	7,75	4,66	2,45	5,45
	4	96(+1)	28(+1)	3,32	2,33	11,57	8,1	0,58	4,5	3,65	3,42	8,72
	5	38,05(-1,41)	22(0)	21,49	4,12	12,41	1,54	0	4,56	2,6	2,2	4,23
	6	105,94(+1,41)	22(0)	9,2	3,66	10,39	8,59	0	6,79	5,43	3,23	10,82
	7	72(0)	13,51(-1,41)	16,87	5,44	13,94	0,62	0	5,95	2,72	1,61	3,33
	8	72(0)	30,48(+1,41)	2,87	1,3	8,77	6,26	0,73	1,86	0,97	4,31	4,64
	9	72(0)	22(0)	4,47	2,05	9,13	6,48	0,66	5,27	4,1	5,2	2,93
	10	72(0)	22(0)	5,01	2,25	10,33	7,99	0,86	5,11	4,03	4,55	4,27
	11	72(0)	22(0)	4,54	2,09	9,42	6,56	0,85	5,23	4,07	4,39	3,6

APÊNDICE – B. Média dos atributos sensoriais nos tratamentos FX10, RX60 e Controle.

	Experimentos	Tempo	Temperatura	Aroma	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Uniformidade	Balanço	Xícara limpa	Doçura	Geral	Total
Levedura FX10 (<i>S. Cerevisiae</i>)	1	48(-1)	16(-1)	7,5	7,5	7	7,75	7,5	10	7,5	10	10	7,5	82,25 ± 0,58
	2	96(+1)	16(-1)	7,04	7,5	7,15	7,51	7,51	10	7,6	10	10	7,5	81,81 ± 0,83
	3	48(-1)	28(+1)	7,5	7,5	7,78	7	7,27	10	7,53	10	10	7,54	82,12 ± 1,46
	4	96(+1)	28(+1)	7,75	7,75	7,5	7,5	7,5	10	7,5	10	10	7,5	83 ± 1,59
	5	38,05(-1,41)	22(0)	7,5	8	7,25	7,5	7,25	10	7	10	10	7,5	82 ± 0,25
	6	105,94(+1,41)	22(0)	7	7,75	7,5	7,5	7,25	10	7,75	10	10	7,5	82,25 ± 1,02
	7	72(0)	13,51(-1,41)	7,25	7,75	7,5	7,25	7,5	10	7,5	10	10	7,75	82,5 ± 0,84
	8	72(0)	30,48(+1,41)	8	7,75	7,55	7,53	7,5	10	7,5	10	10	7,5	83,33 ± 1,26
	9	72(0)	22(0)	8	7,5	7,25	7,75	7,5	10	7,5	10	10	7,5	83 ± 0,57
	10	72(0)	22(0)	7,5	7,5	7,25	8,25	8	10	7,75	10	10	7,5	83,75 ± 1,15
	11	72(0)	22(0)	7,5	7,75	7,75	7,5	7,75	10	7,5	10	10	7,75	83,5 ± 1,14
Levedura RX60 (<i>S. Cerevisiae</i>)	1	48(-1)	16(-1)	7,5	7,5	7,25	7,5	7	10	7,75	10	10	7,37	81,87 ± 0,39
	2	96(+1)	16(-1)	7	7,25	7	7,5	7,25	10	7	10	10	7,33	80,33 ± 0,53
	3	48(-1)	28(+1)	7,25	7,75	7,75	7,5	7,62	10	7,5	10	10	7,5	82,87 ± 0,82
	4	96(+1)	28(+1)	7,5	7,5	7,5	8	7,75	10	7,31	10	10	7,75	83,31 ± 1,00
	5	38,05(-1,41)	22(0)	7,5	7,5	7,22	7,5	7	10	7,5	10	10	7,4	81,62 ± 1,13
	6	105,94(+1,41)	22(0)	7,75	7,2	7	7,55	7,25	10	7,25	10	10	7,25	81,25 ± 0,77
	7	72(0)	13,51(-1,41)	7,5	7,5	7,25	7,25	7,55	10	7,38	10	10	7,25	81,68 ± 1,69
	8	72(0)	30,48(+1,41)	7,75	7,75	7,77	8,25	7,85	10	8	10	10	8	85,37 ± 1,78
	9	72(0)	22(0)	7,75	8	7,75	8	7,75	10	8	10	10	8	85,25 ± 1,22
	10	72(0)	22(0)	8	8	7,8	7,8	7,75	10	7,75	10	10	7,9	85 ± 1,03
	11	72(0)	22(0)	7,55	7,55	7,55	8	8	10	8	10	10	7,55	84,2 ± 1,10
Controle Sem inóculo	1	48(-1)	16(-1)	8	7,5	7	7,75	7,25	10	7,5	10	10	7,5	82,5 ± 0,86
	2	96(+1)	16(-1)	7,5	7,25	7,25	7,5	7,5	10	7,5	10	10	7,5	82 ± 1,14
	3	48(-1)	28(+1)	7,75	7,5	7,25	7,5	7,5	10	7,44	10	10	7,5	82,44 ± 0,96
	4	96(+1)	28(+1)	8	7,75	7,5	7,75	7,5	10	7,5	10	10	7,57	83,57 ± 1,32
	5	38,05(-1,41)	22(0)	7,75	7,5	7	7	7,75	10	7,5	10	10	7,5	82 ± 0,67
	6	105,94(+1,41)	22(0)	7,25	7,75	7,5	7,5	7,5	10	7,5	10	10	7,75	82,75 ± 1,34
	7	72(0)	13,51(-1,41)	7,25	7,75	7,5	7,25	7,75	10	7,5	10	10	7,5	82,5 ± 0,54
	8	72(0)	30,48(+1,41)	7,75	8,12	7,5	7,75	7,55	10	7,55	10	10	7,75	83,97 ± 1,16
	9	72(0)	22(0)	7,5	7,75	7,5	7,75	7,5	10	7,5	10	10	7,5	83 ± 1,18
	10	72(0)	22(0)	7,75	7,75	7,5	7,75	7,5	10	7,75	10	10	7,75	83,75 ± 1,12
	11	72(0)	22(0)	7,5	7,5	7,5	7,75	7,75	10	7,75	10	10	7,5	83 ± 1,17

APÉNDICE – C. FICHA TÉCNICA LEVEDURA FX10.



ZYMAFLORE® FX10

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* para grandes vinos tintos, elegantes y estructurados.

Levadura seca activa (LSA) seleccionada, no OGM, para uso Enológico. Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo, dentro del marco legal vigente para la enología. Conforme al Reglamento (UE) 2019/934.

ESPECIFICACIONES Y PROPIEDADES ENOLÓGICAS

ZYMAFLORE® FX10 es la cepa para grandes vinos tintos definidos por su elegancia, que combinan estructura, volumen en boca e intensidad colorante. La técnica, mejora genética dirigida (cruce no OGM) ha permitido conferir a esta cepa una mayor resistencia a temperaturas elevadas, asegurando de esta forma una gran seguridad fermentativa. Particularmente recomendado para la elaboración de vinos de gama alta, especialmente de Cabernet Sauvignon o de Merlot.

CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS:

- Excelente capacidad de asimilación de fructosa.
- Tolerancia al alcohol: hasta 16% vol.
- Amplia tolerancia a las temperaturas: 20 - 35°C.
- Bajas necesidades de nitrógeno.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICAS:

- Liberación importante de polisacáridos (volumen).
- Preserva el potencial polifenólico (estructura y color).
- Los polisacáridos parietales se combinan con los taninos del vino, esto los vuelve sedosos, incluso con concentraciones importantes.
- Muy buena aptitud para la crianza sobre lías.
- Respeto del terroir (muy baja producción de aromas de fermentación).

RESULTADOS EXPERIMENTALES

- Cabernet Sauvignon, Bordeaux 2007.

Temperatura de fermentación 28-32°C, adición de levaduras durante el encubado, maceración de 13 días. TAP 13,5% vol, pH 3,74, AT 4,65 g/L H₂SO₄. Controles de implantación de las levaduras positivos.

MODALIDAD	FX10	TESTIGO
Polisacáridos (mg/L)	440	416
GELATIN INDEX (reactividad de los taninos)	51	62
ASTRINGENCY INDEX (apreciación de la astringencia en degustación)	5.2	6.2

VINO TINTO

LEVADURAS
ZYMAFLORE

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Levaduras deshidratadas y envasadas al vacío.

Aspecto granulados

ANÁLISIS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Humedad (%).....	< 8	
Células vivas LSAS (UFC/g).....	≥ 2.10 ¹⁰	
Bacterias lácticas (UFC/g).....	< 10 ⁵	
Bacterias acéticas (UFC/g).....	< 10 ⁴	
Levaduras de un género diferente a <i>Saccharomyces</i> (UFC/g).....	< 10 ³	
Levaduras de una especie o cepa diferente (%).....	< 5	
Coliformes (UFC/g).....	< 10 ²	

PROTOCOLO DE UTILIZACIÓN

CONDICIONES ENOLÓGICAS

- Siembra con levaduras lo antes posible después del encubado.
- Respetar las dosis prescritas para garantizar una buena implantación de la levadura incluso en caso de gran población de levaduras autóctonas.
- La temperatura, la cepa de la levadura, la rehidratación y la higiene de la bodega son primordiales para una buena implantación.

DOSIS DE EMPLEO

- En el caso de la maceración prefermentativa en frío, es aconsejable adicionar 5 g/hl. de levadura durante el encubado, para dominar la flora indígena, y luego completar con 15 - 25 g/hl. al final de la maceración, antes de aumentar la temperatura.

MODO DE EMPLEO

- Seguir exactamente el protocolo de rehidratación de la levadura descrito en el envase.
- Evitar diferencias de temperatura superiores a los 10°C entre el mosto y el inóculo durante la inoculación. El tiempo total de preparación del inóculo no debe superar los 45 minutos.
- En el caso de vendimias con un grado alcohólico probable elevado y para minimizar la formación de acidez volátil, utilizar el preparador SUPERSTART® ROUGE en el agua de rehidratación.

RECOMENDACIÓN DE CONSERVACIÓN

- Conservar fuera del suelo en su embalaje de origen, sin abrir a temperatura moderada en locales secos no susceptibles de comunicar olores.
- Fecha de utilización óptima: 4 años.

ENVASES

Bolsa envasada al vacío de 500 g. Cajas de 10 kg.

CS 61 611 – 33072 BORDEAUX CEDEX – Tel.: +33 (0)5 56 85 53 04 – www.laffort.com



APÉNDICE – D. FICHA TÉCNICA LEVEDURA RX 60.



ZYMAFLORE® RX60

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* para vinos tintos afrutados, con color y redondos.

Levadura seca activa (LSA) seleccionada, no OGM, para uso Enológico. Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo, dentro del marco legal vigente para la enología.

Conforme al Reglamento (UE) 2019/934.

ESPECIFICACIONES Y PROPIEDADES ENOLÓGICAS

Cepa fruto del breeding que une excelentes capacidades fermentativas y una muy buena producción y revelación de aromas. Adecuada para todo tipo de variedades tintas modernas, aromáticas y suaves en boca.

CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS:

- Tolerancia al alcohol: hasta 16,5 % vol.
- Amplia tolerancia de temperaturas: 20 - 30°C.
- Elevadas necesidades de nitrógeno.
- Baja producción de ácidos volátiles y de H₂S.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Ensayo en Australia, 2006. Syrah.

GAP 14% vol., Azúcares 252 g/l, pH 3,45.

Adición de la levadura en el encubado, con 30 g/hL.

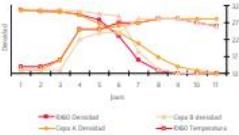
SUPERSTART®.

Controles de implantación positivos para ZYMAFLORE RX60 y para la cepa A, contaminada por la cepa B.

Fermentaciones acabadas (entre 9 y 11 días), ácido volátil 0,27 g/L H₂SO₄, como valor medio.

Comentarios de cata de los vinos acabados (panel de cata interno y externo de la bodega): El vino fermentado por ZYMAFLORE RX60 es más intenso y más limpio. Es complejo, con notas de frutos rojos, grosella, cáscara de naranja. El vino es elegante en boca y muy equilibrado.

El vino fermentado por la cepa A tiene una nariz expresiva y menos compleja; el equilibrio en boca es redondo pero tónico, el final un poco corto. El último vino es floral, más discreto en nariz, largo pero menos redondo en boca que el vino de ZYMAFLORE RX60.



Día	Zymaflore RX60 (Dry weight)	Capa A (Dry weight)	Capa B (Dry weight)	Zymaflore RX60 (Temperatura)	Capa A (Temperatura)	Capa B (Temperatura)
1	0	0	0	20	20	20
2	10	10	10	20	20	20
3	30	20	20	20	20	20
4	50	30	30	20	20	20
5	60	40	40	20	20	20
6	65	45	45	20	20	20
7	68	50	50	20	20	20
8	70	55	55	20	20	20
9	72	60	60	20	20	20
10	75	65	65	20	20	20
11	78	70	70	20	20	20

VINO TINTO

SELECCIONADAS

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Levaduras deshidratadas y envasadas al vacío.

Aspecto granulados

ANÁLISIS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Parámetro	Valor	Referencia
Humedad (%)	< 8	
Células vivas LSSA (UFC/g)	≥ 2·10 ¹¹	
Bacterias lácticas (UFC/g)	< 10 ³	
Bacterias acéticas (UFC/g)	< 10 ⁴	
Levaduras de un género diferente a <i>Saccharomyces</i> (UFC/g)	< 10 ³	
Levaduras de una especie o cepa diferente (%)	< 5	
Coliformes (UFC/g)	< 10 ²	
<i>E. Coli</i> (Ug)	ausencia	
<i>Staphylococcus</i> (Ug)	ausencia	
<i>Salmonella</i> (1/25 g)	ausencia	
Mohos (UFC/g)	< 10 ¹	
Pbmo (ppm)	< 2	
Arénico (ppm)	< 3	
Mercurio (ppm)	< 1	
Cadmio (ppm)	< 1	

PROTOCOLO DE UTILIZACIÓN

CONDICIONES ENOLÓGICAS

- Siembra con levaduras lo antes posible después del encubado.
- Respetar las dosis prescritas para garantizar una buena implantación de la levadura incluso en caso de gran población de levaduras autóctonas.
- La temperatura, la cepa de la levadura, la rehidratación y la higiene de la bodega son primordiales para una buena implantación.

MODO DE EMPLEO

- Seguir perfectamente el protocolo de rehidratación de la levadura descrito en el envase.
- Evitar diferencias de temperatura superiores a 10°C entre el mosto y el indiculo durante la inoculación. El tiempo total de preparación del indiculo no debe superar los 45 minutos.
- En el caso de vendimias con un grado alcohólico probable elevado y para minimizar la formación de ácidos volátiles, utilizar el preparador SUPERSTART® ROUGE en el agua de rehidratación.

RECOMENDACIÓN DE CONSERVACIÓN

- Conservar fuera del suelo en su embalaje de origen, sin abrir a temperatura moderada en locales secos no susceptibles de comunicar olores.
- Fecha de utilización óptima: 4 años.

ENVASE

Bolsa envasada al vacío de 500 g. Caja de 10 kg.

CE-EC-1012/19 - La información que figura figura correspondiente al texto actual de nuestro conocimiento. Estamos comprometidos a su permanencia en la medida que las condiciones de empleo sean las demandadas. Esto no tiene el carácter de una garantía de la larga duración y la fiabilidad de la información.



C5 61 611 – 33072 BORDEAUX CEDEX – Tel.: +33 (0)5 56 86 53 04 – www.laffort.com