UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

AVALIAÇÃO ENTRE SAFRAS E PROCESSOS PÓS-COLHEITA: QUALIDADE SENSORIAL E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO *COFFEA ARABICA* CV. MGS PARAÍSO 2

MARCELO ANTÔNIO DUARTE DA CRUZ

PATOS DE MINAS
2025

MARCELO ANTÔNIO DUARTE DA CRUZ

AVALIAÇÃO ENTRE SAFRAS E PROCESSOS PÓS-COLHEITA: QUALIDADE SENSORIAL E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO COFFEA ARABICA CV. MGS PARAÍSO 2

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, campus Patos de Minas como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Matheus de Souza Gomes
Coorientadora: Profª Drª Líbia Diniz Santos
Coorientadora: Drª Lívia Carneiro Fidélis Silva

PATOS DE MINAS
2025

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C957 Cruz, Marcelo Antônio Duarte da, 1974-
2025 AVALIAÇÃO ENTRE SAFRAS E PROCESSOS PÓS-COLHEITA: QUALIDADE SENSORIAL E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO COFFEA ARABICA CV. MGS PARAÍSO 2 [recurso eletrônico] / Marcelo Antônio Duarte da Cruz. - 2025.

Orientador: Matheus de Souza Gomes.
Coorientador: Líbia Diniz Santos.
Coorientador: Lívia Carneiro Fidélis Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Biotecnologia.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.322
Inclui bibliografia.

1. Biotecnologia. I. Gomes, Matheus de Souza,1981-, (Orient.). II. Santos, Líbia Diniz,1978-, (Coorient.). III. Silva, Lívia Carneiro Fidélis,1989-, (Coorient.). IV. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Biotecnologia. V. Título.

CDU: 60

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Rua Vereador Chico Filgueira, 33, Bloco Alfa, Sala 319 - Bairro Caiçaras, Patos de Minas-MG, CEP 38702-178
Telefone: (34) 3823-3714 - Ramal 226 - ppgbiotec@ibtec.ufu.br

ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Biotecnologia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	26/05/2025	Hora de início:	15:30	Hora de encerramento:	17:45
Matrícula do Discente:	42412BTC004				
Nome do Discente:	Marcelo Antônio Duarte da Cruz				
Título do Trabalho:	**AVALIAÇÃO ENTRE SAFRAS E PROCESSOS PÓS-COLHEITA: QUALIDADE SENSORIAL E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO *COFFEA ARABICA* CV. MGS PARAÍSO 2**				
Área de concentração:	Biociências				
Linha de pesquisa:	Bioinformática e Biologia Molecular aplicada à genômica, transcriptômica e proteômica				

Reuniu-se, por webconferência via Microsoft Teams, aplicativo padrão da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, composta pelos seguintes Professores Doutores: Pedro Luiz Lima Bertarini (FEELT - UFU), Antonio Chalfun Junior (UFLA) e Matheus de Souza Gomes (IBTEC - UFU), presidente da banca.

Iniciando os trabalhos, o presidente da banca, Dr. Matheus de Souza Gomes , apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença dos membros. Em seguida, concedeu a palavra ao discente para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação seguiu as normas do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

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 foi assinada pela Banca Examinadora.

Documento assinado eletronicamente por **Matheus de Souza Gomes**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/05/2025, às 17:41, 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 **Pedro Luiz Lima Bertarini**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 27/05/2025, às 08:25, 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 **Antonio Chalfun Junior**, **Usuário Externo**, em 27/05/2025, às 09:06, 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 **6358934** e o código CRC **E40209A9**.

Referência: Processo nº 23117.034281/2025-59 SEI nº 6358934

"Um verdadeiro companheiro é alguém que te conhece como és, compreende onde estiveste, aceita o que te tornaste e ainda assim, permite-te crescer" Mario Benedetti

Com amor e gratidão à minha esposa Shirley.

OFEREÇO.

"Só é possível ensinar uma criança a amar, amando-a" Johann Goethe

A meus filhos Ana Clara e Marcelo, a vocês todo o meu amor de pai.

OFEREÇO.

Aos meus pais José Morais e Maria Carolina, ao meu tio João.

A minha irmã Márcia e minha sobrinha Cecília e a meu irmão Cristiano (*in memoriam*).

Aos que fazem da terra, vida.

DEDICO.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Uberlândia, pelo seu compromisso com a formação de um conhecimento crítico, democrático, ético e socialmente justo.

Ao Grupo Naimeg, por acreditar que pela ciência podemos melhorar a metodologia de produção com foco em sustentabilidade juntamente com a equipe da fazenda Pântano pelo apoio, alegria e prontidão em sempre nos ajudar nas tarefas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Matheus de Souza Gomes, pelo direcionamento e incentivo constante, minha gratidão e meu respeito pela sua pessoa.

À Prof.ª. Dr.ª Líbia Diniz Santos, agradeço pela paciência e pelo apoio. Saiba que foram fundamentais para a construção deste trabalho e para meu amadurecimento acadêmico.

À Drª Lívia Carneiro Fidélis Silva, por ter se tornado uma grande amiga, companheira de longas conversas e por confiar no meu potencial mesmo nos momentos de incerteza.

Aos técnicos de laboratório, meus agradecimentos pela presteza, profissionalismo e conhecimento técnico que foram imprescindíveis para êxito dos trabalhos desenvolvidos.

Aos meus amigos Renata, Luiza e Arlley, a minha gratidão pela amizade, porque entre muitas xícaras de café, confidências, lágrimas e risadas compartilhadas a certeza de que sem vocês a jornada teria se tornado com certeza mais exaustiva e entediante.

Agradeço a ajuda financeira dos órgãos de fomento CAPES, FAPEMIG e CNPq.

O meu reconhecimento a todos que, de alguma forma, tornaram possível a concretização deste trabalho.

Aqueles que passam por nós não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.

Antoine de Saint-Exupéry

Resumo

A qualidade do café resulta da interação entre fatores ambientais, genéticos e do manejo pós-colheita, sendo fundamental compreender como essas variáveis impactam os atributos químicos, físicos e sensoriais da bebida. Métodos de fermentação controlada vêm sendo amplamente estudados para acentuar características desejáveis, como acidez equilibrada e complexidade aromática. No entanto, as variações entre safras representam um desafio significativo na padronização da qualidade da bebida. Apesar do avanço nas pesquisas, há uma lacuna no entendimento detalhado sobre os efeitos dos diferentes processos fermentativos ao longo dos anos com poucos estudos abordando comparações entre safras sucessivas, especialmente levando em conta a mesma variedade e condições experimentais controladas. Este hiato compromete o entendimento da reprodutibilidade e da consistência dos protocolos fermentativos aplicados na cafeicultura. Neste contexto, este estudo teve como objetivo investigar os impactos de distintas abordagens de fermentação na composição química e na qualidade sensorial do *Coffea arabica* cv. MGS Paraíso 2, analisando as safras de 2022 e 2023. Para isso, frutos colhidos mecanicamente na Fazenda Londrina, localizada em Coromandel - MG, foram submetidos a fermentação em estado sólido (SSF) e submersa (SMF), sob condições espontâneas (SPF) e com cultura iniciadora (SCF) tanto para o natural cereja (NC) quanto para cereja descascado (CD). Os experimentos foram conduzidos em biorreatores de polietileno, com monitoramento de temperatura e coletas em três intervalos distintos (24, 48 e 72 horas). As análises laboratoriais abrangeram técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), para quantificação de ácidos orgânicos e açúcares, além de avaliação colorimétrica e de textura dos grãos. A caracterização sensorial foi realizada por *Q-Graders* certificados, seguindo os padrões da *Specialty Coffee Association* (SCA). Os dados obtidos foram submetidos a testes estatísticos, incluindo ANOVA e Tukey para comparação de médias, além da aplicação de árvores de decisão para identificação dos fatores mais determinantes na qualidade final da bebida. Os resultados evidenciaram que os cafés da safra de 2023 apresentaram maiores notas refletindo em uma bebida mais equilibrada e com maior complexidade sensorial. Além disso, a influência da temperatura sobre a fermentação nos biorreatores modificou a dinâmica microbiana, impactando diretamente a conversão de compostos responsáveis pelo aroma e sabor. A análise da estrutura física dos grãos demonstrou que tempos prolongados de fermentação alteraram a textura. No aspecto sensorial, cafés fermentados apresentaram pontuações superiores a 80 pontos na metodologia SCA, sendo classificados como especiais. As melhores avaliações foram observadas em fermentações submersas espontâneas (SMF SPF) superiores a 48 horas na safra de 2022, enquanto na safra

de 2023, tempos acima de 60 horas resultaram nos cafés de maior qualidade. Esses achados reforçam a necessidade de um controle refinado das condições fermentativas para assegurar padrões elevados na produção de cafés especiais. Conclui-se que a fermentação é um elemento essencial para agregar valor ao café, sendo necessário aprimorar estratégias pós-colheita para aprimorar a qualidade do *C. arabica* cv. MGS Paraíso 2.

Palavras-chave: Reprodutibilidade. Pós-colheita. SIAF. Cafés Especiais

Abstract

The quality of coffee results from the interaction between environmental, genetic, and post-harvest management factors, making it essential to understand how these variables impact the beverage's chemical, physical, and sensory attributes. Controlled fermentation methods have been widely studied to enhance desirable characteristics, such as balanced acidity and aromatic complexity. However, variations between harvests pose a significant challenge to standardizing beverage quality. Despite advances in research, there is a gap in the detailed understanding of the effects of different fermentation processes over the years, with few studies addressing comparisons between successive harvests, especially considering the same variety under controlled experimental conditions. This gap compromises the understanding of the reproducibility and consistency of fermentation protocols applied in coffee production. In this context, the present study aimed to investigate the impacts of different fermentation approaches on the chemical composition and sensory quality of Coffea arabica cv. MGS Paraíso 2, analyzing the 2022 and 2023 harvests. Mechanically harvested cherries from Fazenda Londrina, located in Coromandel – MG (Brazil), were subjected to solid-state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SMF), under both spontaneous conditions (SPF) and with starter culture (SCF), for both natural cherry (NC) and pulped cherry (CD) processing types. The experiments were conducted in polyethylene bioreactors, with temperature monitoring and sample collection at three distinct time intervals (24, 48, and 72 hours). Laboratory analyses included techniques such as high-performance liquid chromatography (HPLC) for the quantification of organic acids and sugars, as well as colorimetric and texture evaluation of the beans. Sensory characterization was performed by certified Q-Graders, following the standards of the Specialty Coffee Association (SCA). The data obtained were subjected to statistical tests, including ANOVA and Tukey's test for mean comparison, as well as decision tree analysis to identify the most determining factors in the final beverage quality. The results showed that coffees from the 2023 harvest achieved higher scores, resulting in a more balanced beverage with greater sensory complexity. Additionally, temperature effects during fermentation in the bioreactors altered microbial dynamics, directly impacting the conversion of compounds responsible for aroma and flavor. Analysis of the beans' physical structure demonstrated that prolonged fermentation times affected texture. From a sensory perspective, fermented coffees scored above 80 points on the SCA scale, being classified as specialty coffees. The highest scores were observed in spontaneous submerged fermentations (SMF SPF) exceeding 48 hours in the 2022 harvest, while in 2023, fermentation times above 60 hours yielded the highest-quality coffees. These findings reinforce the need for refined control of fermentation conditions

to ensure high standards in specialty coffee production. It is concluded that fermentation is a key element in adding value to coffee, and post-harvest strategies must be improved to enhance the quality of C. arabica cv. MGS Paraíso 2.

Keywords: Reproducibility. Post-harvest. SIAF. Specialty Coffees

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura química ácido 2-hidroxipropanóico (Ácido Lático) - $C_3H_6O_3$ 20
Figura 2: Via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) – Via Homofermentativa de Produção de Ácido Lático por Lactobacillus spp. e Pediococcus spp. no processo de fermentação do café. 22
Figura 3: Via Pentose-Fosfato – Via Heterofermentativa de Produção de Ácido Lático e Etanol por Leuconostoc spp. e algumas cepas de Lactobacillus spp. no processo de fermentação de café..... 24
Figura 4: Estrutura química ácido etanoico (Ácido Acético) – Fórmula molecular $C_2H_4O_2$ ... 25
Figura 5: Via de Produção de ácido etanoico pela oxidação do etanol e pela via alternativa. . 26
Figura 6: Estrutura química do Ácido 2-hidroxibutanodióico (Ácido Málico) – $C_4H_6O_5$. A: Ácido L-málico (S) e B: Ácido D-málico (R) - Fórmula molecular $C_4H_6O_5$..... 27
Figura 7: Via de Produção de Ácido Málico via redutiva do ciclo de Krebs 29
Figura 8: Representação Esquemática para o Delineamento dos Experimentos para o *Coffea arabica* cv. MGS Paraíso 2. 31
Figura 9: Equação para Cálculo de Diferença de Cor Total. L1, a1 e b1 Corresponde a Cor de Referência (Controle) e L2, a2 e b2 Representa a Cor Aferida de Cada Experimento. 33
Figura 10: Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos no Tempo Zero (Controle) dos Frutos dos Cafés das Safras de 2022 e 2023..... 36
Figura 11: Análise Comparativa de Parâmetros de ºBrix para os métodos CD e NC em Grãos de Café cv. MGS Paraíso 2 nos Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023. 37
Figura 12: Análise Comparativa de Parâmetros de pH para os métodos CD e NC em Grãos de Café cv. MGS Paraíso 2 nos Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023. 38
Figura 13: Análise Comparativa de Parâmetros de Temperatura para os métodos CD e NC em Grãos de Café cv. MGS Paraíso 2 nos Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023..... 38
Figura 14: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022. 43
Figura 15: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022. 43
Figura 16: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023. 44

Figura 17: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023 44
Figura 18:Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022. 45
Figura 19: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022. 46
Figura 20: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023. 47
Figura 21: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023. 48
Figura 22: Reação de Hidrólise da Sacarose Catalisada pela Enzima Invertase. 49
Figura 23: Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022. 54
Figura 24: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022..... 54
Figura 25: Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023. 55
Figura 26: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023..... 55
Figura 27: Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022. 56
Figura 28: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022..... 56
Figura 29:Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023. 57
Figura 30: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023..... 57
Figura 31: Análise Comparativa do Teste de Colorimetria nos Grãos de Café CD cv. MGS Paraíso 2 para Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023..... 59

Figura 32: Análise Comparativa do Teste de Colorimetria nos Grãos de Café NC cv. MGS Paraíso 2 para Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023. 59
Figura 33: Análise Comparativa do Teste de Força nos Grãos de Café CD cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023. 61
Figura 34: Análise Comparativa do Teste de Força nos Grãos de Café NC cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023. 62
Figura 35: Análise Comparativa do Teste de Dureza nos Grãos de Café CD cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação dos Experimentos - Safras 2022 e 2023. 63
Figura 36: Análise Comparativa do Teste de Dureza nos Grãos de Café NC cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação dos Experimentos - Safras 2022 e 2023. 64
Figura 37: Comparação de Notas Sensoriais da SCA para os Cafés nos Métodos CD Submetidos a Diferentes Experimentos nas Safras 2022/2023 65
Figura 38: Comparação de Notas Sensoriais da SCA para os Cafés nos Métodos NC Submetidos a Diferentes Experimentos nas Safras 2022/2023. 66
Figura 39: Notas Sensoriais cv. MGS Paraíso 2 Cafés Submetidos a Diferentes Experimentos nas Safras 2022 e 2023. 66
Figura 40: Árvore de decisão cv. MGS Paraíso 2 Safra 2022 (A) e 2023 (B). 70
Figura 41: MGS Paraíso 2 - Cruzamento entre Catuaí Amarelo IAC 30 e Híbrido de Timor UFV 445-46. 92
Figura 42: MGS Paraíso 2 - Ficha Técnica da Cultivar 92

Lista de Tabelas

Tabela S1: Delineamento dos Experimentos Referente à Safra 2022 e 2023 para o Coffea arabica cv. MGS Paraíso 2 81
Tabela S2: Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos no Controle dos Frutos dos Cafés das Safras de 2022 e 2023. 82
Tabela S3: Análise Comparativa de Parâmetros Físico-Químicos nos Frutos de Café (CD e NC) cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023. 82
Tabela S4: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023. 83
Tabela S5: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023. 85
Tabela S6: Análise Comparativa do Consumo de Açúcares e Produção de Álcoois do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023. 86
Tabela S7: Análise Comparativa do Consumo de Açúcares e Produção de Álcoois do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023. 87
Tabela S8: Análise Comparativa do Teste de Colorimetria nos Grãos de Café CD e NC cv. MGS Paraíso 2 para Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023. 89
Tabela S9: Análise Comparativa do Teste de Força nos Grãos de Café CD e NC cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023. 89
Tabela S10: Análise Comparativa do Teste de Dureza nos Grãos de Café (CD e NC) cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação dos Experimentos - Safras 2022 e 2023. 90
Tabela S11: Comparação de Notas Sensoriais da SCA para os Cafés nos Métodos CD e NC Submetidos a Diferentes Tempos de Fermentação nas Safras 2022/2023. 91

Sumário

1. Introdução 15
2. Fundamentação Teórica 16
2.1. Vias Metabólicas de Consumo de Açúcares e Produção de Ácidos Orgânicos e Álcoois 18
2.1.1. Vias Metabólicas da Produção do Ácido Lático (Ácido 2-hidroxipropanoico) 20
2.1.2. Vias Metabólicas da Produção do Ácido Acético (Ácido etanoico) 24
2.1.3. Vias Metabólicas da Produção do Ácido Málico (Ácido 2-hidroxibutanodióico) 26
3. Material e Métodos 29
3.1. Frutos 29
3.2. Delineamento dos Processos de Fermentação 30
3.3. Composição Química Presentes nos Frutos de cafés 32
3.4. Análise Colorimétrica de Grãos de Café Verde 33
3.5. Análises do Perfil de Textura (TPA) dos Grãos de café 33
3.6. Análise Sensorial 34
3.7. Análises Estatísticas Aplicadas 34
4. Resultados e Discussão 35
4.1. pH, ºBrix e Temperatura no Decorrer do Processo de Fermentação e Entre Safras 35
4.2. Perfil de Açúcares, Ácidos e Álcoois no Decorrer da Fermentação 39
4.2.1. Produção de Ácidos no Decorrer da Fermentação e Entre Safras 39
4.2.2. Consumo de Açúcares e Produção de Álcoois no Decorrer da Fermentação 48
4.3. Análise de Cor dos Grãos 58
4.4. Análise das Texturas dos Grãos 60
4.4.1. Análise de Força – Grãos CD e NC 60
4.4.2. Análise de Dureza - Grãos CD e NC 62
4.5. Descrição Sensorial dos Cafés 64
4.6. Escolha do Melhor Processo Para Obtenção de Cafés Especiais 67
5. Conclusão 70
Referências 72
Material Suplementar 81

1. Introdução

A cafeicultura, além de produzir uma das *commodities* mais comercializadas e consumidas globalmente (Costa et al., 2024; Lee et al., 2015; Rocha et al., 2024a), desempenha um papel crucial no desenvolvimento socioeconômico dos países produtores. Essa atividade é amplamente reconhecida como um meio de alcançar diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), promovidos pela Organização das Nações Unidas (Kim et al., 2024a; Nações Unidas no Brasil, 2024), ao integrar práticas de sustentabilidade social, ambiental e econômica (Eron et al., 2024; FAO, 2023; Kim et al., 2024a).

Com as transições no agronegócio, impulsionadas por ganhos de produtividade, inovações tecnológicas e pela busca contínua por qualidade e aprimoramento sensorial, os produtores de café têm recorrido à pesquisa para entender e aperfeiçoar suas diretrizes de produção, visando agregar valor ao produto por meio da combinação de diferentes processos (Volsi et al., 2019).

A espécie *C. arabica*, da família Rubiaceae, é notável por produzir bebidas com atributos aromáticos, doçura pronunciada e alternâncias consideráveis em acidez e sabor (Kim et al., 2024b). Existem vários aspectos que podem exercer influência na composição química do café e interferir na percepção sensorial, incluindo desde técnicas de cultivo, processamento pós-colheita, fatores ambientais até atributos genéticos da planta (Aung Moon et al., 2024; Borém et al., 2024; Costa et al., 2024; Ferreira et al., 2024; Halagarda and Obrok, 2023; Silva et al., 2024). Assim, tornam-se preponderante o conhecimento e a avaliação destes fatores, visando entender as particularidades que podem interferir nos aspectos físico-químicos dos grãos verdes ou mesmo na qualidade da bebida na xícara.

No cultivo do café, as safras podem variar significativamente de um ano para o outro em consequência de uma série de fatores ambientais ou de manejo (DaMatta et al., 2018). Condições climáticas como temperatura, umidade e precipitação impactam diretamente o desenvolvimento dos frutos, tendo como resultado a alteração em sua composição química. As plantas de café são uma organização biológica que inclui associações com bactérias, fungos, leveduras e outros microrganismos existentes no solo, na superfície das folhas e nos frutos (holobionte), consequentemente, a presença de pragas e doenças, a adoção de práticas de manejo e a eficiência dos processos de colheita e pós-colheita podem desempenhar papel significativo na qualidade final do café (DaMatta et al., 2018; Naik et al., 2021). Portanto, cada safra constitui um conjunto de condições únicas, tornando necessário compreender essas variáveis, com o intuito de garantir consistência e qualidade no sistema produtivo, avaliando como essas mudanças anuais impactam a qualidade sensorial e físico-química dos grãos e como podemos aprimorar estratégias de produção que possam minimizar estas variações.

Ye et al., (2022) relatam que a repetibilidade refere-se à consistência dos resultados de um experimento quando realizado múltiplas vezes no mesmo ambiente, sob as mesmas condições e com os mesmos parâmetros enquanto a reprodutibilidade diz respeito à capacidade de um experimento de produzir os mesmos resultados quando realizado em condições variadas, como operadores e ou equipamentos diferentes, ou até mesmo em locais distintos.

As métricas de repetibilidade e reprodutibilidade buscam avaliar a precisão e a confiabilidade dos processos experimentais e analíticos aplicados à produção de cafés especiais. Sua análise permite assegurar que os métodos empregados reproduzam resultados consistentes, tanto na caracterização química quanto nos perfis sensoriais dos grãos, mesmo diante da variabilidade entre as safras.

Assim, a necessidade de comparar os resultados quantitativos e qualitativos das safras de 2022 e 2023 da cv. MGS Paraíso 2 sobrevém da importância em identificar alterações nos processos pós-colheita que possam impactar a produção de cafés de qualidade. Heterogeneidades entre safras sucessivas exigem ajustes na cadeia de práticas de manejo e no planejamento estratégico do produtor. Ademais a ausência de análises comparativas aprofundadas entre safras sucessivas, especialmente em relação a região do cerrado e à variedade MGS Paraíso 2, cria uma lacuna na literatura especializada.

Neste contexto, este estudo teve como propósito principal a avaliação comparativa dos resultados quantitativos e qualitativos do café *C. arabica* cv. MGS Paraíso 2, especificamente das safras de 2022 e 2023, com destaque nas variações de qualidade sensorial, composição química e física de frutos e grãos, buscando aspectos da metodologias pós-colheita que de alguma forma impactaram as características físico-química ou sensoriais entre as safras analisadas.

Além disso, este estudo avaliou, em cada safra, o impacto de diferentes condições de fermentação sobre esses mesmos padrões, com o objetivo de identificar as estratégias mais eficazes para a obtenção de cafés de alta qualidade. Com base nos dados obtidos, foram identificadas práticas de manejo pós-colheita passíveis de aprimoramento, visando à otimização dos parâmetros físico-químicos e sensoriais no decorrer das das etapas produtivas. Os resultados permitiram a proposição de estratégias para mitigar flutuações qualitativas entre safras, promovendo maior previsibilidade e uniformização do produto final, com potencial para a melhoria contínua da qualidade do café em safras subsequentes.

2. Fundamentação Teórica

A cafeicultura é uma atividade econômica e social de expressiva relevância na região do cerrado em Minas Gerais, tendo o *C. arabica* como espécie com cultivo predominante nesta região. Numerosos estudos ressaltam a influência de fatores ambientais, de topografia, genéticos e de práticas

de manejo na qualidade química e sensorial do grão, como abordado por Borém et al. (2024) e DaMatta et al. (2018).

É perceptível que variedades do *C. arabica* cultivados nesta região possam proporcionar bebidas com doçura acentuada, acidez equilibrada e grande complexidade aromática (Kim et al., 2024c). Entretanto, essas características podem apresentar variações significativas entre safras e também entre os diferentes processos pós-colheita aplicados, como métodos fermentativos e técnicas de secagem. Essas flutuações são decorrentes de fatores ambientais e práticas agronômicas adotadas na lavoura (Pereira et al., 2022a; Tieghi et al., 2024), tornando imperativa a procura por metodologias que pretendem promover consistência e previsibilidade na produção de cafés com alto padrão de qualidade.

Após a colheita dos frutos de café as etapas que se sucedem incluem a lavação, seleção dos frutos, despolpa (quando aplicável), fermentação, secagem e armazenamento. Nas intervenções pós-colheita, o tipo de processo empregado está condicionado a área de produção, infraestrutura da unidade produtora, condições ambientais, tipo de solo e atributos genéticos das variedades cultivadas (Pereira et al., 2022a; Tieghi et al., 2024). A fermentação está inserida nesse fluxo como uma importante etapa, dependendo da metodologia adotada (natural, cereja descascado), podendo ser espontânea e conduzida de forma controlada. Nessa fase, os microrganismos atuam sobre os açúcares e compostos presentes na mucilagem dos frutos, promovendo reações metabólicas que influenciam diretamente a qualidade sensorial e química do café. O monitoramento adequado dessa etapa é fundamental pois se executada de forma incorreta, resulta em defeitos que se evidenciarão no decorrer da secagem e o armazenamento, comprometendo a qualidade do café.

para minimizar defeitos durante a secagem e armazenamento. Posto isto, estas metodologias adotadas nos processos fermentativos visam aprimorar o perfil sensorial da bebida, especialmente ao potencializar a formação de ácidos orgânicos como ácido lático, málico e acético além de moléculas aromáticas (Costa et al., 2024; Janne Carvalho Ferreira et al., 2023; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024).

A fermentação é um processo anaeróbico de catabolismo fermentativo de compostos orgânicos, principalmente açúcares, utilizado por uma ampla diversidade de microrganismos para obtenção de energia. Esse processo abrange gêneros bacterianos como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Escherichia* e leveduras como *Saccharomyces*, *Pichia* e *Hanseniaspora* (Calderon et al., 2023; Janne Carvalho Ferreira et al., 2023).

Na fermentação do café, seja ela espontânea utilizando a microbiota natural presente nos frutos ou induzida com a inoculação de microrganismos específicos, é definida como um conjunto de reações de hidrólise realizadas por microrganismos, que metabolizam a mucilagem dos grãos, rica

em açúcares, substâncias pécticas, polissacarídeos complexos, ácidos orgânicos, holocelulose, lipídios, proteínas e minerais (Ferreira et al., 2024), produzindo diversos ácidos e dióxido de carbono (CO_2) (Rocha et al., 2024b; Silva et al., 2024; Zhang et al., 2023). Nesse sistema, os metabólitos gerados durante a fermentação, como ácidos orgânicos e CO_2, podem facilitar a liberação de compostos aromáticos e voláteis no café (Calderon et al., 2023; Silva et al., 2008), em que a associação entre a fermentação e os perfis aromáticos da bebida é caracterizada como complexa e delicada (Lee et al., 2015).

Durante todo o processo fermentativo, diversas reações bioquímicas ocorrem, incluindo a degradação de aminoácidos e polissacarídeos, a produção de ácidos orgânicos e a variação nos níveis de compostos fenólicos. Essas transformações são o resultado de interações metabólicas tanto da microbiota autóctone ou adicionada, quanto do próprio grão, que continua metabolicamente ativo e é influenciado por diferentes condições no pós-colheita (Louzada Pereira and Rizzo Moreira, 2021). Todos estes processos geram quantidades significativas de ácidos (Cítrico, Málico, Succínico, Lático e Acético) descritos e mesurados na Tabela S4, açúcares (Sacarose, Glicose, Frutose) e álcoois (Glicerol e Etanol) descritos e mensurados na Tabela S5. Essas substâncias remodelam o sabor e o perfil aromático do café, tornando-o mais complexo, com acidez equilibrada e notas sensoriais mais intensas e distintas (Lee et al., 2015; Zhang et al., 2023).

Em um contexto regional, as análises comparativas de safras sucessivas, como as realizadas na presente pesquisa, são escassas, apesar de sua importância. A abordagem metodológica empregada, que inclui fermentações controladas e análises físico-químicas detalhadas, dialoga diretamente com a necessidade de aprofundar o entendimento sobre os impactos das práticas pós-colheita, como apontado por Costa et al. (2024) e Rocha et al. (2024a). Com isto este estudo procurou contribuir com essa lacuna, avaliando como as safras de 2022 e 2023 do *C. arabica* cv. MGS Paraíso 2 respondem a diferentes processos fermentativos e ao explorar estes fatores que afetam a qualidade química e sensorial. Ao explorar esses fatores, prevê-se proporcionar subsídios para a otimização de práticas pós-colheita, com propósito de consistência e reprodutibilidade na produção de cafés utilizando processos fermentativos.

2.1. Vias Metabólicas de Consumo de Açúcares e Produção de Ácidos Orgânicos e Álcoois

Galvagno and Forchiassin (2010) definem metabolismo como o conjunto organizado de reações bioquímicas interconectadas empregado pelas células, envolvendo a conversão de nutrientes em energia, precursores biossintéticos e metabólitos funcionais. Essas reações são governadas pelos mesmos princípios fundamentais em todos os organismos vivos, resultado de uma origem evolutiva comum e das restrições impostas pelas leis da termodinâmica (Voet et al., 2016). Embora ocorra uma

gama variável de reações químicas em diferentes tipos celulares, muitas dessas reações metabólicas são compartilhadas universalmente, com variações relacionadas principalmente às fontes de energia livre disponíveis.

O metabolismo engloba tanto o catabolismo com a quebra de fontes de carbono e energia em metabólitos precursores com geração de energia livre de Gibbs, armazenada principalmente nas ligações de alta energia do trifosfato de adenosina (ATP), e de poder redutor, mantido em formas como NADH e NADPH, quanto o anabolismo, que compreende a biossíntese e a montagem de blocos de construção em macromoléculas complexas, incluindo proteínas, lipídios, ácidos nucleicos (DNA e RNA) e carboidratos (Nielsen, 2017).

Todas essas transformações químicas ocorrem por meio de séries de reações catalisadas por enzimas, organizadas em vias metabólicas (Zhang et al., 2023). Cada etapa de uma via metabólica gera uma pequena alteração química específica, como a remoção, transferência ou adição de um átomo ou grupo funcional característico. Assim, o precursor é convertido progressivamente em um produto final por meio de intermediários metabólicos coordenando de forma integrada, a utilização de carbono, nitrogênio e energia pelas células (Nelson and Cox, 2014).

O processo de fermentação do café ocorre em um ecossistema predominantemente anaeróbico. Esse ambiente estabelece pressões seletivas sobre a microbiota presente com a redução progressiva da disponibilidade de oxigênio, o aumento da temperatura, a queda do pH e a diminuição dos açúcares disponíveis. Este contexto favorece o desenvolvimento de populações microbianas específicas, mais adaptadas a esse ambiente, as quais são responsáveis pela degradação de açúcares e polímeros complexos, como pectina e celulose, presentes na mucilagem dos frutos. Esses microrganismos metabolizam compostos orgânicos com o objetivo de gerar energia, conservada na forma de ATP. (Batista da Mota et al., 2022; Janne Carvalho Ferreira et al., 2023; Nelson and Cox, 2014; Shen et al., 2024a; Vilela et al., 2010). Esse processo converte esses compostos em precursores de sabor e aroma, impactando diretamente na qualidade sensorial dos grãos (Costa et al., 2024; Janne Carvalho Ferreira et al., 2023; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024; Vilela et al., 2010). Diversas vias metabólicas microbianas convertem os açúcares presentes nos frutos em uma diversidade abrangente de compostos orgânicos, incluindo ácidos que desempenham um papel fundamental na qualidade sensorial da bebida final, como o ácido lático, o ácido acético e o ácido málico (Costa et al., 2024; Evangelista et al., 2014; Rocha et al., 2024a).

O ácido lático é um ácido dicarboxílico produzido principalmente por bactérias ácido-láticas do gênero *Lactobacillus*, através dos processos de glicólise e fermentação lática, conferindo uma acidez suave e equilibrada, característica altamente apreciada por seu efeito benéfico no sabor e no corpo do café (Achmad et al., 2023; da Silva Vale et al., 2019; Pereira et al., 2022b). Por outro lado,

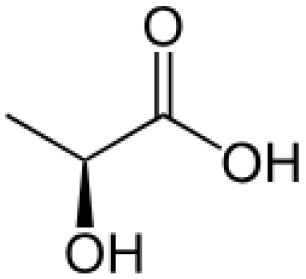
o ácido acético, que é metabolizado por bactérias acéticas a partir da oxidação do etanol gerado na fermentação, adiciona uma acidez mais proeminente e destacada ao perfil da bebida (De Carvalho Neto et al., 2017a) . Da mesma forma o ácido málico, presente naturalmente nos frutos, pode ser parcialmente produzido durante o processo de fermentação, conferindo notas frescas e frutadas que enriquecem o perfil sensorial do café.

A presença desses ácidos não apenas contribui individualmente para o sabor e o aroma, mas também interagem com compostos voláteis presentes na bebida, influenciando significativamente a percepção de complexidade e o equilíbrio da bebida final tornando a experiência de consumo única e sofisticada (Costa et al., 2024; Pereira et al., 2016, 2022b; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024).

2.1.1. Vias Metabólicas da Produção do Ácido Lático (Ácido 2-hidroxipropanoico)

A produção de ácido lático (Figura 2) durante a fermentação do café ocorre principalmente pela ação de bactérias ácido láticas (BAL), utilizando diferentes vias metabólicas para catabolizar açúcares como a glicose e outros hexoses em ácido lático e outros metabólitos, proporcionando acidez ao substrato tornando as condições menos favoráveis para o desenvolvimento de microrganismos indesejados (de Melo Pereira et al., 2020). As BAL fazem parte de um grupo variado de bactérias amplamente encontradas na natureza, representadas por cerca de 530 espécies e subespécies. São bactérias gram-positivas, não formadoras de esporos e não patogênicas (Anumudu et al., 2024; da Silva et al., 2021; de Melo Pereira et al., 2020).

Figura 1: Estrutura química ácido 2-hidroxipropanóico (Ácido Lático) - $C_3H_6O_3$



Quanto à capacidade de assimilar oxigênio, as BAL's podem ser anaeróbias, anaeróbias facultativas, aeróbias ou microaerófilas. Segundo Sionek et al., (2024), as BAL são as únicas desprovidas de catalase (enzima que degrada o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e superóxido dismutase que conseguem crescer em condições aeróbias. A exposição ao estresse oxidativo para BAL é prejudicial e seu alcance depende da espécie e da cepa. A incapacidade das BAL em degradar H_2O_2

deve-se ao fato de não sintetizarem grupos porfirínicos. Apesar de serem incapazes de sintetizar adenosina trifosfato (ATP) por meios respiratórios, as BAL não têm seu crescimento afetado pela presença ou ausência de ar. Elas podem ser classificadas como mesófilas ou termófilas, conforme a temperatura ótima para crescimento, entre 30°C a 37°C e entre 42°C a 50°C, respectivamente, além do fato de a maioria ser inativada a temperaturas superiores a 70°C (Sionek et al., 2024; Sybesma et al., 2006).

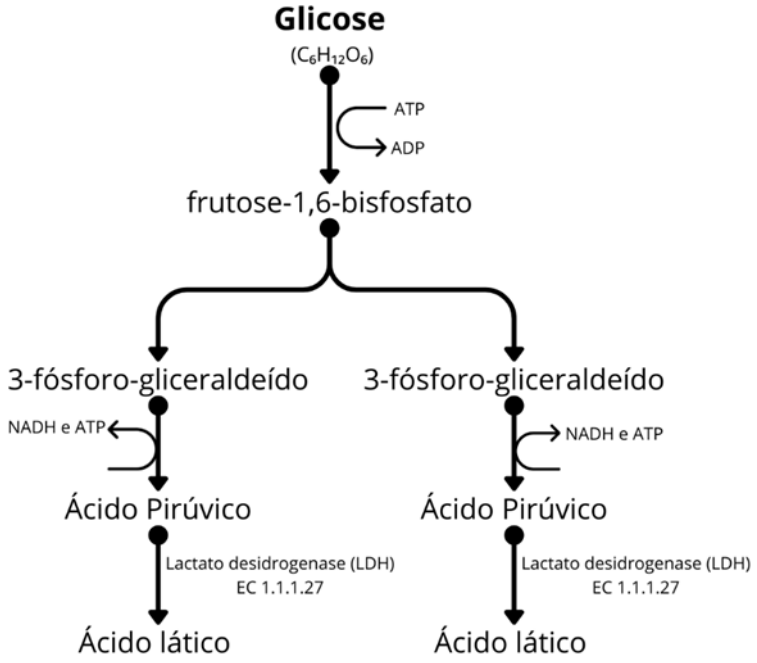
Nas transformações bioquímicas realizadas pelas BAL, o principal produto acabado da fermentação do açúcar é o ácido lático (da Silva et al., 2021; De Carvalho Neto et al., 2017b), tendo como consequência a redução do pH do meio. As BAL possuem membrana celular altamente impermeável ao influxo de prótons no citoplasma, e como acidófilas, são bastante tolerantes a baixos níveis de pH, possuindo um pH ótimo entre 5,5 e 6,0, sendo que seu crescimento é favorável a um pH entre 4,5 e 5,0 (Sionek et al., 2024). Produzem grande número de enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas, que transformam os nutrientes em compostos com propriedades sensoriais desejáveis (Anumudu et al., 2024). Além de enzimas, as BAL produzem vários fatores antimicrobianos, incluindo ácidos orgânicos, bacteriocinas, diacetil e acetaldeído, que atuam favoravelmente nos produtos alimentares, fazendo parte dos microrganismos capazes de exercer efeitos benéficos ao hospedeiro (Anumudu et al., 2024).

As BAL podem ser segmentadas em dois grupos específicos com base em seu processo metabólico de carboidratos. O grupo homofermentativo (*Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Lactobacillus*) produz ácido lático por meio da via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) e converte 1 mol de glicose em 2 mol de lactato. As BAL heterofermentativas (*Leuconostoc*, *Weissella* e alguns *Lactobacillus*) produzem quantidades equimolares de lactato, dióxido de carbono (CO_2), etanol e ácido acético a partir da glicose usando a via hexose monofosfato ou pentose fosfato e ao procederem desta forma, geram somente metade da energia do grupo homofermentativo (Batista da Mota et al., 2022; Costa et al., 2024; da Silva et al., 2021; Madigan et al., 2016; Paul Ross et al., 2002)

As homofermentativas, como algumas cepas de *Lactobacillus* e *Pediococcus*, seguem a via glicolítica, por possuírem a enzima aldolase podendo fermentar glicose mais diretamente para ácido láctico do que os heterofermentativos. Estas últimas como *Leuconostoc* e algumas cepas de *Lactobacillus*, utilizam a via das pentoses fosfato, gerando um perfil de produtos mais diversificados (Anumudu et al., 2024; Cardoso et al., 2021a; Sionek et al., 2024).

Dentre as duas principais vias de produção de ácido lático durante a fermentação do café na via da Glicólise ou Via Embden-Meyerhof-Parnas (Figura 2), a glicose é degradada em duas moléculas de ácido lático por meio da fermentação homofermentativa. A glicólise começa com a

Figura 2: Via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) – Via Homofermentativa de Produção de Ácido Lático por *Lactobacillus* spp. e *Pediococcus* spp. no processo de fermentação do café.



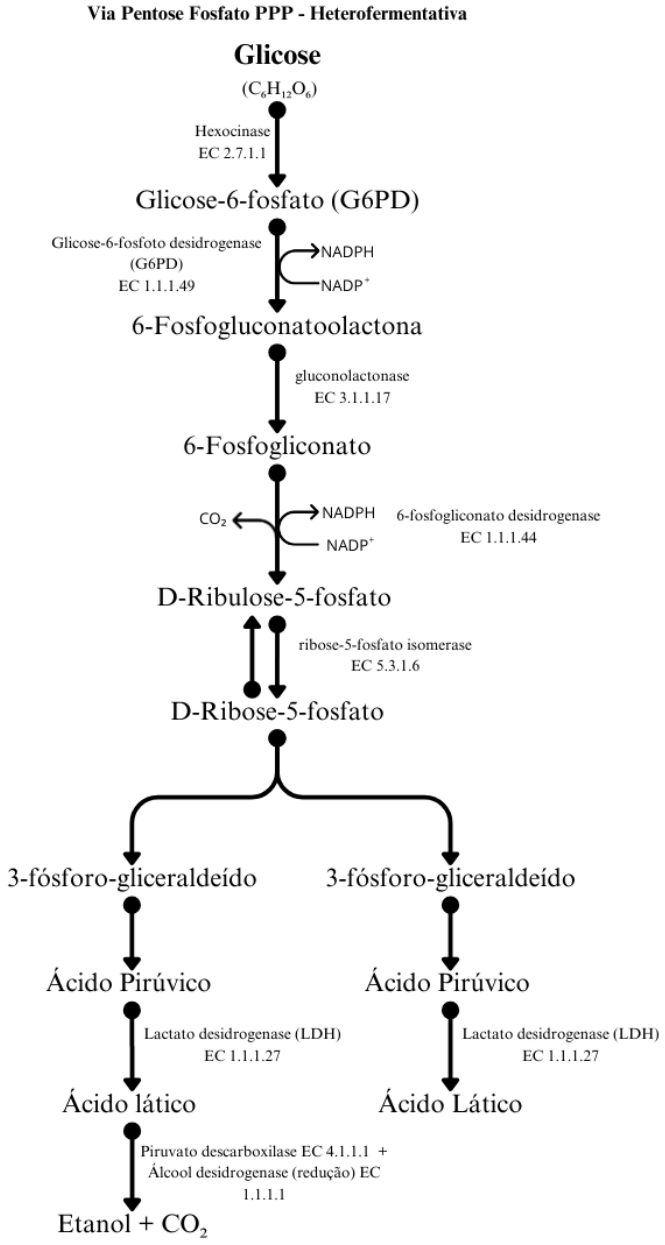
ativação da glicose e sua conversão em frutose-1,6-bisfosfato, que então se divide em duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato. Cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato é oxidada para produzir ácido pirúvico, que é reduzido a ácido lático pela enzima lactato desidrogenase (Batista da Mota et al., 2022). O saldo final desta via são duas moléculas de ácido lático para cada molécula de glicose metabolizada. O rendimento energético dessa via é duas moléculas de ATP.

A via das Pentoses-Fosfato – PPP (Figura 3), para a maioria dos organismos, está localizada no citosol (Stincone et al., 2015) e sua ocorrência se dá em condições em que as BAL heterofermentativas (*Leuconostoc* e *Lactobacillus*) utilizam a glicose para produzir uma mistura de produtos, incluindo ácido lático, etanol, dióxido de carbono (CO_2) e, em menor quantidade, ácido acético (da Silva et al., 2021; Paul Ross et al., 2002). A fosforilação da glicose é uma etapa inicial comum no metabolismo celular, realizada por enzimas como a hexocinase tendo como produto a glicose-6-fosfato (G6P). Essa reação irreversível é essencial para ativar a glicose, permitindo seu direcionamento para diferentes vias metabólicas, como a glicólise ou a via das pentoses-fosfato (PPP). Na PPP, o metabolismo se inicia especificamente a partir da glicose-6-fosfato, que é oxidada para gerar NADPH e ribose-5-fosfato, fundamentais para processos biossintéticos e redox celulares (Nelson and Cox, 2014; Voet et al., 2016).

A glicose que é convertida em ribulose-5-fosfato e em outros intermediários, tem como resultado final na via a produção de ácido lático a partir de um dos produtos intermediários. O

rendimento de ATP nessa via é baixo (cerca de uma molécula de ATP por molécula de glicose), devido à formação de outros subprodutos além do ácido lático. Essa via é mais comum em bactérias do gênero *Leuconostoc*, que favorecem um perfil de fermentação que contribui para o sabor do café com notas ácidas, mas sem a predominância do ácido lático, pois há produção de outros ácidos e compostos aromáticos.

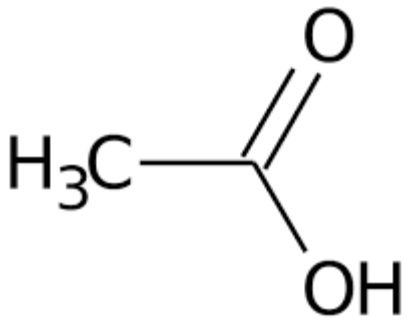
Figura 3: Via Pentose-Fosfato – Via Heterofermentativa de Produção de Ácido Lático e Etanol por *Leuconostoc* spp. e algumas cepas de *Lactobacillus* spp. no processo de fermentação de café.



2.1.2. Vias Metabólicas da Produção do Ácido Acético (Ácido etanoico)

O ácido acético é um ácido monocarboxílico, saturado e de cadeia aberta que desempenha um papel relevante na dinâmica do processo fermentativo do café e sua presença é fundamental para o aperfeiçoamento de uma acidez equilibrada e agradável, resultando um perfil sensorial mais complexo e valorizado na bebida (Evangelista et al., 2014)

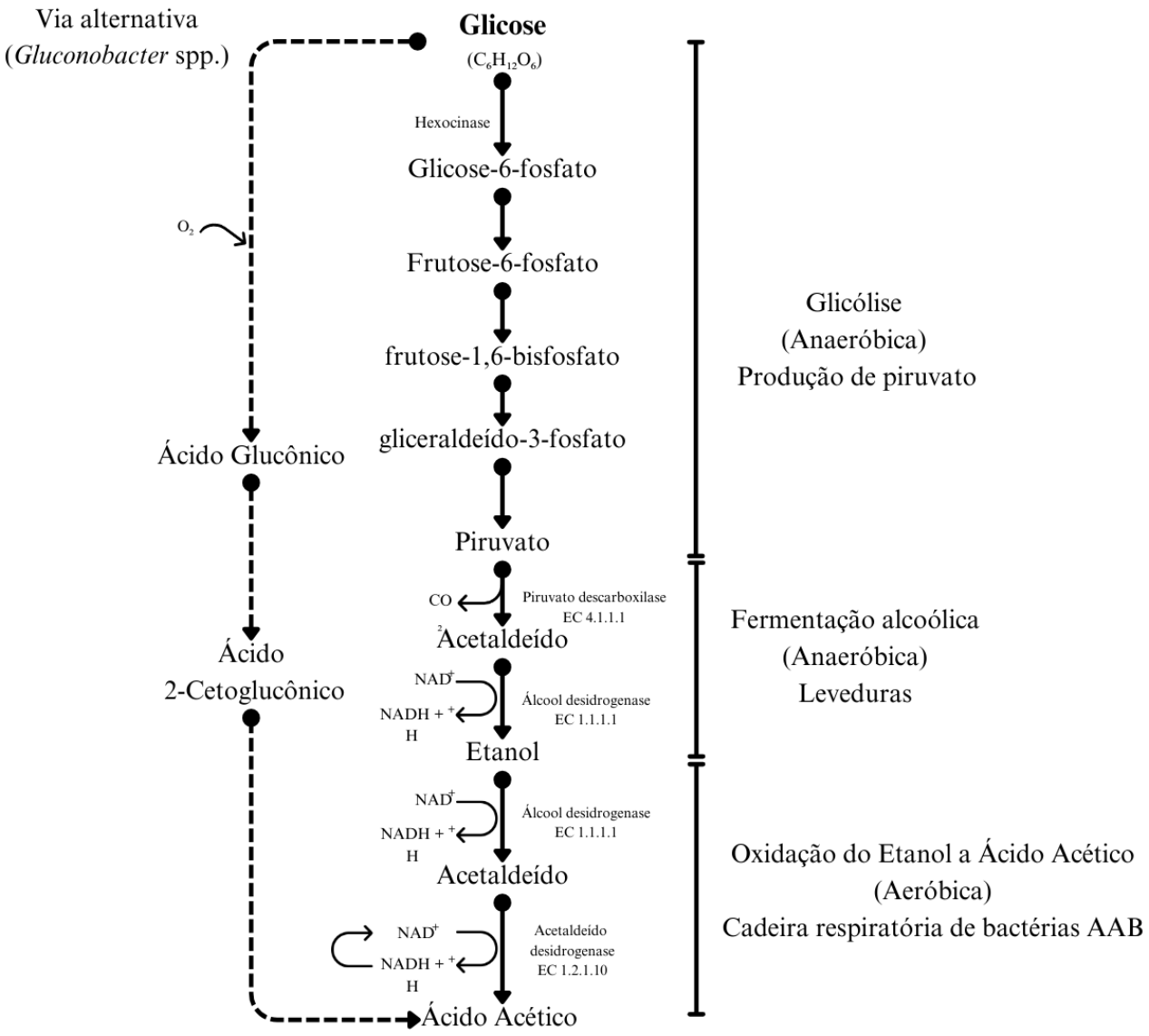
Figura 4: Estrutura química ácido etanoico (Ácido Acético) – Fórmula molecular $C_2H_4O_2$



Na fermentação do café, ocorrem sistemas catabólicos de oxidação de substâncias orgânicas, como os açúcares presentes na polpa (glicose e frutose), que levam à produção de etanol por leveduras. Na primeira etapa, o piruvato sofre uma descarboxilação simples em uma reação irreversível catalisada pela piruvato-descarboxilase. Em seguida o acetaldeído é reduzido a etanol pela enzima da álcool-desidrogenase, com o poder redutor fornecido pelo NADH derivado da desidrogenação do gliceraldeído-3-fosfato tendo como produtos da fermentação etanólica o etanol e CO_2 (Braga et al., 2023a; Nelson and Cox, 2014; Pereira et al., 2022b). Em uma próxima fase da via metabólica, na presença de oxigênio, bactérias do ácido acético (AAB) como *Acetobacter* e *Gluconobacter*, oxidam este etanol produzido, convertendo-o em energia e ácido acético (Figura 5) (He et al., 2022; Škraban and Trček, 2016).

No processo de fermentação acética direta, além da oxidação do etanol, algumas AAB, como espécies de *Gluconobacter* (Figura 5) podem produzir ácido acético diretamente a partir de açúcares, como a glicose e a frutose, sem passar pela produção de etanol. Nesta etapa algumas bactérias podem converter diretamente a glicose em ácido acético via rota de oxidação. Essas reações não envolvem a produção intermediária de etanol, sendo uma via mais curta para a produção de ácido acético, em que este processo ocorre também em condições aeróbicas e é favorecido por AAB que possuem sistemas de enzimas de desidrogenases específicas para oxidar açúcares diretamente (El-Askri et al., 2022; Malimas et al., 2017).

Figura 5: Via de Produção de ácido etanoico pela oxidação do etanol e pela via alternativa.



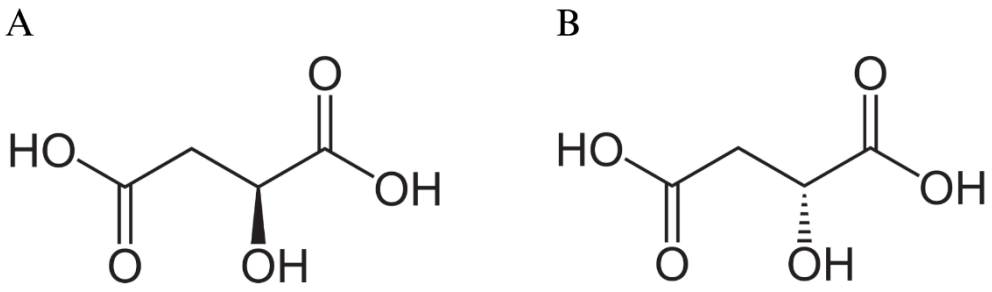
2.1.3. Vias Metabólicas da Produção do Ácido Málico (Ácido 2-hidroxibutanodióico)

O ácido málico é um dos principais ácidos orgânicos encontrados em grãos de café, contribuindo para a acidez e frescor da bebida. Durante a fermentação do café, ele pode ser produzido ou transformado em outras moléculas dependendo do metabolismo dos microrganismos presentes. Ele pode ser sintetizado a partir de intermediários do ciclo do ácido cítrico (TCA) ou por rotas alternativas por meio de microrganismos específicos (Santanatoglia et al., 2024).

O ácido málico é um é um ácido dicarboxílico de quatro carbonos (Figura 6) e é um intermediário-chave no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), sendo esta via apontada como a mais

promissora para a sua produção, podendo utilizar para isto várias vias metabólicas (Chen et al., 2017). No decurso da fermentação a produção de ácido málico pode ser metabolizada em outros ácidos orgânicos como ácido lático, influenciado pela atuação de múltiplos microrganismos (Osorio et al., 2023).

Figura 6: Estrutura química do Ácido 2-hidroxibutanodióico (Ácido Málico) – $C_4H_6O_5$. A: Ácido L-málico (S) e B: Ácido D-málico (R) - Fórmula molecular $C_4H_6O_5$



Durante a fermentação malolática, BAL's (como espécies de *Lactobacillus, Oenococcus e Pediococcus*) podem produzir ácido málico através de rotas metabólicas secundárias. Um dos caminhos comuns é a descarboxilação do ácido cítrico em condições anaeróbicas, resultando na formação de ácido málico e outros ácidos intermediários. O ácido málico também pode ser consumido e convertido em ácido lático por algumas espécies de bactérias, o que impacta o pH da fermentação e contribui para uma acidez mais suave na bebida (Jimenez et al., 2023; Osorio et al., 2023). Este processo pode ser monitorado pelo perfil metabólico da mucilagem do café, no qual ocorre uma diminuição do ácido málico durante o estágio final da fermentação, como observado em estudos de perfil metabólico de cafés fermentados e também na Tabela S4 e Tabela S5 (Achmad et al., 2023; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024).

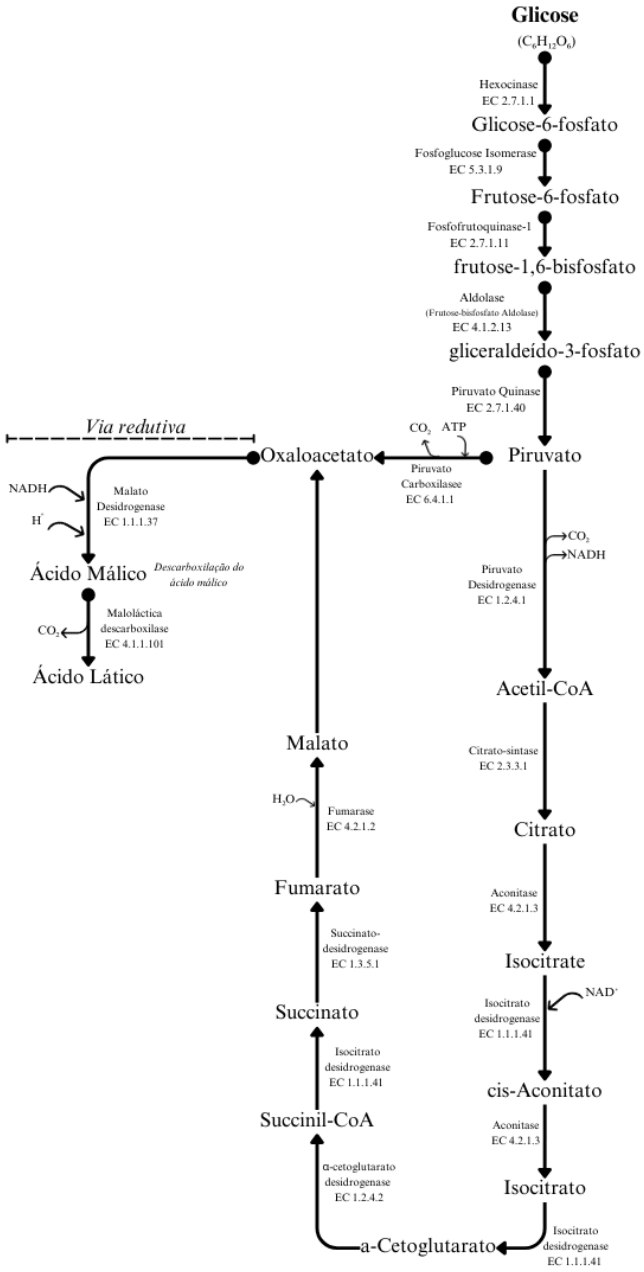
Em microrganismos heterofermentativos, como os do gênero *Leuconostoc*, a glicose pode ser metabolizada pela via das pentoses-fosfato (PPP), especialmente em condições em que a glicólise tradicional está redirecionada para a produção de compostos redutores e precursores biossintéticos (moléculas intermediárias). A PPP gera intermediários como frutose-6-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato, que retornam ao fluxo glicolítico e dão origem a piruvato e, subsequentemente, a fosfoenolpiruvato (PEP) (Candeliere et al., 2024; Zaunmüller et al., 2006). O PEP pode então ser convertido em oxaloacetato pela ação da enzima fosfoenolpiruvato carboxilase, numa reação que incorpora CO_2. Este oxaloacetato é posteriormente reduzido a ácido málico pela enzima malato desidrogenase, utilizando NADH como cofator redutor. Essa via é particularmente relevante em

condições fermentativas, pois permite a regeneração de NAD^+ e a síntese de metabólitos orgânicos como o ácido málico, que desempenha papel sensorial importante na fermentação (Candeliere et al., 2024).

No ciclo TCA, em microrganismos aeróbicos ou facultativos (Leveduras como *Saccharomyces cerevisiae, Schizosaccharomyces pombe* e determinadas bactérias) envolvidos na fermentação, o ácido málico é gerado como um intermediário a partir do fumarato, por meio da hidratação catalisada pela enzima fumarase (Fumarato + H_2O → Fumarase → ácido málico).

Na via redutiva do TCA, a conversão de piruvato em ácido málico ocorre em condições anaeróbicas ou microaeróbicas, algumas BAL's (*Lactobacillus plantarum, Leuconostoc mesenteroides, Oenococcus oeni*) podem produzir ácido málico a partir do piruvato por uma via metabólica que envolve a oxaloacetato sintase e a malato desidrogenase (Cassimiro et al., 2023; da Silva et al., 2021). Na primeira etapa o piruvato é carboxilado para formar oxaloacetato por intermédio da enzima piruvato carboxilase (Piruvato + CO_2 + ATP → Piruvato carboxilase → Oxaloacetato + ADP + P_i), posteriormente o oxaloacetato é reduzido a ácido málico utilizando NADH como doador de elétrons mediado pela enzima malato desidrogenase (Oxaloacetato + NADH + H^+ → Malato desidrogenase → Ácido Málico + NAD^+) (Candeliere et al., 2024).

Figura 7: Via de Produção de Ácido Málico via redutiva do ciclo de Krebs



3. Material e Métodos

3.1. Frutos

A variedade de café estudada nas safras de 2022 e 2023 foi a MGS Paraíso 2 (Anexo 01) de *Coffea arabica*, cultivada na fazenda Londrina, município de Coromandel, Brasil (latitude 18°38'39.5"S, longitude 46°50'20.4"W e altitude de 1.144 m). A colheita foi realizada de forma mecanizada, no qual os frutos foram submetidos à lavação (Ecoflex, Pinhalense, São Paulo, Brasil), com o propósito da remoção de impurezas como folhas e gravetos, concomitante a separação com

base na densidade dos frutos por estágio de maturação. Em seguida foram encaminhados diretamente para os biorreatores no qual ocorreu o processo de fermentação.

3.2. Delineamento dos Processos de Fermentação

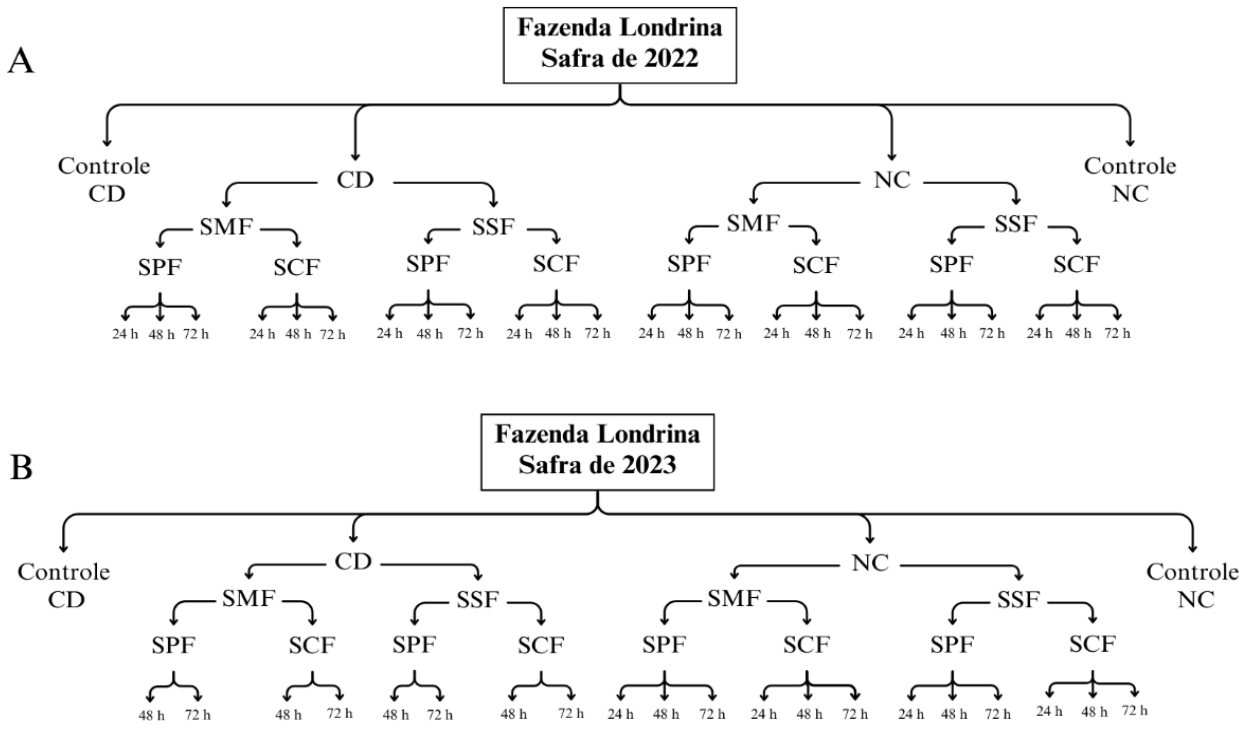
Os experimentos das fermentações referentes às safras de 2022 e 2023 foram conduzidos em ambiente aberto, em biorreatores expostos à temperatura ambiente e à radiação solar. Utilizou-se o método de fermentação anaeróbica autoinduzida (SIAF), conforme descrito por Janne Carvalho Ferreira et al., (2023). Para as duas safras, os cafés foram fermentados em biorreatores de polietileno de alta densidade (PEAD 2) atóxico, com capacidade de 200 litros, previamente higienizados com solução de ácido peracético a 5%. Os biorreatores foram selados com tampas de rosca equipadas com câmaras de ar (*airlocks*), permitindo que o dióxido de carbono (CO_2) produzido fosse liberado e impedindo a entrada de ar externo, mantendo o ambiente anaeróbico dentro do biorreator.

No delineamento utilizou-se frutos dos cafés denominados natural cereja (NC) e frutos cereja descascado (CD). Os experimentos denominados “Controle”, referem-se aos frutos NC e CD que foram lavados e depositados em terreiros para secagem natural sem passar pela etapa de fermentação. O controle segue as condições de manejo estabelecidas na propriedade, permitindo uma avaliação de forma objetiva dos efeitos dos experimentos fermentativos, estabelecendo um ponto de referência e assegurando a reprodutibilidade e confiabilidade nos resultados.

Para os frutos de cafés submetidos ao processo fermentativo foram utilizados o delineamento apresentado nas Tabela S1 e nas representações esquemáticas indicadas nas Figura 8.

Para o método CD na safra de 2023, foram contempladas apenas observações dos tempos de fermentação de 48 e 72 horas, em razão de não ter café em quantidade suficiente para a realização dos experimentos no tempo de 24 horas.

Figura 8: Representação Esquemática para o Delineamento dos Experimentos para o *Coffea arabica* cv. MGS Paraíso 2.



A: Referente ao ano de 2022; B: Referente ao ano de 2023 CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora

O experimento que fez uso de cultura *starter* (SCF - *Starter Cultures Fermentation*), utilizou o inoculante comercial Nucoffee®, composto por uma cepa de *Saccharomyces cerevisiae* com o uso seguindo as diretrizes de diluição e aplicação recomendadas pelo fabricante. No experimento de fermentação espontânea, em que se utilizou a microbiota epifítica e endofítica presente nos frutos, o processo foi denominado fermentação sem utilização de inóculo (SPF - *Spontaneous Fermentation*).

Cada experimento teve diferentes tempos de fermentação, sendo estas 24, 48 e 72 horas, realizado por meio de biorreatores de sacrifício. Para os experimentos submetidas à fermentação autoinduzida em estado sólido (SSF – *Solid State Fermentation*) não houve a adição de água nos biorreatores enquanto fermentação autoinduzida em estado submerso (SMF - *Submerged Fermentation*) houve a adição de 30% v/v de água. Ao final de cada ciclo (24 horas), um biorreator foi sacrificado para coleta de amostras em triplicata para análises físico-químicas. Encerrado a coleta de amostras, promoveu-se o enxague com água corrente dos cafés fermentados nos biorreatores com a finalidade de interromper o processo de fermentação. Posteriormente, o café foi disposto nos terreiros suspensos para secagem natural sucessiva, até que os grãos atingissem um teor de umidade entre 11 e 12%. Após a secagem, os grãos foram armazenados por aproximadamente 25 dias, período

considerado de repouso que busca alcançar um equilíbrio adequado de umidade e estabilização dos compostos químicos, antes de proceder as etapas de beneficiamento dos grãos de café.

3.3. Composição Química Presentes nos Frutos de cafés

Para a quantificação das concentrações de açúcares (sacarose, glicose e frutose), álcoois (glicerol e etanol) e ácidos orgânicos (cítrico, málico, succínico, láctico, acético, propiônico e butírico) em amostras dos frutos de café controle (0 h) e com 24, 48 e 72 h de fermentação, foi empregado o uso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As análises foram realizadas utilizando um sistema de HPLC, modelo LC-20A Prominence (Shimadzu Corp., Kyoto, Japão®), acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos (PDA - *Photodiode Array Detector*) e um detector de índice de refração (RID - *Refractive Index Detector*) no Laboratório de Fermentação e Processos Enzimáticos (LAPFE) da Universidade Federal de Uberlândia. A separação dos compostos foi obtida usando uma coluna SUPELCOGEL C-610H (30 mm × 7,8 mm) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). A fase móvel consistiu em 0,1% de ácido fosfórico, com uma vazão de eluente de 0,5 mL/min por 35 min. O forno de coluna foi mantido a uma temperatura de 32ºC, e o volume de injeção foi ajustado em 20,0µL. Os ácidos orgânicos foram quantificados usando o detector de arranjo de fotodiodos (PDA) operando a 210 nm, enquanto os açúcares e álcoois que não absorvem na região UV, foram determinados usando detector de índice de refração (RID). A análise e o processamento dos dados foram conduzidos usando o software LC-Solutions (versão 5.117 Shimadzu Corp., Kyoto, Japão), com quantificação baseada em suas respectivas curvas de calibração.

No preparo das amostras para análise, foram utilizados 10 g de frutos de café combinados com 100 mL de água deionizada, que forma homogeneizados por 2 min em um liquidificador doméstico (Oster® 1400W, São Paulo, SP, Brasil). A solução resultante foi filtrada através de duas camadas de tecido de organza de poliéster. Após essa filtragem inicial, a amostra foi então centrifugada usando uma Heal Force (Neofuge® 18R, Xangai, China) a 13.000 rpm por 15 min a uma temperatura de 17ºC, e o sobrenadante foi coletado. Antes da injeção, os sobrenadantes passaram por uma segunda filtração usando um filtro de seringa MCE Millex® (Membrana de ésteres de celulose mistos) de tamanho do poro 0,22 µm, diâmetro 0,33 mm, estéril e hidrofílico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para purificar a amostra e preservar a integridade da coluna de HPLC. As amostras preparadas e devidamente identificadas, foram injetadas diretamente na coluna de cromatografia, seguindo o procedimento adaptado por Elhalis et al. (2020)

3.4.Análise Colorimétrica de Grãos de Café Verde

Para a análise colorimétrica de grãos de café verde, as leituras foram efetuadas com o uso do colorímetro de reflectância Delta Vista® 450G de Geometria óptica 45/0° e brilho 60°, Faixa espectral de 400 a 700 nm e Resolução de 10 nm, área de medição de 16 mm, no parâmetro ΔE Lab, o que permitiu a avaliação dos parâmetros L (luminosidade), a (coordenada vermelho/verde) e b (coordenada amarelo/azul) dos grãos. O equipamento foi calibrado de acordo com as especificações do fabricante, utilizando um padrão branco e preto para referência (fornecidos com o equipamento), a cada mudança de amostra. Para a medição, uma quantidade padronizada de grãos de café verde foi colocada na câmara de leitura do colorímetro, e os valores de L, a, e b foram registrados. Foi executado a limpeza do compartimento de amostras após cada medição, evitando contaminação cruzada. Para cada amostra avaliada, foram efetuadas 10 medições, na qual os grãos foram homogeneizados entre as etapas de leitura, para garantir uniformidade nos registros. Para as análises estatísticas dos dados, para as mudanças de cor dos grãos, os resultados obtidos foram submetidos aos cálculos de diferença de cor total - ΔE (Figura 9), em que as mudanças de cor podem ser medidas como o módulo do vetor de distância entre os valores de cor iniciais e as coordenadas de cor reais (Kumar et al., 2022; Pathare et al., 2013).

Figura 9: Equação para Cálculo de Diferença de Cor Total. L1, a1 e b1 Corresponde a Cor de Referência (Controle) e L2, a2 e b2 Representa a Cor Aferida de Cada Experimento.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

3.5.Análises do Perfil de Textura (TPA) dos Grãos de café

Para as análises do perfil de textura (TPA) dos grãos de café de ambas as safras, avaliou-se a força em compressão, expressa em grama-força (gf), utilizando o Texturômetro TA-XT2i Stable Micro System para determinar padrões de força e dureza. Foi empregada para esta finalidade, uma *probe* cilíndrica de alumínio P36R de 50 mm de diâmetro, macro TPA-AIBCAKE 2. A coleta dos resultados foi realizada utilizando o software 'Texture Expert for Windows', versão 1.20 (Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido). Cinco medições foram feitas por amostra. A *probe* foi posicionada 40 mm sobre a amostra e foi ajustada, durante os testes, para aplicar uma velocidade de retorno de 30 mm/segundo e uma força de contato de 30 g.

3.6. Análise Sensorial

As amostras de café fermentados torrados e os controle das safras de 2022 e 2023, foram organizadas obedecendo metodologias padronizadas prescritas pela *Specialty Coffee Association (SCA, 2008)* para provas de café especial. Os grãos de café foram selecionados e torrados na Cooperativa dos Cafeicultores do Cerrado (Expocacer) em Patrocínio, Minas Gerais, Brasil, seguindo as diretrizes da SCA. A torrefação foi realizada usando um torrador Atilla Gold Plus—10 Kg (Atilla, Belo Horizonte, Brasil), sendo uma torra de média intensidade e a coloração se situando aproximadamente em 58 (±1,0 ponto), no caso do grão, e em 63 (±1,0 ponto), se moído (escala Agtron). Os grãos foram torrados no máximo 24 h antes da degustação, sendo a duração da torrefação, variando entre 8 e 12 min. Buscando ponderar o impacto da duração da fermentação nos atributos finais da bebida de café, para cada amostra, cinco xícaras foram preparadas, mantendo uma equivalência determinada de 8,25 ±0,25g de café por 150 mL de água (5,5% m/v), com a temperatura da água ficando mantida em torno de 92,2ºC a 94,4ºC.

Na análise sensorial, os cafés provenientes de diversos processos fermentativos das safras de 2022 e 2023 foram avaliados por cinco *Q-Graders* licenciados pelo *Coffee Quality Institute* (CQI) utilizando a metodologia estabelecido pela *Specialty Coffee Association* (SCA). Seguindo o protocolo da *Specialty Coffee Association (SCA, 2008)*, foram avaliaram dez atributos sensoriais como fragrância/aroma, sabor, gosto residual, acidez, corpo, equilíbrio, uniformidade, xícara limpa, doçura e qualidade geral. Cada atributo foi classificado em uma escala de 6 a 10 pontos, com incrementos de 0,25. Além dessas análises quantitativas, os *Q-Graders* também identificaram para cada amostra, atributos sensoriais descritivos, adotando a estrutura da roda de sabores. Os cafés com pontuação acima de 80 pontos nessa escala foram categorizados como cafés especiais.

3.7. Análises Estatísticas Aplicadas

Na Safra de 2022, foram conduzidos 26 experimentos, e na safra de 2023, 22 experimentos, quatro a menos que 2022, devido à ausência de experimentos com cereja descascado (CD) com 24 horas de fermentação. Os experimentos foram inteiramente casualizados (DIC), com medições e coletas de amostras realizadas em triplicata.

O teste Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos resíduos dos dados e a regularidade das variâncias. A análise comparativa dos valores médios em todos os testes foi realizada usando ANOVA ($p \leq 0,05$) reiterado pelo teste de Tukey como pós-teste para identificar quais grupos apresentavam diferenças estatísticas significativas, efetuado no MiniTab® versão 18.1 (Minitab, Inc., State College, PA, EUA), considerando valores de p menores que 0,05 como estatisticamente significativos. As médias dos valores obtidos de consumo de açúcar, produção de ácidos e álcoois,

pH, textura e notas sensoriais, foram empregadas para analisar se havia uma discrepância relevante entre os experimentos. Em relação aos tempos de fermentação empregados nos experimentos (24, 48 e 72 horas), foram avaliadas a ocorrência de discrepâncias no mesmo experimento durante o tempo de fermentação e se havia uma diferença estatística entre os diferentes experimentos quando comparados com as safras de 2022 e 2023.

Árvores de decisão foram geradas separadamente para as safras de 2022 e 2023 com o objetivo de identificar quais atributos físico-químicos ou sensoriais apresentaram maior capacidade de discriminar os diferentes tratamentos fermentativos aplicados. As análises foram realizadas no software MATLAB (versão 2023). A acurácia dos modelos foi avaliada utilizando o método de validação cruzada denominado "*full-training cross-validation*" (FTCV), que testa a robustez preditiva dos modelos ao calcular a taxa de erro na classificação de cada amostra dentro de seu respectivo grupo experimental. Os resultados do FTCV foram expressos como percentuais de erro para cada experimento, permitindo a comparação entre os modelos quanto à sua capacidade de generalização

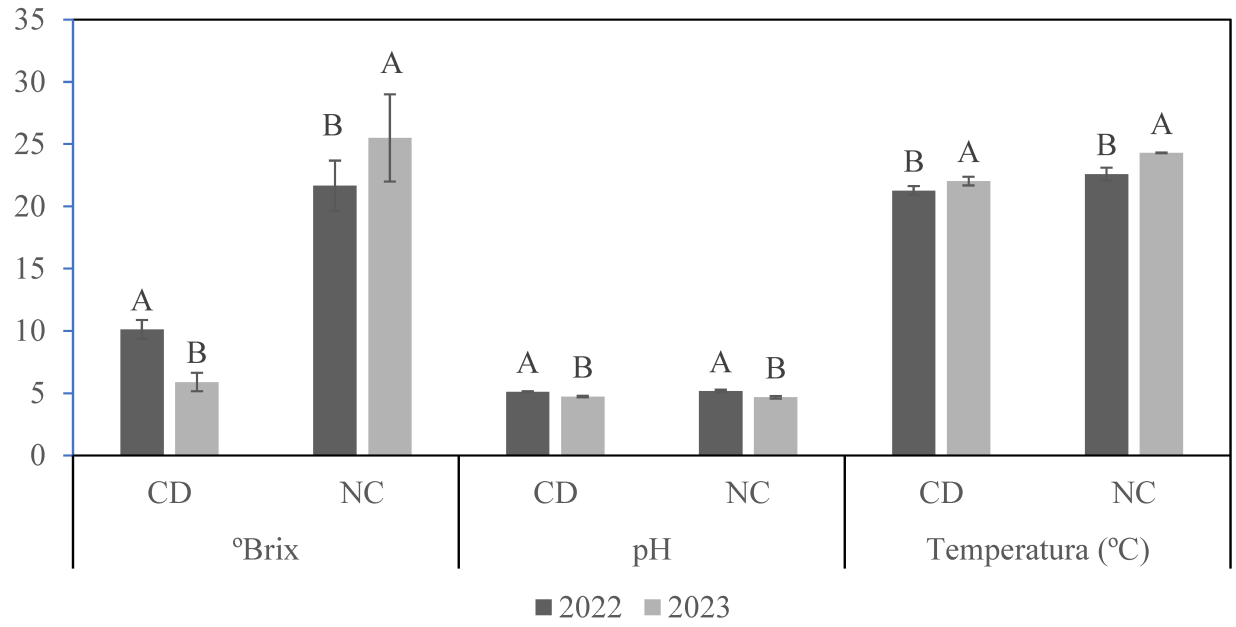
4. Resultados e Discussão

4.1. pH, ºBrix e Temperatura no Decorrer do Processo de Fermentação e Entre Safras

As análises realizadas nos frutos de cafés recém-colhidos e separados pelo lavador no tempo zero, correspondem à matéria-prima utilizada nas safras de 2022 e 2023, denominada controle.

Na Tabela S2 e Figura 10: Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos no Tempo Zero (Controle) dos Frutos dos Cafés das Safras de 2022 e 2023 Figura 10, estão compilados os resultados das medições para as variáveis ºBrix, pH e Temperatura para o controle (Tempo 0). Observa-se que para todos os parâmetros avaliados entre safras, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os resultados, podendo indicar intercorrências em pontos específicos entre os anos de 2022 e 2023, possivelmente relacionadas a diferenças no manejo agronômico, no ponto de maturação dos frutos no momento da colheita ou a variações climáticas ocorridas durante etapas fenológicas críticas da cultura.

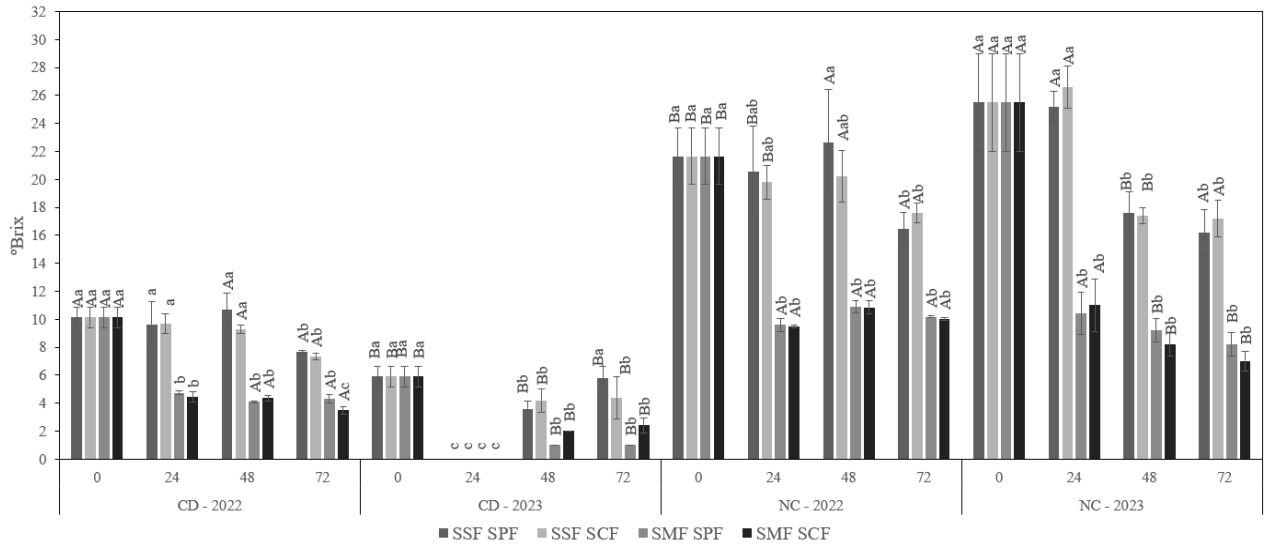
Figura 10: Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos no Tempo Zero (Controle) dos Frutos dos Cafés das Safras de 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja.

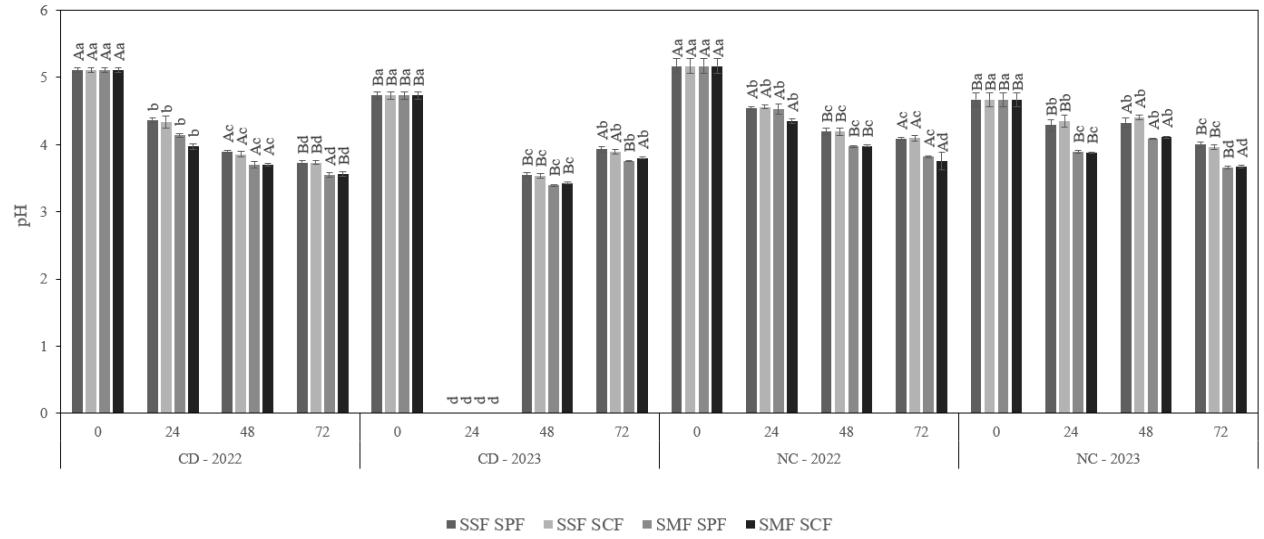
Os dados apresentados na Figura 10 e Tabela S3, indicam a análise comparativa entre os tempos de fermentação (0, 24, 48 e 72 horas) para as safras de 2022 e 2023 em relação aos parâmetros de ºBrix, pH e temperatura, da cv. MGS Paraíso 2, tanto para o CD quanto para o NC, indicando a ocorrência de variações significativas do ponto de vista estatístico ($p \leq 0,05$) entre os tempos avaliados. As diferenças entre os teores de ºBrix CD e NC na mesma safra, se justifica pela razão de que no método CD, procedeu-se a remoção de forma mecanizada do exocarpo dos frutos, ocorrendo também nesta etapa, a retirada de parte do mesocarpo, rico em açúcares. Considerando o parâmetro pH, nota-se que ele apresentou variações estatísticas nos dados ($p \leq 0,05$) entre as safras avaliadas. A temperatura, também indicada na Tabela S3, apresentou resultados que indicaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as safras.

Figura 11: Análise Comparativa de Parâmetros de ºBrix para os métodos CD e NC em Grãos de Café cv. MGS Paraíso 2 nos Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.



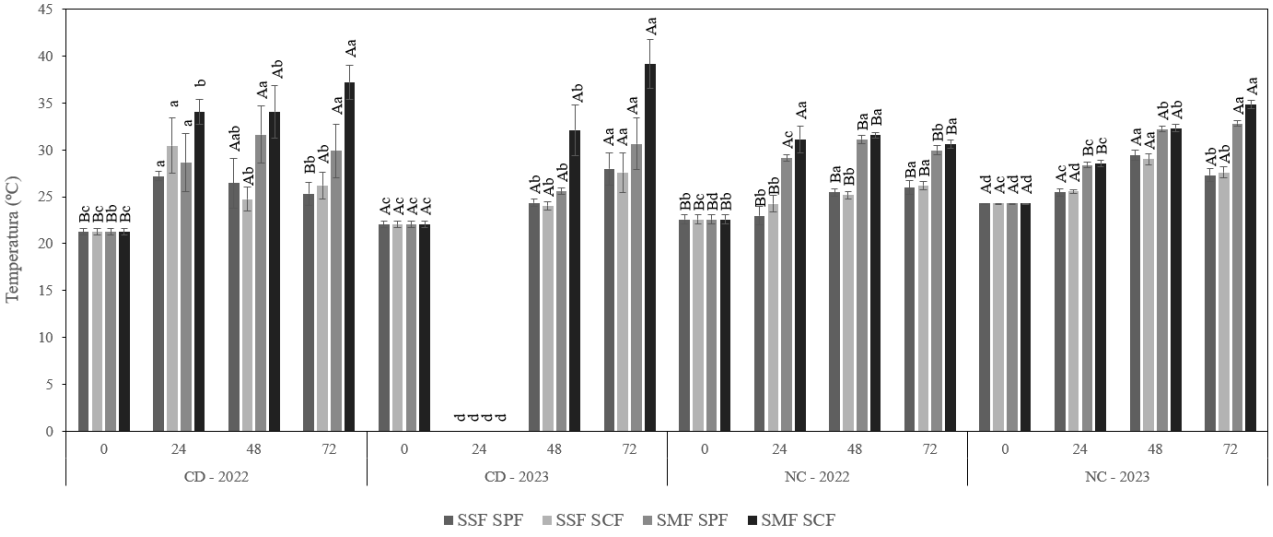
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora.

Figura 12: Análise Comparativa de Parâmetros de pH para os métodos CD e NC em Grãos de Café cv. MGS Paraíso 2 nos Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora.

Figura 13: Análise Comparativa de Parâmetros de Temperatura para os métodos CD e NC em Grãos de Café cv. MGS Paraíso 2 nos Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora.

A temperatura desempenha um papel crucial nos processos fermentativos do café, influenciando diretamente a atividade microbiana e as reações bioquímicas que determinam o desenvolvimento de compostos aromáticos e a qualidade sensorial do grão. Alternâncias da temperatura no interior dos biorreatores têm o potencial de levar a comunidade microbiana a comportamentos irregulares como acelerar o metabolismo em temperaturas elevadas, promovendo mudanças expressivas na composição microbiana e nos caminhos metabólicos, com impacto direto na estabilidade do processo de forma a causar desequilíbrios, como a inibição de microrganismos benéficos e a proliferação de indesejáveis (Seib et al., 2016; Tian et al., 2018). Por outro lado, temperaturas baixas podem reduzir a eficiência da fermentação, comprometendo o desenvolvimento de alguns microrganismos e a síntese de compostos voláteis de interesse. (Chala et al., 2019; Peñuela-Martínez et al., 2023b, 2023c).

Monitorar e controlar os gradientes de temperatura é um ponto fundamental durante o processo de fermentação do café, dado que a distribuição da temperatura no interior do biorreator desempenha um papel fundamental na dinâmica microbiana (Peñuela-Martínez et al., 2023c, 2023a). Os dados coletados no momento de sacrifício dos biorreatores (Figura 13) possibilitaram uma análise pormenorizada da evolução térmica durante a fermentação, contribuindo para o monitoramento do processo e a otimização das condições.

4.2. Perfil de Açúcares, Ácidos e Álcoois no Decorrer da Fermentação

4.2.1. Produção de Ácidos no Decorrer da Fermentação e Entre Safras

Na Tabela S4 e nas Figura 14, Figura 15, Figura 16 e Figura 17 estão disponibilizados os dados referentes à análise comparativa da produção de ácidos orgânicos nos diferentes tempos de fermentação para a safra 2022 e 2023 para o método CD e Tabela S5 e Figura 18, Figura 19, Figura 20 e Figura 21 para a safra 2022 e 2023 para o método NC.

A síntese de ácido cítrico por diversas leveduras e algumas bactérias durante a fermentação do café ocorre pela via metabólica central da respiração aeróbica, conhecida como ciclo de Krebs. Esse processo tem início com a condensação do Acetil-CoA com o Oxaloacetato, seguida pela isomerização do Citrato em Isocitrato (Batista da Mota et al., 2022; Jimenez et al., 2023; Kernbach et al., 2022). Na safra de 2022, verificou-se que no tempo de 24 horas de fermentação houve um aumento na produção de ácido cítrico (Figura 15), sendo que em 72 horas, deu-se um declínio na concentração ($p \leq 0,05$) para os tratamentos SMF SPF e SCF.

A redução na concentração de ácido cítrico pode estar relacionada à maior atividade microbiana, especialmente de microrganismos capazes de metabolizá-lo como fonte de carbono.

Além disso, a diminuição da disponibilidade de O_2 no meio pode beneficiar rotas metabólicas anaeróbias que envolvem o consumo desse ácido (Jimenez et al., 2023).

Essa diminuição ao passar do tempo é esperada. Em 2023 os valores de ácido cítrico para o controle são notadamente baixos, estaticamente diferentes ($p \leq 0,05$) aos observados na safra de 2022, podendo sugerir diferenças na composição dos frutos, supostamente pelo efeito de variações ambientais ou de manejo agronômico. Em 48 horas ocorre uma maior produção em todos os tratamentos, sendo mais expressiva em SMF SCF enquanto para 72 horas a produção relevante acontece em SSF SPF.

Para o método NC a produção de ácido cítrico se destaca no início pela desigualdade dos valores no controle entre as safras ($p \leq 0,05$), sem a presença deste composto na safra de 2023. Na safra de 2022, para NC a produção do ácido cítrico para o tratamento SSF SPF apresentou diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) entre o controle, 24 e 72 horas de fermentação enquanto os demais tratamentos não se mostraram estatisticamente diferentes ($p > 0,05$). Na safra de 2023 ocorre um declínio ($p \leq 0,05$) das quantidades observadas de ácido cítrico de 24 para 48 horas em todos os tratamentos. Ao mesmo tempo que em 72 horas os tratamentos SSF SPF e SCF e SMF SPF apresentou-se estatisticamente sem alterações ($p > 0,05$) em seus valores quando comparados ao tempo de 48 horas.

Quando comparado aos tempos de fermentação, observa-se uma diminuição gradual da concentração de ácido cítrico à medida que o tempo de fermentação aumenta. Esse processo ocorre devido à ação de microrganismos, como bactérias láticas (*Lactobacillus* spp.) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), que utilizam o ácido cítrico como fonte de carbono para a obtenção de energia, metabolizando-o por meio de vias catabólicas, como o Ciclo de Krebs.

Para os dados do ácido málico para o CD (Figura 15), quando comparados os valores entre as safras 2022/2023, observa-se diferenças significativas ($p \leq 0,05$) (Exceção para os tratamentos SSF SCF e SMF SPF e SCF no tempo de 72 horas), com uma concentração relativamente maior em 2022, com destaque para o controle. Assim como no ácido cítrico, houve uma diminuição gradual à medida que o tempo de fermentação aumentou em ambos as safras analisadas. Este fato pode estar relacionado principalmente às bactérias láticas (*Lactobacillus* sp.) poderem estar convertendo o ácido málico em ácido lático, pela descarboxilação malolática (Cassimiro et al., 2023; Fu et al., 2022; Jimenez et al., 2023), o que pode ser corroborado com os dados de ácido lático presentes na Tabela S4 e Figura 14. Em 2023 o tratamento SMF SPF apresentou comportamento de aumento de produção consistente no tempo de 48 horas com redução em 72 horas quando comparados ao controle ($p \leq 0,05$).

Para os dados de NC, as concentrações de ácido málico para ambas as safras diminuíram gradativamente ($p \leq 0,05$) no decorrer da fermentação, com estabilidade no tempo de 72 horas ($p > 0,05$) em relação ao tempo de 48 horas. Essa redução pode estar associada à atividade metabólica de

microrganismos presentes no meio, como leveduras e BAL, que são capazes de consumir ácido málico como fonte de carbono por meio de reações de descarboxilação ou conversão em ácido lático (Cassimiro et al., 2023).

Para as informações do ácido succínico para o café CD, as concentrações são relativamente maiores para o controle em 2022 quando comparadas à 2023 ($p \leq 0,05$) onde o composto foi detectado em concentrações muito baixas (Tabela S*4*). Para o método NC, nos tempos de fermentação em 2022 (24, 48 e 72 horas), ocorre uma redução na concentração de ácido succínico para a maioria dos tratamentos, com exceção dos tratamentos SMF SPF 48 horas e SMF SCF 72 horas. Ao mesmo tempo observa-se em 2023 uma metabolização consistente, em especial nos tempos de 48 e 72 horas. Para o NC, observa-se uma diferença significativa entre as safras ($p \leq 0,05$) apenas para o tempo de 24 horas enquanto para os demais tempos de fermentação os valores apresentaram relativa reprodutibilidade. Observa-se diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) quando comparados com o controle em ambas as safras, com destaque que em 2022 houve redução da concentração do ácido succínico enquanto em 2023 ocorreu o contrário.

A produção de ácido succínico pode aumentar em fases avançadas da fermentação, particularmente quando a glicose e outros açúcares fermentáveis se tornam limitantes. Nesse contexto, diversos microrganismos alteram seu metabolismo para rotas alternativas, redirecionando o fluxo de carbono para a produção de ácidos orgânicos como forma de regenerar cofatores redox e manter a atividade celular. O ácido succínico, sendo um intermediário do ciclo TCA, pode ser gerado por vias redutivas anaeróbias, como observado em algumas leveduras e bactérias ácido-láticas, a partir de precursores como fosfoenolpiruvato ou piruvato. Assim, seu acúmulo com o passar do tempo pode refletir a adaptação metabólica dos microrganismos à queda da disponibilidade energética no meio (Babaei et al., 2019; Liu, 2003; Sauer et al., 2008; Wu et al., 2007; Zhao et al., 2013).

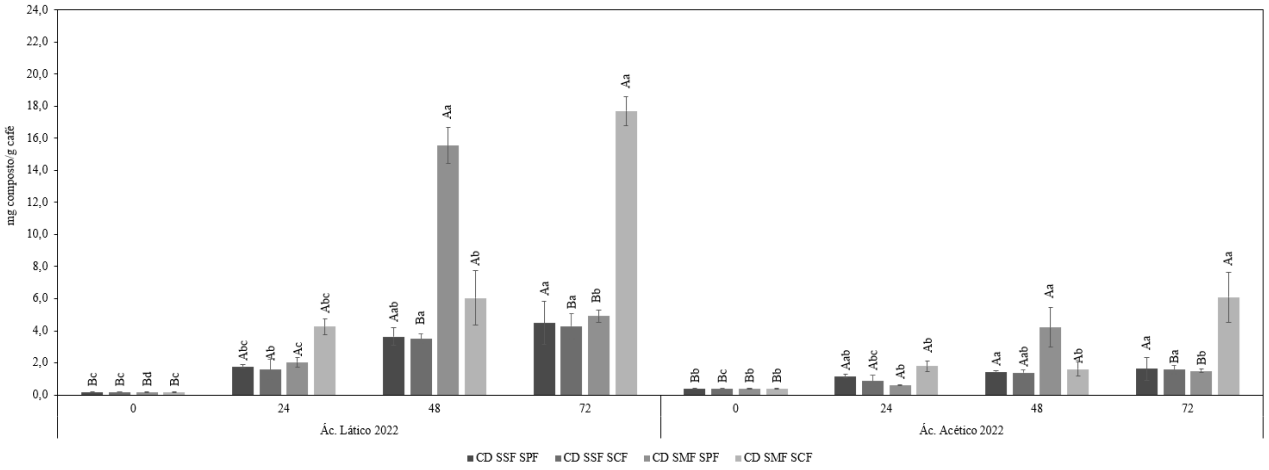
O ácido lático é um dos principais compostos produzidos durante a fermentação do café por estar associado diretamente ao perfil sensorial tendo sua produção realizada pelas bactérias BAL utilizando carboidratos simples presentes na mucilagem, como glicose e frutose, que tem como consequência a quebra do açúcar em piruvato, que, por sua vez, é convertido em ácido lático para regenerar o NAD^+, com a finalidade de geração de energia (Kim et al., 2024c; Pereira et al., 2022b). Conforme indicado na Tabela S4 para o CD, os valores evidenciam comportamento bem distinto de produção de ácido lático, entre as safras, com destaque para o controle em 2023 com grande diferença ($p \leq 0,05$) em relação a 2022. Em relação aos tempos na safra de 2022, os tratamentos SMF SPF com pico de produção em 48 horas e SMF SCF com pico de produção em 72 horas com diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) entre eles. No NC observa-se pouca variação nas concentrações entre as safras com exceção do controle e do tempo de 24 horas, no qual se observou diferença significativa ($p \leq 0,05$).

No decorrer da fermentação, ambos os anos apresentaram uma tendência reprodutível de aumento progressivo nas concentrações de ácido lático.

Para o ácido acético descritos na Tabela S4 Figura 16 para o método CD, identifica-se variações estatísticas ($p \leq 0,05$) nas concentrações deste ácido entre as safras no controle, com um valor relativamente maior na safra de 2023. Entre os tempos de fermentação o destaque ocorre no tempo de 48 horas com o SMF SPF e no tempo de 72 horas com SMF SCF na safra de 2022. Em 2023 os tempos de 48 e 72 apresentaram concentrações semelhantes ($p \leq 0,05$) com exceção SMF SCF em 48 horas. Para NC na safra de 2023 nota-se que a produção do composto foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) nos tempos de 48 e 72 horas, inclusive no controle, quando comparada com 2022. Esta alta produção de ácido acético em 2023 pode indicar um maior desenvolvimento de bactérias acéticas, que oxidam substratos como etanol que teve uma alta produção nesta safra para o NC, como indicado na Figura 20 (Li et al., 2019).

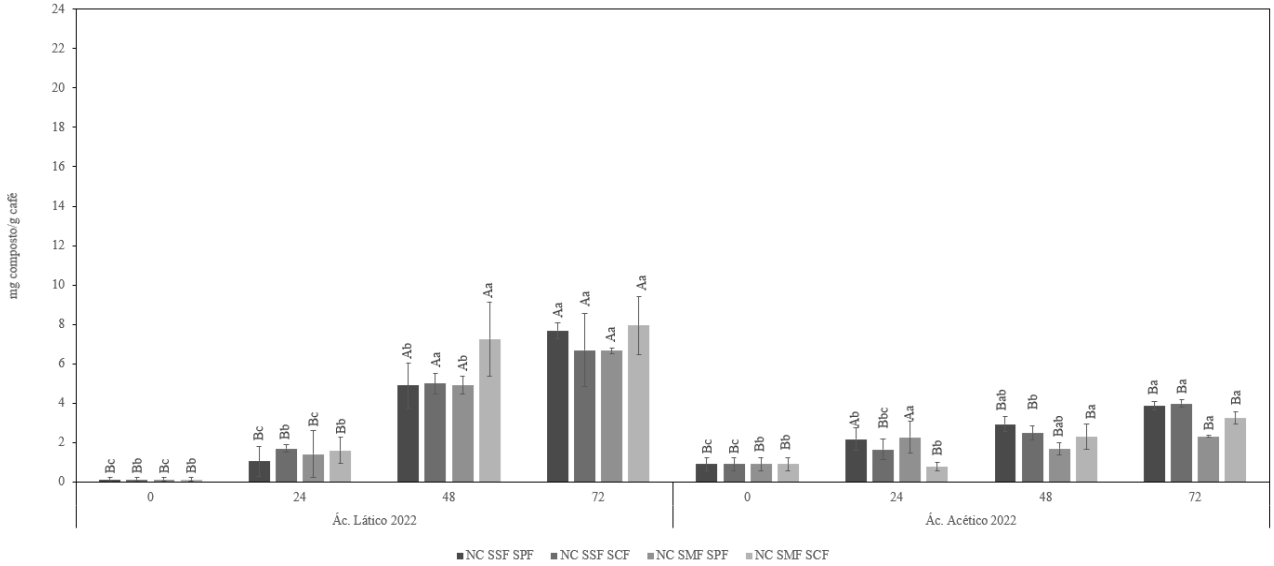
As concentrações dos ácidos propiônico e butírico foram medidas juntamente com os demais ácidos, porém em nenhumas dos métodos CD ou NC, e em nenhum dos tempos de fermentação (24, 48 e 72 horas), foi possível constatar sua ocorrência. Durante a fermentação do café, os ácidos propiônico e butírico são produzidos principalmente em condições anaeróbicas prolongadas, afetando a qualidade sensorial da bebida de maneira prejudicial. Esses compostos são formados por bactérias dos gêneros *Propionibacterium, Bifidobacterium* e *Clostridium,* além de algumas *Enterobacteriaceae*, quando há degradação avançada da mucilagem (Cardoso et al., 2021b; Janne Carvalho Ferreira et al., 2023; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024). Esses microrganismos têm ciclos metabólicos mais longos e, geralmente, não estão presentes nos tempos iniciais da fermentação, por serem anaeróbios estritos, o que significa uma exigência de ambientes altamente anaeróbicos, condições que tendem a se estabelecer mais tarde na fermentação (Chen et al., 2022).

Figura 14: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



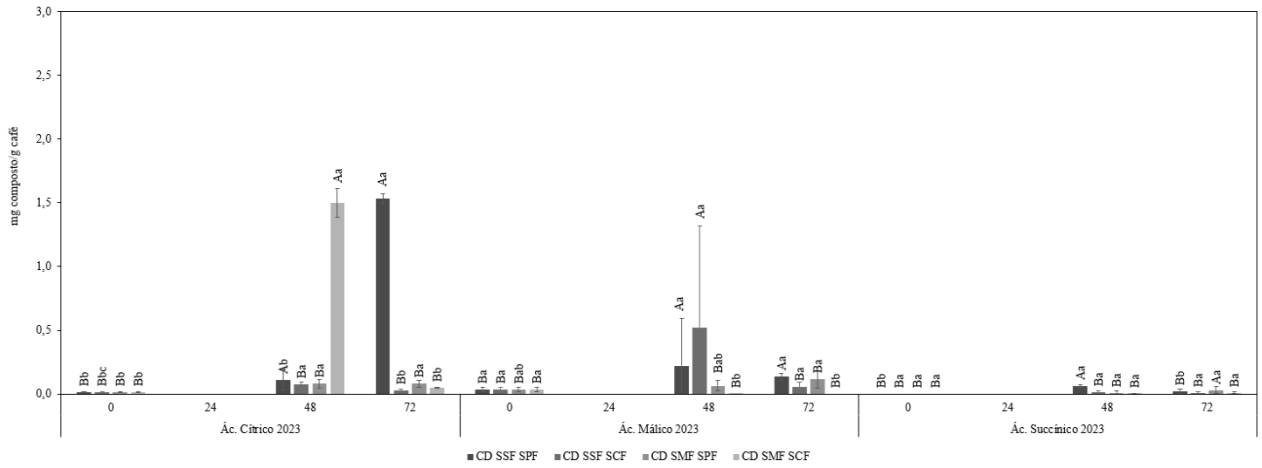
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 15: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



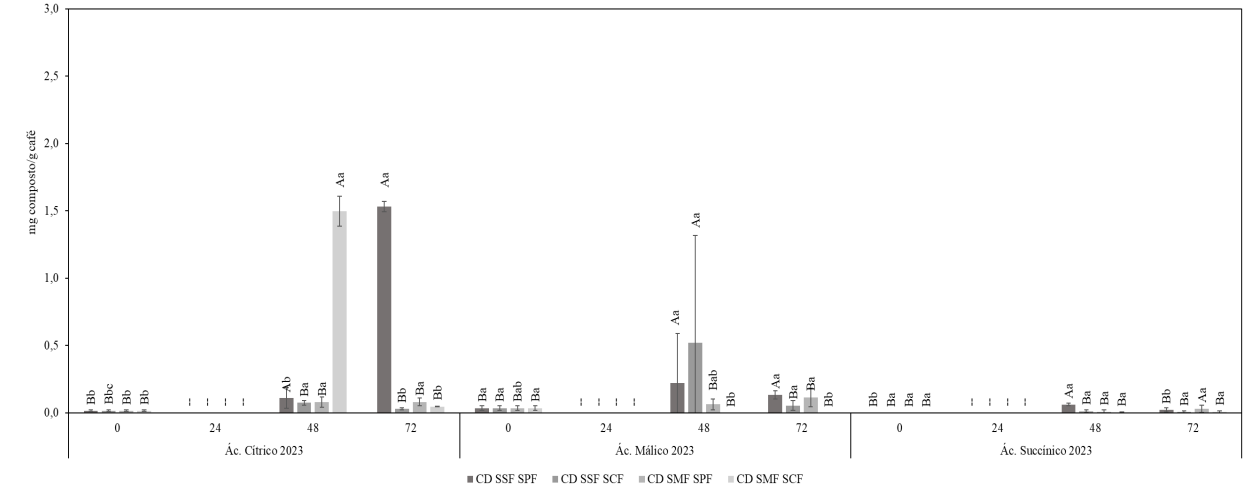
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 16: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



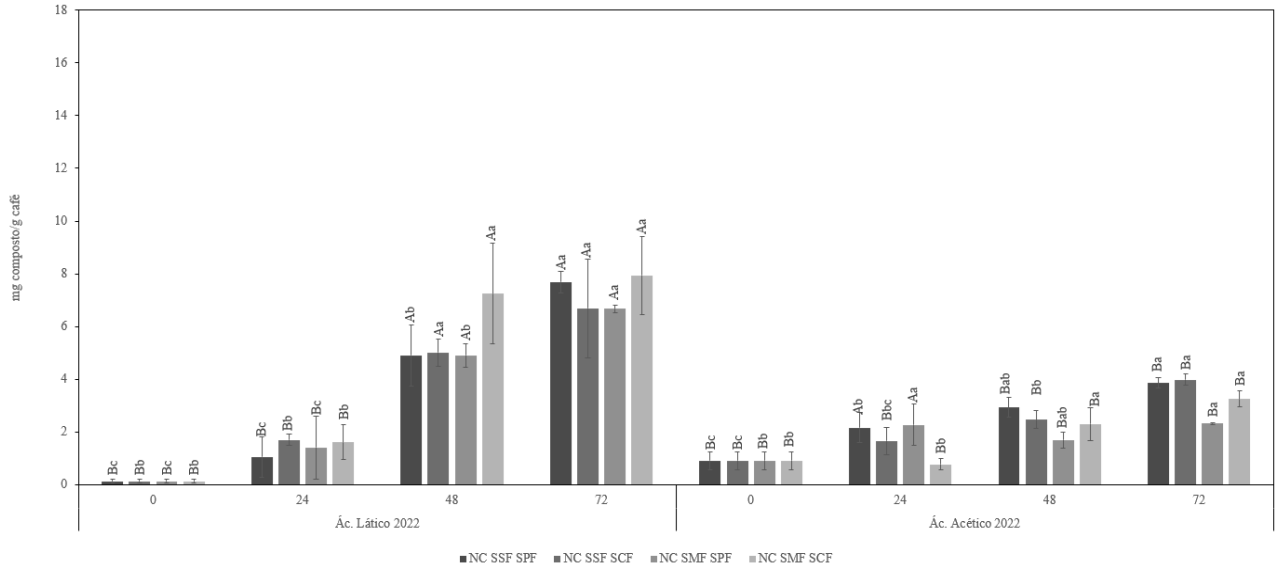
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 17: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023



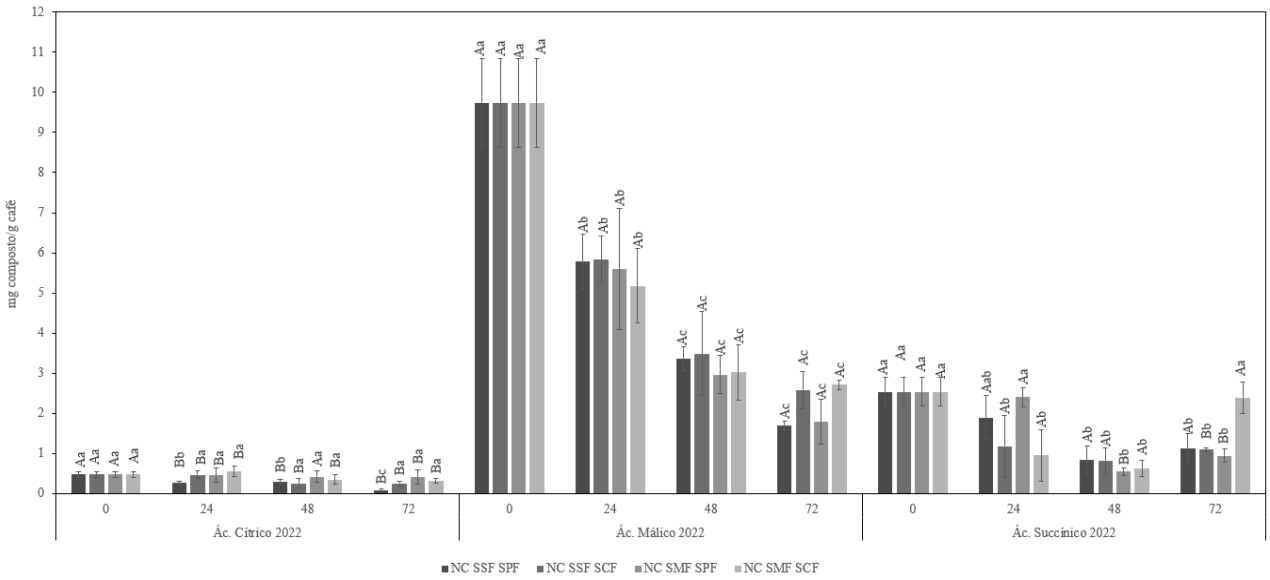
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 18:Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



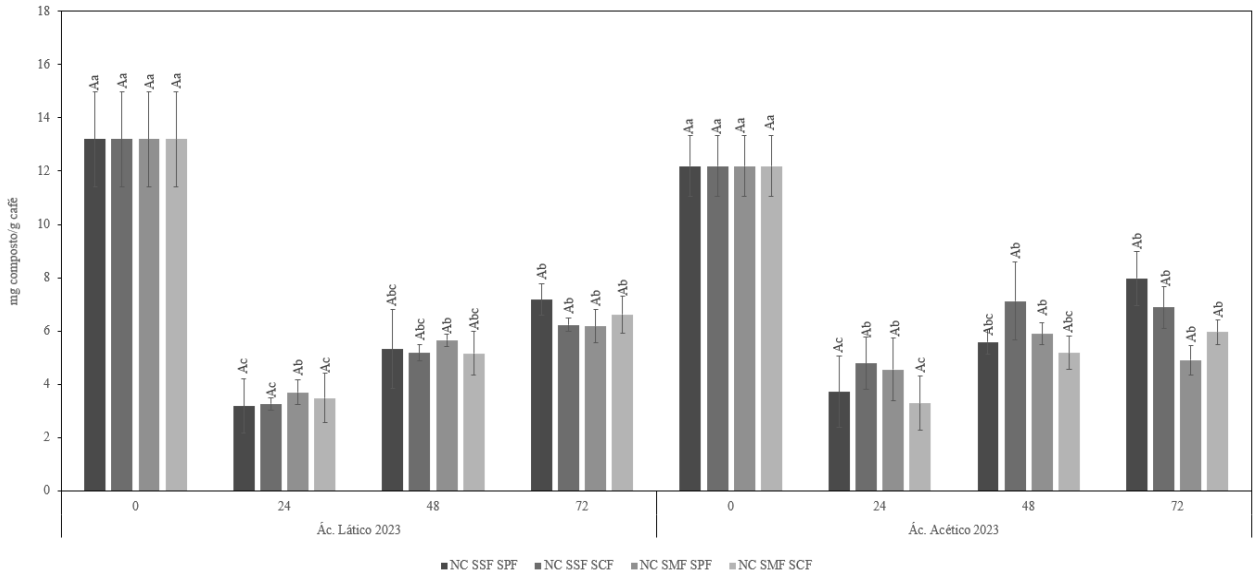
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 19: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



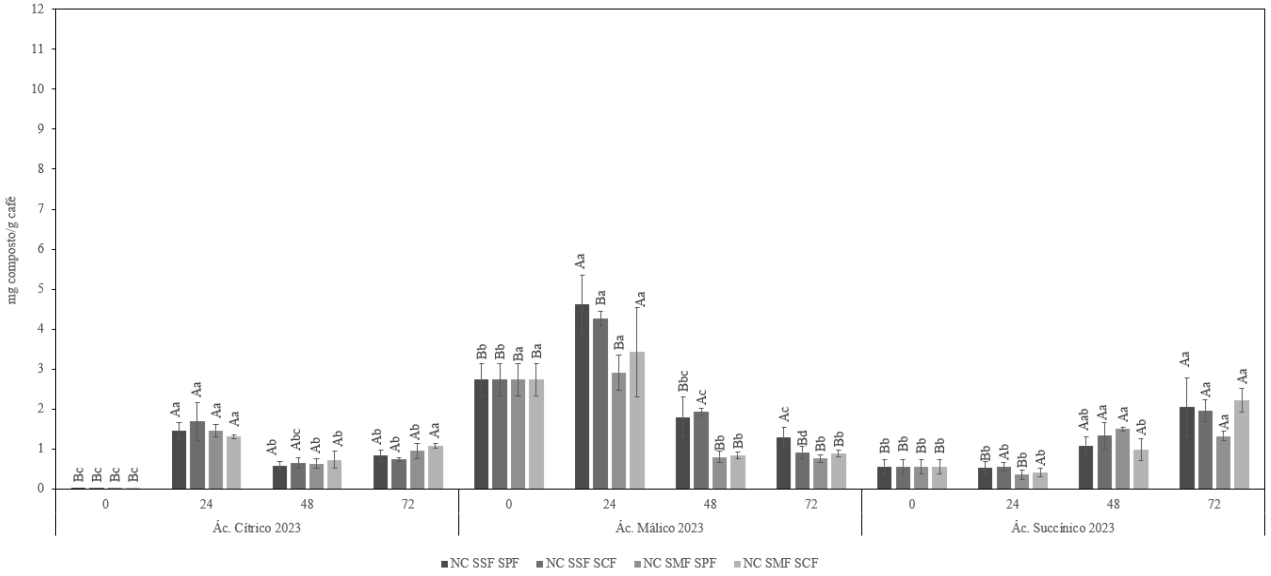
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 20: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Lático e Ácido Acético, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 21: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos, Ácido Cítrico, Ácido Málico e Ácido Succínico, do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

4.2.2. Consumo de Açúcares e Produção de Álcoois no Decorrer da Fermentação

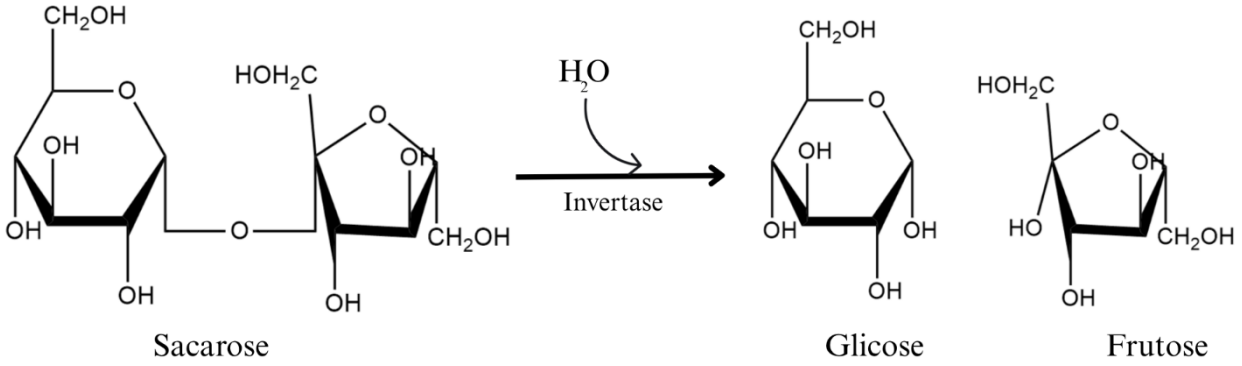
Considerando os dados das safras de 2022/2023, relativos ao consumo de açúcares e a produção de álcoois, demonstrados nas Tabela S6 e Tabela S7, é perceptível as diferenças significativas destes compostos ao longo dos tempos de fermentação e dos experimentos avaliados.

As discrepâncias nos valores entre os frutos CD e NC nos níveis de açúcares, se deve essencialmente ao processo em que os frutos NC têm removido seu exocarpo (película externa) de forma mecânica, para a produção do café CD. Neste processo parte dos açúcares é perdido junto com o mesocarpo (polpa mucilaginosa) que é removida parcialmente.

A sacarose é um dissacarídeo formado por uma unidade de glicose (ligada por uma ligação α-1,2) e uma unidade de frutose, presente nos cafés, desempenhando atribuições essenciais no processo de fermentação. Leveduras e algumas bactérias, existentes nos frutos, utilizam a sacarose como fonte primária de energia, inicialmente promovendo a sua hidrolise (Figura 22) nos monossacarídeos glicose e frutose por meio da enzima invertase (β-frutofuranosidase), produzindo ácidos orgânicos

(ácido lático, acético), glicerol e dióxido de carbono (Braga et al., 2023b, 2023a; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024; Voet and Voet, 2013).

Figura 22: Reação de Hidrólise da Sacarose Catalisada pela Enzima Invertase.



A concentração de sacarose no início das fermentações está relacionada as condições de maturação dos frutos na colheita, na qual apresentam um acúmulo de açúcares maior, como observamos praticamente em todos os experimentos e nos tempos iniciais de ambas as safras tanto para o CD quanto para o NC. Durante o decorrer da fermentação, nota-se um declínio dos valores, em todos os tempos e experimentos de CD e NC, em função da atividade microbiana que atua hidrolisando a sacarose para suas funções metabólicas e utilizando os esses açúcares resultantes em derivados como etanol (da Silva Vale et al., 2019; De Carvalho Neto et al., 2017a)

Na Tabela S*6* referente aos dados do CD, os níveis de sacarose no controle apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as safras, com níveis mais altos em 2022. Os teores de sacarose na safra de 2022 para a maioria dos experimentos apresentou fenômeno reprodutível de redução da sacarose ($p \leq 0,05$) para os tempos de 24 e 48 horas, possivelmente associado à ação enzimática pelos microrganismos na clivagem hidrolítica da sacarose. O tratamento SMF SCF demonstrou diminuição das concentrações de sacarose no decorrer de todos os tempos de fermentação, em ambas as safras. Na safra de 2023 os teores de sacarose apresentaram poucas variações estatísticas ($p \leq 0,05$) em relação aos tempos de 48 e 72 horas de fermentação.

Para o NC, os níveis do açúcar sacarose se apresentaram mais elevados para todos os tempos estudados e para o controle apresentaram-se mais elevados em 2023 com variações estatísticas ($p \leq 0,05$), supostamente em consequência da maturação dos frutos no momento da colheita. Na safra de 2023, os resultados indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando analisados os tempos 24 e 48 horas com uma diminuição dos teores de sacarose ao longo do processo, enquanto no tempo de 72

horas os níveis foram mantidos. Este comportamento não é percebido na safra de 2022, no qual os experimentos não seguiram uma linearidade de degradação da sacarose com o passar do tempo de fermentação. Um aspecto relevante a considerar são os tratamentos SMF SPF e SMF SCF que apresentaram teores de sacarose maiores com o controle seguido com aumento nos tempos de 24 e 48 seguido de estabilidade em 72 horas. Esta ocorrência em ambiente submerso é decorrente do favorecimento da ação de enzimas hidrolíticas, como pectinases, amilases e celulases, liberadas pela microbiota presente (Batista da Mota et al., 2022).

Na fermentação do café, a glicose é um açúcar essencial metabolizado por leveduras, especialmente as do gênero *Saccharomyces* e algumas bactérias, que a utilizam como fonte de energia e carbono na produção de etanol, ácidos orgânicos e outros compostos voláteis (De Carvalho Neto et al., 2017b; Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024). Ela é um monossacarídeo fundamental na fermentação de cafés atuando nas reações essenciais ao metabolismo celular, como a glicólise, ciclo de Krebs e via das pentoses-fosfato. Essas vias garantem energia e precursores biossintéticos para o crescimento microbiano e para a transformação de compostos relevantes à qualidade sensorial da bebida (Wang et al., 2020) (Figura 2). Nota-se na Tabela S6, para a safra de 2022 no método CD, valores elevados ($p \leq 0,05$) no controle enquanto em 2023 verifica-se a sua quase inexistência. No decorrer dos tempos de fermentação, principalmente em 24 e 48 horas, nota-se diferenças significativas ($p \leq 0,05$) com a redução da glicose, indicando intensa atividade metabólica nestas etapas. Na safra de 2023 apenas os tratamentos SSF SPF e SSF SCF foram observados resultados mensuráveis, com efeito significativo ($p \leq 0,05$) apenas no SSF SCF. Para o método NC safra de 2022, percebe-se valores bem elevados ($p \leq 0,05$) no controle em relação à safra de 2022. No decorrer dos tempos de fermentação, principalmente em 24 e 48 horas, o desempenho da fermentação foi semelhante à safra de CD 2022 e se repete em NC 2023 com a redução da glicose ($p \leq 0,05$), indicando acentuada atividade metabólica. Para o tempo de 72 horas em ambas as safras para o NC o desempenho da fermentação apresentou resultados distintos para alguns tratamentos, porém em uma análise estatística ($p \leq 0,05$) a maioria manteve os teores de glicose de 48 horas.

Durante a fermentação do café, observa-se que a glicose é consumida preferencialmente em relação à frutose pelos microrganismos presentes no processo. Essa preferência pode ser explicada por fatores bioquímicos, como a maior eficiência de transporte da glicose para o interior celular e sua entrada direta na via glicolítica (EMP), sem necessidade de conversões enzimáticas prévias. Além disso, a glicose exerce repressão catabólica sobre outros açúcares, inibindo a expressão de genes envolvidos na metabolização da frutose enquanto ainda estiver disponível. Esse comportamento é típico de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* e de diversas bactérias ácido-láticas (BAL), que priorizam a utilização da glicose para produção de energia (ATP) e de metabólitos fermentativos

como etanol e ácidos orgânicos. Apenas após o esgotamento da glicose, a frutose passa a ser utilizada como fonte de carbono, o que explica sua persistência nos primeiros momentos da fermentação e consumo posterior (Jimenez et al., 2023).

A frutose, à semelhança da glicose, é um dos principais açúcares presentes nos frutos do café, sendo um substrato energético essencial utilizado de modo semelhante pela microbiota como uma fonte de energia e carbono no decorrer da fermentação, sendo convertida em intermediários que participam das mesmas vias metabólicas que a glicose (Rocha et al., 2024a; Silva et al., 2024). Percebe-se que os resultados de frutose, demonstrados nas Tabelas S6 e S7 e Figura 25, para a safra de 2022 no método CD, indicaram valores maiores ($p \leq 0,05$) que 2023. Analisando as variações significativas ($p \leq 0,05$) para os tempos de fermentação 24, 48 e 72 horas, para a safra de 2022, apenas o tratamento SMF SCF se mostrou similar em todos os tempos, inclusive com o controle, comportamento que não se repetiu em 2023. Para a safra de 2023 os resultados não indicam diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) para os tempos 24 e 48 horas com exceção para SMF SCF. Para NC os valores de frutose descritos para o controle entre as safras não apresentaram diferença estatística ($p \leq 0,05$) comportamento semelhante para o tempo de 24 horas com exceção para SMF SPF. Nos tempos de 48 e 72 horas os resultados mostram diferenças ($p \leq 0,05$) entre as safras. Entre os tempos 48 e 72 horas para 2022 não houve discrepância para a maioria dos tratamentos com exceção SSF SPF.

Responsável por entregar corpo e viscosidade à bebida do café, o glicerol é um subproduto relevante do metabolismo microbiano, produzido principalmente por leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação alcoólica. Sua presença contribui para a percepção sensorial de cremosidade e densidade na boca, características esperadas em cafés fermentados (Zhao et al., 2015). O glicerol é formado da regulação do balanço redox da célula, uma vez que em meio anaeróbico, ocorrendo a reoxidação do NADH pela respiração, esse papel essencial é cumprido pela redução dependente de NADH de di-hidroxiacetona-fosfato para glicerol-3-fosfato. No decorrer da fermentação, a conversão de glicose e frutose em etanol gera um excedente de NADH e para manter o equilíbrio entre NADH e NAD^+ (essencial para a continuidade da fermentação alcoólica), as leveduras convertem di-hidroxiacetona-fosfato (DHAP) em glicerol-3-fosfato, seguido por sua desfosforilação para glicerol (Papapetridis et al., 2018a, 2018b).

Constata-se pelos dados do café CD apresentados na Tabela S*6*, que a produção de glicerol em 2022 se mostrou superior em todos os experimentos e em todos os tempos avaliados quando comparados ($p \leq 0,05$) com 2023, em que os níveis foram muito menores ou quase inexistentes, com valores representativos apenas para os tratamentos SSF SPF, SSF SCF e SMF SCF. O controle não teve teores relevantes em nenhumas das safras avaliadas. Os valores de glicerol em 2022 assinalam

para uma fermentação alcoólica mais prolongada convergindo com a produção de etanol como indicado na Tabela S*6*, enquanto sua redução quase completa na safra seguinte sugere uma fermentação mais direta, com maior conversão dos açúcares presentes no meio, o que poderia indicar uma menor disponibilidade de etanol para as atividades de metabolização pelas leveduras em glicerol. Para o NC o desempenho dos teores de glicerol se mostrara contrários à safra de 2022, apresentando em todos os tempos e experimentos, diferenças significativas ($p \leq 0,05$) quando comparados à safra de 2023 com destaque para o experimento SMF SCF que apresentou crescimento consistente em todos os tempos analisados. O controle em ambas as safras não evidenciou alterações significativas segundo a análise estatística ($p > 0,05$) entre as safras e inferior entre em todos os experimentos avaliados.

Para as informações disponibilizadas na Tabela S7, referentes ao café NC, podemos considerar que em 2023 os dados indicaram um acréscimo significativo nos níveis de glicerol ao longo da fermentação, com variações entre os experimentos, com ênfase para o experimento NC SMF SCF no tempo de 72 horas, que apresentou o maior aumento. O teor ºBrix para a safra de 2023 (25,50 ±3,50) para o café cereja, apresentado na Tabela S2, indica uma maior maturação dos frutos no momento da colheita, proporcionando mais substratos (açúcares) para a fermentação, sendo um indício de uma maior produção de glicerol.

O etanol é um produto central da fermentação alcoólica realizada pelas leveduras durante a fermentação do café, sendo produzido como parte do metabolismo da glicose e frutose no qual o piruvato é convertido em acetaldeído pela enzima piruvato descarboxilase e em seguida é reduzido a etanol pela enzima álcool desidrogenase, utilizando NADH como cofator (Figura 3), fornecendo energia para as leveduras envolvidas no processo (Rocha et al., 2024a; Shen et al., 2024b; Silva et al., 2024). Durante a fermentação alcoólica, o metabolismo do etanol também está associado à produção de outros compostos, como ésteres e aldeídos, que afetam o perfil sensorial do café fermentado, adicionando notas frutadas, florais ou adocicadas.

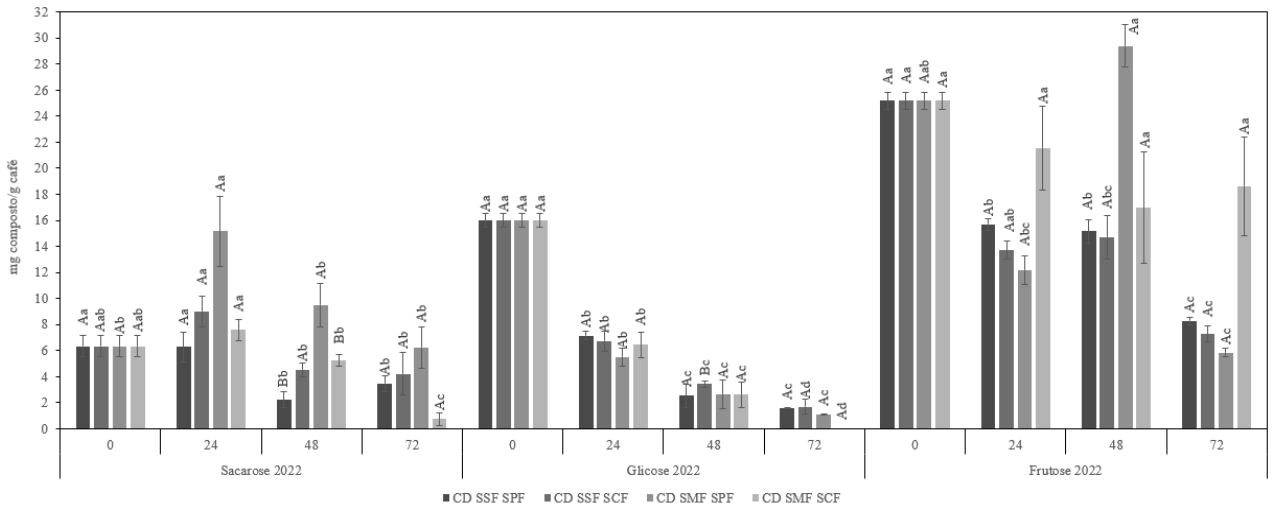
Nas Tabela S6 e Tabela S7, na qual estão representados os dados dos cafés CD e NC, a produção de etanol para o CD na safra de 2022 no controle, não foram observados valores significativos ($p > 0,05$) ao contrário de 2023. A concentração abundante de substratos (principalmente glicose e frutose) no início da fermentação (24 horas), promove uma metabolização intensa destes compostos por parte das leveduras, que à medida que a fermentação progride, e estes açúcares são consumidos e convertidos em etanol, aumentam sua concentração em alguns experimentos. Nota-se em 2022, que o etanol tem sua produção aumentada a longo dos tempos de fermentação, transcurso conveniente com tempos maiores de fermentação onde os microrganismos alteram seu metabolismo para a produção de etanol como principal via metabólica para obtenção de energia. Em 2023 a produção nos tempos de 48 e 72 horas nos experimentos SSF SPF e SMF SCF apresentaram diferença

estatística ($p \leq 0,05$) entre eles. No experimento SMF SPF não foi observada diferença em nenhum dos tempos quando comparado com o controle. Para o NC o controle se mostrou diferente ($p \leq 0,05$) entre as safras sendo que em 2022 não apresentou teores de etanol. Verifica-se que no transcorrer da fermentação o etanol acumula-se no meio, sendo os experimentos SSF SPF e SSF SCF em 72 horas apontando as maiores concentrações em 2022, com os valores apresentando variação estatisticamente relevante ($p \leq 0,05$). Em 2023 o comportamento do etanol no transcurso da fermentação se mostrou semelhante ao ocorrido em 2022 com aumento dos teores em tempos maiores, porém os experimentos SMF SPF e SMF SCF não apresentaram alterações significativas segundo a análise estatística ($p > 0,05$) em relação ao tempo de 48 e 72 horas.

As concentrações de etanol para o NC para a safra de 2023 apresentaram uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação à safra de 2022, em todos os experimentos e tempos estudados, apontando um aumento na produção de etanol ao longo do tempo de fermentação, o que é esperado, em virtude de a microbiota presente no meio, metabolizar os açúcares em etanol. Teores de açúcares mais elevados no início da fermentação em 2023, como demostrado na Tabela 03 (ºBrix no tempo inicial de 25,50), permitiram uma eficiência maior na conversão metabólica destes açúcares em etanol.

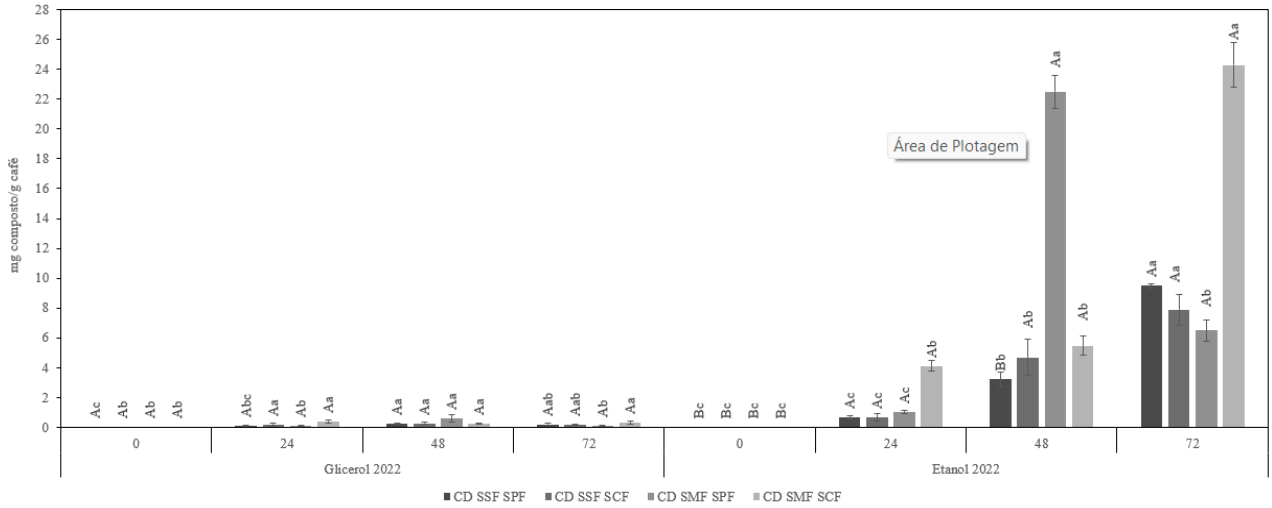
As diferenças estatísticas apresentadas entre a maioria dos ácidos, açúcares e álcoois em relação as safras, demostram que as metodologias de fermentação enfrentaram grandes oscilações nas condições gerais durante todo o processo, como variação de temperatura, composição da microbiota associada ou graus de maturação dos frutos desiguais no momento da colheita.

Figura 23: Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



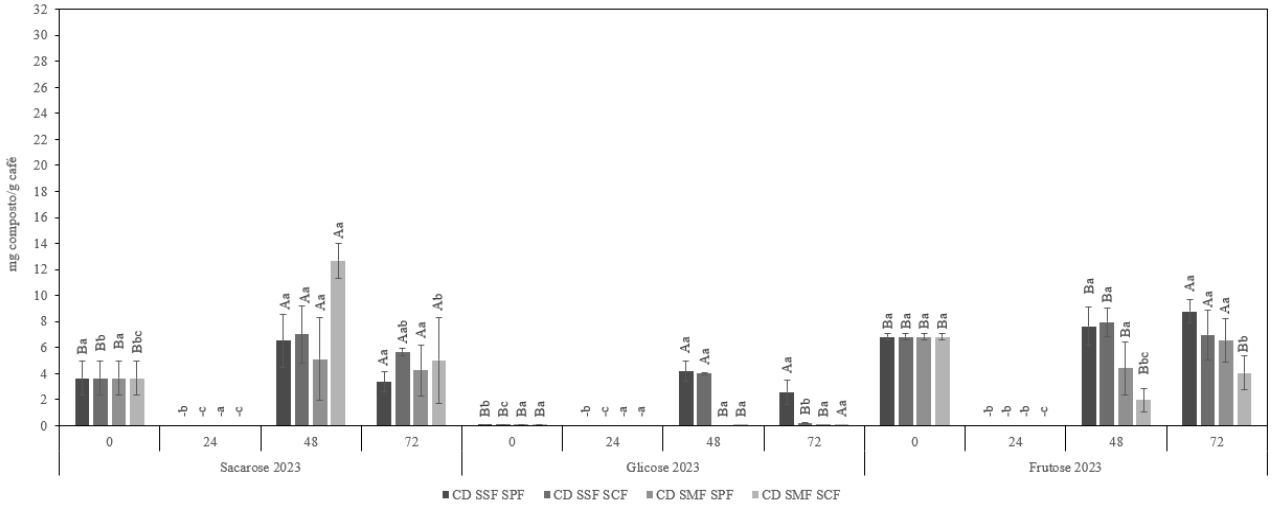
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 24: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



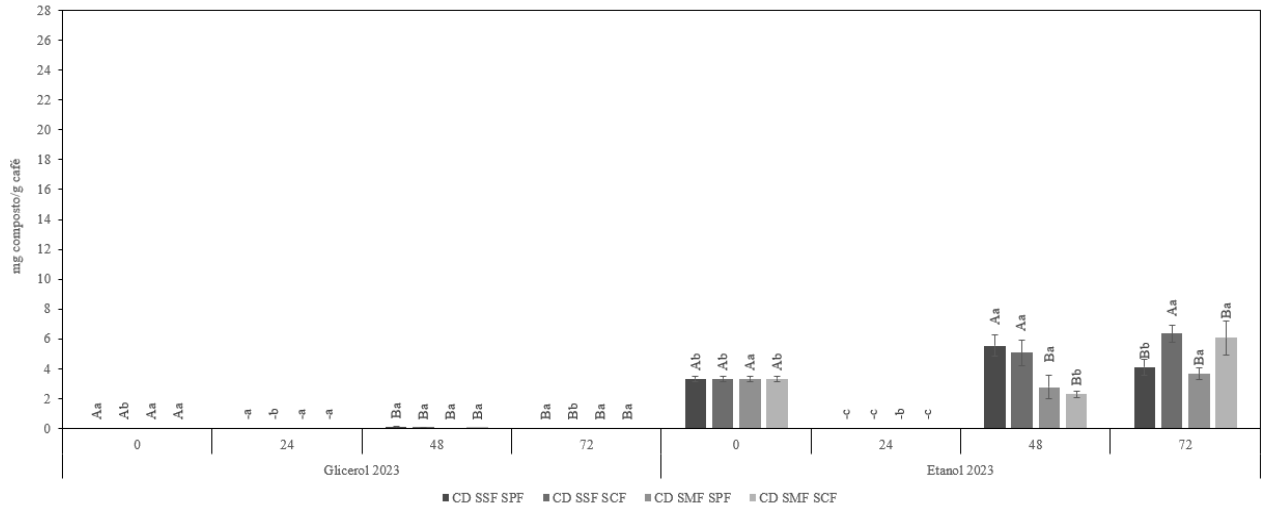
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 25: Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



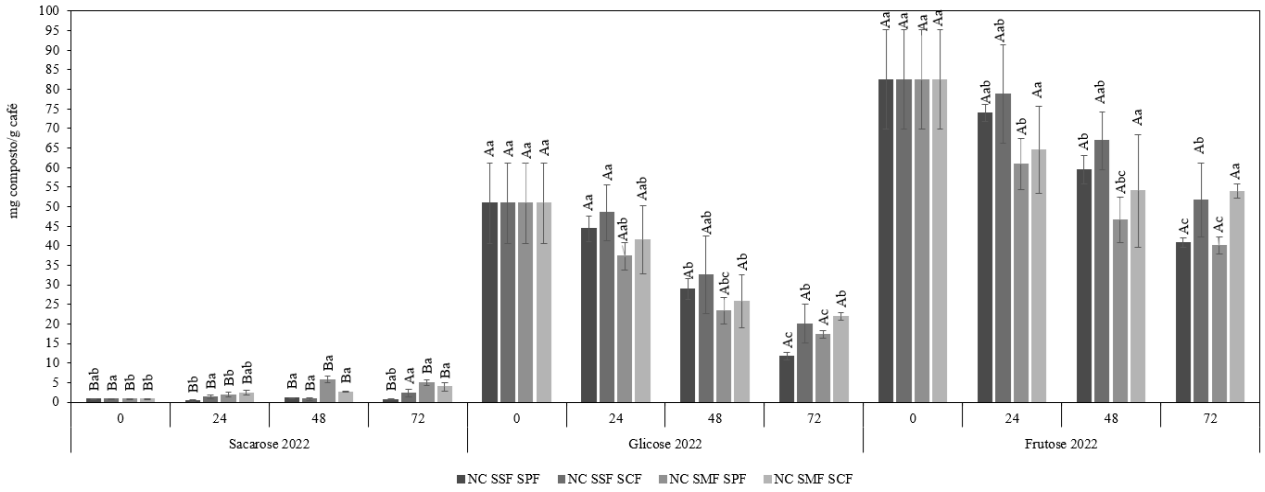
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 26: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



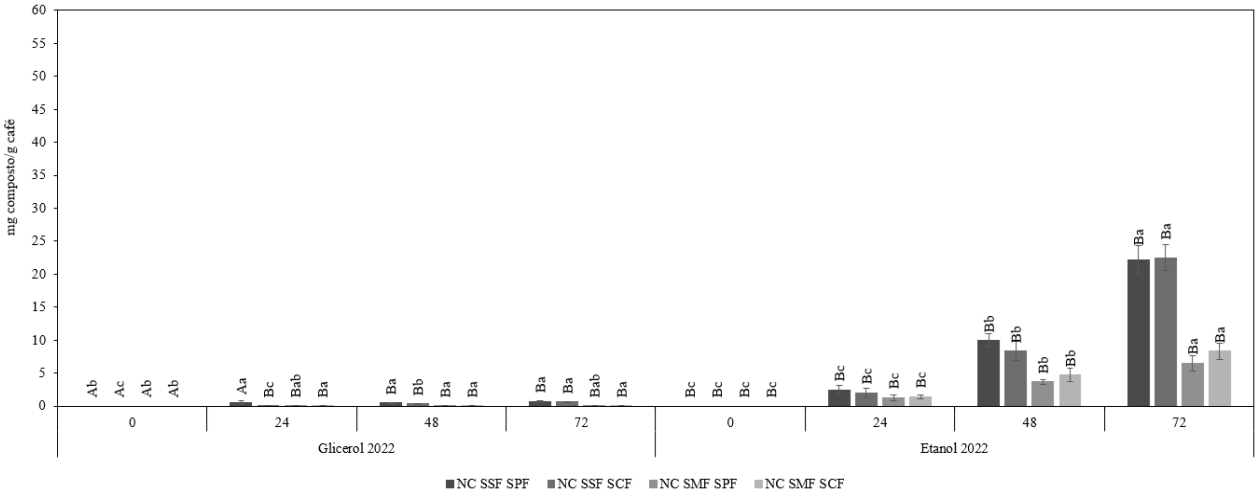
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 27: Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



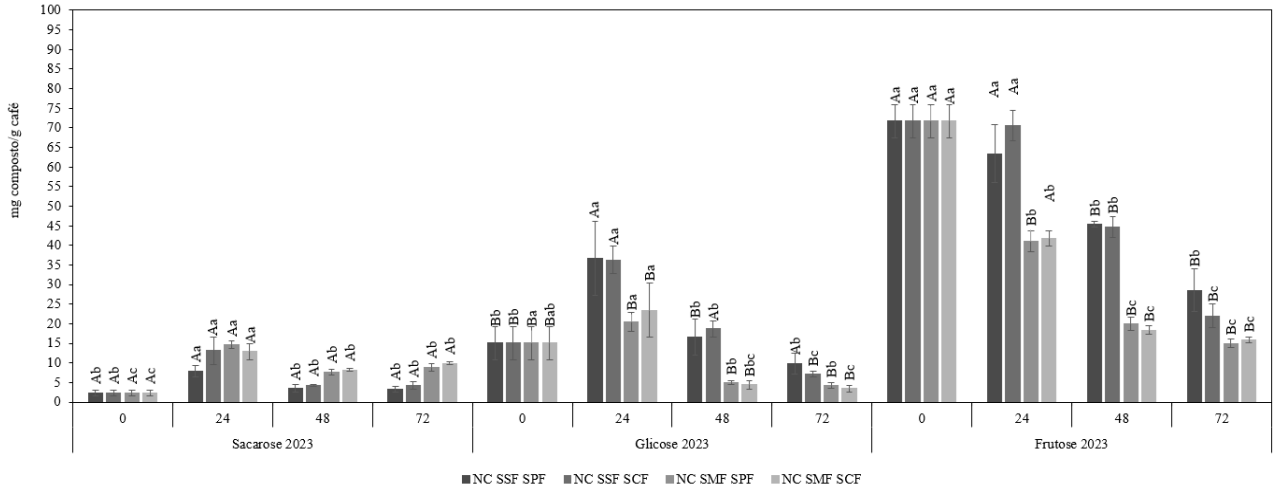
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 28: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022.



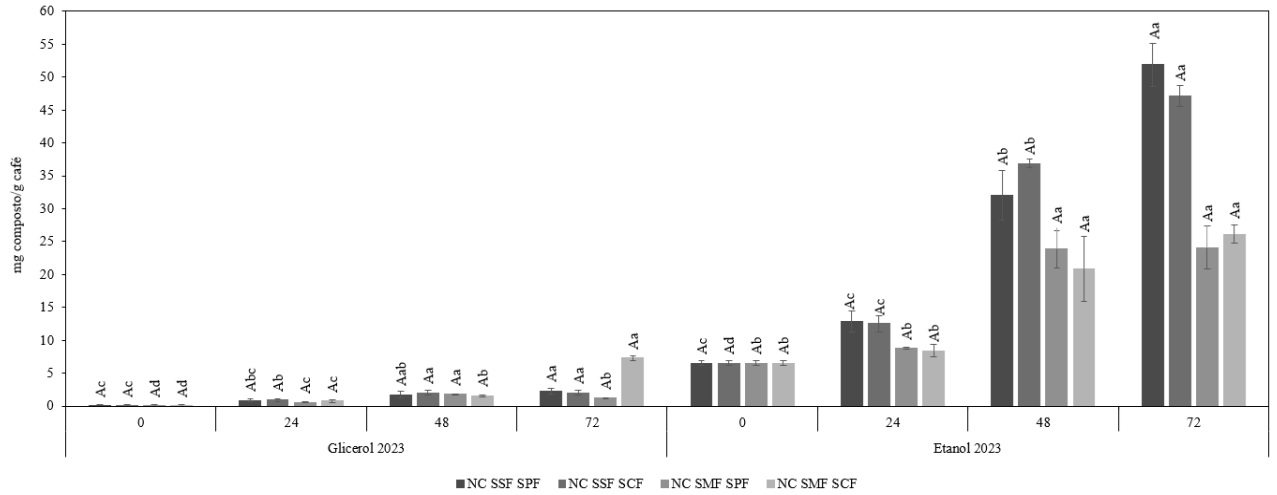
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 29:Análise Comparativa do Consumo dos Açúcares Sacarose, Glicose e Frutose do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 30: Análise Comparativa da Produção dos Álcoois Glicerol e Etanol do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

4.3. Análise de Cor dos Grãos

Dentre os parâmetros físicos como a uniformidade, forma ou o tamanho para determinação da qualidade dos grãos de café, a avaliação do atributo de cor tem grande importância por ser um fator de rejeição, aceitação ou desvalorização do produto possuindo uma relação direta com seu valor comercial (García et al., 2019).

Analisando a Tabela S8, que traz a os resultados da análise comparativa de ΔE^* (diferenças de cor) nos métodos CD e NC para as safras 2022 e 2023, observa-se que ocorreram alterações relevantes ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos e nas safras avaliadas.

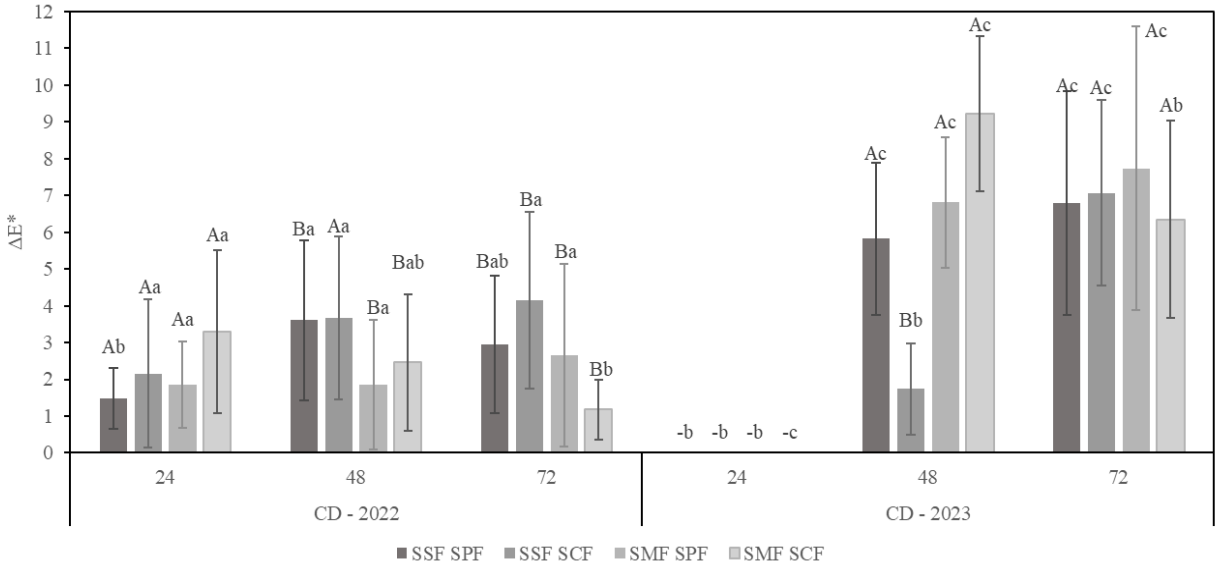
No método CD, todos os experimentos da safra 2022, com exceção do SSF SCF 48h, indicaram mudanças mais acentuadas na tonalidade, apresentando um ΔE^* menor quando comparado à safra de 2023, sinalizando a possibilidade de ocorrência de variações como mudanças nas condições climáticas entre as safras o que influenciaria a maturação dos frutos e consequentemente sua composição química ou também por proporcionar um processo fermentativo com circunstâncias mais impactantes como uma maior temperatura ambiente, conforme demostrado na Tabela 03 (Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos dos Frutos dos Cafés das Safras de 2022 e 2023), na coluna Temperatura.

No método NC os tratamentos SSF SPF, SSF SCF e SMF SPF no tempo de 24h, apresentaram uma variação colorimétrica com diferença estatística entre as safras. Para o tempo de 48 horas, apenas o tratamento SMF SCF 48h apresentou resultado estatisticamente distinto ($p \leq 0,05$) entre safras da mesma forma que para o tempo de 72 horas os tratamentos SSF SPF, SSF SCF e SMF SPF se mostraram com variação significativa ($p \leq 0,05$) entre as safras.

Na Tabela S8, tem-se a análise comparativa dos dados do teste colorimétrico para os métodos CD e NC avaliando os experimentos entre os tempos de fermentação. Em CD - 2022 ambos os tratamentos SSF SPF e SMF SCF apresentaram resultados distintos ($p \leq 0,05$) entre os tempos analisados com SSF SPF tendo um crescimento do ΔE^* enquanto SMF SCF ocorre um decréscimo da diferença de cor. Em CD – 2023 o destaque se dá para SSF SCF 48 horas com um crescimento acentuado no valor de ΔE^* quando comparado com o tempo de 72 horas.

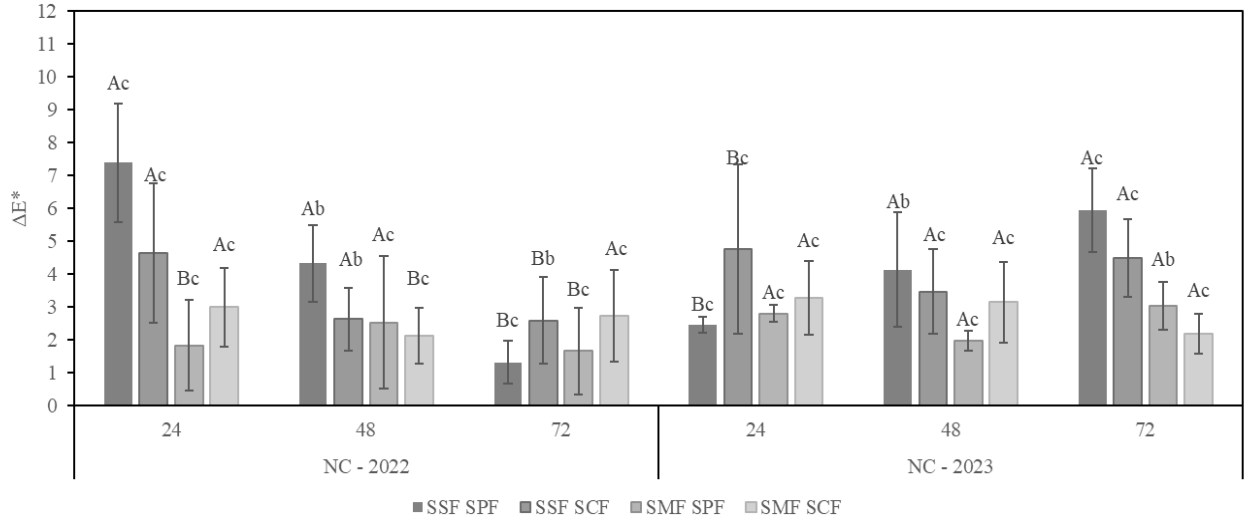
Em NC no tratamento SSF SPF, entre as safras tem-se os valores decrescendo em 2022 e 2023 com os valores aumentando, tendo seus valores apresentando alteração relevante entre eles ($p \leq 0,05$).

Figura 31: Análise Comparativa do Teste de Colorimetria nos Grãos de Café CD cv. MGS Paraíso 2 para Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 32: Análise Comparativa do Teste de Colorimetria nos Grãos de Café NC cv. MGS Paraíso 2 para Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

4.4. Análise das Texturas dos Grãos

A determinação das propriedades de força e dureza nos grãos de café em diferentes métodos de fermentação é necessária, uma vez que se tem como objetivo analisar o efeito que estes métodos produzem na estrutura física dos grãos, impactando em sua resistência mecânica aos processos de manuseio como armazenamento, torrefação ou moagem. Cardoso et al., (2021c) e Goulart et al. (2007), relatam que grãos com determinado grau do comprometimento das membranas da parede celular (hidrolise da celulose em ambiente ácido), com a sucessiva perda do controle de permeabilidade, proporciona uma desestruturação dos corpos lipídicos dentro das células, desencadeando reações que resultam em diminuição da dureza da estrutura dos grãos juntamente com um processo de declínio da qualidade da bebida.

4.4.1. Análise de Força – Grãos CD e NC

De acordo com Cardoso et al., (2021c) e Goulart et al. (2007) para o método CD a remoção da casca (exocarpo), juntamente com parte da mucilagem (mesocarpo), reduz a proteção física do grão durante a fermentação, tornando-o mais suscetível a alterações químicas e enzimáticas, como a degradação da parede celular além do processo de secagem com a exposição dos grãos ao calor e ao ar de forma ininterrupta. Para o método NC, por outro lado, a casca (exocarpo) atua como uma barreira protetora, limitando a ação direta de microrganismos e enzimas na superfície do grão, o que reduz o impacto desses processos bioquímicos.

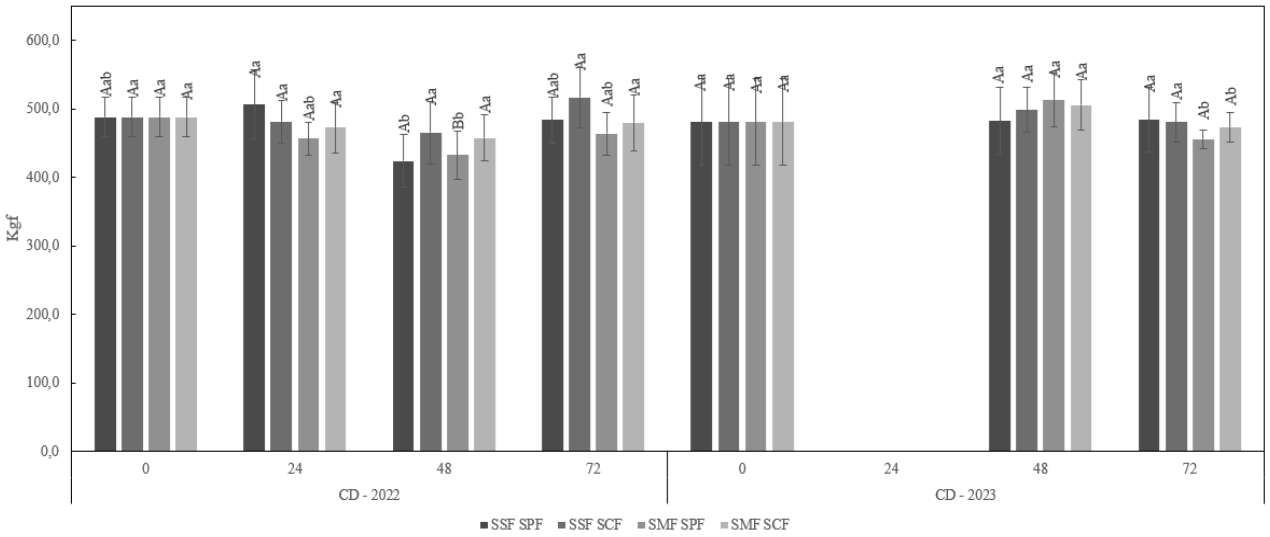
Na Tabela S9, são apresentados os valores dos testes de força realizados nos grãos de café para os métodos CD e NC, em diferentes experimentos durante as safras de 2022 e 2023. Ao comparar os valores em ambas as safras, verifica-se que a maioria dos experimentos apresentaram valores consistentes, apontando estabilidade entre os tempos indicando reprodutibilidades entre as safras.

No método CD apenas o tratamento SMF SPF 48 horas apresentou diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras, enquanto para o NC em 2023 observa-se para os tratamentos SSF SPF 24 horas, SSF SCF 48 horas, SMF SPF 24 e 48 horas e SMF SCF 48 horas apresentaram diferença estatística ($p \leq 0,05$), indicando que os valores para estes tratamentos apresentaram resistência menor quando comparado com a safra anterior.

Entre os experimentos no método CD na safra de 2022 (Tabela S9) quando comparados ao controle, SSF SPF e SMF SPF ambos no tempo de 48 indicaram diferença estatística ($p \leq 0,05$), ao mesmo tempo que para a safra de 2023, os tratamentos SMF SPF E SMF SCF apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) em relação ao controle. Em NC na safra de 2022 entre os tratamentos SSF SCF e SMF SPF ambos no tempo de 72 horas apresentaram diferença estatística ($p \leq 0,05$) enquanto em 2023, todos os

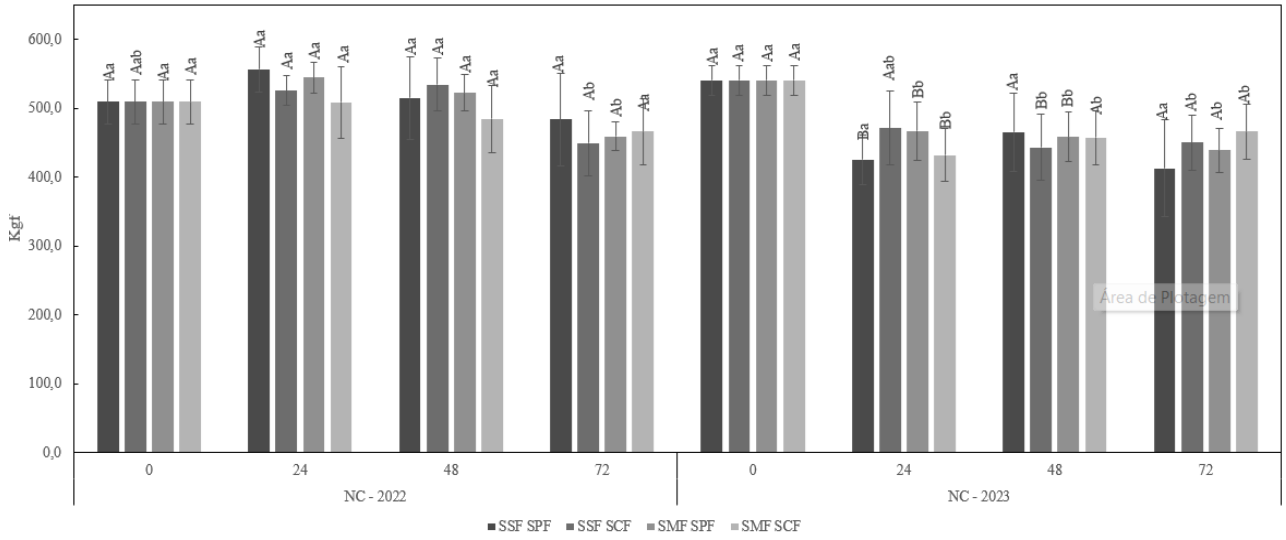
tratamentos acima de 24 horas apresentaram diferença estatística (p≤0,05) corroborado um decréscimo acentuando nos valores de força dos grãos no decorrer da fermentação.

Figura 33: Análise Comparativa do Teste de Força nos Grãos de Café CD cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 34: Análise Comparativa do Teste de Força nos Grãos de Café NC cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

4.4.2. Análise de Dureza - Grãos CD e NC

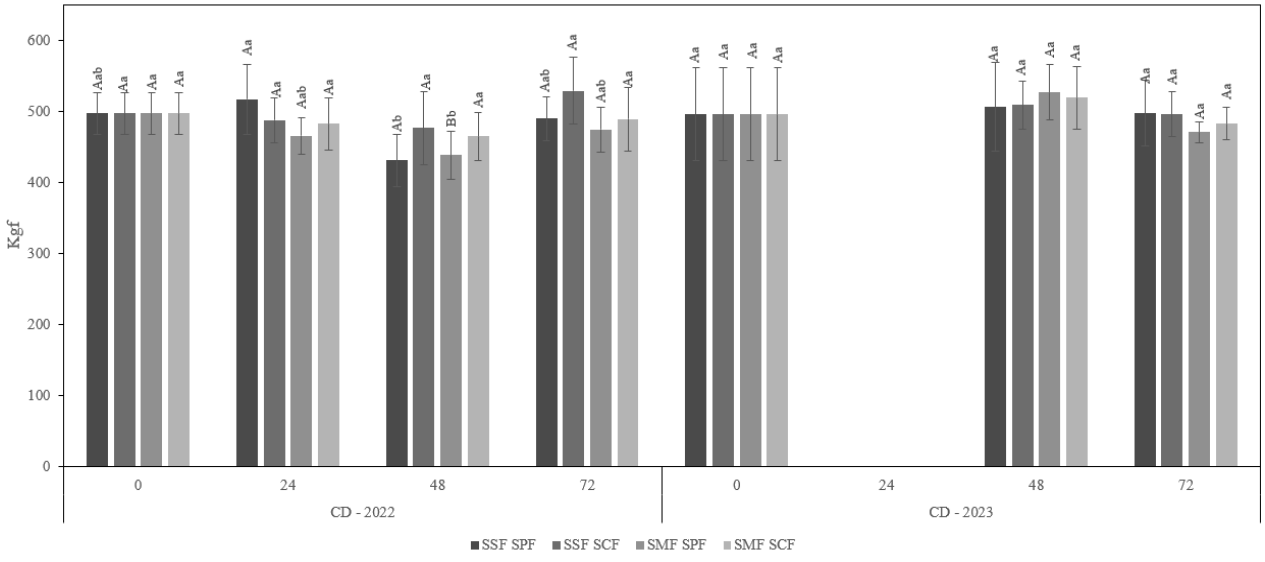
A Tabela S10, mostra os valores dos testes de dureza feitos nos grãos de café nos métodos CD e NC, em diferentes experimentos durante as safras de 2022 e 2023. Para o método CD, os valores obtidos de dureza foram consistente entre as safras, apenas com SMF SPF de 48 horas apresentando diferença (p≤0,05), sugerindo reprodutibilidade nos experimentos. Esta diferença estatística com o tratamento SMF SPF de 48 horas também foi observado na análise de Força. Nenhum dos tratamentos em 2022, à exceção do SMF SPF de 48 horas, apresentou diferença (p>0,05) entre os tempos avaliados. A fermentação espontânea (SPF) pode apresentar maior variabilidade nos resultados, como consequência de microbiota espontânea, tendo a possibilidade de levar a processos mais heterogêneos. A fermentação com a utilização de inóculo (SCF), por sua vez, apresentou maior consistência e dureza mais estável, para o método de CD, reforçando sua eficiência na uniformização do processo.

A análise comparativa para o NC revelou padrões distintos ao longo dos tempos de fermentação nos diferentes experimentos conduzidos. No tempo de 72 horas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (p>0,05) em relação ao controle (0 horas) para a maioria

dos tratamentos da safra de 2022, com exceção dos tratamentos SSF SCF e SMF SPF, que apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) comparadas ao controle. Na safra de 2023 os tempos de 24, 48 e 72 horas em todos os experimentos analisados, observaram-se diferenças significativas ($p \leq 0,05$) em relação ao controle, indicando uma redução progressiva na dureza dos grãos com o passar do tempo. Essa redução na dureza ao longo do tempo reflete a degradação gradual da estrutura dos grãos devido à ação enzimática e microbiológica durante o processo, podendo estar correlacionada à dinâmica microbiana e às mudanças nas propriedades químicas e físicas dos grãos tornando-os mais quebradiços, aumentando a incidência de defeitos físicos durante a secagem, armazenamento e torra.

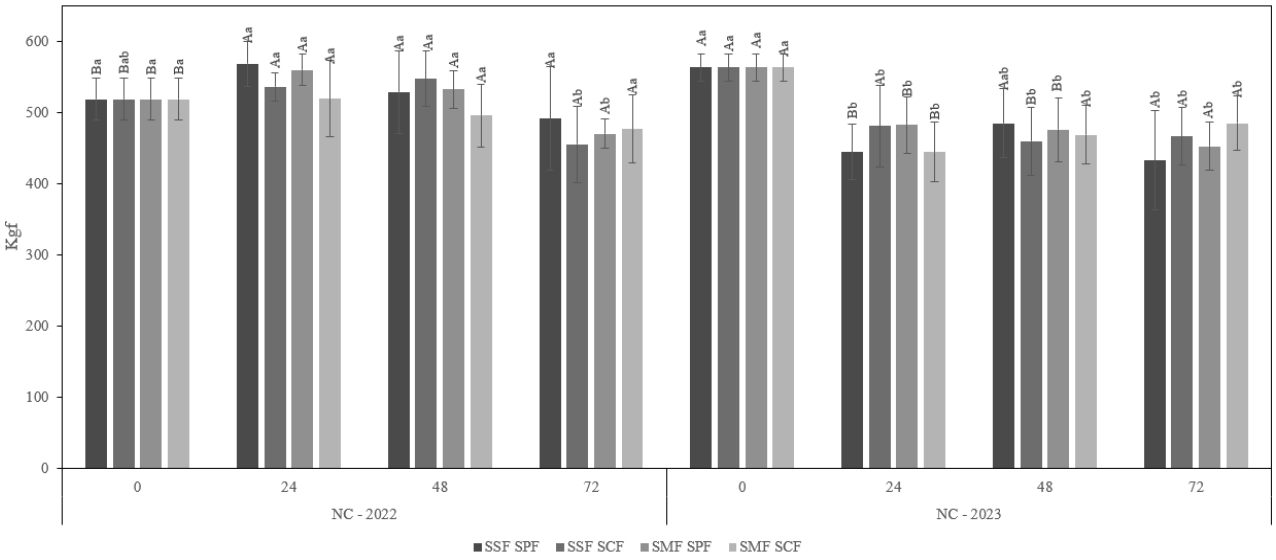
Verifica-se que entre análise comparativa dos valores de dureza dos grãos de café para as safras 2022 e 2023 os tratamentos SSF SPF 24 horas, SSF SCF 48 horas, SMF SPF 24 e 48 horas, SMF SCF 24 horas e o controle apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$).

Figura 35: Análise Comparativa do Teste de Dureza nos Grãos de Café CD cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação dos Experimentos - Safras 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado.

Figura 36: Análise Comparativa do Teste de Dureza nos Grãos de Café NC cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação dos Experimentos - Safras 2022 e 2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado

4.5. Descrição Sensorial dos Cafés

No método CD, verifica-se pelos resultados apresentados na Tabela S11, algumas observações importantes nas médias sensoriais na safra 2022, no qual todos os tratamentos SSF SCF e SMF SCF, as notas sensoriais não apresentaram significância estatística (p>0,05) entre as safras, indicando uma consistência nas respostas. A homogeneidade do processo de fermentação quando se faz adição do inóculo (SCF), presumivelmente proporcionou um equilíbrio mais favorável na população microbiana, favorecendo uma fermentação mais estável, garantindo notas similares entre as safras. Para os tratamentos sem a adição de inóculo, os resultados apresentaram diferença da significância (p≤0,05), com destaque para o tratamento CD SMF SPF com tempo de 72 horas, com uma disparidade notável entre as médias sensoriais na safra de 2022, apresentando uma maior discrepância entre as safras, com 79,50 em 2022 e 85,70 em 2023.

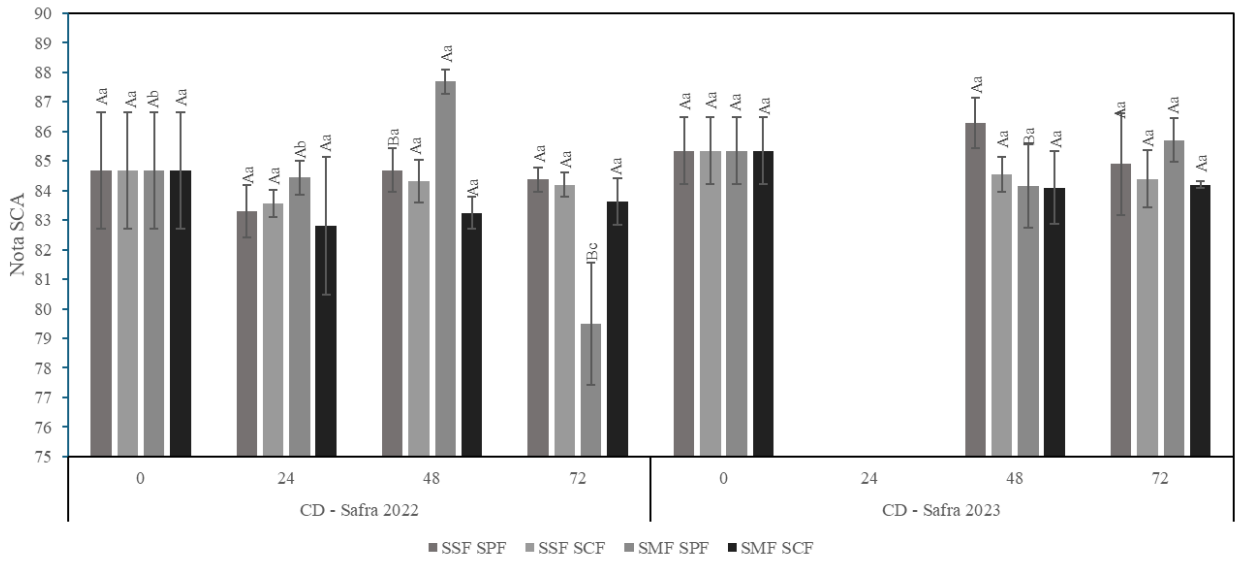
Em análises comparativas das notas sensoriais dos grãos de cafés dos experimentos entre as safras, o controle evidenciou notas sensoriais relativamente boas, com exceção para o NC na safra de 2022. Esses resultados são um indicativo da qualidade intrínseca do café utilizado nos experimentos, reflexo do aprimoramento da qualidade do manejo pós-colheita empregados na propriedade.

Na Tabela S11, quando comprados os tempos de fermentação, no método NC, observa-se que este parâmetro exerceu influência positiva (p≤0,05) nas notas sensoriais nos tratamentos SSF SPF,

SSF SCF, SMF SPF e SMF SCF para a safra de 2022 e SSF SCF para a safra de 2023, promovendo o desenvolvimento da nota em paralelo com o controle.

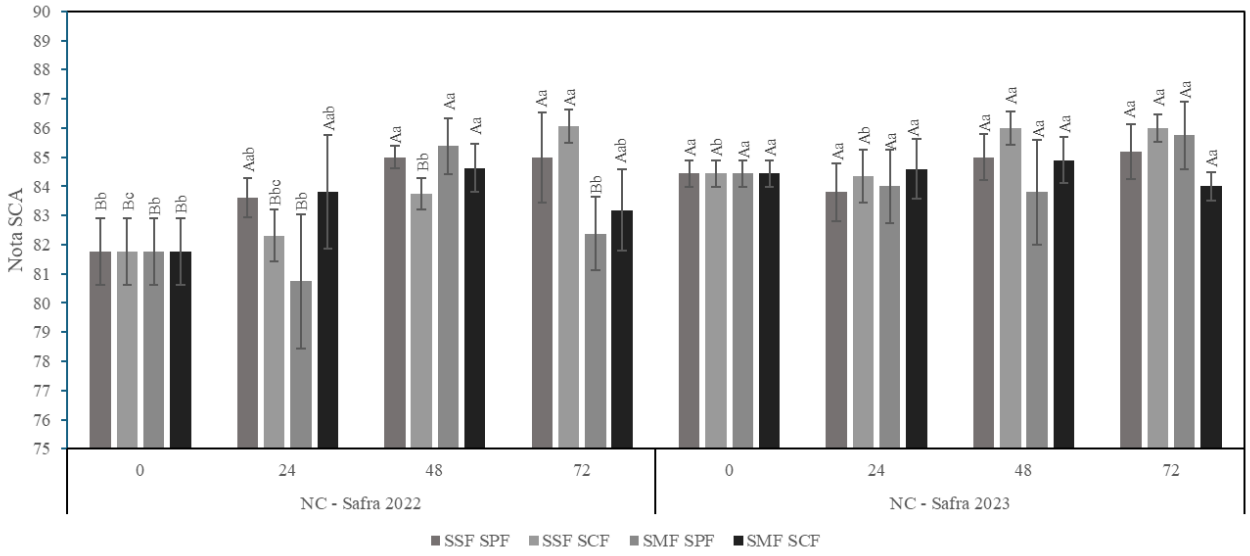
Analisando entre as safras, os resultados dos tratamentos com os métodos tanto CD quanto NC, as diferenças significativas foram poucas e pontuais, sendo para o CD em 2022 SSF SPF 48 e SMF SPF 72 e em 2023 o SMF SPF 48 (desconsiderando os tratamento de 24 horas) e para o NC em 2022 temos controle, SSF SCF 24 e 48 e SMF SPF 24 e 72 sinalizando a maior proximidade entre as médias e notas mais equilibradas, preconizando que as condições de fermentação se mostraram mais assertivas, confirmando reprodutibilidade das notas entre safras.

Figura 37: Comparação de Notas Sensoriais da SCA para os Cafés nos Métodos CD Submetidos a Diferentes Experimentos nas Safras 2022/2023



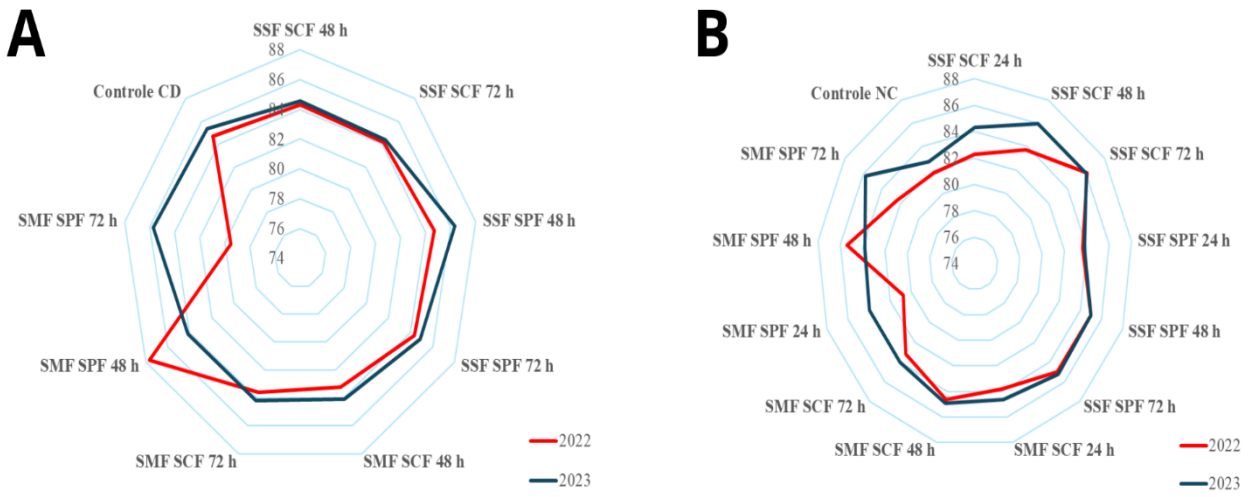
Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora.

Figura 38: Comparação de Notas Sensoriais da SCA para os Cafés nos Métodos NC Submetidos a Diferentes Experimentos nas Safras 2022/2023.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora.

Figura 39: Notas Sensoriais cv. MGS Paraíso 2 Cafés Submetidos a Diferentes Experimentos nas Safras 2022 e 2023.



A: Café CD: Cereja Descascado - B: Café NC: natural Cereja; SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

4.6. Escolha do Melhor Processo Para Obtenção de Cafés Especiais

Na conjuntura de concepção de cafés com alto padrão de qualidade, como os cafés especiais, a utilização de técnicas de aprendizado de máquinas para obtenção das árvores de decisão é imprescindível para direcionar as condições de fermentação a ser utilizada, permitindo que os agentes envolvidos no processo possam identificar combinações de variáveis que resultem em alta qualidade sensorial da bebida. A árvore de decisão é uma ferramenta analítica que representa graficamente as possíveis decisões e seus resultados sendo estruturada em nós representando uma condição ou regra baseada em variáveis preditoras, facilitando a visualização de escolhas e consequências em metodologias multifacetadas. Sua relevância reside na capacidade de estruturar e simplificar decisões complexas, auxiliando na identificação das melhores opções de forma sistemática e transparente. Ao estruturar decisões relacionadas às variáveis preditoras como o tempo de fermentação, o uso ou não de inóculo, a variedade do fruto do café utilizado ou o tipo de processamento, é possível prever o impacto dessas escolhas na qualidade final do café, auxiliando na padronização e melhoria contínua do processo produtivo. Na tomada de decisões envolvendo metodologias de fermentação do café, o uso de árvores de decisão tem o potencial de aumentar a eficiência e consistência na produção de cafés especiais.

Para a safra do ano de 2022 representada da Figura 40 (A), foi utilizada uma árvore de decisão para analisar o impacto de variáveis preditoras no prognóstico da qualidade sensorial do café da cv. MGS Paraíso 2. Foi considerado para esta análise as variáveis preditoras tempo de fermentação, tipo de fruto natural cereja (NC) ou cereja descascado (CD), processo de fermentação (Fermentação em Estado Sólido ou Fermentação Submersa), presença ou ausência de inóculo (Fermentação espontânea e Fermentação com Cultura Iniciadora) e a resposta desejada foi a nota sensorial final. A árvore de decisão foi criada com o objetivo de identificar padrões que pudessem prever a qualidade da bebida, baseada na nota média obtida nos experimentos que foi de 84 pontos e categorizada como alta (maior ou igual a 84 pontos) ou baixa (menor ou igual 84 pontos).

A acurácia do modelo foi de 81,0%, indicando boa assertividade na identificação de fatores determinantes para a qualidade sensorial. O algoritmo identificou relações hierárquicas entre as variáveis, fornecendo uma compreensão sobre os fatores mais críticos para a definição da qualidade sensorial.

Na estrutura da árvore a primeira divisão se inicia com a variável tempo de fermentação, dividindo os dados entre tempo menor que 36 horas e tempo maior ou igual a 36 horas, mostrando sua relevância no impacto na qualidade sensorial. Quando o tempo de fermentação é menor que 36 horas, o modelo utiliza a variável para tratamentos com o uso de inóculo, que se subdivide mais uma vez em cereja natural e cereja descascado, tendo como destaque a divisão do

cereja descascado que se subdividiu em seco, porém categorizado como “Baixo” e submerso categorizado como “Alto”. Para variável tempo maior ou igual a 36 horas, obteve-se o melhor resultado desse delineamento com o tratamento seco (80% Alto) não implicando se na metodologia fez-se uso ou não de inóculo e nem se é ou não cereja natural ou cereja descascado. Para tratamentos submersos com tempo menor que 60 horas, apenas o tratamento cereja descascado com o uso do inóculo o resultado foi categorizado como “Baixo”. O café cereja natural com uso de inóculo para a variável tempo menor que 60 horas foi categorizado como “Baixo”. Para os tratamentos submersos com tempo maior ou igual a 60 horas se dividiram em “Atos” para tratamentos com inóculo enquanto os tratamentos sem inóculo par este mesmo tempo, foi categorizado como “Baixo”.

Averiguando as variáveis, temos que o tempo de fermentação é a variável inicial mais significativa, sendo o primeiro nó de decisão na árvore, sugerindo que tempos menores (menor ou igual a 36 horas) tendem a ser associados a notas “Baixas”, se não utilizar inóculo. Quando o inóculo é utilizado, este desempenha um papel importante em fermentações mais curtas, no qual a sua presença melhora levemente a classificação sensorial enquanto sua ausência em fermentações submersos prolongados está bastante relacionada a resultados “Baixo”, ao mesmo tempo que o processo seco está mais associado a notas maiores quando combinado com tempos mais longos (maior ou igual a 36 horas).

O método cerejas natural ou cereja descascado teve impacto relevante quando associado ao tempo de fermentação e ao uso de inóculo. Para tempos curtos (menor que 36 horas), o café quando cereja natural, resultou em notas baixas, sugerindo que o método pode necessitar de condições controladas para otimizar os resultados sensoriais, paralelamente o café cereja descascado no método submerso, apresentou nota “Alta”, indicando melhor resultado para este método.

A árvore de decisão evidenciou nos resultados que o tempo de fermentação é o fator mais determinante para potencializar a qualidade sensorial da cv. MGS Paraíso 2 na safra 2022 e que a interação entre essas variáveis e o tipo de processo (cereja natural e cereja descascado) reforça a importância de práticas fermentativas otimizadas para a obtenção de bebidas com alto padrão sensorial. Essas respostas geram evidências para o aperfeiçoamento de protocolos de fermentação, destacando a relevância do controle das condições físicas deste método.

Para a árvore de decisão apontada na Figura 40 (B), relativo à safra de 2023, nos possibilita avaliar quais variáveis são mais relevantes e que influenciam a nota sensorial do café e como diferentes combinações de processamento podem afetar os indicadores. Assim como na avaliação de 2022, esta análise categorizou os resultados como "Alto" ou "Baixo" com base na mediana da nota sensorial obtidas pelos q-graders de 85 pontos e um índice de assertividade de 74,07% representando a capacidade de classificar corretamente os dados na maior parte das vezes. As variáveis preditoras

empregadas para a estruturação da árvore foram tempo de fermentação, condição do fruto, processo de fermentação, uso ou não de inóculo, variedade e nota sensorial do café com a finalidade de prognóstico dos atributos sensoriais da bebida na xícara. Como resultado percebe-se a ocorrência de múltiplos aspectos que influenciam no agrupamento para a melhor metodologia.

Observa-se que, assim como na análise da árvore de decisão da safra de 2023, a variável Tempo surgiu como critério principal já na primeira de divisão, corroborando que esta variável de fermentação é um determinante para as características sensoriais percebidas na bebida por proporcionar a evolução de metabólitos voláteis e precursores de aroma e sabor.

Na primeira estruturação ocorre a divisão em dois grandes grupos com o tempo menor que 36 horas e maior ou igual a 36 horas. Para o grupo com tempo menor que 36 horas, os cafés foram separados tendo como base a utilização ou não de inóculo, no qual o processo com uso de inóculo no método cereja descascado, 60% das amostras obtiveram notas "Alto", enquanto para tempos menores que 36 horas para tratamentos sem inóculo o resultado foi “Baixo” (88,8%). Para o café natural cereja com inóculo, o resultado foi categorizado como “Baixo” (64,3%) não apresentando bom desempenho. Na outra divisão, fermentações prolongadas (maior ou igual a 36 horas), segue-se mais uma subdivisão para os tratamentos com fermentações em estado seco que apresentou resultado "Alto" (67,5%) ao mesmo tempo que fermentações submersas se subdividem em ramificações com tratamento que utilizaram inóculo e sem o uso de inóculo. Para a análise de submerso sem o uso de inóculo e tempo maior ou igual a 60 horas, foi intitulado como "Alto" (100%), enquanto os tratamentos submersos sem inóculo com tempo menor que 60 horas apresentaram resultados indicados como “Baixo” (70,0%), assim como tratamentos submersos com o uso de inóculo que apresentaram resultados indicados como “Baixo” (80,0%).

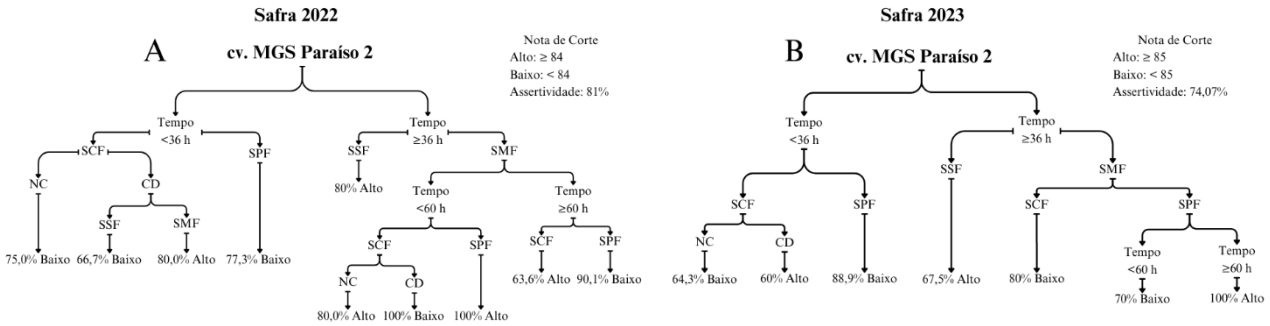
Pontos considerados crítico em técnicas de fermentação de cafés, o tempo e o tipo de fermentação, avaliados nesta árvore de decisão, indicaram que fermentações longas e sem inóculo (seco e submerso, sem inóculo, com tempo maior ou igual a 60 horas) foram os métodos que mais contribuíram na obtenção de notas maiores, enquanto fermentações curtas e algumas combinações com inóculo se mostraram desvantajosos, enfatizando que o arranjo da árvore de decisão reforça a importância do ajuste do tempo, do inóculo e do processo de acordo com as finalidades sensoriais.

Em uma análise sumarizada das árvores de decisão das safras 2022 e 2023 observa-se que as duas possuem uma estrutura similar entre ambas e o parâmetro tempo de fermentação continua sendo o fator decisório na qualidade sensorial do café. A fermentação submersa sem uso de inóculo por tempo maior ou igual a 60 horas em 2023, se mostrou ter alta reprodutibilidade, garantindo 100% de notas maiores, ao mesmo tempo que submerso com uso de inóculo apresentou maior variabilidade

em 2023, com 80% de notas baixas, sugerindo que a ação do inóculo pode ter sido influenciada por variações no ambiente ou na matéria-prima. O método CD mostrou uma evolução relevante em 2023.

Apesar disso, os padrões gerais foram mantidos, reforçando a importância da fermentação longa e sem inóculo para obter bons resultados. A necessidade de padronização nos processos fermentativos, especialmente no uso do inóculo na fermentação submersa, se destaca como um ponto de atenção para aumentar a previsibilidade da qualidade sensorial no decorrer das safras.

Figura 40: Árvore de decisão cv. MGS Paraíso 2 Safra 2022 (A) e 2023 (B).



CD: Cereja Descascado; NC: Natural Cereja; SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

5. Conclusão

A reprodutibilidade dos experimentos depende, em grande parte, da consistência nas condições de fermentação, e as variações observadas que podem ser atribuídas a fatores microbianos, intempéries climáticas, ataques de pragas e doenças no cafezal e variações de manejo que geralmente diferem de uma safra para outra. Embora este estudo tenha se concentrado na análise das condições fermentativas entre as safras, é relevante assentir, com base no que já é consolidado na literatura que os fatores ambientais desempenham um papel considerável na qualidade final do café, afetando desde a maturação dos frutos até os perfis químicos nos grãos. Posto isto, estudos sobre o impacto da integração de tecnologias avançadas na padronização dos processos de fermentação poderão promover maior previsibilidade e qualidade na produção de cafés especiais.

Este estudo buscou destacar as diferenças significativas na qualidade sensorial e na composição química do *C. arabica* cv. MGS Paraíso 2 entre as safras de 2022 e 2023, bem como os impactos de diferentes metodologias de fermentação. Os resultados indicaram que os tratamentos com fermentação induzida mantiveram maior consistência nas notas sensoriais entre as safras, sugerindo que a introdução de inóculos pode contribuir para uma fermentação mais controlada e uniforme. Em contrapartida, os tratamentos sem inóculo apresentaram maior variabilidade,

especialmente em tempos mais longos de fermentação, evidenciando a influência da microbiota autóctone sobre o perfil sensorial. Além disso, foi observada uma tendência de maior produção de ácidos orgânicos e consumo de açúcares em 2023, particularmente nos cafés processados por fermentação espontânea, o que pode estar relacionado a fatores sazonais e às práticas das técnicas de manejo pós-colheita. A análise dos açúcares e álcoois sugere que a maturação dos frutos, associada à variação climática, desempenha um papel crucial na qualidade final do produto, influenciando diretamente o sabor e aroma da bebida.

Entendendo que um dos obstáculos fundamentais da pesquisa é produzir conhecimento na busca pelo desenvolvimento da qualidade do café, este trabalho se empenha na contribuição da compreensão dos fatores que afetam a qualidade do café, reforçando a importância da padronização dos processos de fermentação para garantir consistência e excelência na produção de cafés especiais, fundamentando incentivos para pesquisas e inovações tecnológicas na busca por uma produção mais assertiva.

Estudos futuros devem investigar diferentes perfis microbianos e incorporar novas tecnologias de controle da fermentação, com o objetivo de aumentar a previsibilidade e a consistência na produção de cafés especiais. Essas abordagens têm potencial para promover avanços significativos no controle de qualidade e na valorização de cafés elaborados por meio de processos biotecnológicos sustentáveis e reprodutíveis

Referências

Achmad, F., Deviany, D., Aditya, F., Oktasari, A., Suhartono, S., Suharto, S., 2023. Utilization of Aloe Vera Extract as A Natural Coagulant and its Effect on The Characteristics of IRR 118 Clone Rubber. Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan 18, 82–92. https://doi.org/10.23955/rkl.v18i1.27896

Anumudu, C.K., Miri, T., Onyeaka, H., 2024. Multifunctional Applications of Lactic Acid Bacteria: Enhancing Safety, Quality, and Nutritional Value in Foods and Fermented Beverages. Foods 13, 3714. https://doi.org/10.3390/foods13233714

Aung Moon, S., Wongsakul, S., Kitazawa, H., Saengrayap, R., 2024. Influence of Post-Harvest Processing and Drying Techniques on Physicochemical Properties of Thai Arabica Coffee. AgriEngineering 6, 2198–2213. https://doi.org/10.3390/agriengineering6030129

Babaei, M., Rueksomtawin Kildegaard, K., Niaei, A., Hosseini, M., Ebrahimi, S., Sudarsan, S., Angelidaki, I., Borodina, I., 2019. Engineering Oleaginous Yeast as the Host for Fermentative Succinic Acid Production From Glucose. Front Bioeng Biotechnol 7. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00361

Batista da Mota, M.C., Batista, N.N., Dias, D.R., Schwan, R.F., 2022. Impact of microbial self-induced anaerobiosis fermentation (SIAF) on coffee quality. Food Biosci 47, 101640. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101640

Borém, F.M., Rabelo, M.H.S., de Carvalho Alves, A.P., Santos, C.M., Pieroni, R.S., Nakajima, M., Sugino, R., 2024. Fermentation of coffee fruit with sequential inoculation of Lactiplantibacillus plantarum and Saccharomyces cerevisiae: effect on sensory attributes and chemical composition of the beans. Food Chem 446, 138820. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138820

Braga, A.V.U., Miranda, M.A., Aoyama, H., Schmidt, F.L., 2023a. Study on coffee quality improvement by self-induced anaerobic fermentation: Microbial diversity and enzymatic activity. Food Research International 165, 112528. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112528

Braga, A.V.U., Miranda, M.A., Aoyama, H., Schmidt, F.L., 2023b. Study on coffee quality improvement by self-induced anaerobic fermentation: Microbial diversity and enzymatic activity. Food Research International 165, 112528. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112528

Calderon, N., Jiang, G.Z., Gibney, P.A., Dando, R., 2023. A Consumer Assessment of Fermented Green Coffee Beans with Common Beer/Wine Yeast Strains for Novel Flavor Properties. Fermentation 9, 865. https://doi.org/10.3390/fermentation9100865

Candeliere, F., Sola, L., Busi, E., Rossi, M., Amaretti, A., Raimondi, S., 2024. The Metabolism of Leuconostoc Genus Decoded by Comparative Genomics. Microorganisms 12, 1487. https://doi.org/10.3390/microorganisms12071487

Cardoso, W.S., Agnoletti, B.Z., Freitas, R. de, Pinheiro, F. de A., Pereira, L.L., 2021a. Biochemical Aspects of Coffee Fermentation, in: Quality Determinants In Coffee Production. pp. 149–208.

Cardoso, W.S., Agnoletti, B.Z., Freitas, R. de, Pinheiro, F. de A., Pereira, L.L., 2021b. Biochemical Aspects of Coffee Fermentation, in: Pereira, L.L., Moreira, T.R. (Eds.), Quality Determinants In Coffee Production. Springer Nature Switzerland, Switzerland, pp. 149–208. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9

Cardoso, W.S., Agnoletti, B.Z., Freitas, R. de, Pinheiro, F. de A., Pereira, L.L., 2021c. Biochemical Aspects of Coffee Fermentation, in: Pereira, L.L., Moreira, T.R. (Eds.), Quality Determinants In Coffee Production. Springer Nature, pp. 149–208.

Cassimiro, D.M. de J., Batista, N.N., Fonseca, H.C., Oliveira Naves, J.A., Coelho, J.M., Bernardes, P.C., Dias, D.R., Schwan, R.F., 2023. Wet fermentation of Coffea canephora by lactic acid bacteria and yeasts using the self-induced anaerobic fermentation (SIAF) method enhances the coffee quality. Food Microbiol 110, 104161. https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104161

Chala, B., Oechsner, H., Müller, J., 2019. Introducing Temperature as Variable Parameter into Kinetic Models for Anaerobic Fermentation of Coffee Husk, Pulp and Mucilage. Applied Sciences 9, 412. https://doi.org/10.3390/app9030412

Chen, B., Rupani, P.F., Azman, S., Dewil, R., Appels, L., 2022. A redox-based strategy to enhance propionic and butyric acid production during anaerobic fermentation. Bioresour Technol 361, 127672. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127672

Chen, X., Wang, Y., Dong, X., Hu, G., Liu, L., 2017. Engineering rTCA pathway and C4-dicarboxylate transporter for l-malic acid production. Appl Microbiol Biotechnol 101, 4041–4052. https://doi.org/10.1007/s00253-017-8141-8

Costa, G.X.R., Silva, L.C.F., de Oliveira, L.M., Santos, L.D., 2024. Microbiota of arabica coffee: insights from soil to fruit. World J Microbiol Biotechnol 40, 308. https://doi.org/10.1007/s11274-024-04110-y

da Silva, B.L., Pereira, P.V., Bertoli, L.D., Silveira, D.L., Batista, N.N., Pinheiro, P.F., de Souza Carneiro, J., Schwan, R.F., de Assis Silva, S., Coelho, J.M., Bernardes, P.C., 2021. Fermentation of Coffea canephora inoculated with yeasts: Microbiological, chemical, and sensory characteristics. Food Microbiol 98, 103786. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103786

da Silva Vale, A., de Melo Pereira, G.V., de Carvalho Neto, D.P., Rodrigues, C., Pagnoncelli, M.G.B., Soccol, C.R., 2019. Effect of Co-Inoculation with Pichia fermentans and Pediococcus

acidilactici on Metabolite Produced During Fermentation and Volatile Composition of Coffee Beans. Fermentation 5, 67. https://doi.org/10.3390/fermentation5030067

DaMatta, F.M., Avila, R.T., Cardoso, A.A., Martins, S.C. V., Ramalho, J.C., 2018. Physiological and Agronomic Performance of the Coffee Crop in the Context of Climate Change and Global Warming: A Review. J Agric Food Chem 66, 5264–5274. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04537

De Carvalho Neto, D., De Melo Pereira, G., Tanobe, V., Thomaz Soccol, V., G. da Silva, B., Rodrigues, C., Soccol, C., 2017a. Yeast Diversity and Physicochemical Characteristics Associated with Coffee Bean Fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro Region. Fermentation 3, 11. https://doi.org/10.3390/fermentation3010011

De Carvalho Neto, D., De Melo Pereira, G., Tanobe, V., Thomaz Soccol, V., G. da Silva, B., Rodrigues, C., Soccol, C., 2017b. Yeast Diversity and Physicochemical Characteristics Associated with Coffee Bean Fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro Region. Fermentation 3, 11. https://doi.org/10.3390/fermentation3010011

de Melo Pereira, G. V, da Silva Vale, A., de Carvalho Neto, D.P., Muynarsk, E.S., Soccol, V.T., Soccol, C.R., 2020. Lactic acid bacteria: what coffee industry should know? Curr Opin Food Sci 31, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.004

El-Askri, T., Yatim, M., Sehli, Y., Rahou, A., Belhaj, A., Castro, R., Durán-Guerrero, E., Hafidi, M., Zouhair, R., 2022. Screening and Characterization of New Acetobacter fabarum and Acetobacter pasteurianus Strains with High Ethanol–Thermo Tolerance and the Optimization of Acetic Acid Production. Microorganisms 10, 1741. https://doi.org/10.3390/microorganisms10091741

Elhalis, H., Cox, J., Zhao, J., 2020. Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans. Int J Food Microbiol 321, 108544. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108544

Eron, F., Noman, M., de Oliveira, R.R., Chalfun-Junior, A., 2024. Computer Vision-Aided Intelligent Monitoring of Coffee: Towards Sustainable Coffee Production. Sci Hortic 327, 112847. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112847

Evangelista, S.R., Silva, C.F., Miguel, M.G.P. da C., Cordeiro, C. de S., Pinheiro, A.C.M., Duarte, W.F., Schwan, R.F., 2014. Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. Food Research International 61, 183–195. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.033

FAO, 2023. Food Outlook – Biannual report on global food markets. FAO. https://doi.org/10.4060/cc3020en

Ferreira, L.J.C., Casé, I.N., Bertarini, P.L.L., Oliveira, L.M. de, Santos, L.D., 2024. Impact of immature coffee fruits and water addition during spontaneous fermentation process: Chemical composition and sensory profile. Electronic Journal of Biotechnology 69, 21–29. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2024.04.001

Fu, J., Wang, L., Sun, J., Ju, N., Jin, G., 2022. Malolactic Fermentation: New Approaches to Old Problems. Microorganisms 10, 2363. https://doi.org/10.3390/microorganisms10122363

Galvagno, M.A., Forchiassin, F., 2010. Fisiologia dos Fungos: nutrição e metabolismo, in: Fungos: Uma Introdução á Biologia, Bioquímica e Biotecnologia. Caxias do Sul, pp. 123–169.

García, M., Candelo-Becerra, J.E., Hoyos, F., 2019. Quality and Defect Inspection of Green Coffee Beans Using a Computer Vision System. Applied Sciences 9, 4195. https://doi.org/10.3390/app9194195

Goulart, P. de F.P., Alves, J.D., Castro, E.M. de, Fries, D.D., Magalhães, M.M., Melo, H.C. de, 2007. Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. Ciência Rural 37, 662–666. https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000300010

Halagarda, M., Obrok, P., 2023. Influence of Post-Harvest Processing on Functional Properties of Coffee (Coffea arabica L.). Molecules 28, 7386. https://doi.org/10.3390/molecules28217386

He, Y., Xie, Z., Zhang, H., Liebl, W., Toyama, H., Chen, F., 2022. Oxidative Fermentation of Acetic Acid Bacteria and Its Products. Front Microbiol 13. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.879246

Janne Carvalho Ferreira, L., de Souza Gomes, M., Maciel de Oliveira, L., Diniz Santos, L., 2023. Coffee fermentation process: A review. Food Research International 169, 112793. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112793

Jimenez, E.J.M., Martins, P.M.M., Vilela, A.L. de O., Batista, N.N., Rosa, S.D.V.F. da, Dias, D.R., Schwan, R.F., 2023. Influence of anaerobic fermentation and yeast inoculation on the viability, chemical composition, and quality of coffee. Food Biosci 51, 102218. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102218

Kernbach, S., Kernbach, O., Kuksin, I., Kernbach, A., Nepomnyashchiy, Y., Dochow, T., Bobrov, A. V., 2022. The biosensor based on electrochemical dynamics of fermentation in yeast Saccharomyces cerevisiae. Environ Res 213, 113535. https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113535

Kim, S.-G., Abbas, A., Moon, G.-S., 2024a. Improved Functions of Fermented Coffee by Lactic Acid Bacteria. Applied Sciences 14, 7596. https://doi.org/10.3390/app14177596

Kim, S.-G., Abbas, A., Moon, G.-S., 2024b. Improved Functions of Fermented Coffee by Lactic Acid Bacteria. Applied Sciences 14, 7596. https://doi.org/10.3390/app14177596

Kim, S.-G., Abbas, A., Moon, G.-S., 2024c. Improved Functions of Fermented Coffee by Lactic Acid Bacteria. Applied Sciences 14, 7596. https://doi.org/10.3390/app14177596

Kumar, V., Sharma, H.K., Kumar, N., 2022. Engineering Properties of Foods, in: Sharma, H.K., Kumar, N. (Eds.), Agro-Processing and Food Engineering - Operational and Application Aspects. Springer, pp. 23–80.

Lee, L.W., Cheong, M.W., Curran, P., Yu, B., Liu, S.Q., 2015. Coffee fermentation and flavor – An intricate and delicate relationship. Food Chem 185, 182–191. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.124

Li, H., Mei, X., Liu, B., Li, Z., Wang, B., Ren, N., Xing, D., 2019. Insights on acetate-ethanol fermentation by hydrogen-producing Ethanoligenens under acetic acid accumulation based on quantitative proteomics. Environ Int 129, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.013

Liu, S., 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. Int J Food Microbiol 83, 115–131. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00366-5

Louzada Pereira, L., Rizzo Moreira, T. (Eds.), 2021. Quality Determinants In Coffee Production. Springer International Publishing, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54437-9

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., 2016. Diversidade metabólica dos microrganismos, in: Microbiologia de Brock. pp. 379–459.

Malimas, T., Lan Vu, H.T., Muramatsu, Y., Yukphan, P., Tanasupawat, S., Yamada, Y., 2017. Systematics of Acetic Acid Bacteria, in: Sengun, I.Y. (Ed.), Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications. pp. 5–359.

Nações Unidas no Brasil, 2024. Nações Unidas Brasil [WWW Document]. URL https://brasil.un.org/pt-br/sdgs (accessed 9.14.24).

Naik, B.J., Kim, S.-C., Seenaiah, R., Basha, P.A., Song, E.Y., 2021. Coffee cultivation techniques, impact of climate change on coffee production, role of nanoparticles and molecular markers in coffee crop improvement, and challenges. J Plant Biotechnol 48, 207–222. https://doi.org/10.5010/JPB.2021.48.4.207

Nelson, D.L., Cox, M.M., 2014. Carboidratos e Glicobiologia, in: Princípios de Bioquímica de Lehninger. Artmed, Porto Alegre, pp. 243–274.

Nielsen, J., 2017. Systems Biology of Metabolism. Annu Rev Biochem 86, 245–275. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044757

Osorio, V., Medina, R., Acuña, J.R., Pabón, J., Álvarez, C.I., Matallana, L.G., Fernández-Alduenda, M.R., 2023. Transformation of organic acids and sugars in the mucilage and coffee beans during

prolonged fermentation. Journal of Food Composition and Analysis 123, 105551. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105551

Papapetridis, I., Goudriaan, M., Vázquez Vitali, M., de Keijzer, N.A., van den Broek, M., van Maris, A.J.A., Pronk, J.T., 2018a. Optimizing anaerobic growth rate and fermentation kinetics in Saccharomyces cerevisiae strains expressing Calvin-cycle enzymes for improved ethanol yield. Biotechnol Biofuels 11, 17. https://doi.org/10.1186/s13068-017-1001-z

Papapetridis, I., Goudriaan, M., Vázquez Vitali, M., de Keijzer, N.A., van den Broek, M., van Maris, A.J.A., Pronk, J.T., 2018b. Optimizing anaerobic growth rate and fermentation kinetics in Saccharomyces cerevisiae strains expressing Calvin-cycle enzymes for improved ethanol yield. Biotechnol Biofuels 11, 17. https://doi.org/10.1186/s13068-017-1001-z

Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A.-J., 2013. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. Food Bioproc Tech 6, 36–60. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9

Paul Ross, R., Morgan, S., Hill, C., 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. Int J Food Microbiol 79, 3–16. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00174-5

Peñuela-Martínez, A.E., García-Duque, J.F., Sanz-Uribe, J.R., 2023a. Characterization of Fermentations with Controlled Temperature with Three Varieties of Coffee (Coffea arabica L.). Fermentation 9, 976. https://doi.org/10.3390/fermentation9110976

Peñuela-Martínez, A.E., Moreno-Riascos, S., Medina-Rivera, R., 2023b. Influence of Temperature-Controlled Fermentation on the Quality of Mild Coffee (Coffea arabica L.) Cultivated at Different Elevations. Agriculture 13, 1132. https://doi.org/10.3390/agriculture13061132

Peñuela-Martínez, A.E., Moreno-Riascos, S., Medina-Rivera, R., 2023c. Influence of Temperature-Controlled Fermentation on the Quality of Mild Coffee (Coffea arabica L.) Cultivated at Different Elevations. Agriculture 13, 1132. https://doi.org/10.3390/agriculture13061132

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. Int J Food Sci Technol 51, 1689–1695. https://doi.org/10.1111/ijfs.13142

Pereira, T.S., Batista, N.N., Santos Pimenta, L.P., Martinez, S.J., Ribeiro, L.S., Oliveira Naves, J.A., Schwan, R.F., 2022a. Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial communities, chemical composition and sensory quality of coffee. Food Microbiol 103, 103962. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103962

Pereira, T.S., Batista, N.N., Santos Pimenta, L.P., Martinez, S.J., Ribeiro, L.S., Oliveira Naves, J.A., Schwan, R.F., 2022b. Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial

communities, chemical composition and sensory quality of coffee. Food Microbiol 103, 103962. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103962

Rocha, R.A.R., Cruz, M.A.D. da, Silva, L.C.F., Costa, G.X.R., Amaral, L.R., Bertarini, P.L.L., Gomes, M.S., Santos, L.D., 2024a. Evaluation of Arabica Coffee Fermentation Using Machine Learning. Foods 13, 454. https://doi.org/10.3390/foods13030454

Rocha, R.A.R., Cruz, M.A.D. da, Silva, L.C.F., Costa, G.X.R., Amaral, L.R., Bertarini, P.L.L., Gomes, M.S., Santos, L.D., 2024b. Evaluation of Arabica Coffee Fermentation Using Machine Learning. Foods 13, 454. https://doi.org/10.3390/foods13030454

Santanatoglia, A., Caprioli, G., Ricciutelli, M., Vittori, S., Angeloni, S., 2024. Quantification of two derivatives of malic acid first-time discovered in coffee: Influence of postharvest processing method. Food Chem 460, 140644. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140644

Sauer, M., Porro, D., Mattanovich, D., Branduardi, P., 2008. Microbial production of organic acids: expanding the markets. Trends Biotechnol 26, 100–108. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.11.006

Seib, M.D., Berg, K.J., Zitomer, D.H., 2016. Influent wastewater microbiota and temperature influence anaerobic membrane bioreactor microbial community. Bioresour Technol 216, 446–452. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.098

Shen, X., Wang, Q., Wang, H., Fang, G., Li, Y., Zhang, J., Liu, K., 2024a. Microbial Characteristics and Functions in Coffee Fermentation: A Review. Fermentation 11, 5. https://doi.org/10.3390/fermentation11010005

Shen, X., Wang, Q., Wang, H., Fang, G., Li, Y., Zhang, J., Liu, K., 2024b. Microbial Characteristics and Functions in Coffee Fermentation: A Review. Fermentation 11, 5. https://doi.org/10.3390/fermentation11010005

Silva, C., Batista, L., Abreu, L., Dias, E., Schwan, R., 2008. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (Coffea arabica) fermentation. Food Microbiol 25, 951–957. https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.07.003

Silva, L.C.F., Pereira, P.V.R., Cruz, M.A.D. da, Costa, G.X.R., Rocha, R.A.R., Bertarini, P.L.L., Amaral, L.R. do, Gomes, M.S., Santos, L.D., 2024. Enhancing Sensory Quality of Coffee: The Impact of Fermentation Techniques on Coffea arabica cv. Catiguá MG2. Foods 13, 653. https://doi.org/10.3390/foods13050653

Sionek, B., Szydłowska, A., Trząskowska, M., Kołożyn-Krajewska, D., 2024. The Impact of Physicochemical Conditions on Lactic Acid Bacteria Survival in Food Products. Fermentation 10, 298. https://doi.org/10.3390/fermentation10060298

Škraban, J., Trček, J., 2016. Comparative Genomics of Acetobacter and other Acetic Acid Bacteria, in: Sengun, I.Y. (Ed.), Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications. 2016, Izmir, pp. 5–359.

Specialty Coffee Association (SCA), 2008. SCA CUPPING PROTOCOLS.

Stincone, A., Prigione, A., Cramer, T., Wamelink, M.M.C., Campbell, K., Cheung, E., Olin-Sandoval, V., Grüning, N., Krüger, A., Tauqeer Alam, M., Keller, M.A., Breitenbach, M., Brindle, K.M., Rabinowitz, J.D., Ralser, M., 2015. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway. Biological Reviews 90, 927–963. https://doi.org/10.1111/brv.12140

Sybesma, W., Hugenholtz, J., De Vos, W.M., Smid, E.J., 2006. Safe use of genetically modified lactic acid bacteria in food. Bridging the gap between consumers, green groups, and industry. Electronic Journal of Biotechnology 9, 0–0. https://doi.org/10.2225/vol9-issue4-fulltext-12

Tian, G., Yang, B., Dong, M., Zhu, R., Yin, F., Zhao, X., Wang, Y., Xiao, W., Wang, Q., Zhang, W., Cui, X., 2018. The effect of temperature on the microbial communities of peak biogas production in batch biogas reactors. Renew Energy 123, 15–25. https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.01.119

Tieghi, H., Pereira, L. de A., Viana, G.S., Katchborian-Neto, A., Santana, D.B., Mincato, R.L., Dias, D.F., Chagas-Paula, D.A., Soares, M.G., de Araújo, W.G., Bueno, P.C.P., 2024. Effects of geographical origin and post-harvesting processing on the bioactive compounds and sensory quality of Brazilian specialty coffee beans. Food Research International 186, 114346. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114346

Vilela, D.M., Pereira, G.V. de 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 Microbiol 27, 1128–1135. https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.024

Voet, D., Voet, J.G., 2013. Bioquímica, 4th ed.

Voet, D., Voet, J.G., Pratt, C.W., 2016. Introduction to Metabolism, in: Fundamentals of Biochemistry. pp. 442–477.

Volsi, B., Telles, T.S., Caldarelli, C.E., Camara, M.R.G. da, 2019. The dynamics of coffee production in Brazil. PLoS One 14, e0219742. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219742

Wang, C., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B., Liu, S.Q., 2020. Coffee flavour modification through controlled fermentation of green coffee beans by Lactococcus lactis subsp. cremoris. LWT 120, 108930. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108930

Wu, H., Li, Z., Zhou, L., Ye, Q., 2007. Improved Succinic Acid Production in the Anaerobic Culture of an *Escherichia coli pflB ldhA* Double Mutant as a Result of Enhanced Anaplerotic Activities

in the Preceding Aerobic Culture. Appl Environ Microbiol 73, 7837–7843. https://doi.org/10.1128/AEM.01546-07

Ye, S., Lim, J.Y., Huang, W., 2022. Statistical considerations for repeatability and reproducibility of quantitative imaging biomarkers. BJR|Open 4. https://doi.org/10.1259/bjro.20210083

Zaunmüller, T., Eichert, M., Richter, H., Unden, G., 2006. Variations in the energy metabolism of biotechnologically relevant heterofermentative lactic acid bacteria during growth on sugars and organic acids. Appl Microbiol Biotechnol 72, 421–429. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0514-3

Zhang, K., Zhang, T.-T., Guo, R.-R., Ye, Q., Zhao, H.-L., Huang, X.-H., 2023. The regulation of key flavor of traditional fermented food by microbial metabolism: A review. Food Chem X 19, 100871. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100871

Zhao, J., Hua, B., Wang, Y., Liu, Z., Wang, J., Zhou, S., 2013. Fermentation characteristics of engineered Escherichia coli for succinic acid production, in: 2013 International Conference on Materials for Renewable Energy and Environment. IEEE, pp. 982–985. https://doi.org/10.1109/ICMREE.2013.6893836

Zhao, X., Procopio, S., Becker, T., 2015. Flavor impacts of glycerol in the processing of yeast fermented beverages: a review. J Food Sci Technol 52, 7588–7598. https://doi.org/10.1007/s13197-015-1977-y

Material Suplementar

Tabela S1: Delineamento dos Experimentos Referente à Safra 2022 e 2023 para o *Coffea arabica* cv. MGS Paraíso 2

Processo	Safra de 2022			Safra de 2023		
	Método	**Inóculo**	**Tempo de fermentação**	**Método**	**Inóculo**	**Tempo de Fermentação**
Controle NC						
NC	SSF	SCF	24 h	SSF	SCF	24 h
NC	SSF	SCF	48 h	SSF	SCF	48 h
NC	SSF	SCF	72 h	SSF	SCF	72 h
NC	SSF	SPF	24 h	SSF	SPF	24 h
NC	SSF	SPF	48 h	SSF	SPF	48 h
NC	SSF	SPF	72 h	SSF	SPF	72 h
NC	SMF	SCF	24 h	SMF	SCF	24 h
NC	SMF	SCF	48 h	SMF	SCF	48 h
NC	SMF	SCF	72 h	SMF	SCF	72 h
NC	SMF	SPF	24 h	SMF	SPF	24 h
NC	SMF	SPF	48 h	SMF	SPF	48 h
NC	SMF	SPF	72 h	SMF	SPF	72 h
Controle CD						
CD	SSF	SCF	24 h	-	-	-
CD	SSF	SCF	48 h	SSF	SCF	48 h
CD	SSF	SCF	72 h	SSF	SCF	72 h
CD	SSF	SPF	24 h	-	-	-
CD	SSF	SPF	48 h	SSF	SPF	48 h
CD	SSF	SPF	72 h	SSF	SPF	72 h
CD	SMF	SCF	24 h	-	-	-
CD	SMF	SCF	48 h	SMF	SCF	48 h
CD	SMF	SCF	72 h	SMF	SCF	72 h
CD	SMF	SPF	24 h	-	-	-
CD	SMF	SPF	48 h	SMF	SPF	48 h
CD	SMF	SPF	72 h	SMF	SPF	72 h

CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora

Tabela S2: Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos no Controle dos Frutos dos Cafés das Safras de 2022 e 2023.

Safra	ºBrix				pH				Temperatura (ºC)			
	CD		NC		CD		NC		CD		NC	
2022	10,12 ^{A}	±0,76	21,66 ^{B}	±2,02	5,11 ^{B}	±0,04	5,17 ^{A}	±0,11	21,27 ^{B}	±0,36	22,60 ^{B}	±0,51
2023	5,90 ^{B}	±0,74	25,50 ^{A}	±3,50	4,73 ^{B}	±0,05	4,67 ^{B}	±0,10	22,03 ^{A}	±0,35	24,29 ^{A}	±0,03

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) nos controles. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja.

Tabela S3: Análise Comparativa de Parâmetros Físico-Químicos nos Frutos de Café (CD e NC) cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.

Variável	Método/Safra	Tempo (h)	SSF SPF		SSF SCF		SMF SPF		SMF SCF	
			Média	DesvPad	Média	DesvPad	Média	DesvPad	Média	DesvPad
ºBrix	CD - 2022	0	10,12 ^{Aa}	±0,76	10,12 ^{Aa}	±0,76	10,12 ^{Aa}	±0,76	10,12 ^{Aa}	±0,76
		24	9,62 ^{Aa}	±1,63	9,68 ^{Aa}	±0,68	4,74 ^{Ab}	±0,15	4,44 ^{Ab}	±0,39
		48	10,68 ^{Aa}	±1,19	9,28 ^{Aa}	±0,34	4,08 ^{Ab}	±0,08	4,36 ^{Ab}	±0,19
		72	7,64 ^{Ab}	±0,11	7,36 ^{Ab}	±0,23	4,32 ^{Ab}	±0,29	3,48 ^{Ac}	±0,28
	CD - 2023	0	5,90 ^{Ba}	±0,74	5,90 ^{Ba}	±0,74	5,90 ^{Ba}	±0,74	5,90 ^{Ba}	±0,74
		24	0,00 ^{Bc}	±0,00	0,00 ^{Bc}	±0,00	0,00 ^{Bc}	±0,00	0,00 ^{Bc}	±0,00
		48	3,60 ^{Bb}	±0,55	4,20 ^{Bb}	±0,84	1,00 ^{Bb}	±0,00	2,00 ^{Bb}	±0,00
		72	5,80 ^{Ba}	±0,84	4,40 ^{Bb}	±1,52	1,00 ^{Bb}	±0,00	2,40 ^{Bb}	±0,55
	NC - 2022	0	21,66 ^{Ba}	±2,02	21,66 ^{Ba}	±2,02	21,66 ^{Ba}	±2,02	21,66 ^{Ba}	±2,02
		24	20,58 ^{Bab}	±3,23	19,80 ^{Bab}	±1,21	9,60 ^{Bb}	±0,47	9,46 ^{Bb}	±0,09
		48	22,62 ^{Ba}	±3,82	20,22 ^{Bab}	±1,85	10,90 ^{Bb}	±0,43	10,84 ^{Bb}	±0,47
		72	16,46 ^{Bb}	±1,15	17,62 ^{Ab}	±0,71	10,18 ^{Ab}	±0,08	10,02 ^{Ab}	±0,11
	NC - 2023	0	25,50 ^{Aa}	±3,50	25,50 ^{Aa}	±3,50	25,50 ^{Aa}	±3,50	25,50 ^{Aa}	±3,50
		24	25,20 ^{Aa}	±1,10	26,60 ^{Aa}	±1,52	10,40 ^{Ab}	±1,52	11,00 ^{Ab}	±1,87
		48	17,60 ^{Ab}	±1,52	17,40 ^{Ab}	±0,55	9,20 ^{Ab}	±0,84	8,20 ^{Ab}	±0,84
		72	16,20 ^{Ab}	±1,64	17,20 ^{b}	±1,30	8,20 ^{b}	±0,84	7,00 ^{b}	±0,71
pH	CD - 2022	0	5,11 ^{Aa}	±0,04	5,11 ^{Aa}	±0,04	5,11 ^{Aa}	±0,04	5,11 ^{Aa}	±0,04
		24	4,37 ^{Ab}	±0,03	4,34 ^{Ab}	±0,09	4,14 ^{Ab}	±0,03	3,97 ^{Ab}	±0,04
		48	3,90 ^{Ac}	±0,02	3,86 ^{Ac}	±0,04	3,70 ^{Ac}	±0,05	3,70 ^{Ac}	±0,02
		72	3,73 ^{Ad}	±0,03	3,73 ^{Ad}	±0,03	3,55 ^{Ad}	±0,03	3,56 ^{Ad}	±0,03
	CD - 2023	0	4,73 ^{Ba}	±0,05	4,73 ^{Ba}	±0,05	4,73 ^{Ba}	±0,05	4,73 ^{Ba}	±0,05
		24	0,00 ^{Bd}	±0,00	0,00 ^{Bd}	±0,00	0,00 ^{Bd}	±0,00	0,00 ^{Bd}	±0,00
		48	3,55 ^{Bc}	±0,03	3,54 ^{Bc}	±0,03	3,39 ^{Bc}	±0,01	3,43 ^{Bc}	±0,01
		72	3,93 ^{Bb}	±0,04	3,89 ^{Bb}	±0,03	3,75 ^{Bb}	±0,01	3,80 ^{Bb}	±0,01
	NC - 2022	0	5,17 ^{Aa}	±0,11	5,17 ^{Aa}	±0,11	5,17 ^{Aa}	±0,11	5,17 ^{Aa}	±0,11
		24	4,54 ^{Ab}	±0,02	4,56 ^{Ab}	±0,03	4,53 ^{Ab}	±0,07	4,35 ^{Ab}	±0,04
		48	4,18 ^{Ac}	±0,05	4,19 ^{Ac}	±0,06	3,97 ^{Ac}	±0,02	3,98 ^{Ac}	±0,01
		72	4,09 ^{Ac}	±0,02	4,10 ^{Ac}	±0,04	3,82 ^{Ac}	±0,01	3,76 ^{Ad}	±0,13
	NC - 2023	0	4,67 ^{Ba}	±0,10	4,67 ^{Ba}	±0,10	4,67 ^{Ba}	±0,10	4,67 ^{Ba}	±0,10
		24	4,29 ^{Bb}	±0,09	4,35 ^{Bb}	±0,09	3,89 ^{Bc}	±0,03	3,88 ^{Bc}	±0,01
		48	4,33 ^{Bb}	±0,07	4,40 ^{Bb}	±0,03	4,09 ^{Bb}	±0,01	4,11 ^{Bb}	±0,01
		72	4,00 ^{Bc}	±0,04	3,97 ^{Bc}	±0,04	3,66 ^{Bd}	±0,02	3,67 ^{Bd}	±0,02

Temperatura (ºC)	CD - 2022	0	21,27	Bc	±0,36	21,27	Bc	±0,36	21,27	Bb	±0,36	21,27	Bc	±0,36
		24	27,22	Ba	±0,49	30,44	Ba	±2,96	28,66	Ba	±3,06	34,06	Bb	±1,35
		48	26,44	Bab	±2,66	24,76	Bb	±1,32	31,64	Ba	±3,08	34,10	Bb	±2,80
		72	25,32	Bb	±1,24	26,20	Bb	±1,46	29,92	Ba	±2,86	37,22	Ba	±1,82
	CD - 2023	0	22,03	Ac	±0,35	22,03	Ac	±0,35	22,03	Ac	±0,35	22,03	Ac	±0,35
		24	0,00	Ad	±0,00	0,00	Ad	±0,00	0,00	Ad	±0,00	0,00	Ad	±0,00
		48	24,36	Ab	±0,42	24,04	Ab	±0,44	25,60	Ab	±0,33	32,12	Ab	±2,72
		72	27,98	Aa	±1,70	27,60	Aa	±2,11	30,66	Aa	±2,77	39,16	Aa	±2,61
	NC - 2022	0	22,60	Bb	±0,51	22,60	Bc	±0,51	22,60	Bd	±0,51	22,60	Bb	±0,51
		24	22,98	Bb	±0,99	24,26	Bb	±0,87	29,12	Bc	±0,35	31,12	Ba	±1,45
		48	25,48	Ba	±0,40	25,18	Bb	±0,41	31,12	Ba	±0,44	31,56	Ba	±0,32
		72	25,98	Ba	±0,75	26,20	Ba	±0,42	29,98	Bb	±0,45	30,64	Ba	±0,42
	NC - 2023	0	24,29	Ad	±0,03	24,29	Ac	±0,03	24,29	Ad	±0,03	24,29	Ad	±0,03
		24	25,46	Ac	±0,42	25,56	Ad	±0,18	28,40	Ac	±0,31	28,56	Ac	±0,37
		48	29,42	Aa	±0,55	29,02	Aa	±0,59	32,24	Ab	±0,25	32,34	Ab	±0,40
		72	27,32	Ab	±0,68	27,58	Ab	±0,58	32,82	Aa	±0,28	34,88	Aa	±0,43

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF: Fermentação em Estado Sólido, SMF: Fermentação Submersa, SPF: Fermentação Espontânea, SCF: Fermentação com Cultura Iniciadora.

Tabela S4: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.

Composto (mg/g)	Tempo (h)	CD SSF SPF			CD SSF SCF			CD SMF SPF			CD SMF SCF		
		Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad
Ác. Cítrico 2022	0	0,49	Aab	±0,12	0,49	Aa	±0,12	0,49	Ab	±0,12	0,49	Aab	±0,12
	24	0,74	Aa	±0,08	0,76	Aa	±0,11	1,35	Aa	±0,34	0,88	Aa	±0,15
	48	0,22	Ab	±0,07	0,56	Aa	±0,07	1,00	Aab	±0,16	0,77	Aa	±0,27
	72	0,57	Bab	±0,22	0,65	Aa	±0,21	0,64	Ab	±0,18	0,15	Ab	±0,06
Ác. Cítrico 2023	0	0,02	Bb	±0,01	0,02	Bbc	±0,01	0,02	Bb	±0,01	0,02	Bb	±0,01
	24	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00
	48	0,11	Ab	±0,08	0,07	Ba	±0,02	0,08	Ba	±0,04	1,50	Aa	±0,11
	72	1,53	Aa	±0,04	0,03	Bb	±0,01	0,08	Ba	±0,03	0,05	Bb	±0,00
Ác. Málico 2022	0	2,51	Aa	±0,04	2,51	Aa	±0,04	2,51	Aa	±0,04	2,51	Aa	±0,04
	24	0,96	Ab	±0,12	1,19	Ab	±0,28	1,26	Ab	±0,23	1,34	Ab	±0,19
	48	0,66	Ab	±0,09	0,87	Ab	±0,08	1,27	Ab	±0,53	1,02	Ab	±0,28
	72	0,62	Ab	±0,35	0,42	Ac	±0,11	0,55	Ab	±0,13	0,28	Ac	±0,05
Ác. Málico 2023	0	0,04	Ba	±0,02	0,04	Ba	±0,02	0,04	Bab	±0,02	0,04	Ba	±0,02
	24	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00
	48	0,22	Aa	±0,37	0,52	Aa	±0,79	0,06	Bab	±0,04	0,00	Bb	±0,00
	72	0,13	Aa	±0,03	0,05	Ba	±0,04	0,12	Ba	±0,07	0,00	Bb	±0,00
	0	0,29	Aa	±0,04	0,29	Aa	±0,04	0,29	Aa	±0,04	0,29	Aa	±0,04

Ác. Succínico 2022	24	0,03	Ac	±0,01	0,06	Ab	±0,02	0,01	Ac	±0,01	0,04	Ab	±0,02
	48	0,06	Ac	±0,01	0,11	Ab	±0,01	0,10	Ab	±0,03	0,08	Ab	±0,03
	72	0,14	Ab	±0,00	0,13	Ab	±0,04	0,04	Abc	±0,04	0,29	Aa	±0,07
Ác. Succínico 2023	0	0,00	Bb	±0,00	0,00	Ba	±0,00	0,00	Ba	±0,00	0,00	Ba	±0,00
	24	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00
	48	0,06	Aa	±0,01	0,01	Ba	±0,01	0,01	Ba	±0,01	0,00	Ba	±0,00
	72	0,02	Bb	±0,02	0,01	Ba	±0,01	0,03	Aa	±0,03	0,01	Ba	±0,01
Ác. Lático 2022	0	0,17	Bc	±0,05	0,17	Bc	±0,05	0,17	Bd	±0,05	0,17	Bc	±0,05
	24	1,78	Abc	±0,09	1,59	Ab	±0,63	2,04	Ac	±0,31	4,25	Abc	±0,50
	48	3,63	Aab	±0,55	3,50	Ba	±0,30	15,55	Aa	±1,14	6,05	Ab	±1,70
	72	4,49	Aa	±1,36	4,30	Ba	±0,79	4,92	Bb	±0,39	17,69	Aa	±0,91
Ác. Lático 2023	0	13,20	Aa	±1,77	13,20	Aa	±1,77	13,20	Aa	±1,77	13,20	Aa	±1,77
	24	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00
	48	7,26	Ab	±3,27	5,86	Ac	±1,26	7,59	Bb	±1,72	5,67	Ab	±1,72
	72	4,72	Abc	±1,11	9,32	Ab	±1,37	8,05	Ab	±1,50	12,43	Ba	±1,70
Ác. Acético 2022	0	0,41	Bb	±0,02	0,41	Bc	±0,02	0,41	Bb	±0,02	0,41	Bb	±0,02
	24	1,17	Aab	±0,10	0,86	Abc	±0,36	0,62	Ab	±0,04	1,80	Ab	±0,33
	48	1,45	Aa	±0,07	1,39	Aab	±0,17	4,22	Aa	±1,24	1,61	Ab	±0,45
	72	1,64	Aa	±0,71	1,58	Ba	±0,28	1,50	Bb	±0,12	6,09	Aa	±1,54
Ác. Acético 2023	0	12,19	Aa	±1,15	12,19	Aa	±1,15	12,19	Aa	±1,15	12,19	Aa	±1,15
	24	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00	-	--	±0,00
	48	2,70	Ab	±1,12	2,36	Ab	±0,94	2,36	Ab	±0,22	0,37	Bc	±0,07
	72	2,24	Ab	±0,24	3,40	Ab	±0,38	3,48	Ab	±1,04	3,51	Bb	±0,24

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Tabela S5: Análise Comparativa da Produção de Ácidos Orgânicos do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023.

Composto (mg/g)	Tempo (h)	NC SSF SPF		NC SSF SCF		NC SMF SPF		NC SMF SCF	
		Média	DesvPad	Média	DesvPad	Média	DesvPad	Média	DesvPad
Ác. Cítrico 2022	0	0,48 Aa	±0,07	0,48 Aa	±0,07	0,48 Aa	±0,07	0,48 Aa	±0,07
	24	0,27 Bb	±0,05	0,47 Ba	±0,09	0,46 Ba	±0,17	0,56 Ba	±0,13
	48	0,30 Bb	±0,06	0,26 Ba	±0,12	0,42 Aa	±0,14	0,35 Ba	±0,12
	72	0,09 Bc	±0,02	0,25 Ba	±0,07	0,41 Ba	±0,18	0,32 Ba	±0,05
Ác. Cítrico 2023	0	0,00 Bc	±0,00	0,00 Bc	±0,00	0,00 Bc	±0,00	0,00 Bc	±0,00
	24	1,46 Aa	±0,19	1,69 Aa	±0,48	1,47 Aa	±0,15	1,31 Aa	±0,05
	48	0,58 Ab	±0,11	0,65 Abc	±0,13	0,64 Ab	±0,12	0,74 Ab	±0,21
	72	0,83 Ab	±0,15	0,74 Ab	±0,05	0,96 Ab	±0,19	1,08 Aa	±0,05
Ác. Málico 2022	0	9,74 Aa	±1,10	9,74 Aa	±1,10	9,74 Aa	±1,10	9,74 Aa	±1,10
	24	5,79 Ab	±0,67	5,84 Ab	±0,57	5,60 Ab	±1,51	5,18 Ab	±0,93
	48	3,37 Ac	±0,30	3,49 Ac	±1,04	2,97 Ac	±0,47	3,02 Ac	±0,70
	72	1,70 Ac	±0,10	2,58 Ac	±0,47	1,79 Ac	±0,56	2,71 Ac	±0,11
Ác. Málico 2023	0	2,74 Bb	±0,41	2,74 Bb	±0,41	2,74 Ba	±0,41	2,74 Ba	±0,41
	24	4,61 Aa	±0,73	4,26 Ba	±0,17	2,92 Ba	±0,44	3,43 Aa	±1,12
	48	1,80 Bbc	±0,50	1,93 Ac	±0,09	0,80 Bb	±0,14	0,85 Bb	±0,08
	72	1,30 Ac	±0,23	0,92 Bd	±0,15	0,76 Bb	±0,09	0,89 Bb	±0,08
Ác. Succínico 2022	0	2,54 Aa	±0,35	2,54 Aa	±0,35	2,54 Aa	±0,35	2,54 Aa	±0,35
	24	1,90 Aab	±0,54	1,18 Ab	±0,78	2,41 Aa	±0,24	0,96 Ab	±0,64
	48	0,85 Ab	±0,34	0,82 Ab	±0,33	0,55 Bb	±0,10	0,62 Ab	±0,20
	72	1,13 Ab	±0,37	1,10 Bb	±0,05	0,95 Bb	±0,17	2,39 Aa	±0,40
Ác. Succínico 2023	0	0,56 Bb	±0,19	0,56 Bb	±0,19	0,56 Bb	±0,19	0,56 Bb	±0,19
	24	0,53 Bb	±0,15	0,56 Ab	±0,11	0,36 Bb	±0,11	0,42 Ab	±0,12
	48	1,08 Aab	±0,23	1,35 Aa	±0,32	1,50 Aa	±0,05	0,98 Ab	±0,27
	72	2,06 Aa	±0,73	1,96 Aa	±0,27	1,33 Aa	±0,12	2,22 Aa	±0,30
Ác. Lático 2022	0	0,14 Bc	±0,08	0,14 Bb	±0,08	0,14 Bc	±0,08	0,14 Bb	±0,08
	24	1,06 Bc	±0,76	1,71 Bb	±0,21	1,42 Bc	±1,19	1,61 Bb	±0,66
	48	4,91 Ab	±1,15	5,01 Aa	±0,52	4,91 Ab	±0,45	7,25 Aa	±1,90
	72	7,69 Aa	±0,41	6,69 Aa	±1,86	6,67 Aa	±0,14	7,95 Aa	±1,48
Ác. Lático 2023	0	17,99 Aa	±0,61	17,99 Aa	±0,61	17,99 Aa	±0,61	17,99 Aa	±0,61
	24	3,19 Ac	±1,02	3,27 Ad	±0,22	3,69 Ac	±0,46	3,49 Ac	±0,94
	48	5,32 Abc	±1,47	5,18 Ac	±0,29	5,67 Ab	±0,23	5,16 Abc	±0,82
	72	7,18 Ab	±0,59	6,23 Ab	±0,25	6,18 Ab	±0,62	6,62 Ab	±0,70
Ác. Acético 2022	0	0,92 Bc	±0,33	0,92 Bc	±0,33	0,92 Bb	±0,33	0,92 Bb	±0,33
	24	2,17 Ab	±0,57	1,66 Bbc	±0,53	2,27 Aa	±0,79	0,78 Bb	±0,21
	48	2,94 Bab	±0,37	2,48 Bb	±0,36	1,70 Bab	±0,31	2,30 Ba	±0,63
	72	3,87 Ba	±0,21	3,99 Ba	±0,21	2,32 Ba	±0,04	3,25 Ba	±0,31
	0	4,18 Ab	±0,44	4,18 Ab	±0,44	4,18 Aa	±0,44	4,18 Abc	±0,44
	24	3,72 Ab	±1,33	4,79 Aab	±0,97	4,55 Aa	±1,18	3,29 Ac	±1,01

Ác. Acético 2023	48	5,59	Ab	±0,45	7,12	Aa	±1,46	5,90	Aa	±0,41	5,18	Aab	±0,62
	72	7,97	Aa	±1,01	6,89	Aa	±0,78	4,91	Aa	±0,55	5,96	Aa	±0,47

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Tabela S6: Análise Comparativa do Consumo de Açúcares e Produção de Álcoois do Café CD cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023.

Composto (mg/g)	Tempo (h)	CD SSF SPF			CD SSF SCF			CD SMF SPF			CD SMF SCF		
		Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad
Sacarose 2022	0	6,34	Aa	±0,83	6,34	Aab	±0,83	6,34	Ab	±0,83	6,34	Aab	±0,83
	24	6,27	Aa	±1,15	9,00	Aa	±1,20	15,17	Aa	±2,69	7,58	Aa	±0,81
	48	2,22	Bb	±0,64	4,54	Ab	±0,54	9,49	Ab	±1,68	5,23	Bb	±0,45
	72	3,46	Ab	±0,60	4,21	Ab	±1,64	6,22	Ab	±1,56	0,74	Ac	±0,48
Sacarose 2023	0	3,63	Ba	±1,29	3,63	Bb	±1,29	3,63	Ba	±1,29	3,63	Bbc	±1,29
	24	0,00	-b	±0,00	0,00	-c	±0,00	0,00	-a	±0,00	0,00	-c	±0,00
	48	6,54	Aa	±2,04	7,00	Aa	±2,18	5,11	Aa	±3,16	12,67	Aa	±1,33
	72	3,36	Aa	±0,75	5,66	Aab	±0,31	4,24	Aa	±1,97	5,01	Ab	±3,32
Glicose 2022	0	15,99	Aa	±0,56	15,99	Aa	±0,56	15,99	Aa	±0,56	15,99	Aa	±0,56
	24	7,14	Ab	±0,33	6,73	Ab	±0,79	5,50	Ab	±0,70	6,44	Ab	±0,98
	48	2,54	Ac	±0,89	3,42	Bc	±0,26	2,64	Ac	±1,13	2,60	Ac	±1,00
	72	1,61	Ac	±0,04	1,68	Ad	±0,55	1,10	Ac	±0,02	0,00	Ad	±0,00
Glicose 2023	0	0,02	Bb	±0,03	0,02	Bc	±0,03	0,02	Ba	±0,03	0,02	Ba	±0,03
	24	0,00	-b	±0,00	0,00	-c	±0,00	0,00	-a	±0,00	0,00	-a	±0,00
	48	4,15	Aa	±0,78	3,99	Aa	±0,07	0,00	Ba	±0,00	0,01	Ba	±0,01
	72	2,59	Aa	±0,94	0,22	Bb	±0,02	0,00	Ba	±0,00	0,00	Aa	±0,00
Frutose 2022	0	25,20	Aa	±0,65	25,20	Aa	±0,65	25,20	Aab	±0,65	25,20	Aa	±0,65
	24	15,68	Ab	±0,46	13,71	Aab	±0,71	12,18	Abc	±1,11	21,56	Aa	±3,21
	48	15,15	Ab	±0,93	14,70	Abc	±1,69	29,40	Aa	±1,61	16,97	Aa	±4,28
	72	8,27	Ac	±0,31	7,27	Ac	±0,61	5,82	Ac	±0,32	18,61	Aa	±3,79
Frutose 2023	0	6,82	Ba	±0,22	6,82	Ba	±0,22	6,82	Ba	±0,22	6,82	Ba	±0,22
	24	0,00	-b	±0,00	0,00	-b	±0,00	0,00	-b	±0,00	0,00	-c	±0,00
	48	7,63	Ba	±1,46	7,94	Ba	±1,08	4,41	Ba	±2,05	1,95	Bbc	±0,92
	72	8,79	Aa	±0,88	6,97	Aa	±1,90	6,54	Aa	±1,66	4,03	Bb	±1,31
Glicerol 2022	0	0,00	Ac	±0,00	0,00	Ab	±0,00	0,00	Ab	±0,00	0,00	Ab	±0,00
	24	0,09	Abc	±0,03	0,19	Aa	±0,10	0,11	Ab	±0,02	0,38	Aa	±0,11
	48	0,25	Aa	±0,04	0,27	Aa	±0,05	0,59	Aa	±0,25	0,22	Aa	±0,05
	72	0,18	Aab	±0,08	0,15	Aab	±0,03	0,11	Ab	±0,02	0,29	Aa	±0,10
Glicerol 2023	0	0,00	Aa	±0,00	0,00	Ab	±0,00	0,00	Aa	±0,00	0,00	Aa	±0,00
	24	0,00	-a	±0,00	0,00	-b	±0,00	0,00	-a	±0,00	0,00	-a	±0,00

	48	0,07	Ba	±0,10	0,05	Ba	±0,04	0,00	Ba	±0,00	0,01	Ba	±0,01
	72	0,00	Ba	±0,00	0,00	Bb	±0,00	0,00	Ba	±0,00	0,00	Ba	±0,00
Etanol 2022	0	0,00	Bc	±0,00	0,00	Bc	±0,00	0,00	Bc	±0,00	0,00	Bc	±0,00
	24	0,67	Ac	±0,09	0,66	Ac	±0,24	1,00	Ac	±0,11	4,11	Ab	±0,37
	48	3,23	Bb	±0,50	4,69	Ab	±1,22	22,49	Aa	±1,14	5,47	Ab	±0,65
	72	9,50	Aa	±0,14	7,89	Aa	±1,04	6,49	Ab	±0,69	24,29	Aa	±1,48
Etanol 2023	0	3,31	Ab	±0,20	3,31	Ab	±0,20	3,31	Aa	±0,20	3,31	Ab	±0,20
	24	0,00	-c	±0,00	0,00	-c	±0,00	0,00	-b	±0,00	0,00	-c	±0,00
	48	5,54	Aa	±0,72	5,06	Aa	±0,85	2,76	Ba	±0,81	2,27	Bb	±0,23
	72	4,09	Bb	±0,52	6,34	Aa	±0,58	3,65	Ba	±0,37	6,06	Ba	±1,14

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo

Tabela S7: Análise Comparativa do Consumo de Açúcares e Produção de Álcoois do Café NC cv. MGS Paraíso 2 em Diferentes Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023.

Composto (mg/g)	Tempo (h)	NC SSF SPF			NC SSF SCF			NC SMF SPF			NC SMF SCF		
		Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad
Sacarose 2022	0	0,80	Bab	±0,12	0,80	Ba	±0,12	0,80	Bb	±0,12	0,80	Bb	±0,12
	24	0,38	Bb	±0,31	1,37	Ba	±0,59	1,95	Bb	±0,57	2,40	Bab	±0,55
	48	1,15	Ba	±0,11	0,82	Ba	±0,37	5,82	Ba	±0,82	2,68	Ba	±0,13
	72	0,71	Bab	±0,14	2,36	Aa	±0,97	5,01	Ba	±0,81	3,99	Ba	±1,11
Sacarose 2023	0	2,36	Ab	±0,66	2,36	Ab	±0,66	2,36	Ac	±0,66	2,36	Ac	±0,66
	24	7,97	Aa	±1,42	13,11	Aa	±3,42	14,65	Aa	±0,94	12,87	Aa	±2,05
	48	3,48	Ab	±0,98	4,33	Ab	±0,28	7,75	Ab	±0,76	8,21	Ab	±0,36
	72	3,36	Ab	±0,73	4,19	Ab	±0,97	8,98	Ab	±0,97	9,94	Ab	±0,42
Glicose 2022	0	50,88	Aa	±10,35	50,88	Aa	±10,35	50,88	Aa	±10,35	50,88	Aa	±10,35
	24	44,37	Aa	±3,31	48,47	Aa	±7,17	37,31	Aab	±3,44	41,50	Aab	±8,68
	48	28,86	Ab	±2,66	32,63	Aab	±9,87	23,47	Abc	±3,39	25,86	Ab	±6,81
	72	11,78	Ac	±0,86	20,10	Ab	±4,87	17,36	Ac	±0,89	22,02	Ab	±1,00
Glicose 2023	0	15,06	Bb	±4,24	15,06	Bb	±4,24	15,06	Ba	±4,24	15,06	Bab	±4,24
	24	36,63	Aa	±9,45	36,28	Aa	±3,55	20,54	Ba	±2,42	23,49	Ba	±6,84
	48	16,61	Bb	±4,61	18,71	Ab	±2,13	4,94	Bb	±0,48	4,52	Bbc	±1,09
	72	9,91	Ab	±2,71	7,12	Bc	±0,73	4,24	Bb	±0,67	3,46	Bc	±0,88
Frutose 2022	0	82,45	Aa	±12,70	82,45	Aa	±12,70	82,45	Aa	±12,70	82,45	Aa	±12,70
	24	74,05	Aab	±2,19	78,79	Aab	±12,67	60,86	Ab	±6,53	64,57	Aa	±11,17
	48	59,50	Ab	±3,70	66,88	Aab	±7,39	46,61	Abc	±5,78	54,00	Aa	±14,49
	72	40,77	Ac	±1,23	51,73	Ab	±9,47	40,07	Ac	±2,21	54,00	Aa	±1,71
	0	71,69	Aa	±4,18	71,69	Aa	±4,18	71,69	Aa	±4,18	71,69	Aa	±4,18

Frutose 2023	24	63,41	Aa	±7,47	70,55	Aa	±3,88	41,11	Bb	±2,65	41,82	Ab	±1,99
	48	45,34	Bb	±0,77	44,60	Bb	±2,67	19,97	Bc	±1,73	18,36	Bc	±1,05
	72	28,56	Bb	±5,38	22,01	Bc	±2,99	14,99	Bc	±1,12	15,87	Bc	±0,82
Glicerol 2022	0	0,00	Ab	±0,00	0,00	Ac	±0,00	0,00	Ab	±0,00	0,00	Ab	±0,00
	24	0,53	Aa	±0,31	0,09	Bc	±0,02	0,04	Bab	±0,03	0,08	Ba	±0,03
	48	0,47	Ba	±0,04	0,35	Bb	±0,06	0,07	Ba	±0,02	0,07	Ba	±0,00
	72	0,70	Ba	±0,14	0,64	Ba	±0,04	0,06	Bab	±0,04	0,05	Ba	±0,02
Glicerol 2023	0	0,08	Ac	±0,13	0,08	Ac	±0,13	0,08	Ad	±0,13	0,08	Ad	±0,13
	24	0,88	Abc	±0,25	0,92	Ab	±0,23	0,60	Ac	±0,13	0,77	Ac	±0,23
	48	1,74	Aab	±0,49	2,04	Aa	±0,39	1,77	Aa	±0,05	1,59	Ab	±0,12
	72	2,28	Aa	±0,49	2,04	Aa	±0,34	1,24	Ab	±0,07	7,32	Aa	±0,36
Etanol 2022	0	0,00	Bc	±0,00	0,00	Bc	±0,00	0,00	Bc	±0,00	0,00	Bc	±0,00
	24	2,45	Bc	±0,67	2,03	Bc	±0,71	1,27	Bc	±0,39	1,42	Bc	±0,34
	48	9,94	Bb	±1,00	8,36	Bb	±1,47	3,70	Bb	±0,35	4,73	Bb	±1,02
	72	22,23	Ba	±2,12	22,48	Ba	±1,96	6,51	Ba	±1,11	8,36	Ba	±1,22
Etanol 2023	0	6,50	Ac	±0,36	6,50	Ad	±0,36	6,50	Ab	±0,36	6,50	Ab	±0,36
	24	12,90	Ac	±1,64	12,54	Ac	±1,23	8,75	Ab	±0,14	8,44	Ab	±0,92
	48	32,02	Ab	±3,72	36,87	Ab	±0,68	23,88	Aa	±2,85	20,82	Aa	±4,94
	72	51,91	Aa	±3,27	47,14	Aa	±1,56	24,07	Aa	±3,28	26,11	Aa	±1,39

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Tabela S8: Análise Comparativa do Teste de Colorimetria nos Grãos de Café CD e NC cv. MGS Paraíso 2 para Tempos de Fermentação - Safra 2022 e 2023.

Método/Safra	Tempo (h)	SSF SPF			SSF SCF			SMF SPF			SMF SCF		
		Média ΔE*		DesvPad	Média ΔE*		DesvPad	Média ΔE*		DesvPad	Média ΔE*		DesvPad
CD - 2022	24	1,48	Ab	±0,82	2,16	Ac	±2,01	1,86	Ac	±1,17	3,29	Ac	±2,21
	48	3,61	Bc	±2,17	3,67	Ac	±2,21	1,85	Bc	±1,77	2,46	Bcb	±1,86
	72	2,95	Bcb	±1,87	4,15	Bc	±2,41	2,66	Bc	±2,48	1,18	Bb	±0,81
CD - 2023	24	0,00	Bb	±0,00	0,00	Bb	±0,00	0,00	Bb	±0,00	0,00	Bc	±0,00
	48	5,82	Ac	±2,06	1,74	Bb	±1,24	6,81	Ac	±1,78	9,22	Ac	±2,11
	72	6,79	Ac	±3,04	7,07	Ac	±2,53	7,73	Ac	±3,86	6,35	Ab	±2,69
NC - 2022	24	7,38	Ac	±1,81	4,63	Ac	±2,13	1,82	Bc	±1,38	2,99	Ac	±1,20
	48	4,32	Ab	±1,16	2,61	Ab	±0,96	2,52	Ac	±2,01	2,12	Bc	±0,85
	72	1,31	Bc	±0,66	2,58	Bb	±1,32	1,65	Bc	±1,31	2,72	Ac	±1,39
NC - 2023	24	2,44	Bc	±0,25	4,75	Bc	±2,58	2,79	Ac	±0,25	3,27	Ac	±1,12
	48	4,13	Ab	±1,75	3,46	Ac	±1,29	1,97	Ac	±0,31	3,13	Ac	±1,24
	72	5,94	Ac	±1,28	4,48	Ac	±1,19	3,03	Ab	±0,72	2,17	Ac	±0,60

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Tabela S9: Análise Comparativa do Teste de Força nos Grãos de Café CD e NC cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação - Safras 2022 e 2023.

Método/Safra	Tempo (h)	SSF SPF			SSF SCF			SMF SPF			SMF SCF		
		Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad
CD - 2022	0	488,01	Aab	±28,50	488,01	Aa	±28,50	488,01	Aa	±28,50	488,01	Aa	±28,50
	24	506,36	Aa	±50,82	481,40	Aa	±30,80	456,48	Aab	±23,55	472,40	Aa	±37,33
	48	424,22	Ab	±38,53	465,30	Aa	±45,70	432,71	Bb	±35,46	457,71	Aa	±33,19
	72	484,00	Aab	±33,42	516,75	Aa	±44,20	464,13	Aab	±31,34	479,52	Aa	±41,38
CD - 2023	0	480,95	Aa	±63,87	480,95	Aa	±63,87	480,95	Aa	±63,87	480,95	Aa	±63,87
	24	0,00	-b	±0,00	0,00	-b	±0,00	0,00	-b	±0,00	0,00	-b	±0,00
	48	482,10	Aa	±48,75	498,39	Aa	±32,51	512,86	Aa	±38,99	505,42	Aa	±37,06
	72	484,29	Aa	±46,75	480,73	Aa	±29,13	455,66	Ab	±13,90	472,98	Ab	±21,17
NC - 2022	0	509,51	Aa	±32,00	509,51	Aab	±32,00	509,51	Aa	±32,00	509,51	Aa	±32,00
	24	556,69	Aa	±33,07	525,82	Aa	±21,07	544,88	Aa	±22,56	508,86	Aa	±51,99
	48	514,86	Aa	±60,05	534,41	Aa	±38,20	522,54	Aa	±26,26	484,54	Aa	±48,55
	72	484,24	Aa	±67,23	449,10	Ab	±46,90	459,46	Ab	±20,93	466,34	Aa	±48,12

NC - 2023	0	540,54	Aa	±21,16	540,54	Aa	±21,16	540,54	Aa	±21,16	540,54	Aa	±21,16
	24	425,09	Ba	±35,68	471,43	Aab	±53,93	467,41	Bb	±42,46	432,17	Bb	±37,97
	48	465,78	Aa	±56,78	443,46	Bb	±47,69	458,48	Bb	±36,40	457,60	Ab	±39,31
	72	413,03	Aa	±70,24	450,57	Ab	±40,11	438,68	Ab	±32,04	466,13	Ab	±40,48

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado, NC: Natural Cereja, SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Tabela S10: Análise Comparativa do Teste de Dureza nos Grãos de Café (CD e NC) cv. MGS Paraíso 2 entre os Tempos de Fermentação dos Experimentos - Safras 2022 e 2023.

Método/Safra	Tempo (h)	SSF SPF			SSF SCF			SMF SPF			SMF SCF		
		Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad	Média		DesvPad
CD - 2022	0	496,97	Aab	±29,47	496,97	Aa	±29,47	496,97	Aa	±29,47	496,97	Aa	±29,47
	24	517,11	Aa	±49,62	487,53	Aa	±31,43	465,72	Aab	±25,74	482,31	Aa	±36,40
	48	431,00	Ab	±37,11	476,66	Aa	±51,32	438,25	Bb	±33,85	464,71	Aa	±33,80
	72	490,03	Aab	±30,66	529,05	Aa	±46,90	474,60	Aab	±31,31	488,95	Aa	±45,01
CD - 2023	0	495,96	Aa	±65,29	495,96	Aa	±65,29	495,96	Aa	±65,29	495,96	Aa	±65,29
	24	0,00	Bb	±0,00	0,00	Bb	±0,00	0,00	Bb	±0,00	0,00	Bb	±0,00
	48	505,96	Aa	±62,62	508,85	Aa	±33,39	526,62	Aa	±38,78	519,11	Aa	±43,68
	72	497,63	Aa	±45,64	496,17	Aa	±31,72	470,68	Aa	±15,17	482,90	Aa	±22,48
NC - 2022	0	518,86	Ba	±29,86	518,86	Bab	±29,86	518,86	Ba	±29,86	518,86	Ba	±29,86
	24	568,58	Aa	±31,44	535,98	Aa	±20,22	559,69	Aa	±22,02	519,59	Aa	±53,58
	48	528,79	Aa	±57,83	547,57	Aa	±38,73	532,63	Aa	±26,41	495,55	Aa	±44,70
	72	491,79	Aa	±72,80	455,32	Ab	±53,73	470,44	Ab	±21,06	476,98	Aa	±47,33
NC - 2023	0	563,24	Aa	±19,31	563,24	Aa	±19,31	563,24	Aa	±19,31	563,24	Aa	±19,31
	24	444,62	Bb	±38,55	480,98	Ab	±57,48	482,92	Bb	±39,71	444,39	Bb	±41,76
	48	484,57	Aab	±48,41	459,63	Bb	±47,92	475,69	Bb	±44,99	468,45	Ab	±41,04
	72	432,99	Ab	±70,44	466,79	Ab	±40,70	452,82	Ab	±34,00	484,67	Ab	±38,15

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística (p≤0,05) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado; NC: Natural Cereja; SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo

Tabela S11: Comparação de Notas Sensoriais da SCA para os Cafés nos Métodos CD e NC Submetidos a Diferentes Tempos de Fermentação nas Safras 2022/2023.

Método/Safra	Tempo (h)	SSF SPF		SSF SCF		SMF SPF		SMF SCF	
		Média	DesvPad	Média	DesvPad	Média	DesvPad	Média	DesvPad
CD - Safra 2022	0	84,69 ^{Aa}	±1,96	84,69 ^{Aa}	±1,96	84,69 ^{Ab}	±1,96	84,69 ^{Aa}	±1,96
	24	83,31 ^{Aa}	±0,89	83,56 ^{Aa}	±0,45	84,44 ^{Ab}	±0,57	82,81 ^{Aa}	±2,34
	48	84,69 ^{Ba}	±0,74	84,31 ^{Aa}	±0,72	87,69 ^{Aa}	±0,41	83,25 ^{Aa}	±0,53
	72	84,38 ^{Aa}	±0,42	84,19 ^{Aa}	±0,41	79,50 ^{Bc}	±2,06	83,63 ^{Aa}	±0,80
CD - Safra 2023	0	85,35 ^{Aa}	±1,14	85,35 ^{Aa}	±1,14	85,35 ^{Aa}	±1,14	85,35 ^{Aa}	±1,14
	24	0,00 ^{Bb}	±0,00	0,00 ^{Bb}	±0,00	0,00 ^{Bb}	±0,00	0,00 ^{Bb}	±0,00
	48	86,30 ^{Aa}	±0,86	84,55 ^{Aa}	±0,60	84,15 ^{Ba}	±1,42	84,10 ^{Aa}	±1,23
	72	84,90 ^{Aa}	±1,73	84,40 ^{Aa}	±0,96	85,70 ^{Aa}	±0,74	84,20 ^{Aa}	±0,11
NC - Safra 2022	0	81,75 ^{Bb}	±1,15	81,75 ^{Bc}	±1,15	81,75 ^{Bb}	±1,15	81,75 ^{Bb}	±1,15
	24	83,63 ^{Aab}	±0,67	82,31 ^{Bbc}	±0,89	80,75 ^{Bb}	±2,30	83,81 ^{Aab}	±1,95
	48	85,00 ^{Aa}	±0,40	83,75 ^{Bb}	±0,53	85,38 ^{Aa}	±0,94	84,63 ^{Aa}	±0,82
	72	85,00 ^{Aa}	±1,54	86,06 ^{Aa}	±0,57	82,38 ^{Bb}	±1,26	83,19 ^{Aab}	±1,39
NC - Safra 2023	0	84,44 ^{Aa}	±0,45	84,44 ^{Ab}	±0,45	84,44 ^{Aa}	±0,45	84,44 ^{Aa}	±0,45
	24	83,80 ^{Aa}	±0,99	84,35 ^{Ab}	±0,89	84,00 ^{Aa}	±1,25	84,60 ^{Aa}	±1,04
	48	85,00 ^{Aa}	±0,79	86,00 ^{Aa}	±0,56	83,80 ^{Aa}	±1,80	84,90 ^{Aa}	±0,80
	72	85,20 ^{Aa}	±0,94	86,00 ^{Aa}	±0,47	85,75 ^{Aa}	±1,16	84,00 ^{Aa}	±0,50

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre safras (2022 e 2023) para um mesmo tratamento e tempo de fermentação, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre tempos de fermentação (24, 48 e 72 h) para uma mesma safra e tratamento. CD: Cereja Descascado; NC: Natural Cereja; SSF SPF: Fermentação em Estado Sólido Sem o Uso de Inóculo; SSF SCF: Fermentação em Estado Sólido Com o Uso de Inóculo; SMF SPF: Fermentação Submersa Sem o Uso de Inóculo; SMF SCF: Fermentação Submersa Com o Uso de Inóculo.

Figura 41: MGS Paraíso 2 - Cruzamento entre Catuaí Amarelo IAC 30 e Híbrido de Timor UFV 445-46.

Fonte: embrapa.br/

Figura 42: MGS Paraíso 2 - Ficha Técnica da Cultivar

Fonte: www.fundacaoprocafe.com.br/