



ANA PAULA PEREIRA BRESSANI

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E SENSORIAL DE
CAFÉ CATUAÍ AMARELO FERMENTADO
PELO PROCESSAMENTO POR VIA SECA COM
INOCULAÇÃO DE LEVEDURAS**

LAVRAS - MG

2017

ANA PAULA PEREIRA BRESSANI

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E SENSORIAL DE CAFÉ CATUAÍ AMARELO
FERMENTADO PELO PROCESSAMENTO POR VIA SECA COM
INOCULAÇÃO DE LEVEDURAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Dra. Rosane Freitas Schwan

Orientadora

Dr. Disney Ribeiro Dias

Coorientador

Dra. Suzana Reis Evangelista

Coorientador

LAVRAS - MG

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Bressani, Ana Paula Pereira.

Avaliação química e sensorial de café Catuaí amarelo fermentado pelo processamento por via seca com inoculação de leveduras / Ana Paula Pereira Bressani. - 2017.

101 p. : il.

Orientador(a): Rosane Freitas Schwan.

Coorientador(a): Suzana Reis Evangelista, Disney Ribeiro

Dias.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Qualidade do café. 2. Leveduras selecionadas. 3. Métodos de inoculação. I. Schwan, Rosane Freitas. II. Evangelista, Suzana Reis. III. Dias, Disney Ribeiro. IV. Título.

ANA PAULA PEREIRA BRESSANI

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E SENSORIAL DE CAFÉ CATUAÍ AMARELO
FERMENTADO PELO PROCESSAMENTO POR VIA SECA COM
INOCULAÇÃO DE LEVEDURAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de fevereiro de 2017.

Dra. Cristina F. Silva e Batista UFLA

Dra. Jussara Moreira Coelho UFES

Dra. Patrícia Campos Bernardes UFES

Dra. Rosane Freitas Schwan
Orientadora

Dr. Disney Ribeiro Dias
Coorientador

Dra. Suzana Reis Evangelista
Coorientador

**LAVRAS - MG
2017**

*Aos meus pais, exemplos de ética,
perseverança e amor incondicional.*

Amo vocês!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar sabedoria, oportunidade de viver, e por estar sempre guiando e iluminando meus passos.

À Universidade Federal de Lavras e aos programas de pós-graduação em Ciência dos Alimentos e em Microbiologia Agrícola, pela oportunidade de realizar o presente trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado. À FAPEMIG e ao CNPq.

À minha orientadora Dra. Rosane, por todos os ensinamentos, confiança, oportunidades que me proporcionou durante o mestrado, e por acreditar no meu potencial.

Aos meus coorientadores, professor Disney Ribeiro Dias e Dra. Suzana Reis Evangelista, pela dedicação, paciência, direcionamentos, apoio e ensinamentos.

Aos amigos, colegas e funcionários do departamento de Engenharia de Alimentos, do programa de Ciência dos Alimentos, em especial à Maria Clara, Mariá, Isadora, Pedro, Elídio, Ana Paula, Tina.

A todos os amigos, colegas e funcionários do departamento de Biologia, do programa de Microbiologia Agrícola, em especial à Silvia, Aline, Luciana, Gabi, Léo, Cintia, Cidinha, Rose e Igor.

À minha família, pelo amor, incentivo e por me dar força para continuar lutando em todos os momentos em que pensei em desistir.

Ao meu namorado, Márcio, por estar ao meu lado em todos os momentos e acreditar nos meus sonhos.

MUITO OBRIGADA!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”.

Arthur Schopenhauer

(1788- 1860)

RESUMO GERAL

O café é uma bebida popular consumida em todo o mundo e sua qualidade está diretamente relacionada ao sabor e aroma. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação de leveduras selecionadas, inoculadas diretamente em diferentes métodos de inoculação (café cereja fermentado por via seca em terreiro suspenso (D) e em baldes, durante 16 horas antes de ser levado para o terreiro suspenso (B)) para secagem ao sol. *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 e *Torulospora delbrueckii* CCMA 0684 foram inoculadas separadamente e o controle sem inoculação. A composição centesimal foi avaliada no fruto do café. Amostras foram coletadas para análise de qPCR (persistência do inóculo) e para análise química por HPLC (cafeína, ácidos clorogênicos, trigonelina ácidos orgânicos e açúcares) e GC-MS (compostos voláteis). A análise sensorial foi realizada no café torrado através da prova de xícara, de acordo com *Specialty Coffee Association of America* (SCAA). Todos os tratamentos com leveduras diretamente inoculadas apresentaram maiores concentrações de ácidos cítrico e málico quando comparados com o método em balde. Concentração de cafeína, ácidos clorogênicos e trigonelina, variaram entre os métodos de inoculação. No total, duzentos e dezessete compostos voláteis foram identificados. Todos os tratamentos originaram cafés especiais, e o tratamento com *Saccharomyces cerevisiae* 0543 B obteve a pontuação mais alta no teste de xícara, com notas de banana e caju. O tratamento com *Candida parapsilosis* CCMA 0544 inoculado diretamente foi melhor do que o mesmo tratamento inoculado em balde, e o tratamento com *Torulospora delbrueckii* CCMA 0684 mostrou bons resultados para ambos os métodos utilizados.

Palavras-chave: Qualidade do café. Leveduras selecionadas. Métodos de inoculação.

GENERAL ABSTRACT

Coffee is a popular beverage consumed all over the world and its quality is directly related to taste and aroma. The objective of this study was to evaluate the action of selected yeasts in different inoculation methods (directly inoculated cherry coffee by dry fermented in suspended terrace for drying in the sun (D) and in buckets for 16 hours before being taken to the suspended terrace (B)) for drying in the sun. *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 and *Torulospora delbrueckii* CCMA 0684 were inoculated separately and the control without inoculation. The centesimal composition was evaluated in the coffee fruit. Samples were collected for the analysis of qPCR (persistence of the inoculum) and for the chemical analysis by HPLC (caffeine, chlorogenic acids, trigonelline and sugars) and GC-MS (volatile compounds). Sensory analysis was performed in roasted coffee using cup proof in according to Specialty Coffee Association of America (SCAA). All treatments with directly inoculated yeasts showed higher concentrations of citric and malic acids when compared to the bucket method. Concentration of caffeine, chlorogenic acids and trigonelline varied between methods of inoculation. In all, two hundred and seventeen volatile compounds were identified. All treatments originated special coffees, and the *Saccharomyces cerevisiae* 0543 B treatment obtained the highest score in the cup test, with notes of banana and cashew. Direct inoculated *Candida parapsilosis* CCMA 0544 was better than the same treatment inoculated in bucket and *Torulospora delbrueckii* CCMA 0684 showed good results for both methods used.

Keywords: Coffee quality. Selected yeasts. Inoculation methods.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 Estrutura do fruto do café.....	18
Figura 2 Diagrama de blocos representando os tipos de processamento do café.	22
Figura 3 Representação das reações de formação de compostos voláteis ocorridas durante o processo de torra.....	27

LISTA DE TABELAS

PRIMEIRA PARTE

Tabela 1 Composição química g/100g (base seca) dos grãos crus e torrados de Coffea Arabica e Coffea canephora.	20
---	----

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	13
1	INTRODUÇÃO GERAL	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Características gerais do café	15
2.2	Produção e consumo de café no Brasil	16
2.3	Composição química do café	17
2.4	Processamento do café	21
2.5	Fatores que influenciam na qualidade do café	24
2.6	Fermentação do café	28
2.6.1	Influência dos microrganismos	29
2.6.2	Culturas iniciadoras	31
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
	REFERÊNCIAS	34
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	41
	ARTIGO - Evaluation of chemical and sensorial characteristics of fermented coffee inoculated with starter cultures	42
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
	REFERENCES	96

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

O café é muito importante, principalmente para a economia de muitos países em desenvolvimento, uma vez que é a bebida mais consumida no mundo (SOUSA; COSTA, 2015). Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC, 2015) o consumo per capita anual foi de 4,90 kg de café torrado, mostrando uma evolução de 0,86% em relação ao período anterior. Os brasileiros estão consumindo mais xícaras de café por dia e diversificando as formas de consumir a bebida, como o aumento no consumo de cápsulas. O consumidor tem se tornado mais exigente, valorizando tipos especiais de café.

O sabor e aroma do café são complexos, resultantes da presença combinada de vários constituintes químicos voláteis e não voláteis, dentre eles os ácidos, aldeídos, cetonas (CHIN; EYRES; MARRIOTT, 2015), açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, compostos fenólicos e da ação de enzimas, como as proteases e lipases, que contribuem na formação de metabólitos secundários (LEE et al., 2015).

Os microrganismos estão naturalmente presentes na fermentação do café, influenciando na sua qualidade final, pela degradação de compostos presentes nos frutos ou pela excreção de seus produtos metabólicos (ESQUIVEL; JIMENEZ, 2012). Os frutos de café servem de substrato para o desenvolvimento de bactérias, leveduras e fungos filamentosos, suprindo-os de fontes de carbono e nitrogênio, devido à sua composição química (SILVA et al., 2000).

O estudo da diversidade microbiana em frutos de café é importante para que se possa selecionar culturas iniciadoras para o processo de fermentação. Culturas iniciadoras são importantes na elaboração de um produto, uma vez que constituem de microrganismos que serão inoculados na matéria-prima, para que

possam predominar sobre a microbiota existente, promovendo alterações desejáveis ao produto final (VILELA, 2010).

No café, essas culturas podem melhorar a qualidade da bebida, reduzir o tempo de processamento, padronizar a qualidade do café aromatizado obtido a partir de diferentes variedades de café, aumento da qualidade sensorial e valor econômico do produto (SILVA et al., 2013; EVANGELISTA et al., 2014a). Além disso, algumas espécies de leveduras podem inibir o crescimento de fungos filamentosos produtores de micotoxinas (MASSAWE; LIFA, 2010).

Para os produtores de café, a utilização de culturas iniciadoras pode agregar valor sem aumentar substancialmente o custo de produção. A seleção de microrganismos para fermentação de café deve se basear na capacidade de crescimento e permanência do mesmo no ambiente cafeeiro, bem como sua eficiência na produção de pectinase (para degradar a mucilagem e polpa), ácidos e outros compostos metabólicos, que interferem positivamente na qualidade da bebida final além de não produzir compostos tóxicos (SILVA et al., 2013; SILVA, 2014).

As potenciais culturas iniciadoras que foram identificadas incluem algumas espécies de leveduras tais como *Saccharomyces spp.*, *Pichia spp.* e *Candida spp.*, que apresentaram melhor atividade da enzima pectinolítica para a degradação eficiente da mucilagem durante a fermentação (SILVA et al., 2013).

Desta maneira, o presente trabalho visa avaliar dois métodos de inoculação utilizando as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 e *Torulospora delbruekii* CCMA 0684, como culturas iniciadoras durante a fermentação do café, da variedade Catuaí Amarelo processado por via seca.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características gerais do café

O café é pertencente à família Rubiaceae, gênero *Coffea*, sendo três espécies utilizadas para a produção da bebida, *C. arabica* (café arábica), *C. canephora* (café robusta), e *C. liberica* (liberica ou café excelsa) (DAVIS et al., 2006). Entretanto *C. arabica* e *C. canephora* são as principais espécies cultivadas e responsáveis pela maior parte das bebidas consumidas em todo mundo (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; SAKIYAMA; FERRÃO, 2014).

Bebidas de melhor qualidade estão relacionadas às cultivares de café arábica (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012), possuindo melhores atributos sensoriais após a torrefação. Enquanto que o café robusta é muito utilizado em *blends*, conseguindo melhorar o corpo da bebida final e reduzir os custos (CAMPANHA; DIAS; BENASSI, 2010).

No Brasil, o café foi trazido em 1727, e adaptou-se muito bem aos solos e clima brasileiros, uma vez que é uma planta de porte arbóreo, adaptada ao clima úmido e temperaturas amenas (MARTINS, 2012).

A floração começa quando os botões em série, nos ramos plagiotrópicos, são induzidos a se diferenciar em botões florais e, finalmente, em flores, no início de uma estação chuvosa. Quanto maior o número de eventos de floração e espaço de tempo entre eles, maior a não uniformidade de amadurecimento do fruto (SAKIYAMA; FERRÃO, 2014).

Mesmo quando ocorre a não uniformidade da maturação dos frutos (estádio verde, cereja, passas e secas, em proporções variadas), estes podem ser colhidos em conjunto da planta inteira. Entretanto, quando se deseja melhorias na qualidade do café, a colheita seletiva dos frutos maduros, deve ser realizada várias vezes na mesma planta (SAKIYAMA; FERRÃO, 2014).

Novas cultivares de café com características específicas têm sido desenvolvidas para atender as demandas de várias regiões de cultivo. Essas características estão associadas, principalmente, ao maior potencial produtivo, redução do custo de produção e aplicação de agrotóxicos, e que ainda possam produzir bebidas de alta qualidade (KITZBERGER et al., 2013). No entanto, a qualidade do café não está atribuída apenas à origem genética, mas também aos fatores ambientais, como altitude, clima, temperatura (VAAST et al., 2006), maturação dos grãos e tipo de processamento pós-colheita que é utilizado (LEROY et al., 2006).

2.2 Produção e consumo de café no Brasil

O café é um produto nobre do agronegócio mundial (KWON et al., 2015). O Brasil é o maior produtor (seguido por Vietnam, Indonésia, Colômbia e Índia) e exportador mundial de café (FAO, 2015), (correspondendo a 6,9% das exportações), e segundo maior consumidor do produto, ficando apenas atrás dos Estados Unidos (SOUSA; COSTA, 2015).

A Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, estimaram em 2016, uma safra de 51.368,2 milhões de sacas de café beneficiadas no Brasil, dessas, 43.382,2 milhões correspondem ao café arábica. A safra de café 2017/18 do Brasil está estimada em 48,055 milhões de sacas, com uma menor produção de grãos do tipo arábica devido à bienalidade negativa da cultura e também a uma menor produção de café robusta (SINDICAFÉ-MG, 2017).

Segundo a SINDICAFÉ-MG (2015), as variedades mais produzidas são Catuaí (Vermelho e Amarelo) e Mundo Novo, sendo também as cultivares mais importantes no país. A cultivar Mundo Novo foi gerada através de uma hibridização natural entre Sumatra e Bourbon Vermelho, em 1943, já a

hibridização entre Mundo Novo e Caturra Amarelo, gerou Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho, em 1949. Com a finalidade de melhorar o vigor vegetativo do cultivar Catuaí Amarelo, esta foi retrocruzada com Mundo Novo, gerando novos cultivares: Rubi, Topázio, Ouro Verde, Ouro Amarelo, Ouro Bronze e Travessia (KITZBERGER et al., 2013; SAKIYAMA; FERRÃO, 2014).

Os principais estados produtores de café no Brasil são Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Paraná, Rondônia e Rio de Janeiro, com produção de 98.87% em café arábica no estado de Minas Gerais (CONAB, 2014).

2.3 Composição química do café

A compreensão dos processos fisiológicos ocorre durante a formação e maturação dos grãos de café (BORÉM, 2008), além disso, o conhecimento dos compostos químicos do café pode permitir a detecção de adulterações no café após a moagem, bem como a diferenciação das espécies Arábica e Robusta (MONAKHOVA et al., 2015). O fruto de café é constituído de seis partes: exocarpo (casca), endocarpo (polpa), mesocarpo (mucilagem), espermoderma (pergaminho), película prateada e endosperma (semente) como apresentado na Figura 1 (BRANDO; BRANDO, 2014).

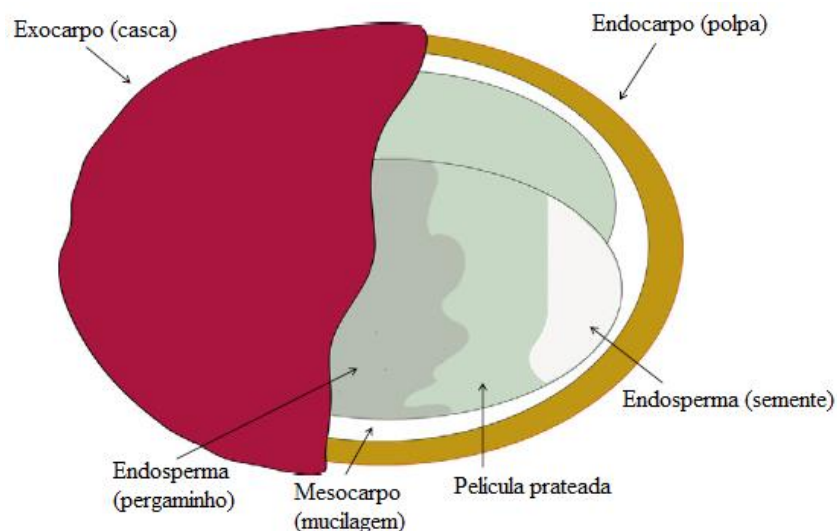


Figura 1 Estrutura do fruto do café.
Fonte: Adaptado de Esquivel e Jiménez (2012).

A casca é o tecido mais externo do fruto, possui coloração verde em frutos verdes e, geralmente, torna-se vermelho quando maduro, podendo apresentar coloração amarelo ou laranja devido a genótipos particulares (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). A polpa representa em base seca, em torno de 29% do peso integral, constituindo 76% de água, 10% de proteína, 2% de fibra, 8% de sais minerais e 4% de diferentes materiais solúveis e insolúveis (pectina, taninos, açúcares, cafeína, ácidos, entre outros) (ELÍAS, 1978).

A mucilagem é uma camada incolor e viscosa, (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Está localizada entre a polpa e o grão de café. É composta por água (84,2%), proteína (8,9%), açúcar (4,1%), substâncias pécicas (0,91%) e cinzas (0,7%) (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). A análise da composição dos resíduos insolúveis em álcool mostrou a presença de substâncias pécicas (cerca de 30%), celulose (cerca de 8%) e polissacarídeos não celulósicos (cerca de 18%) (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012), constituindo um excelente meio de

cultura para o crescimento de microrganismos que interferem na qualidade do café (BONILLA-HERMOSA; DUARTE; SCHWAN, 2014).

Na parte mais interna do fruto, existe ainda o espermoderma de cor amarelada, chamado de pergaminho. Café em pergaminho é composto por α -celulose (40-49%), hemicelulose (25-32%), lignina (33-35%) e cinzas (0,5-1%) (BEKALO; REINHARDT, 2010). E, por fim, o grão de café (endosperma) que é recoberto por uma película prateada (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Esta é a parte que é utilizada na preparação da bebida, contendo todos os precursores para o sabor característico do café que é desenvolvido após a torrefação (BRANDO; BRANDO, 2014).

O conhecimento da composição dos grãos é uma ferramenta útil para ampliar o mercado de exportação e manter a qualidade e competitividade (KITZBERGER et al., 2013). O perfil químico dos componentes precursores de aroma e sabor do café varia em função de vários parâmetros, como fatores genéticos, ambientais, pré e pós colheita, que podem afetar diretamente a qualidade da bebida (KITZBERGER et al., 2013). Dentre os componentes do grão, a cafeína é a mais conhecida. A quantidade deste constituinte pode variar de acordo com a variedade, sendo encontrados valores entre 0,8 a 1,4% (p/p) para café arábica e 1,7 a 4,0% (p/p) para robusta (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

O grão de café é constituído ainda por celulose, minerais (potássio, magnésio, cálcio, sódio, ferro, manganês, rubídio, zinco, cobre, estrôncio, crômio, vanádio, bário, molibdênio, e cádmio), açúcares (sacarose, glicose, frutose, arabinose, galactose e manose), lipídios, tanino, polifenóis, ácido clorogênico e aminoácidos (alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, tirosina e valina), como descrito na Tabela 1 (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Tabela 1 Composição química g/100g (base seca) dos grãos crus e torrados de *Coffea Arabica* e *Coffea canephora*.

Componentes	<i>Coffea arabica</i>		<i>Coffea canephora</i>	
	Cru	Torrado	Cru	Torrado
Minerais	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0
Cafeína	0,9-1,2	~ 1,0-1,3	1,6-2,4	~ 2,0-2,4
Trigonelina	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6
Lipídeos	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Ácidos clorogênicos totais	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-4,6
Ácidos alifáticos	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-2,0	1,0-1,5
Oligossacarídeos	6,0-8,0	0,0-3,5	5,0-7,0	0,0-3,5
Polissacarídeos totais	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	26,0-33,0
Aminoácidos	0,5-2,0	nd	0,8-2,0	nd
Proteínas	11,0-13,0	13,0-15,0	11,0-13,0	7,5

Fonte: Adaptado (ILLY; VIANI, 1995) nd- não detectado.

A cafeína é um metabólito secundário nitrogenado, que influencia no corpo e amargor da bebida (SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014). É a única substância termoestável, enquanto que outras substâncias como proteínas, arabinose, ácido clorogênico e trigonelina podem ser transformadas ou até mesmo destruídas pelo processo de torrefação (MUSSATTO et al., 2011). Segundo Farah et al. (2006), a atividade antioxidante e a qualidade da bebida do café é resultado da presença de cafeína, trigonelina, ácido cafeico, e compostos fenólicos, cujos principais representantes são os ácidos clorogênicos. A trigonelina, ácido clorogênico (5-ACQ) e cafeína têm sido estudados para discriminação das espécies de cafés, para avaliação do grau de torra, qualidade e propriedades funcionais do café (ALVES; DIAS; BENASSI, 2006).

Principalmente a torra, pode modificar a composição química do grão. Há um grande número de compostos químicos identificados na bebida de café e alguns deles possuem muitos atributos benéficos (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

2.4 Processamento do café

O processamento é um dos fatores essenciais na obtenção de um café de qualidade e requer especial atenção, proporcionando qualidade à bebida (SIQUEIRA; ABREU, 2006).

O processamento dos grãos de café é iniciado na colheita, mas os fatores que influenciam a qualidade devem ser considerados desde o plantio. A colheita deve ser feita quando a maior parte dos frutos estiverem maduros, a fim de evitar a presença de grãos imaturos (verdes), pretos e ardidos, influenciando a qualidade do café (BORÉM, 2008).

O processamento visa reduzir o conteúdo de água até uma umidade entre 10 e 12% e deve ser realizado logo após a colheita, evitando fermentações indesejáveis. Desta forma, os grãos já processados (cafés crus) podem ser armazenados durante muitos meses, sem alteração significativa do sabor (BORÉM, 2008; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). O processamento do café de forma inadequada pode promover fermentações indesejáveis, estimulando a produção de ácidos (butírico e propiônico), comprometendo a qualidade da semente (CHALFOUN; CARVALHO, 2000). Entretanto, quando a fermentação ocorre de forma controlada, esta pode contribuir para formação de compostos, favorecendo o aroma e sabor do café (BRANDO; BRANDO, 2014).

Há três formas distintas de realizar o processamento do café. Por via seca, também chamado de café natural, via úmida (descascado e desmucilado) e via semi-seca (despolpado) (SILVA et al., 2008; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012;

EVANGELISTA et al., 2014b; BRANDO; BRANDO, 2014), como descrito na Figura 2.

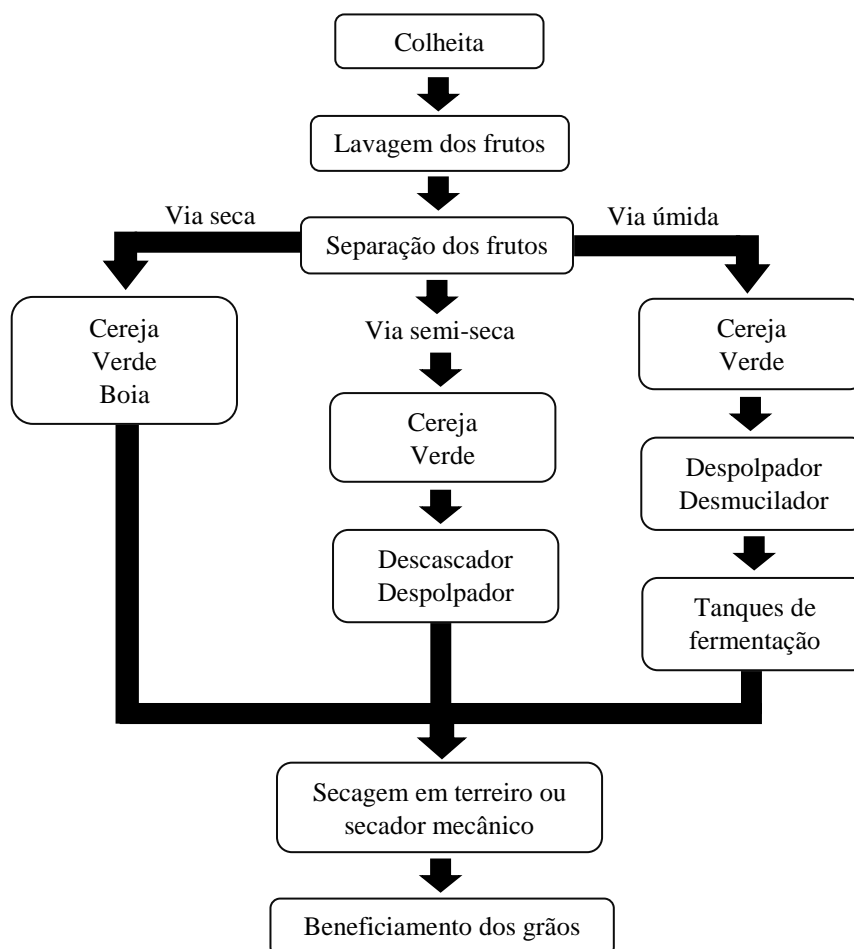


Figura 2 Diagrama de blocos representando os tipos de processamento do café.
Fonte: Do autor (2017).

No processamento por via seca, os frutos de café são secos com todas as partes que os constituem, dando origem aos cafés denominados coco, de terreiro ou natural (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; SILVA, 2014).

Este processamento é muito utilizado no Brasil (95% do café arábica produzido) (SCHWAN; WHEALS, 2003), principalmente em regiões tropicais onde o clima é seco no período da colheita. O estado de Minas Gerais produz aproximadamente 53% de todo café no país, em que a maioria é processado por via seca (SINDCAFÉ-MG, 2016). A maioria do café produzido na Etiópia, Haiti, Indonésia e Paraguai utiliza o processamento por via seca (SILVA et al., 2008).

Os frutos colhidos em vários estádios de maturação (verde, cereja, uva passa e seco), podem ou não ser lavados, e devem preferencialmente ser separados, a fim de melhorar a qualidade do café, e espalhados em camadas finas (5-8 cm) em terreiros de cimento ou terreiros suspensos, sendo amontoados a noite e revolvidos periodicamente durante o dia. Durante o período de secagem, a fermentação microbiana natural que ocorre pode influenciar na qualidade final do produto. A fermentação do fruto inteiro, geralmente, produz uma bebida que possui corpo, é doce, suave e complexa (SCHWAN; WHEALS, 2003).

O processamento por via úmida é muito utilizado para o café arábica, na Colômbia, América Central e no Havaí (SILVA et al., 2008). Neste tipo de processamento ocorre a retirada total da casca e da polpa e retirada parcial da mucilagem, e as sementes são submetidas ao processo de fermentação realizado em tanques com um grande volume de água para a retirada do restante da mucilagem que ficou aderida ao pergaminho (PIMENTA, 2003). São necessárias etapas de lavagem, despulpamento, fermentação (eliminação da mucilagem), lavagem, e secagem em terreiro e/ou secadores rotativos (ABIC, 2015).

A mucilagem residual é degradada através da fermentação e geralmente ocorre em até 48 horas (SILVA, 2014). Então os grãos são lavados com água limpa e secos em terreiros e/ou secadores rotativos (LEE et al., 2015). Os

microrganismos presentes durante o processamento de café utilizam a mucilagem como nutriente durante a fermentação (EVANGELISTA et al., 2015).

O café pode ser ainda processado pelo método semi-seco, uma variação do processamento úmido. Os frutos de café são despulpados e a fermentação ocorre diretamente sob o sol em terreiro e/ou secadores rotativos (VILELA et al., 2010). Os frutos são descascados e a mucilagem pode ou não ser removida (TARZIA; SCHOLZ; de OLIVEIRA, 2010). A secagem visa diminuir a umidade dos grãos para 11 a 12%. Então o café deve ser armazenado em locais com umidade e ventilação adequados, a fim de não ocorrer alteração de qualidade (BORÉM, 2008).

2.5 Fatores que influenciam na qualidade do café

O café de boa qualidade pode ser considerado como a bebida que apresenta sabor e aroma agradáveis, bom corpo, acidez natural e suavidade ao paladar. Deve possuir poucos defeitos, cor e aspecto homogêneos, estar de acordo com as normas higiênico-sanitárias (BORÉM, 2004) e atender aos gostos dos consumidores. Por este motivo, a qualidade do café é muito importante nas relações comerciais e apresenta enorme influência sobre o preço do produto, sendo crescente a demanda por cafés especiais (BING CHENG et al., 2016).

O café especial pode ser conceituado quanto aos seus atributos de qualidade, como características físicas, sensoriais, até preocupações ambientais e sociais, sob as quais o café é produzido. Esses cafés são comumente considerados como aqueles que apresentam sabor e aroma únicos, muito bem aceitos no mercado mundial (SOUZA et al., 2002), por isso, a realização de análise sensorial é muito importante.

Muitos processos bioquímicos, fisiológicos e químicos podem resultar em cafés com grandes diferenças quanto a qualidade (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). O grande desafio do setor cafeeiro é aliar o aumento no consumo de café à busca pela qualidade contínua (BORÉM, 2008).

A qualidade do café é um atributo bastante complexo e dependente de diversos fatores durante o período de pré e pós-colheita (LEROY et al., 2006). No que se refere às espécies, há uma diferenciação das concentrações de diversos compostos interferentes na qualidade do café, como cafeína, ácido clorogênico, aminoácidos, dentre outros compostos (MONAKHOVA et al., 2015). Quando a colheita é feita de forma não seletiva, é importante que se faça a separação dos frutos verdes/imaturos e secos, pois eles afetam a qualidade final do café impregnando um sabor desagradável (MURTHY; BASAVARAJ; NAIDU, 2001).

A maioria dos defeitos da qualidade do café são atribuídos ao controle inadequado durante a fermentação e secagem, promovendo a produção de substâncias químicas, principalmente ácidos (como ácido butírico e propiônico), que se difundem da mucilagem para a semente, comprometendo sua qualidade, além de gerar perdas econômicas adicionais (CHALFOUN; CARVALHO, 2000).

A microbiota presente naturalmente no café é diversificada e têm influência direta na qualidade da bebida, tanto pela degradação de compostos presentes nos grãos como pela excreção de metabólitos que difundem para o interior dos grãos (EVANGELISTA et al., 2014b).

A ação dos microrganismos durante a fermentação pode resultar em diferentes tipos de bebidas de café diferenciadas por diversas características em termos de corpo, aroma, acidez e adstringência (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Portanto, culturas iniciadoras podem ser utilizadas na fermentação do café, podendo melhorar o controle da etapa de fermentação, e melhorar a qualidade

sensorial da bebida final, através da produção de ácidos orgânicos e compostos voláteis (EVANGELISTA et al., 2014b).

O aroma também é um fator contribuinte para a elevada aceitação por parte dos consumidores de café (EVANGELISTA et al., 2014a) e, durante o armazenamento pode ocorrer perda de qualidade, que muitas vezes é acompanhada pelo desenvolvimento da acidez, detectável pela diminuição do pH, mesmo em temperaturas de refrigeração (LEE et al., 2015).

Aroma é um atributo que está intimamente relacionado com a qualidade, assim como o nível de aceitação do consumidor à bebida de café, envolvendo mais de 800 compostos voláteis (CHARLES-BERNARD et al., 2005). A formação do aroma de café é desejável, e atribuída a reações de Maillard (que são reações entre aminoácidos e açúcares redutores, que após uma complexa cascata de reações durante o aquecimento, resultam na formação de substâncias marrons (melanoidinas). Ao longo deste processo, são formados compostos voláteis que conferem aroma característico aos produtos termicamente processados (SHIBAO; BASTOS, 2011), juntamente com outras reações catalisadas termicamente que ocorrem durante a torrefação (SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014). Como exemplo, notas de caramelo podem surgir das reações de Maillard entre açúcares e aminoácidos (FARAH et al., 2006).

Parâmetros como a espécie de café, variedade, fatores pré e pós colheita, podem alterar substâncias que formam o sabor e aroma da bebida (ESQUIVEL; JIMENEZ, 2012). Principalmente os constituintes físico-químicos são responsáveis pela aparência dos grãos torrados, pelo aroma e sabor característicos da bebida, destacando-se os compostos voláteis, fenólicos (ácido clorogênico), ácidos graxos, proteínas, açúcares, acidez, índice de coloração, degradação da parede celular dos grãos, podendo ocorrer alterações em seus constituintes e de algumas enzimas, que conferem sabor e aroma peculiares à bebida (PIMENTA, 2003).

Os precursores de aroma do café são primordiais na formação de compostos voláteis durante a torrefação, sendo que alterações das concentrações desses precursores do aroma correspondem às diferenças nos perfis voláteis e aroma do café torrado, tornando-o responsável pelas diferentes qualidades da bebida final (LEE et al., 2015), além do desenvolvimento de características de sabor e cor (devido a pirólise de compostos orgânicos) (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Durante a torrefação os polissacarídeos são degradados (ARYA; RAO, 2007). Contudo, durante a torra, também há formação de alguns compostos voláteis, responsáveis pelo sabor e aroma do café (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009), como representado na Figura 3.

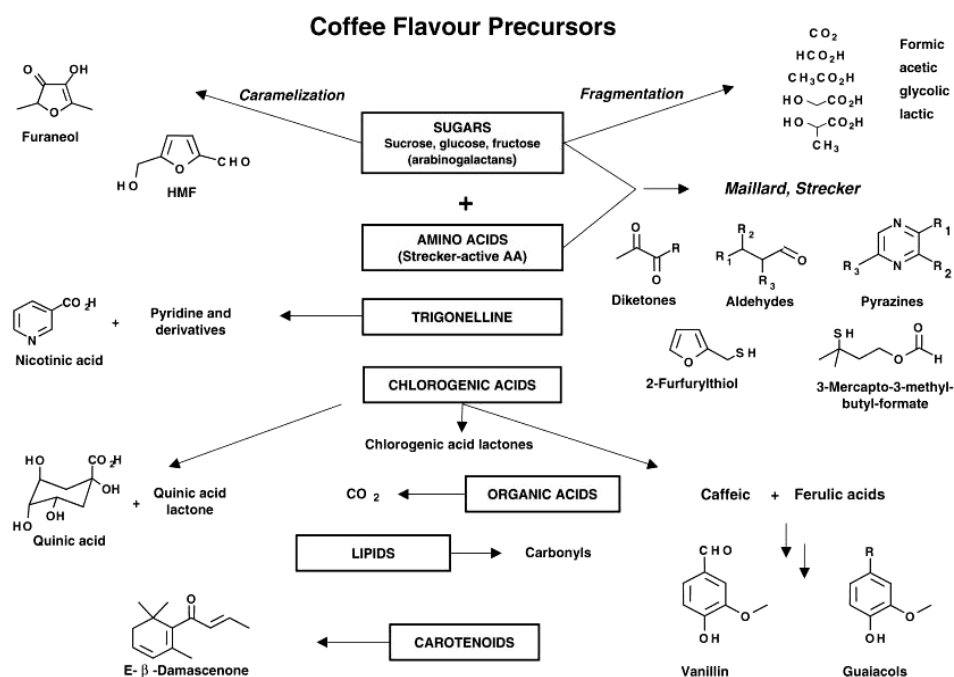


Figura 3 Representação das reações de formação de compostos voláteis ocorridas durante o processo de torra.

Fonte: Yeretizian et al. (2002).

A presença de cafeína, trigonelina, e compostos fenólicos, cujos principais representantes são os ácidos clorogênicos, interferem na atividade antioxidante e na qualidade da bebida (FARAH et al., 2006). A cafeína está fortemente relacionada com a qualidade de bebidas de café, porque contribui para o seu amargor (FARAH et al., 2006). Os mesmos autores observaram que os componentes de trigonelina estão correlacionados com a qualidade do grão verde e da bebida, já que este é um precursor da formação de diferentes classes de compostos orgânicos voláteis durante a torrefação (como pirroles e piridinas) (FARAH, 2012). Ácidos clorogênicos também contribuem para o sabor da bebida, com a alta temperatura na etapa de torra, ocorre a isomerização e degradação destes compostos contribuindo para a composição volátil no café torrado (SELMAR et al., 2014).

De acordo com Evangelista et al. (2014a) ácidos orgânicos e compostos voláteis produzidos por leveduras utilizadas em seu estudo, podem contribuir para a qualidade final da bebida. Segundo Gonzalez-Ríos et al. (2007) os grãos de café submetidos ao processo de fermentação tinham maiores concentrações de compostos voláteis, aromas de café mais aceitáveis, portanto, mais agradáveis. Ao contrário dos grãos produzidos sem nenhum controle da fermentação, que continham menor quantidade desses compostos e apresentou aromas sulfurosos desagradáveis.

2.6 Fermentação do café

A fermentação do café ocorre logo após a colheita. O tempo necessário para que ocorra esta etapa, irá depender do tipo de fermentação realizada. Entretanto, independentemente do processamento realizado, as alterações físico-químicas ocorrem nos grãos, tais como redução no teor de água e açúcares e a formação de precursores de aroma e de sabor (VAAST et al., 2006).

O objetivo da fermentação em todos os métodos de processamento é remover a mucilagem (LEE et al., 2015) até a diminuição do teor de água ao final da secagem dos frutos de café. Enzimas contidas nesses frutos não são suficientes para degradar completamente a mucilagem, dessa forma, se faz necessário que haja um crescimento microbiano que possa produzir enzimas (como poligalacturonases e pectina liases) necessárias para hidrolisar a pectina presente na mucilagem (SILVA et al., 2013).

Açúcares e pectinas presentes na mucilagem permitem o crescimento de microrganismos, principalmente de bactérias e leveduras. Devido a ação de enzimas pectinolíticas e celulolíticas, microrganismos epifíticos podem passar para a polpa, abrindo microporos na casca do fruto devido à perda de água pela abertura do pedúnculo após a colheita (SCHWAN et al., 2014). De acordo com Lee et al. (2015) a falta de controle na etapa de fermentação pode acarretar em um impacto negativo em relação ao aroma do café, considerando este processo uma complexa e delicada relação com o aroma.

2.6.1 Influência dos microrganismos

A fermentação microbiana natural do café pode influenciar a qualidade do produto final (SCHWAN; WHEALS, 2003; SILVA et al., 2000). Nesta etapa, os microrganismos estão associados com a degradação da celulose e mucilagem dos frutos, com a produção de enzimas pectinolíticas, e a formação de álcoois e ácidos, especialmente ácido acético, láctico, ácidos carboxílicos, butírico e propiônico (SILVA et al., 2000).

A poligalacturonase (PG) catalisa a hidrólise de 1,4-glicosídicas em ácido péctico (ácido poligalacturônico); pectina liase (PL) atua catalisando a pectina, liberando ácidos galacturônicos insaturados e a pectinesterase (PME)

responsável pela desesterificação do grupo metoxila da pectina formando ácido péctico e metanol (SILVA et al., 2013).

Uma melhor compreensão da dinâmica microbiana durante o processo de fermentação natural deve permitir uma fermentação mais rápida e de melhor qualidade ao produto final (SILVA et al., 2008). A utilização de microrganismos ajuda na remoção da mucilagem, facilitando a secagem do grão, além de produzir os metabólitos que se difundem para o interior dos grãos de café e reagem com substâncias responsáveis pelo sabor da bebida. A microbiota presente naturalmente em frutos do cafeeiro é diversificada, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos. De acordo com o tipo de processamento, a população microbiana de cada grupo pode ser alterada (SILVA et al., 2000, 2008; VILELA et al., 2010).

Espécies de microrganismos indígenas ou não, que apresentaram a capacidade para atuar com cultura iniciadora no processo de fermentação, devido sua atividade pectinolítica, alterações físicas e químicas, e produção de compostos voláteis foram estudados. Estes microrganismos foram submetidos a testes com base nas atividades de poligalacturonase, pectina liase e pectina metilesterase. Várias leveduras foram identificadas como potenciais culturas iniciadoras, tais como *Saccharomyces* sp., *Pichia* sp. e *Candida* sp. que mostraram uma melhor atividade da enzima pectinolítica para a degradação eficiente da mucilagem durante a fermentação (SILVA et al., 2013).

Um estudo relevante feito por Evangelista et al. (2015), mostrou que a mesma variedade de café (Catuaí) pode apresentar comportamentos fermentativos distintos, quando em regiões diferentes. Os autores avaliaram cafés de duas regiões pelo processamento via úmida, e observaram diferenças na microbiota durante a fermentação. A presença de compostos voláteis e o sabor das bebidas diferiram entre as regiões estudadas. Através da análise sensorial,

foi percebido sensações de cítrico, herbáceo e nozes, que são desejáveis na bebida de café.

2.6.2 Culturas iniciadoras

Estudos sobre a diversidade microbiana em frutos de café são necessários para que se possa selecionar microrganismos específicos durante o processo de fermentação. Estas culturas iniciadoras poderiam atuar na melhoria da qualidade sensorial, reduzir o tempo de processamento e padronizar a qualidade aromática do café obtido a partir de diferentes variedades. Além disso, essas culturas iniciadoras podem agregar valor à bebida sem aumentar substancialmente o custo para os produtores de café (SILVA et al., 2013).

Leveduras podem ser utilizadas durante a fermentação do café para produzir enzimas pectinolíticas em quantidades adequadas para acelerar processo e melhorar a qualidade do café. A produção de ácidos orgânicos e compostos voláteis também podem contribuir para a qualidade final da bebida. (SCHWAN; WHEALS, 2003).

Estirpes de *P. anomala* e *P. kluyveri* foram utilizadas como culturas iniciadoras juntamente com bactérias do ácido lático em fermentação de café e demonstraram capacidade de inibir o crescimento de fungos produtores de micotoxinas (MASSAWE; LIFA, 2010).

Em trabalhos realizados por Evangelista et al. (2014a) e Evangelista et al. (2014b) avaliou-se o uso das culturas selecionadas, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis* e *Pichia guilliermondii* para a fermentação durante o processamento seco e semi-seco do café (variedade Acaíá). A qualidade do aroma do café inoculado foi melhor em comparação com cafés produzidos a partir da fermentação envolvendo microbiota natural. A bebida que

possuía as leveduras selecionadas apresentou atributos desejáveis, tais como aroma de caramelo, frutado, amanteigados que estavam relacionados às culturas iniciadoras. Estes resultados mostram que o emprego de fermentação controlada através da utilização de culturas iniciadoras puras para o processo de fermentação promove a melhoria da bebida final.

Pereira et al. (2015), estudou o potencial de *Pichia fermentans* como cultura iniciadora em café da variedade Catuaí pelo processamento via úmida. A inoculação aumentou a produção de compostos de aroma volátil específicos (etanol, acetaldeído, acetato de etilo e acetato de isoamilo) e diminuiu a produção de ácido láctico durante o processo de fermentação. A análise sensorial das bebidas de café demonstrou que a utilização desta estirpe foi favorável para a produção de cafés de alta qualidade obtendo percepção de sabor intenso de baunilha e aromas florais.

Em outro trabalho, PEREIRA et al. (2016) utilizaram bactérias do ácido láctico selecionadas como culturas iniciadoras no processamento de café por via úmida. Foi verificado que a estirpe *Lactobacillus plantarum* LPBR01 reduziu o tempo de fermentação para 12 horas, aumentou a formação de compostos aromáticos voláteis, resultando em bebidas com distintas notas sensoriais se comparado ao controle.

Em um trabalho recente, Ribeiro et al. (2017) compararam duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0200 e CCMA 0543) durante a fermentação em café por via semi-seca e constataram que a cepa CCMA 0543 apresentou maior persistência do inóculo e uma composição bioquímica mais favorável no café verde e na bebida.

O uso de culturas iniciadoras melhora a qualidade de alimentos fermentados, possibilitando melhor controle da fermentação e a previsibilidade do produto final. A seleção de microrganismos específicos para culturas

iniciadoras são importantes para melhorar a qualidade do processo e a qualidade sensorial da bebida final (SCHWAN; WHEALS, 2003; SILVA et al., 2013).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processamento é uma etapa muito importante para garantir a qualidade do café. Na etapa fermentativa do café, vários microrganismos estão presentes, e quando este processo é conduzido de maneira espontânea, ou não controlado, pode acarretar em um café de baixa qualidade. Portanto, a inoculação de microrganismos selecionados nesta etapa pode auxiliar na inibição de microrganismos indesejáveis e contribuir para uma melhor qualidade do produto e sua padronização. A presença de leveduras no meio tem influenciado de forma positiva, principalmente o perfil dos compostos voláteis e sensorial da bebida, fazendo com que esses sejam considerados cafés especiais. Entretanto, a seleção de culturas iniciadoras específicas com propriedades desejáveis, deve estar aliada às tecnologias apropriadas para a disseminação e propagação dessas culturas.

REFERÊNCIAS

ABIC. Associação brasileira da indústria de café. **História**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=38>>. Acesso em: 08 nov. 2015.

ABIC. Associação brasileira da indústria de café. **Indicadores da indústria de café no Brasil- 2014, Desempenho da produção e consumo interno**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61#consint2015.2>>. Acesso em: 02 j an. 2017.

ALVES, S. T.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1164-1168, 2006.

ARYA, M.; RAO, L. J. M. An impression of coffee carbohydrates. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 51-67, 2007.

BEKALO, S. A.; REINHARDT, H. W. Fibers of coffee husk and hulls for the production of particleboard. **Materials and Structures**, v. 43, p. 1049-1060, 2010.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P (Eds.) **Coffee, tea, cocoa**. Food Chemistry. Leipzig: Springer. 4. ed. 2009. p. 938-951.

BING CHENG, B. et al. Influence of genotype and environment on coffee quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p.20-30, 2016.

BONILLA-HERMOSA, V. A.; DUARTE, W. F.; SCHWAN, R. F. Utilization of coffee by-products obtained from semi-washed process for production of value-added compounds. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 142-150, 2014.

BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2004, p. 127.

BORÉM, F. M. **Pós-colheita do café**. Lavras: UFLA, 2008, p. 129-156.

BRANDO, C. H. J.; BRANDO, M. F. P. Methods of coffee fermentation and drying. In: R. F. Schwan & G. H. Fleet (Eds.), **Cocoa and Coffee Fermentations**. New York: CRC Press, 2014, p. 367-396.

CAMPANHA, F. G.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and of defects. **Coffee Science**, v. 5, p. 87-96, 2010.

CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. D. Efeito de microrganismos na qualidade da bebida do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte- MG, Brasil, v. 18, n. 1, p. 21-26, 2000.

CHARLES-BERNARD, M. et al. Interactions between volatile and nonvolatile coffee components. 1. Screening of nonvolatile components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4417-4425, 2005.

CHIN, S.T.; EYRES, G. T.; MARRIOTT, P. J. Application of integrated comprehensive/multidimensional gas chromatography with mass spectrometry and olfactometry for aroma analysis in wine and coffee. **Food Chemistry**, v. 185, p. 355-361, 2015.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 02 jan. 2017.

DAVIS, A. P. et al. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, p. 465-512, 2006.

ELÍAS, L. G. Composición química de la pulpa de café y otros subproductos. In: BRAHAM, J. E.; BRESSANI, R. (Eds.). **Pulpa de café: composición, tecnología y utilización**. Panamá: INCAP, 1978. p. 19-29.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, p. 488-496, 2012.

EVANGELISTA, S. R. et al. Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. **Food Microbiology**, v. 44, p. 87-95, 2014a.

EVANGELISTA, S. R. et al. Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. **Food Research International**, v. 61, p. 183-195, 2014b.

EVANGELISTA, S. R. et al. Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 210, p. 102-112, 2015.

FAO, 2015. **FAO Statistical Pocketbook Coffee 2015**. Disponível em <<http://www.fao.org/3/a-i4985e.pdf>>. Acesso em: 03 nov. 2017.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, p. 373-380, 2006.

FARAH, A. M. Coffe constituents. In: YI-FANG CHU (Ed.) **Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention**. Blackwell Publishing, 2012, p. 21-58.

GONZÁLEZ-RÍOS, O. et al. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 289-296, 2007.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee: the chemistry of quality**. London: Academic, 1995, 253 p.

KITZBERGER, C. S. G. et al. Composição química de cafés arábica de cultivares tradicionais e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 11, p. 1498-1506, 2013.

KWON, D.J. et al. Assessment of green coffee bean metabolites dependent on coffee quality using a ¹H NMR-based metabolomics approach. **Food Research International**, v. 67, p. 175-182, 2015.

LEE, L. W. et al. Coffee fermentation and flavor – An intricate and delicate relationship. **Food Chemistry**, v. 185, p. 182-191, 2015.

LEROY, T. et al. Genetics of coffee quality. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 229-242, 2006.

MARTINS, A. L. **História do Café**. São Paulo: Contexto, 2. ed. 2012, 320 p.

MASSAWE, G. A.; LIFA, S. J. Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures. **International Journal of Postharvest Technology and Innovation**, v. 2, n. 1, p. 41-82, 2010.

MONAKHOVA, Y. B. et al. Rapid approach to identify the presence of Arabica and Robusta species in coffee using ¹H NMR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 182, p. 178-184, 2015.

MURTHY, P. S.; BASAVARAJ, K.; NAIDU, R. Journey of Indian coffee quality. **Journal of Indian Coffee**, v. 3, p. 18-21, 2001.

MUSSATTO, S. I. et al. Production, composition and application of coffee and its industrial residues. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 661-672, 2011.

PEREIRA, G. V. M. de et al. Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: Growth, metabolic analyses and sensorial effects. **Food Research International**, v. 75, p. 348–356, 2015.

PEREIRA, G. V. M. de et al. Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 1689-1695, 2016.

PIMENTA, C. J. **Qualidade de café**. Lavras: UFLA, 2003. p. 77-160.

RIBEIRO, L. S. et al. Behavior of yeast inoculated during semi-dry coffee fermentation and the effect on chemical and sensorial properties of the final beverage. **Food Research International**, v. 92, p. 26–32, 2017.

SAIYAMA, N. S.; FERRÃO, A. G. Botany and Production of Coffee. In: R. F. SCHWAN, N. S. FLEET, G. H. (Eds.) **Cocoa and Coffee Fermentations**. New York: CRC Press, 2014. p. 341-366.

SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. Mixed microbial fermentations of chocolate and coffee. In: BOEKHOUT, T.; ROBERT, V. (Ed.) **Yeasts in Food**. Behr's Verlag, Hamburg, 2003, p.426–459.

SCHWAN et al. Coffee. In: BAMFORTH, C. W; WARD, R. E. (Eds.) **The Oxford Handbook of Food Fermentations**. New York: Oxford University Press, 2014.704 p.

SELMAR, D.; KLEINWÄCHTER, M.; BYTOF, G. Metabolic responses of coffee beans during processing and their impact on coffee flavor. In: SCHWAN, R. F.; FLEET, G. H (Eds.) **Cocoa and Coffee Fermentations**. CRC Press, 2014, p. 431-476.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 6, p. 895-904, 2011.

SILVA, C. F. et al. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 251-260, 2000.

SILVA, C. F. et al. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. **Food Microbiology**, v. 25, p. 951-957, 2008.

SILVA, C. F. et al. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, p. 235-347, 2013.

SILVA, C. F. Microbial activity during coffee fermentation. In: SCHWAN, R. F.; FLEET, G. H. (Eds.), **Cocoa and Coffee Fermentations**. New York:: CRC Press, 2014. p. 398-423.

SINDICAFÉ-MG. Sindicato da Indústria de Café do estado de Minas Gerais. Disponível em: <<http://sindicafe-mg.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=913>> Acesso em: 03 jan. 2017.

SIQUEIRA, H. H. de; ABREU, C. M. P. de. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 112-117, 2006.

SOUZA, M. C. M.; SAES, M. S. M.; OTANI, M. N. Pequenos agricultores familiares e sua inserção no Mercado de cafés especiais: uma abordagem preliminar. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 32, n. 11, 2002.

SOUSA, A. G.; COSTA, T. H. M. de. Usual coffee intake in Brazil: results from the National Dietary Survey 2008–9. **British Journal of Nutrition**, v. 113, p. 1615–1620, 2015.

SUNARHARUM, W. B.; WILLIAMS, D. J.; SMYTH, H. E. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. **Food Research International**, v. 62, p. 315–325, 2014.

TARZIA, A.; SCHOLZ, M. B. S.; OLIVEIRA C. L. P. de. Influence of the postharvest processing method on polysaccharides and coffee beverages. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 10, p. 2167-2175, 2010.

VAAST, P. et al. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea Arabica* L.) under optimal conditions. **Journal Science food Agriculture**, v. 86, n. 2, p. 197-204, 2006.

VILELA, D. M., et al. Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). **Food Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 1128-1135, 2010.

YERETZIAN, C., et al. From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. **European Food Research and Technology**, v. 214, n. 2, p. 92-104, 2002.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

**ARTIGO - Evaluation of chemical and sensorial characteristics of
fermented coffee inoculated with starter cultures**

Artigo redigido conforme norma da revista Food Chemistry, sujeito a
modificações conforme sugestões do conselho editorial da revista.

ABSTRACT

Saccharomyces cerevisiae CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 and *Torulospora delbrueckii* CCMA 0684 were separately inoculated into coffee by directly spraying the cherries on a terrace (D) and in buckets for 16 h before sun drying (B). Samples were collected and analyzed by qPCR (inoculum persistence), HPLC and GC-MS. Sensory analysis was performed on the roasted coffee. All treatments directly inoculated with yeasts showed high citric and malic acid concentrations. Caffeine, chlorogenic acids and trigonelline concentrations varied between the methods of inoculation. A total of 217 volatile compounds were identified. After roasting, treatments CCMA 0543 D and CCMA 0544 D were highlighted and characterized by volatile compounds that presented caramel and fruity-like (apple, cherry) flavors, respectively. CCMA 0543 inoculated in buckets obtained the highest score in the coffee cupping. Direct inoculation of CCMA 0544 showed the best results, while CCMA 0684 showed good results for both inoculation methods evaluated.

Keywords:

Coffee quality, inoculation methods, yeasts, volatile compounds.

Introduction

Coffee is a popular beverage consumed worldwide. The complex flavor and aroma of coffee result from the combined presence of multiple volatile and non-volatile chemical constituents including acids, aldehydes, ketones (Chin, Eyres, & Marriott, 2015), sugars, proteins, amino acids, fatty acids, phenolic compounds and the action of enzymes (Lee, Cheong, Curran, Yu, & Liu, 2015). Trigonelline, chlorogenic acid (5-caffeoylquinic acid, 5-CQA) and caffeine have been studied for discrimination of coffee species, to evaluate the degree of roasting and the quality and functional properties of coffee (Alves, Dias, & Benassi, 2006).

There are three different ways to process coffee (Brando & Brando, 2015) that include i) dry or natural, where the cherry fruit is completely fermented and dried (peel, pulp, parchment and bean); ii) wet, where the fruit epicarp and mesocarp are removed mechanically and the remaining pulp (mucilage) is microbiologically removed in a tank with water during fermentation; and iii) semi-dry process, an intermediate processing between dry and wet, in which the mucilage is not completely removed from the parchment and the coffee fruit is fermented and dried straight after pulp removal.

The coffee fruits, due to their chemical composition, are a good substrate for the growth of bacteria, yeasts and filamentous fungi (Silva, Schwan, Dias, & Wheals, 2000). Sugars and pectins present in the mucilage allow microbial growth (Silva, 2014). Enzymes produced by

epiphytic microorganisms can degrade these pectic substances during fermentation (Esquivel & Jiménez, 2012). The microbiota will vary according to the regional characteristics, coffee fruit composition and the fermentation method (Schwan, Silva, & Batista, 2012). Evangelista, Miguel, Silva, Pinheiro, and Schwan (2015) observed that *Coffea arabica* (cv Catuaí), processed by a wet process but from two distinct regions of Minas Gerais, Brazil, showed differences in the microbiota during fermentation, and consequently differences in the volatile compounds and beverages were observed.

Microbial starter cultures can improve beverage quality and reduce processing time (Silva et al., 2013). Yeasts are reported to inhibit mycotoxigenic fungi growth, as demonstrated by Vaughan, Mitchell, and Gardener (2015) and Souza et al. (2016). Selected microorganisms for coffee fermentation should be based on the production of pectinase, acids and other metabolic compounds that positively affect the quality of the final beverage (Silva et al., 2013). Studies demonstrated that some yeasts, such as *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Torulospora delbrueckii* CCMA 0684 and *Candida parapsilosis* CCMA 0544, were highlighted as potential starter cultures due to their secretion of mucilage hydrolytic enzymes, which are responsible for accelerating the fermentation process and improving coffee quality (Evangelista et al., 2014a, 2014b; Silva et al., 2013).

The objectives of this work were to evaluate two methods of yeast inoculation into *C. arabica* L. cv Catuaí Amarelo cherries, including a) directly (D) on a suspended terrace and b) in buckets (B) for 16 h with

subsequent suspension on a terrace until complete fermentation. Three different yeasts strains were used separately as the starter culture. Analysis of the beverage quality was performed. The block diagram of the work developed is described in Annex 1.

2. Material and methods

2.1. Coffee variety

Ripe fruits of *C. arabica* cv Catuaí Amarelo were harvested manually on a farm, 750–800 m above sea level, located in Lavras, Southeast of Minas Gerais, Brazil. The fruits were processed by dry method.

2.2. Starter culture e preparo do inóculo

The yeasts isolated from coffee fruits (*C. arabica* L. cv Acaiá) from dry and semi-dry processing (Silva et al., 2000; Vilela, Pereira, Silva, Batista, & Schwan, 2010), belonging to the Agricultural Microbiology Culture Collection (CCMA), Department of Biology, UFLA, Lavras, MG, Brazil, were *S. cerevisiae* CCMA 0543, *C. parapsilosis* CCMA 0544 and *T. delbrueckii* CCMA 0684.

Each strain was reactivated in 10 mL of YEPG broth (20 g/L glucose, 10 g/L yeast extract and 10 g/L soya peptone; pH 3.5). The cultures were incubated at 28 °C for 48 h, and then transferred to 50 mL

of YEPG and incubated at 28 C, 150 rpm for 24 h. The yeast cells were transferred to larger volumes of YEPG until a concentration of 10^9 cells/mL in 500 mL. It was centrifuged and resuspended in 500 mL of distilled water (sufficient amount for inoculation without increasing the moisture of the coffee).

2.3. Inoculation and coffee fermentation

Coffee cherries (10 kg) were inoculated with the yeast suspension (described above) resulting in the concentration of 10^7 cell/g. Each treatment was inoculated separately with a yeast using two methods: i) direct method (D) and ii) polystyrene buckets (B). In the direct approach, the yeast suspension were sprayed on the fruit.. For method B, the yeast suspension were transferred to the polystyrene bucket , homogenized with the coffee cherries and left for 16 h, before transferring to suspended terraces. Control treatment was performed for both method. Water in the same volume as the yeast suspension was used and treated under otherwise identical conditions.

All treatments were fermented and dried by sun exposure, turning three times daily and arranged in layers (5–8 cm) until reaching 30% moisture. Afterward, the coffee fruit was placed in thinner layers (2–3 cm) to obtain 11% moisture.

Samples (100 g) were collected every 48 h and placed in sterile plastic bags for microbiological and physicochemical analyses. Sensory analysis and volatile compounds were performed on roasted coffee beans.

2.4. DNA extraction from coffee and real-time PCR (qPCR)

Samples obtained at 0, 16, 160, 256, 304 and 400 h fermentation were prepared according to Mills, Johannsen & Cocolin (2002).

The specific primers were described previously (Díaz, Molina, Nähring, & Fischer, 2013; Hays, Duhamel, Cattoir, & Bonhomme, 2011; Zott et al. 2010). For *S. cerevisiae*, primers SC-5fw 5'-AGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAG-3' and SC-3bw 5'-TGAAATGCGAGATTCCCCT-3' were used, obtaining the following qPCR parameters: $R^2 = 0.993$, slope = -3.124 and efficiency of 1.09. For *C. parapsilosis*, the primers were SADH-F 5'-GCTGCGGCTTCAACTGATGC-3' and SADH-R 5'-CTTGGTCACGAGCCTCC-3', providing qPCR parameters of $R^2 = 0.999$, slope = -3.323 and efficiency of 1.00. The primers for *T. delbrueckii* were Tods L2 5'-CAAAGTCATCCAAGCCAGC-3' and Tods R2 5'-TTCTCAAACAATCATGTTTGGTAG-3', giving qPCR parameters of $R^2 = 0.995$, slope = -3.827 and efficiency of 0.83. The specificity of each primer pair was confirmed by searching in GenBank using BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

The qPCR was carried out using the Rotor-Gene Q System (Qiagen, Hombrechtikon, ZH, Switzerland), according to Batista et al. (2015) with modifications. All analyses were performed in triplicate. The DNA concentration in the samples was limited to 50 ng per analysis, except for standard curves prepared from samples containing a known

number of yeast cells. For standard curves, all yeast species were cultivated in YPD agar at 28 °C for 24 h. The cells were counted using a Neubauer chamber. DNA was extracted using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) and serially diluted (1:10) from 10^{10} down to 10^3 cell/mL. Each point on the calibration curve was measured in triplicate.

2.5. Proximate composition

The proximate composition was obtained from coffee cherries freshly harvested from the coffee plant (before fermentation) (AOAC, 1995). The moisture determination was performed according to method 925.09B (AOAC, 1995) with modifications. The protein content (method 920.87, using 6.25 as the correction factor), fat (method 920.97), ash (method 923.03), and crude fiber (method 962.09E) were performed according to the AOAC (1995). Carbohydrate content was estimated as nitrogen-free extract (NFE).

The pectin and total soluble solids were performed according to the method described by McCready and McComb (1952) with spectrophotometric determination at 520 nm based on Bitter and Muir (1962). All the analyses were carried out in triplicate.

2.6. Chemical analysis

2.6.1. Organic acids and sugars by high-performance liquid chromatography (HPLC)

The samples were evaluated at 0, 16, 160, 256 and 400 h of fermentation. An aliquot of the sample (3 g) was ground into a fine powder using an IKA A11 analytical mill. Each sample was homogenized in Falcon tubes with 20 mL of Milli-Q water by vortexing at room temperature for 10 min. The extracts were centrifuged at 12745 RCF at 4 °C for 10 min. The pH of the supernatant was adjusted to 2.11 using a 200 mM perchloric acid solution and re-centrifuged under the same conditions. The second supernatant was filtered through a 0.22 µm cellulose acetate membrane and stored at -18 °C until analysis. The operating conditions and results were performed as described by Evangelista et al. (2014b).

2.6.2. Caffeine, chlorogenic acid and trigonelline

The determination of caffeine, chlorogenic acid and trigonelline was carried out by HPLC. The samples were evaluated at 0, 160 and 400 h of fermentation. The extraction followed the procedure given by Malta and Chagas (2009). A Shimadzu HPLC system with UV-vis detection set at 272 nm wavelength and equipped with a Shimadzu C18 (AG120) column (150 x 4.6 mm, 5 µm) was used. The mobile phase consisted of methanol: water: acetic acid (20: 79: 1) at 0.6 mL/min. For the identification and quantitative analysis, standard curves for caffeine

(0.12-30 mg/g), trigonelline (0.12-30 mg/g) and 5-CQA (0.16-40 mg/g), all purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri) were prepared.

2.6.3. Volatile compounds

Volatile compounds were extracted using manual HS-SPME from samples of green coffee (0 and 400 h of fermentation) and roasted according to Evangelista et al. (2014a). The compounds were analyzed using a Shimadzu QP2010 GC model equipped with mass spectrometry (MS) and a silica capillary Carbo-Wax 20M (30 m x 0.25 mm x 0.25 mm) column. The program started with 5 min at 60 °C, followed by a gradient of 60 °C to 230 °C at 10 °C/min and the temperature was then maintained at 230 °C for 15 min. The temperature of the injector and detector was maintained at 230 °C. The carrier gas (He) was used at a flow rate of 1.2 mL/min. The injections were performed by exposing the fiber for 2 min. The volatile compounds were identified by comparing the mass spectra to the NIST11 library. In addition, an alkane series (C10–C40) was used to calculate the retention index (RI) for each compound and compared with RI values found in the literature data (Czerny & Grosch, 2000; Eom & Jung, 2013; Piccino, Boulanger, Descroix, & Sing, 2014).

2.7. *Sensory analysis*

Samples were prepared according to the Specialty Coffee Association of America (SCAA, 2013). The coffee beans were roasted in

a Probat roaster (Probatino model), with a 150 g capacity and ground in an electric grinder (Pinhalense ML-1, Brazil). A panel of three trained coffee experts, with Q-Grader Coffee Certificates, evaluated the samples. The SCAA standards (2013) The temperature used ranges from 207 to 220 °C and the time was around 10 min until the beans reach medium roast. The SCAA standards (2013) were used for sensory evaluation of 10 attributes (scored on a scale from 0 to 10 points) including fragrance, flavor, aftertaste, acidity, body, uniformity, balance, sweetness, cleaning and score. Besides these attributes, the tasters were also asked to describe the characteristic flavor of each coffee.

2.8. *Statistical analysis*

Main compounds that give aroma in green and roasted coffee data were statistically analyzed by principal component analysis (PCA) using SensMaker software (Nunes & Pinheiro, 2012). For the volatile compounds, a matrix ($m \times n$) was built with the relative areas of the (n) chromatographic peaks identified for the (m) samples. To compare the total score of coffee beverages between the two inoculated fermentation methods and the yeast used, a mean test (Scott-Knott) was used with a 5% significance level using the Sisvar program (Ferreira, 2014).

3. Results

3.1. qPCR

The dynamic behavior of the yeast population of *S. cerevisiae* CCMA 0543, *C. parapsilosis* CCMA 0544 and *T. delbrueckii* CCMA 0684 in the non-inoculated (Control) and inoculated (B and D) fermentations was verified by qPCR (Fig. 1). The melt curve analysis for each PCR showed a single peak (data not shown).

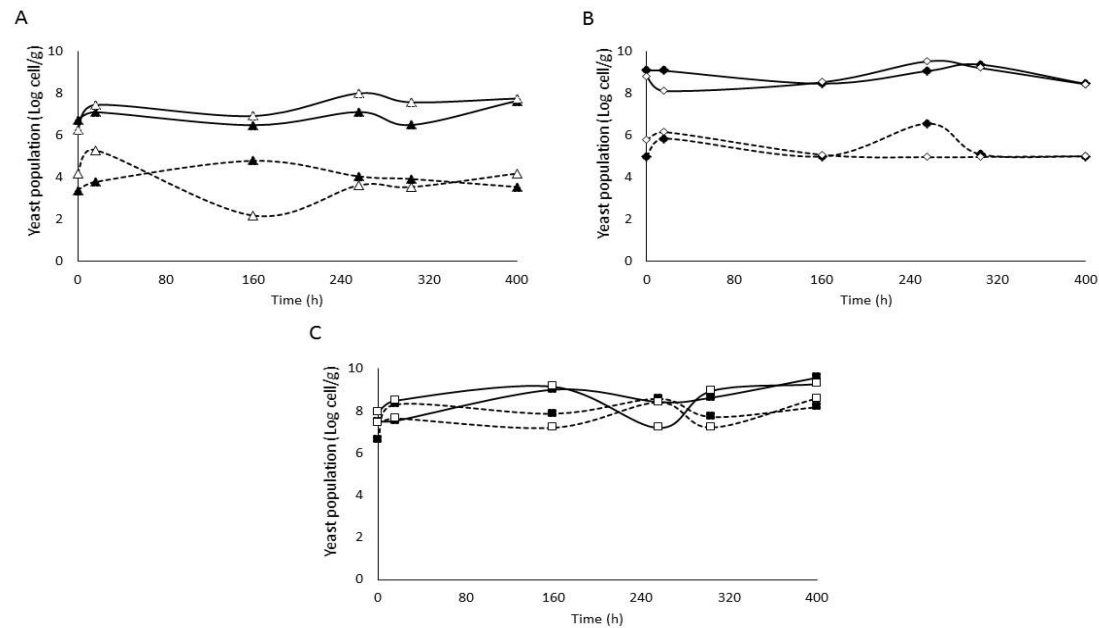


Figure 1. Dynamic behavior of yeast populations during the inoculation and spontaneous fermentation of coffee measured by qPCR. (A) *S. cerevisiae* CCMA 0543 B (▲), CCMA 0543 D (△), Control B (▲), Control D (△). (B) *C. parapsilosis* CCMA 0544 B (◆), CCMA 0544 D (◇), Control B (◆), Control D (◇). (C) *T. delbrueckii* CCMA 0684 B (■), CCMA 0684 D (□), Control B (■), Control D (□).

Comparing the methods of inoculation, *S. cerevisiae* CCMA 0543 showed similar population dynamics, ranging from 6.75–7.63 and 6.28–7.77 log cells/g in the bucket (CCMA 0543 B) and direct (CCMA 0543 D) method, respectively. The *S. cerevisiae* population at the end of the inoculated fermentation was greater about 4 log cell/g in the bucket method and 3 log cell/g higher for the direct method as compared to the respective controls (Figure 1A).

Equivalent population dynamics were observed for the yeast *C. parapsilosis* CCMA 0684. No differences in the inoculated fermentation were observed between the methods, which ranged from 9.10–8.45 log cells/g (CCMA 0544 B) and 8.80–8.45 log cells/g (CCMA 0544 D). The population of *C. parapsilosis* CCMA 0544 at the end of the inoculated fermentation was greater about 3 log cell/g as compared to spontaneous fermentation using any method of inoculation (Fig. 1B).

T. delbrueckii (CCMA 0684) showed the highest yeast concentration at the end of fermentation and the same population dynamics for both methods studied were observed in the inoculated fermentation (7.49–9.58 log cells/g in CCMA 0684 B; 7.94–9.28 log cells/g CCMA 0684 D). The population dynamics of this yeast in the inoculated fermentation relative to the spontaneous fermentation was only 1 log cell/g higher (Figure 1C).

3.2. Proximate composition and pectin

The proximate composition and pectin content were evaluated in the coffee cherry fruit Catuaí Amarelo, before fermentation. The

carbohydrate content was $17.21 \text{ g}/100 \text{ g} \pm 0.04$, while the fiber content was $4.96 \text{ g}/100 \text{ g} \pm 0.18$. The fat and protein content were 2.07 ± 0.05 and $5.19 \pm 0.07 \text{ g}/100 \text{ g}$, respectively. The pectin content was measured separately in the peel and in the grain with mucilage. For the peel, total pectin and soluble pectin were 1.39 ± 0.34 and $0.24 \pm 0.03 \text{ g}/100 \text{ g}$, respectively, while the corresponding values for the grain with mucilage were 2.33 ± 0.34 and $0.51 \pm 0.03 \text{ g}/100 \text{ g}$, respectively.

3.3. Chemical compounds

Citric acid was detected in all samples throughout the fermentation, except in Control D at the end of the process (Fig. 2), and in the treatment CCMA 0543 B, in time 16 hours presented minimum concentration of 0.22 mg/g . A similar profile was obtained for malic acid, where the samples from Control D did not present any malic acid. Considering the end of fermentation, the lowest concentration of malic acid was 2.21 mg/g for Control B and the highest concentration was 4.85 mg/g for CCMA 0684 D. All directly inoculated treatments showed higher concentrations of desirable acids (citric and malic acid) than buckets treatments. The CCMA 0684 D and CCMA 0544 D treatments presented the highest concentrations of these acids. Succinic acid was present throughout the fermentation in all treatments, showing a decrease in concentration with time, except for CCMA 0544 B, which increased from 2.31 mg/g at the start to 3.56 mg/g at the end of fermentation. It was found low concentrations of lactic acid in all the samples, detected from 160 hours. At the end of the fermentation the treatment CCMA 0684 B had higher

concentration (0.97 mg/g) and the treatments CCMA 0543 D and Control D did not observe the presence of this acid. The highest concentration of acetic acid was detected at the end of fermentation for treatments CCMA 0543 D, CCMA 0544 D, CCMA 0543 B and Control B (12.02, 10.97, 9.90 and 9.51 mg/g, respectively). Simultaneously, Control D showed a low acetic acid concentration (0.33 mg/g) and it was not detected in CCMA 0684 D. For most treatments, an increased concentration of propionic acid was observed at the end of fermentation. The highest value was 2.48 mg/g for CCMA 0684 B. Propionic acid was not detected in Control D. Isobutyric acid was detected at the end of fermentation, except in Control D. The lowest value of this acid was 0.51 mg/g for CCMA 0684 D and the highest concentration was 0.72 mg/g, which was associated with CCMA 0543 B.

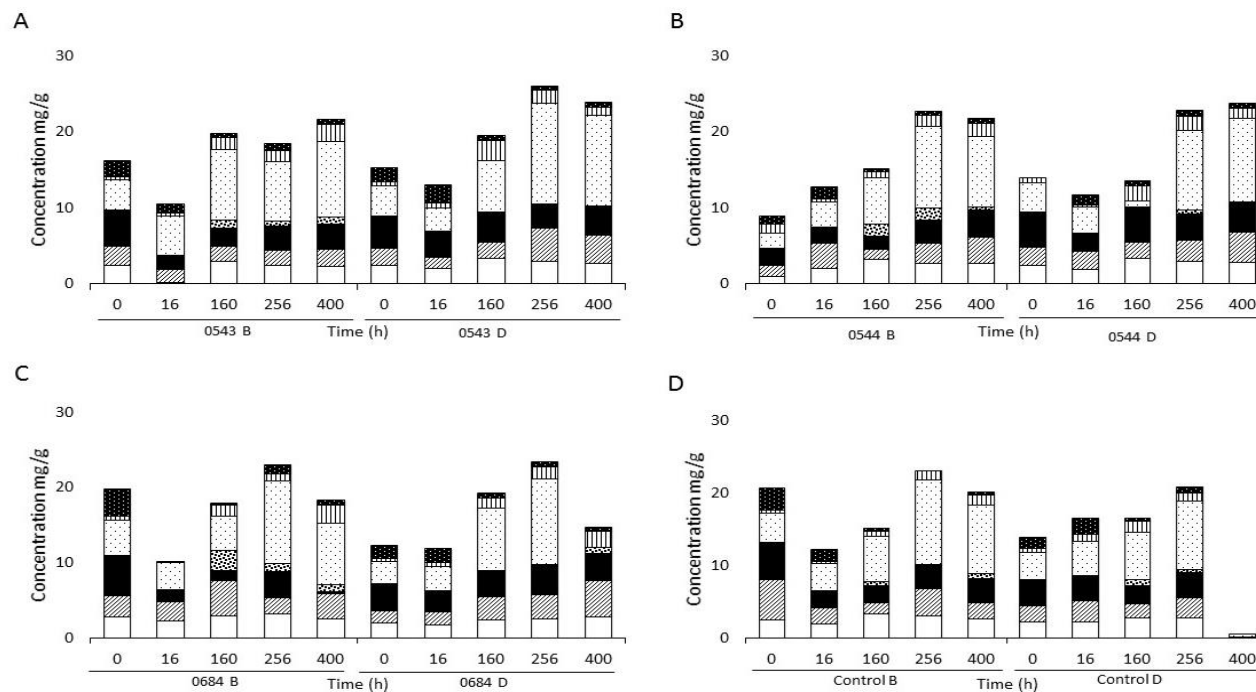


Figure 2. Organic acids present in the inoculated and spontaneous fermentation of coffee during dry processing. □ = citric acid; ▨ = malic acid; ■ = succinic acid; ▩ = lactic acid; ▤ = acetic acid; ▥ = propionic acid; ▦ = isobutyric acid. *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 treatments (A); *Candida parapsilosis* CCMA 0544 treatments (B); *Torulospira delbruekii* CCMA 0684 treatments (C); Control treatments (D).

The total acids concentration increased during coffee fermentation. CCMA 0543 D reached 23.84 mg/g total acids, but samples from Control D at the end of fermentation showed small concentrations of succinic acid and acetic acid (0.17 and 0.33 mg/g respectively).

The final concentration of total sugars was higher in the treatment CCMA 0684 D (208.92 mg/g) and lowest in the treatment CCMA 0543 D (94.69 mg/g) (Fig. 3). Among these treatments, sucrose showed the lowest concentration. Fructose was the main sugar detected. All treatments showed an increase in fructose at the end of fermentation, except for CCMA 0543 D, whereby fructose decreased from 94.06 to 19.32 mg/g. Glucose was present and increased in concentration throughout fermentation (50.06, 64.44, 56.24, 57.59, 48.36 and 44.50 mg/g in treatments CCMA 0543 B, CCMA 0543 D, CCMA 0544 D, CCMA 0684 D, Control B and Control D, respectively), except in treatments CCMA 0544 B and CCMA 0684 B, in which glucose decreased to 5.67 and 36.78 mg/g, respectively.

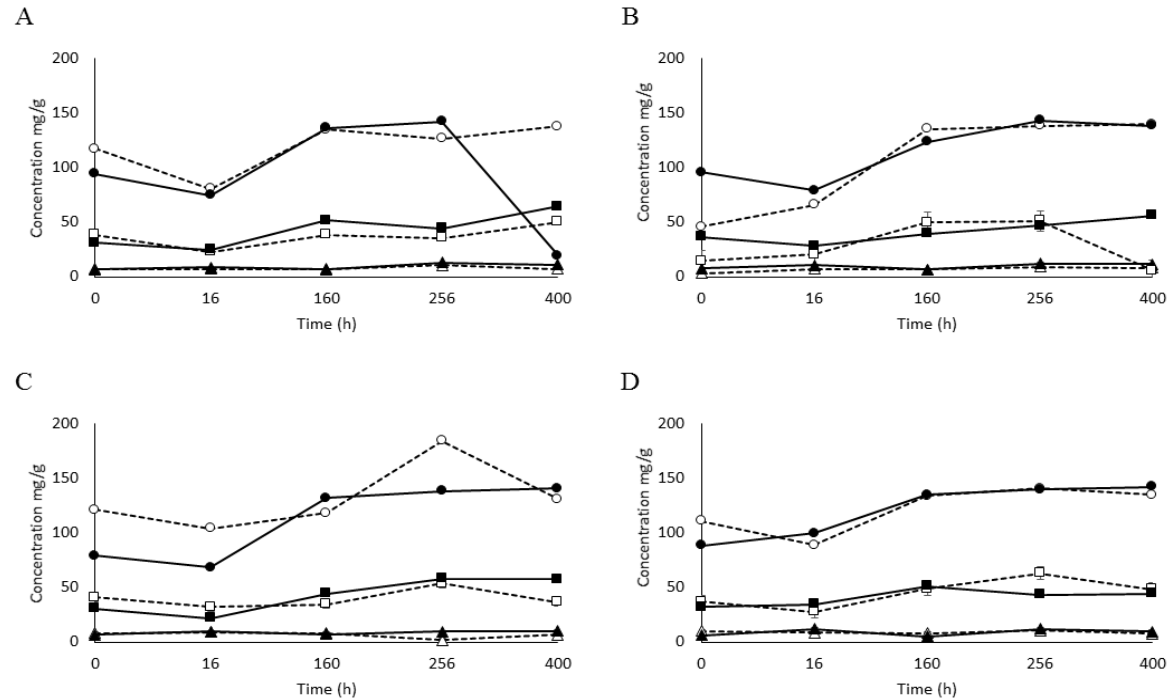


Figure 3. Carbohydrates present in inoculated and spontaneous fermentation of coffee during dry processing. ---Δ--- = sucrose (bucket), ---□--- = glucose (bucket), ---○--- = fructose (bucket); —▲— = sucrose (direct), —■— = glucose (direct), —●— = fructose (direct). *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 (A); *Candida parapsilosis* CCMA 0544 (B); *Torulospira delbrueckii* CCMA 0684 (C); Control (D).

Caffeine concentration revealed minimal variation between the samples at the end of fermentation and the lowest caffeine content was 5.49 mg/g, corresponding to Control D, while the highest content was found in CCMA 0544 D at 7.92 mg/g. After roasting, the caffeine content increased in all treatments, except CCMA 0544 B, where it decreased from 6.22 to 6.20 mg/g. The chlorogenic acid content oscillated throughout the fermentation but increased at the end of fermentation. The highest values at the end of fermentation were 31.57 and 31.03 mg/g for treatments CCMA 0544 D and CCMA 0684 B, respectively. After roasting, chlorogenic acid decreased in all treatments, with the lowest concentration observed in Control B (12.26 mg/g) and highest in CCMA 0543 D (16.95 mg/g). The trigonelline concentration also showed insignificant variation throughout the fermentation, with the lowest concentration found in Control B (5.94 mg/g) and the highest in CCMA 0544 D (7.67 mg/g) at the end of fermentation. After roasting, the CCMA 0543 B, CCMA 0543 D, CCMA 0684 D, Control B and Control D treatments, presented increased trigonelline concentration (7.47 to 8.12, 6.74 to 8.20, 6.74 to 7.74, 5.94 to 6.57 and 6.95 to 7.61 mg/g, respectively) but CCMA 0544 B and CCMA 0684 B showed decreased trigonelline (7.05 to 6.29 and 7.38 to 7.25 mg/g respectively), while CCMA 0544 D treatment was not altered (7.67 mg/g). The treatments with direct inoculation showed higher values of trigonelline when compared to the treatments inoculated in bucket (Table 1).

Table 1. Mean values of caffeine, chlorogenic acids and trigonelline present in inoculated and spontaneous fermentations of green and roasted coffee beans.

Samples	Fermentation time (h)	Concentration (mg/g)		
		Caffeine	Chlorogenic Acid	Trigonelline
CCMA 0543 B	0	5.49 ± 0.00	17.40 ± 0.01	6.59 ± 0.00
	160	7.61 ± 0.00	29.61 ± 0.01	7.99 ± 0.00
	400	7.67 ± 0.00	27.32 ± 0.01	7.47 ± 0.01
	Roasted	8.14 ± 0.01	14.87 ± 0.00	8.12 ± 0.00
CCMA 0543 D	0	5.17 ± 0.01	13.80 ± 0.01	6.75 ± 0.02
	160	7.98 ± 0.01	31.51 ± 0.01	6.61 ± 0.01
	400	5.96 ± 0.01	24.60 ± 0.00	6.74 ± 0.02
	Roasted	9.14 ± 0.01	16.95 ± 0.00	8.20 ± 0.02

Samples	Fermentation time (h)	Concentration (mg/g)		
		Caffeine	Chlorogenic Acid	Trigonelline
CCMA 0544 B	0	6.43 ± 0.01	16.38 ± 0.01	6.93 ± 0.01
	160	5.95 ± 0.01	29.89 ± 0.00	7.05 ± 0.00
	400	6.22 ± 0.01	25.32 ± 0.01	7.05 ± 0.00
	Roasted	6.20 ± 0.01	12.35 ± 0.01	6.29 ± 0.00
CCMA 0544 D	0	4.60 ± 0.05	22.86 ± 0.00	5.46 ± 0.00
	160	5.40 ± 0.00	21.26 ± 0.01	6.67 ± 0.01
	400	7.92 ± 0.02	31.57 ± 0.00	7.67 ± 0.01
	Roasted	8.65 ± 0.01	14.54 ± 0.00	7.67 ± 0.02
CCMA 0684 B	0	4.76 ± 0.00	13.76 ± 0.01	5.88 ± 0.00
	160	6.58 ± 0.00	24.09 ± 0.00	6.80 ± 0.01
	400	7.08 ± 0.00	31.03 ± 0.01	7.38 ± 0.02
	Roasted	8.02 ± 0.00	14.55 ± 0.01	7.25 ± 0.00

Samples	Fermentation time (h)	Concentration (mg/g)		
		Caffeine	Chlorogenic Acid	Trigonelline
CCMA 0684 D	0	3.85 ± 0.00	12.32 ± 0.06	6.73 ± 0.09
	160	6.69 ± 0.01	22.01 ± 0.03	6.35 ± 0.06
	400	5.96 ± 0.01	24.60 ± 0.02	6.74 ± 0.06
	Roasted	7.51 ± 0.00	15.94 ± 0.03	7.74 ± 0.05
Control B	0	3.83 ± 0.00	9.15 ± 0.01	4.50 ± 0.00
	160	6.79 ± 0.00	22.99 ± 0.01	7.45 ± 0.01
	400	5.72 ± 0.00	23.08 ± 0.02	5.94 ± 0.00
	Roasted	7.49 ± 0.00	12.26 ± 0.00	6.57 ± 0.01

Samples	Fermentation time (h)	Concentration (mg/g)		
		Caffeine	Chlorogenic Acid	Trigonelline
Control D	0	5.66 ± 0.01	7.92 ± 0.01	6.18 ± 0.02
	160	6.00 ± 0.01	19.61 ± 0.00	6.21 ± 0.02
	400	5.49 ± 0.01	24.31 ± 0.00	6.95 ± 0.01
	Roasted	8.28 ± 0.01	14.52 ± 0.01	7.61 ± 0.01

Data are shown as the mean ± standard deviation.

The analysis of volatile compounds was performed in the cherries at the beginning and end of fermentation, as well as in the roasted coffee. Appendix A (supplementary material) reports the list of 217 different volatile compounds detected and the distribution of volatile compounds classes detected in green coffee beans and in roasted beans. Sensory perception of volatile compounds showed in supplementary material is according to Czerny & Grosch (2000); Leffingwell & Alford (2005); Sunarharum, Williams & Smyth (2014); Toledo et al. (2016) and Bressanello et al. (2017). At the beginning of fermentation, the main class detected was alcohols. The direct inoculation treatments showed more alcohol compounds than the bucket treatments, while aldehydes and esters were detected to a greater extent in the bucket method. There were no differences in the pyrazines, furans, furanones, pyrans and pyrones, regarding the inoculation methods. CCMA 0544 B (84 compounds) presented the highest number of compounds, while CCMA 0544 D (64 compounds) had the lowest. Alcohols remained predominant for the direct inoculation treatments, except for Control D. There was an increase in ketones. Esters appeared in all samples and pyridines and pyrroles exclusively in the directly treated samples. After roasting, there was a change in grain composition and the predominant classes were pyrazines and ketones. Additionally, there was a greater number of furans, furanones, pyrans and pyrones, particularly in treatments CCMA 0544 B and Control B. The number of alcohols, aldehydes and esters declined after roasting.

PCA was performed to correlate main volatile compounds with the treatments at the beginning and end of fermentation and in the roasted beans (Fig. 4).

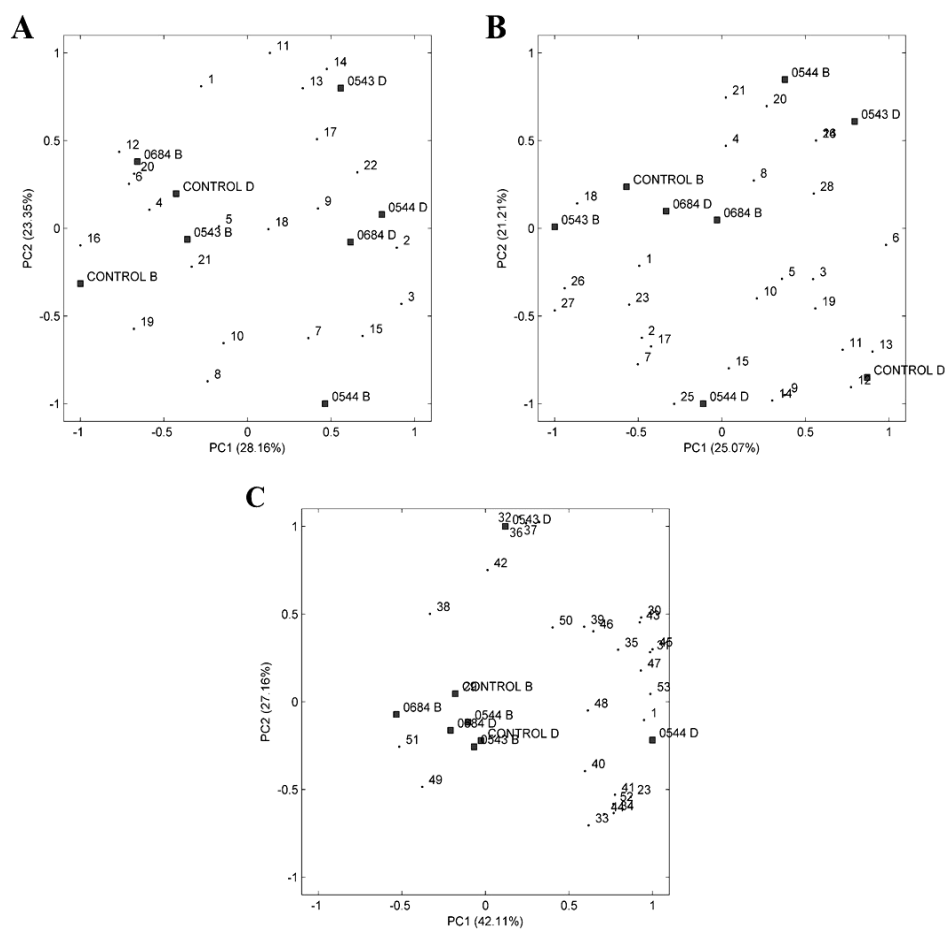


Figure 4. Principal component analysis loading plot of the following main compounds during the fermentation and roasted coffee by the dry process. Initial fermentation time (A), end of fermentation time (B) and roasted bean (C). (1) Butanoic acid, 3-methyl-; (2) 1-Pentanol; (3) 1-Hexanol; (4) 2-Hexen-1-ol; (5) Benzyl alcohol; (6) 1-Nonanol; (7) 1-

propanol, 2-methyl; (8) 1-Butanol; (9) 3-Octanol; (10) 2-Butenal, 3-methyl-; (11) 2-Octenal; (12) Benzaldehyde; (13) 2-Nonenal; (14) Hexanal; (15) 2-Heptanone; (16) 5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-; (17) Hexanoic acid; (18) Pentanoic acid; (19) Methyl salicylate; (20) 2-n-Pentylfuran; (21) Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy-; (22) 2-Pentenal; (23) Acetic acid; (24) 2-Methyl-2-(4-methyl-3-); (25) 1-Butanol, 3-methyl-; (26) 2,3-Butanediol; (27) 1-Butanol, 3-methyl-, acetate; (28) 2,6-Dimethylpyridine; (29) Furfuryl alcohol; (30) Furfural; (31) 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-; (32) Butanal, 2-methyl-; (33) 1-Hydroxy-2-butanone; (34) 2-Propanone, 1-hydroxy-; (35) Ethanone, 1-(2-furanyl)-; (36) 2,3-Butanedione; (37) 2,3-Pentanedione; (38) Propanoic acid; (39) Furfuryl formate; (40) Pyrrole; (41) Pyrrole-2-carboxaldehyde; (42) 1H-Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)-; (43) 2,5-Dimethyl pyrazine; (44) 2,3-Dimethyl pyrazine; (45) 2-Ethyl-6-methylpyrazine; (46) 2-Ethyl-5-methylpyrazine; (47) 2-Ethyl-3-methylpyrazine; (48) 2,3,5-Trimethylpyrazine; (49) Pyrazine; (50) Furan, 2,2'-[dithiobis(methylene)]bis-; (51) 3-Hydroxypyridine; (52) Pyridine; (53) 3,5-Dimethylpyrazine.

According to the PCA (Fig. 4), only a few treatments were grouped in green beans (Fig. 4A and B), suggesting differences in the volatile compounds. In relation to PC1 of beginning fermentation (Fig. 4A) a group was formed with the treatments CCMA 0543 B, CCMA 0684 B and Control D. The volatile compounds mainly featured in this group were 2-Hexen-1-ol, Benzyl alcohol, 1-nonanol, Benzaldehyde, 2-n-Pentylfuran Benzaldehyde and 4-hydroxy-3-methoxy-. Treatment Control B was characterized by 5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl- and Methyl salicylate. Treatment CCMA 0684 D and 0544 D was grouped and characterized by 1-Pentanol and 3-octanol. Treatment CCMA 0544 B featured 1-propanol and 2-heptanone. 2-Nonenal, Hexanal and Hexanoic acid were associated with treatment CCMA 0543 D and 1-propanol, 2-

methyl and 2-heptanone with CCMA 0544 B. At the end of fermentation (Fig. 4B) is observed that treatments CCMA 0543 B, CCMA 0684 B, CCMA 0684 D and Control B were grouped and characterized by compounds Pentanoic acid, Butanoic acid, 3-methyl- and 1-Butanol. The treatments CCMA 0544 B and CCMA 0543 D by 2-n-Pentylfuran, Benzaldehyde, 4-hydroxy-3-methoxy- and 2,3-butanediol. CCMA 0544 D were characterized by Hexanal, 2-Heptanone, 3-octanol and 1-Butanol, 3-methyl-, and Control D were characterized by 2-Octenal, Benzaldehyde and 2-Nonenal. After roasting (Fig. 4C), the treatments CCMA 0543 B, CCMA 0544 B, CCMA 0684 B, CCMA 0684 D, Control B and Control D were grouped and characterized by Furfuryl alcohol, 3-Hydroxypyridine and Pyrazine. CCMA 0543 D and CCMA 0544 D treatments, were characterized by volatile compounds that presented a caramel-like flavor, buttery odor, chocolate and fruity like (apple, cherry) odor, respectively. CCMA 0543 D showed 2,3-Pentanedione, 2,3-Butanedione, Butanal, 2-methyl- as the main volatile compounds, whereas CCMA 0544 D primarily revealed Butanoic acid and 3-methyl-.

3.4. Sensory analysis

Sensory analysis was performed using the coffee cupping method (Table 2). All bucket treatments presented average grades, with significant differences observed among them, distinguishing the yeasts used from the control. In contrast, the direct treatments showed no significant differences. Coffee inoculated with *S. cerevisiae* CCMA 0543

received the two highest scores in sensory analysis. The CCMA 0543 B treatment showed distinct sensory descriptions from all other treatments and generated the highest score (84.00), described as notes of banana and cashew and citrus acidity. CCMA 0544 B had a slightly higher score (80.67) than Control B, which had the lowest grade (80.00). The other treatments showed similar grades, ranging from 81.08–81.58, with no differences in perception detected by the tasters (notes of almond, caramel and soft yellow fruits, citric acidity and a very low body).

Table 2. Total score of coffee beverages prepared by two methods of inoculated fermentations (bucket and direct inoculation) and spontaneous fermentation (Control).

Inoculation method	Treatments			
	<i>S.</i> <i>cerevisiae</i> CCMA 0543	<i>C.</i> <i>parapsilosis</i> CCMA 0544	<i>T.</i> <i>delbruekii</i> CCMA 0684	Without inoculation Control
Bucket	84.00 ± 0.00 ^{aA}	80.67 ± 0.22 ^{cA}	81.50 ± 0.33 ^{bA}	80.00 ± 0.00 ^{dA}
Direct	81.58 ± 0.39 ^{aB}	81.33 ± 0.44 ^{aB}	81.50 ± 0.33 ^{aA}	81.08 ± 0.11 ^{aB}

Mean values ± standard deviation within the same line followed by different lowercase superscript letters differ significantly ($p < 0.05$) by the Scott-Knott test. Mean values ± standard deviation within the same column followed by different uppercase superscript letters differ significantly ($p < 0.05$) by the Scott-Knott test. All the analyses were carried out in triplicate.

4. Discussion

Catuaí Amarelo variety has high concentration in carbohydrate, protein and pectin. Values of the proximate composition can change, according to the variety of coffee, and local agricultural practices (Elías, 1979). In general, the coffee fruit after being harvested has high humidity (50% or more) (Brando & Brando, 2015). A high water content and the presence of protein, sugars and minerals in the coffee fruit, provides an excellent substrate for microbial growth, which serves to degrade and solubilize the mucilage that remains attached to the beans (Silva, 2014).

In the present work, qPCR was used to detect and quantify *S. cerevisiae* CCMA 0543, *C. parapsilosis* CCMA 0544 and *T. delbrueckii* CCMA 0684 during the fermentation of coffee (Fig. 1). From the beginning to the end of the fermentation, the treatments inoculated with CCMA 0543 and CCMA 0544 exhibited a larger yeast population compared to their respective controls (around 3 log higher). The CCMA 0684 treatment showed a population 1 log higher than the control. *T. delbrueckii* is found naturally in coffee processed by dry, semi-dry and wet methods (Evangelista et al., 2014b; 2015; Vilela et al., 2010). It may be that *T. delbrueckii* was originally present at a high population in coffee cherries. The inoculated treatments improved the population stability and showed a similar final population, indicating that the yeast used were not lost by spraying via the direct method. However, differences were observed in the production of acids, sugars and volatile compounds, depending on the yeast and inoculation method. The inoculated yeasts

remained during all fermentations, proving that the selected strains could compete with epiphytic microbiota present in coffee fruits.

All treatments showed higher concentrations of citric and malic acid at the end of fermentation compared to the start, except for Control D (Fig. 2). Acidity is an important attribute of coffee. Citric, malic, chlorogenic and quinic acids are considered the main acids in green coffee beans, favoring its sensory characteristics.

Acetic acid was detected in most treatments, except at the end of CCMA 0684 D. This acid contributes to the final beverage acidity, which is a desirable characteristic (Evangelista et al., 2014b).

The glucose and fructose concentrations found in this work remained high in both inoculation methods. Selmar, Kleinwächter, & Bytof (2015) reported that the glucose and fructose concentrations in dry-processed coffee remained high. Sucrose concentration in cherries was not influenced by the inoculation method. The increase in sucrose concentration during fermentation may have resulted from the action of enzymes (such as sucrose phosphate synthase) present in the cherries. This enzyme is involved in sucrose biosynthesis, helping to control the import and mobilization of carbohydrates (Wendler, Veith, Dancer, Stitt, & Komor, 1991). High sucrose content is one of the reasons for the superior aroma and flavor in Arabica coffees (Farah, 2012).

Caffeine is thermostable with minor or no change in its content after roasting (Farah, Monteiro, Calado, Franca, & Trugo 2006). As expected, caffeine was not degraded by roasting the coffee, but a small increase in its content was noted in most treatments, except for CCMA

0544 B, where caffeine content remained stable. This increase may be due to weight loss that occurs during the roasting process (Alves et al., 2006). After roasting, most of the direct inoculation treatments showed an increased caffeine content compared to the bucket inoculation method, except for CCMA 0684 B.

The chlorogenic acid contents in coffee beans are affected by the processing method and varieties (Selmar et al., 2015). At the end of fermentation, the chlorogenic acid concentrations of CCMA 0543 B, CCMA 0684 B, CCMA 0544 D and Control D had increased. Selmar et al. (2015) found that the high temperature of roasted resulted in isomerization and degradation of chlorogenic acids, contributing to the volatile composition of roasted coffee.

Fermentation using *S. cerevisiae* CCMA 0543 and *T. delbrueckii* CCMA 0684 showed similar trigonelline concentration for both inoculation methods, while the direct inoculation fermentative process using *C. parapsilosis* CCMA 0544 and the control showed higher trigonelline concentrations than the bucket inoculation method. The time and degree of roasting will influence the concentration of trigonelline (faster roasting tends to produce coffee with a higher trigonelline content than a slow roasting) (Farah et al., 2006). Alves, do Nascimento, de Aquino, Chang, & de Moraes (2007) concluded that there was no significant loss of trigonelline when using a light roasting, as applied in the current study, and Farah et al. (2006) found that the dark roasting caused a decrease in this compound.

HS-SPME is an efficient technique to evaluate the volatile compounds in coffee powder (Bressanello et al., 2017). The composition and concentration of volatiles are variable due to differences in the production regions, such as the environment, altitude, coffee variety, storage conditions and starter culture (Evangelista et al., 2014a). The volatile compounds are responsible for the aromatic properties. Moreover, the perception of the coffee aroma is dependent on the concentration of the particular compounds and their odor threshold (Selmar et al., 2015). Furfural (caramel, toasted odor), 2-heptanone (banana, fruity) and pyrazine-methyl (nutty, almond, sweet) were identified in all samples but perceived differently depending on the treatments. Banana notes were perceived only in CCMA 0543 B, while notes of almond and caramel were perceived in other treatments.

The formation of some volatile compounds was influenced by the method of inoculation. For instance, 1,4-butanediol and 2,6-dimethylpyridine (green taste) were identified only in the treatments with direct inoculation. In contrast, 3,4-dimethyl-1-pentanol, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one, 4-hydroxy-3-methoxy-benzaldehyde (intensively sweet and highly tenacious creamy-vanilla-like) and 1,2,3-propanetriol were identified in the bucket treatments, which were indicative of good flavor after roasting. The yeast used to inoculate the coffee cherries also influenced the composition of the volatiles. 1-Tetradecanol (weak, greasy oily) was detected in treatments *T. delbrueckii* CCMA 0684 B and D and presents negative sensorial perception in coffee. Whereas benzaldehyde was detected in the

treatments *S. cerevisiae* CCMA 0543 B and D and *C. parapsilosis* CCMA 0544 B, showing positive sensorial perception in coffee with floral, sweet and caramel odor (Appendix A).

Furans are generally produced by the degradation of carbohydrates and contribute to the sensory attributes of roasted coffee. The presence of furans provides herbal or fruit coffee notes, while ketones are related to buttery, caramel, mold, mushroom or fruity notes (Lopez-Galilea, Fournier, Cid, & Guichard, 2006). Treatment CCMA 0544 B produced the most furans, whereas treatment CCMA 0543 D presented the greatest ketones after roasting.

Coffee cupping is a useful technique to evaluate the coffee quality and describes the flavors experienced in each sample (Selmar et al., 2015). All coffees in the current study were classified as specialty coffees (score above 80.0) with very good qualities (Malta & Chagas, 2009). The bucket method presented higher score results when inoculated with CCMA 0543 and resulted in a superior sensory note. For the treatments *C. parapsilosis* CCMA 0544 and *T. delbruekii* CCMA 0684 there was no significant difference in the sensory analysis when compared to the control, however it is possible to observe differences between the detected volatile compounds in the inoculated treatments CCMA 0544 with a greater number of desirable volatile compounds compared to the control.

The use of starter cultures is a promising alternative and economically viable approach to improve the sensory quality of the coffee beverage and to increase the value of the final product. The superior inoculation method used will depend on the selected yeast. All yeasts

remained in high concentrations at the end of the fermentation. The coffee inoculated with yeast *S. cerevisiae* presented a significant difference in the sensorial analysis, indicating the best result when inoculated using the bucket method, resulting in a characteristic flavor of banana and cashew. The other treatments presented almond flavor, caramel and soft yellow fruits. In this way, for the Catuaí Amarelo variety, inoculation with the yeast *S. cerevisiae* shows a promising result with an improvement in the quality of the beverage.

Acknowledgments

The authors thank the following Brazilian agencies: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico of Brasil (CNPQ), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for scholarships, as well as the coffee producers from Minas Gerais State, Brazil for collecting the samples.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

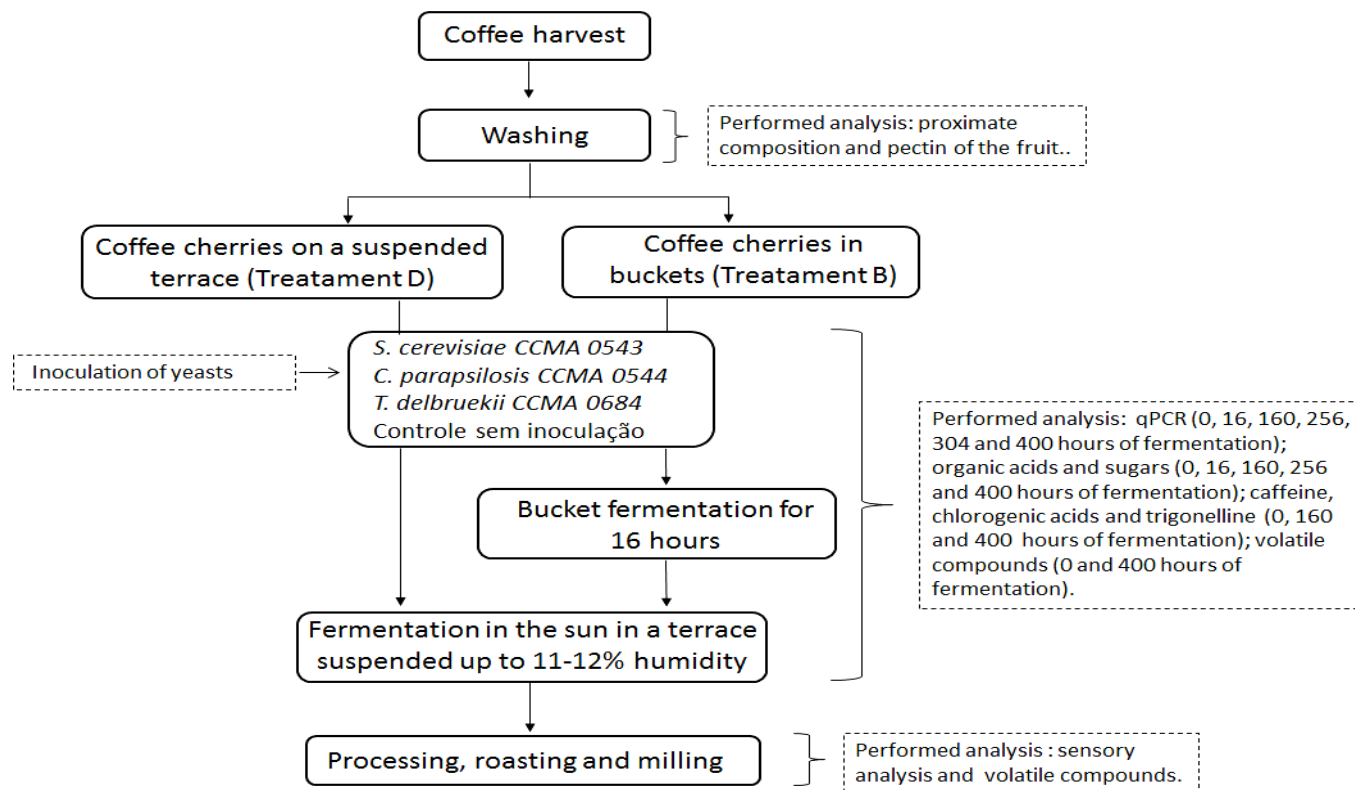
A utilização de culturas iniciadoras selecionadas na etapa de fermentação do café pode ser de grande interesse, principalmente pela produção de compostos que irão ajudar na melhoria da qualidade sensorial, proporcionando sabor diferenciado à bebida. Além disso, os microrganismos ajudam na intensa degradação da mucilagem, permitindo que a etapa de secagem

do café seja realizada em menor tempo, podendo melhorar o processamento em um maior volume de frutos maduros.

Resultados da análise sensorial do presente trabalho mostraram que a inoculação com a levedura *S. cerevisiae* CCMA 0543 apresentou melhor resultado se diferenciando dos demais tratamentos, resultando em um sabor característico de banana e caju, enquanto que para os outros tratamentos apresentaram sabor de amêndoa, caramelo e frutas amarelas suaves. Portanto, pode-se recomendar a inoculação com a levedura *S. cerevisiae* CCMA 0543 utilizando o método em balde para a variedade Catuaí Amarelo.

Como prosseguimento deste trabalho, novos estudos visando a otimização dessas culturas iniciadoras na fermentação dos frutos, em grande escala, deverão ser realizados, a fim de se obter cepas que irão proporcionar melhores resultados em diferentes variedades de cafés e tipos de processamento. Além disso, estudos na identificação de determinados compostos produzidos por culturas iniciadoras seriam de grande valia para melhor conhecimento do processo fermentativo e do metabolismo desses microrganismos selecionados.

Annex 1. Block diagram of the work developed



3-Hexen-1-ol	Green odor, herbaceous	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F
2-Hexen-1-ol	Fresher odor, green top-note in fragrances	F _I , F _F	-	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Heptanol	Green, fatty, dairy, lactonic	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
4-Nonanol	-	F _I	F _I	-	-	-	F _I	-	-
3-Ethyl-4-methyl-1- pentanol	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
1,6-Octadien-3-ol, 3,7- dimethyl-	Sweet Orange- like flavor, flowery	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Octanol	Green, fatty, coconut	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Benzyl alcohol	Sweet, light floral note	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Phenylethyl alcohol	Rose-honey-like odor, pleasant floral-woody	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Tetradecanol	Weak oily fatty	-	-	F _I , F _F	-	-	F _I	F _F	-
1-Dodecanol	-	F _I , F _F	-	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Nonanol	Fresh, orange, rose	F _I , F _F	F _I , F _F	-	F _I , F _F	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I
2-Octen-1-ol	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
6-Hepten-1-ol, 2- methyl-	-	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
3,4-Dimethyl-1-	-	-	-	-	-	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I

pentanol									
1-Propanol, 2-methyl	Unpleasant note	F _F	F _F	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F	F _F
Ethanol, 2-phenoxy-	Fain floral-rose odor	F _I	F _I	F _F	F _I	-	F _I	-	-
1-Octadecanol	-	-	-	-	-	-	F _I , F _F	-	-
Cyclobutanemethanol	-	-	F _I	-	-	-	F _I	-	-
1-Butanol	Banana, vanilla	F _F	-	F _F	F _F	-	F _I , F _F	-	F _I , F _F
1-Butanol, 3-methyl-	Bitter, chocolate	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	-	F _F	F _F
6-Nonen-1-ol	Powerful, melon, green odor	-	F _F	-	F _F	-	F _F	-	-
2,3-Butanediol	Natural odor of cocoa butter, Sweet chocolate	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F
2-Ethyl-1-hexanol	Mild, oily, sweet, odor, fatty-floral taste, fruity note	F _F	F _F	F _F	F _F	-	F _F	F _F	-
1-Octen-3-ol	Mushroom	-	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I , F _F	-	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Hexadecanol	Nearly odorless	-	F _I	-	F _I , F _F	F _I , F _F	-	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Nonadecanol	-	-	-	-	-	F _I	-	F _F	-
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	Banana, pear, fruity	-	F _F	F _F	-	F _F	-	F _F	F _F
1-Hexanol, 5-methyl-	-	-	-	-	-	F _F	-	-	-
2-Propyl-1-pentanol	-	F _I	F _I	-	F _I	F _I	-	-	F _I , F _F
1-Pentanol, 4-methyl-	Oily green-fruity,	-	F _I	-	-	-	-	F _I	-

Furfuryl alcohol	Weak, fermented, creamy, caramellic notes	-	-	-	-	-	-	-	R
1,2-Ethanediol, dipropanoate	-	-	-	-	-	-	R	R	-
3-Furanmethanol	-	R	R	R	R	R	R	R	-
1-Decanol, 2-hexyl-	-	-	-	-	-	R	R	-	-
n-Nonadecanol-1	-	R	R	R	-	R	R	-	-
2-Octyldecan-1-ol	-	R	-	-	-	-	-	R	-
2-Pentenal	-	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	-
2-Butenal, 3-methyl-	Green, bitter almond, furfurylic flavor	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
2-Octenal	Fatty, waxy	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Benzaldehyde	Bitter odor, sweet cherry	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
2-Nonenal	Fatty, cardboard-like	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
2,6-Nonadienal	Fatty-like flavor qualities	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
1-Pentadecanal (4E,8E)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
2-Phenyl-2-butenal	Sweet odor, sweet chocolate	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Benzeneacetaldehyde	Floral, sweet,	F _I	-	-	-	F _I	F _I , F _F	-	-

2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	-	R	R	R	R	R	R	R	R
5-Hydroxymethylfurfural	-	R	R	R	R	R	R	R	R
Butanal, 2-methyl-	Chocolate	R	-	-	-	-	-	-	-
2-Heptanone	Fruity, spicy, banana	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
6-Methyl-5-heptene-2-one	Green, fresh fruity flavor	F _F	-	-	-	F _F	F _I , F _F	F _F	F _I
5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	Fatty, somewhat metallic flavor	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I
6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	Mild waxy, fresh oily, jasmine	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F
2,3-Octanedione	Creamy-cheesy taste, mildly buttery	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
3-Octanone	Pungente, herbaceous-fruity, spicy-buttery odor	F _I , F _F	F _F	-	F _F	F _F	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F
2(3H)-Furanone, dihydro-5-pentyl-	Strong, fatty, coconut odor	-	F _F	-	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F
3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-, (E)-		-	-	-	-	F _F	F _F	F _I	F _F
Ethanone, 1-(2-methyl-1-cyclopenten-1-yl)-		F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F
5-Methyl-3-heptanone		-	F _F	F _I	-	F _I	-	F _I	-

1-Hydroxy-2-butanone	Toasted odor	F _F	F _F , R	F _I , F _F , R	F _F , R	R	R	-	R
1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)ethanone	-	R	R	R	R	R	R	R	R
4-Hydroxy-2-methylacetophenone	-	-	-	-	-	-	-	-	R
2-Butanone, 1-hydroxy-, acetate	-	R	R	R	R	R	R	R	R
2(5H)-Furanone	-	R	R	R	R	R	R	R	R
Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	-	R	R	R	R	R	R	R	R
2-Propanone, 1-hydroxy-	Pungent, sweet-caramellic, and sweet taste	R	R	R	R	R	R	R	R
Ethanone, 1-(2-furanyl)-	Balsamic-sweet odor	R	R	R	R	-	-	-	-
4-Hydroxy-3-methylacetophenone	-	R	R	R	R	R	R	R	-
2,3-Butanedione	Strong, buttery odor, caramel-like	R	-	-	-	-	-	-	-
2,3-Pentanedione	Oily-buttery odor, caramel-like	R	-	-	-	-	-	-	-
Butanoic acid, 3-methyl-	Fruitlike (apple, cherry) odor	F _I , R	F _I , R	F _I , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R
Octanoic acid	Oily-rancid, sweat-like odor	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Nonanoic acid	Fatty, acid odor	F _I , F _F	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F	F _I , F _F

Decanoic acid	Sour-fatty, rancid odor	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F	F _I	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Benzoic acid	Very weak, balsamic odor	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Tetradecanoic acid	Waxy-oily; nearly odorless	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F	F _I , F _F
n-Hexadecanoic acid	Virtually odorless, bland taste	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R
Dodecanoic acid	Sour-fatty, rancid odor	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Hexanoic acid	Fatty-rancid odor, acrid-acid	F _I , F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _I	F _F	F _F
Pentadecanoic acid	Fatty, weak flavor	F _I	F _I	-	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F	F _I
Acetic acid	Pungent, stinging sour	R	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _F	R	R
Pentanoic acid	Sweaty odor	-	F _I	-	-	F _I , F _F	-	-	F _F
Eicosanoic acid	-	-	-	-	-	F _I	-	-	-
3-Methyl-2-butenoic acid	-	F _I , R	F _I , R	F _I , R	F _I , R	F _I , R	F _I , R	F _I , R	F _I , R
Phosphonic acid, (p-hydroxyphenyl)	-	-	-	F _I	-	-	-	-	-
Propanoic acid	Odor is reminiscent of sour milk, cheese or butter, sour	R	-	-	R	-	-	R	R

	taste								
Methyl salicylate	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Methyl tetradecanoate	-	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I
Hexadecanoic acid, methyl ester	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Hexadecanoic acid, ethyl ester	-	F _F	F _F , R	F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R
9-Hexadecenoic acid, ethyl ester	-	-	-	F _I	F _I	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I
2-Ethylhexyl salicylate	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Linoleic acid ethyl ester	-	F _F	F _F	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	-	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _F , R	F _I , F _F , R
Isopropyl palmitate	-	-	F _I	-	-	F _I	F _I	F _I	-
Benzoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	-	F _F	F _F	F _F	F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F
Benzeneacetic acid, ethyl ester									
	Powerful and quite diffusive honey-musky odor with traces of jasmine-floral notes								
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	-	F _F	-	-	-	-	-	-	-
Methoxyacetic acid, 3-tetradecyl ester	-	-	-	-	-	-	F _I	-	-

Homosalate	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Formic acid, phenylmethyl ester	Unpleasant odor	-	-	-	-	F _F	F _F	F _F	-
Decanoic acid, ethyl ester	-	-	-	-	-	F _F	F _F	-	-
Ethyl 2-(5-methyl-5- vinyltetrahydrofuran-2- yl)propan-2-yl carbonate	-	F _F	-	-	F _F	-	F _F	F _F	-
Octanoic acid, ethyl ester	-	-	F _F	F _F	-	F _F	F _F	F _F	F _F
Propanoic acid, 2- hydroxy-, ethyl ester	-	-	-	-	-	F _F	F _F	F _F	-
Heptafluorobutyric acid, n-tetradecyl ester	-	-	-	-	-	F _I	-	-	-
Propanoic acid, ethenyl ester	-	R	R	R	R	F _I , R	-	-	-
Tetradecyl 2,2,2- trifluoroacetate	-	-	-	-	-	F _F	-	-	-
1-Ethyl-1- methylcyclopentane	-	-	F _I	F _I	F _I	-	-	-	-
Phytane	-	-	F _I	-	-	-	-	-	-
Linoleic acid, methyl ester	-	F _I	F _I	-	F _I	-	F _I	F _I	F _I
Fumaric acid, di(cyclohex-3- enylmethyl) ester	-	-	F _F	-	-	-	-	-	-
cis-1,1,3,4-	-	F _I	-	-	-	-	-	-	-

dihydro-	odor, slightly buttery, acrid								
2,6-Dimethylpyridine	Green taste	F _F	F _F	F _F	F _F	-	-	-	-
3-Hydroxypyridine	-	-	-	R	R	-	-	R	R
4(H)-Pyridine, N- acetyl-	-	-	-	-	-	R	-	-	-
Pyridine	Pungent, penetrating diffusive odor	-	R	R	R	R	R	R	R
3-Ethyl-2-methyl-1,3- hexadiene	-	F _I	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I	-
5-Methyl-1-heptene	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
2,5,5-Trimethyl-hexene	-	F _I , F _F	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _F	F _F
Octane, 1,1'-oxybis-	-	F _I , F _F	-	F _I	F _I , F _F	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I
n-Heneicosane	-	F _I , F _F , R	F _F	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	-	F _I , F _F
Versalide	-	F _F	-	F _I	F _I	F _I	F _I , F _F	F _I	F _I
Benzaldehyde, 4- hydroxy-3-methoxy-	Intensively sweet and very tenacious creamy-vanilla- like	-	-	-	-	F _I	F _I , F _F	F _I	F _F
Caffeine	-	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R	F _I , F _F , R
1,2,3-Propanetriol	-	-	-	-	-	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
Hexadecane	-	F _F	F _F	F _F	-	-	-	F _F , R	-
Benzene, 1,2,4- trimethyl-	Mouldy flavor, hazelnut odor	-	-	F _I	F _F	-	F _I , F _F	-	F _F

D-Limonene	-	F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F	F _I , F _F
2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane	-	-	-	F _I	-	-	-	F _I	-
Heptacosane	-	-	-	-	-	-	F _I	-	-
Eicosane	-	F _I , F _F	-	F _I , F _F	F _I , F _F	-	F _I , F _F	F _F	F _I
Undecane	-	-	F _F	F _F	-	-	-	F _F	-
Docosane	-	R	-	-	-	-	-	F _I , R	-
1,2,3-Trimethylbenzene	Metallic, mouldy, dirty	F _F	F _F	F _F	-	F _I , F _F	-	-	-
5-Propyldecane	-	-	-	-	-	F _I	-	-	-
3,4-Hexanedione	-	-	-	-	-	-	-	F _I	-
Nonadecane	-	-	-	F _I , F _F	-	-	-	F _I , F _F	F _I
Heptadecane	-	-	-	F _I	F _I	-	-	F _I	F _I
Benzene, 1,3,5-trimethyl-	Aromatic- herbaceous odor, naphthalenic flavor	-	-	-	-	-	-	F _F	F _I
2,6-Dimethyl-2,6-dodecadiene	-	-	F _F	-	-	-	-	F _F	-
2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-(1-oxopropyl)phenol	-	-	-	F _F	-	-	-	-	F _F
Octadecane	-	-	F _I , R	-	-	R	-	R	-
trans-Linalool oxide (furanoid)	Sweet	-	F _F	F _F	F _F	F _F	-	F _F	F _F
4,6-Dimethyldodecane	-	-	F _F	-	-	-	-	-	-
Nonacosane	-	-	F _F	-	-	-	-	-	-

Tetradecane	-	F _I	-	-	-	-	-	-	-
Xylene, 5-ethyl- 2,7,10-	-	F _F	-	-	-	-	-	-	-
Trimethyldodecane	-	F _F	-	-	-	-	-	-	-
2,2',5,5'-Tetramethyl- 1,1'-biphenyl	-	-	-	F _I	F _I	-	-	-	-
Benzene, 1-ethyl-4- methyl-	Weak and earthy flavor	-	-	F _F	F _F	-	-	-	-
m-Xylene, 4-ethyl-	-	-	-	F _F	F _F	-	-	-	-
4-Octadecylmorpholine	-	R	-	R	R	R	R	R	R
Dihydro-2-methyl- 3(2H)-furanone	-	R	R	R	R	R	R	R	R
2-Butanone, 3-hydroxy-	-	-	R	R	R	-	-	-	R
Squalene	-	R	-	-	R	-	-	-	-
2-Oxazolidinone, 3- amino-5-(4- morpholinylmethyl)-	-	R	-	-	-	-	-	-	-
Docosa-2,6,10,14,18- pentaen-22-al, 2,6,10,15,18- pentamethyl-	-	R	-	-	-	-	-	-	-
Triacontane	-	R	-	-	-	-	-	-	-
Octadecane, 1- (ethenyloxy)-	-	-	-	R	-	-	-	-	-

References

- Alves, B. H. P., do Nascimento, A., de Aquino, F. J. T., Chang, R., & de Moraes, A. L. (2007). Composição química de cafés torrados do cerrado e do sul de Minas Gerais. *Ciência e Engenharia*, 16(1/2), 9–15.
- Alves, S. T., Dias, R. C. E., & Benassi, M. T. (2006). Metodologia para análise simultânea de ácido nicotínico, trigonelina, ácido clorogênico e cafeína em café torrado por cromatografia líquida de alta eficiência. *Química Nova*, 29(6), 1164–1168.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (1995). *Official methods of analysis of AOAC International*. (16th ed.). Gaithersburg, Maryland, USA: AOAC International.
- Batista, N. N., Ramos, C. L., Ribeiro, D. D., Pinheiro, A. C. M., Schwan, R. F. (2015). Dynamic behavior of *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri* and *Hanseniaspora uvarum* during spontaneous and inoculated cocoa fermentations and their effect on sensory characteristics of chocolate. *LWT- Food Science and Technology*, 63, 221-227.
- Bitter, T., & Muir, H. M. (1962). A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Biochemistry*, 4, 330–334.
- Brando, C. H. J., & Brando, M. F. P. (2015). Methods of coffee fermentation and drying. In R. F. Schwan, & G. H. Fleet (Eds.), *Cocoa and coffee fermentations* (pp. 367–396). New York: CRC Press.
- Bressanello, D., Liberto, E., Cordero, C., Rubiolo, P., Pellegrino, G., Ruosi, M. R., & Bicchi, C. (2017). Coffee aroma: chemometric

comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC–MS to describe the sensory properties in cup. *Food Chemistry*, 214, 218–226.

Chin, S. T., Eyres, G. T., & Marriott, P. J. (2015). Application of integrated comprehensive/multidimensional gas chromatography with mass spectrometry and olfactometry for aroma analysis in wine and coffee. *Food Chemistry*, 185, 355–361.

Czerny, M., & Grosch, W. (2000). Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 868–872.

Díaz, C., Molina, A. M., Nähring, J., & Fischer, R. (2013). Characterization and dynamic behavior of wild yeast during spontaneous wine fermentation in steel tanks and amphorae. *BioMed Research International*, 1–13.

Elías L. G. (1979). Coffee pulp: composition, technology, and utilization. In: J. E. Braham, & R. Bressani (Eds.), *Coffee pulp: composition, technology, and utilization* (pp. 11–12). Ottawa: IDRC.

Eom, I., & Jung, M. (2013). Identification of coffee fragrances using needle trap device-gas chromatograph/mass spectrometry (NTD-GC/MS). *Bulletin of Korean Chemical Society*, 34(6), 1703–1707.

Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46, 488–496.

Evangelista, S. R., Miguel, M. G. P. C., Cordeiro, C. S., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M., & Schwan, R. F. (2014a). Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. *Food Microbiology*, 44, 87–95.

- Evangelista, S. R., Miguel, M. G. P. C., Silva, C. F., Pinheiro, A. C. M., & Schwan, R. F. (2015). Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, *210*, 102–112.
- Evangelista, S. R., Silva, C. F., Miguel, M. G. P. C., Cordeiro, C. S., Pinheiro, A. C. M., Duarte, W. F., & Schwan, R. F. (2014b). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*, *61*, 183–195.
- Farah, A. (2012). Coffee constituents. In: Y-. F. Chu (Ed.), *Coffee: emerging health effects and disease prevention* (pp. 21–58). UK: John Wiley & Sons.
- Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., Franca, A. S., & Trugo, L. C. (2006). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, *98*(2), 373–380.
- Ferreira, D. F. (2014). Sisvar: Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e agrotecnologia*, *38*, 109–112.
- Hays, C., Duhamel, C., Cattoir, V., & Bonhomme, J. (2011). Rapid and accurate identification of species belonging to the *Candida parapsilosis* complex by real-time PCR and melting curve analysis. *Journal of Medical Microbiology*, *60*, 477–480.
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., & Liu S. Q. (2015). Coffee fermentation and flavor – an intricate and delicate relationship. *Food Chemistry*, *185*, 182–191.

- Leffingwell, J. C., & Alford, E. D. (2005). Volatile constituents of perique tobacco. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 4(2), 899-915.
- Lopez-Galilea, I., Fournier, N., Cid, C., & Guichard, E. (2006). Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8560–8566.
- Malta, M. R., & Chagas, S. J. R. (2009). Avaliação de compostos não-voláteis em diferentes cultivares de cafeeiro produzidas na região sul de Minas Gerais. *Acta Scientiarum Agronomy*, 31(1), 57–61.
- McCready, R. M., & McComb, E. A. (1952). Extraction and determination of total pectic materials in fruit. *Analytical Chemistry*, 24(12), 1586–1588.
- Mills, D. A., Johannsen, E. A., Cocolin, L. (2002). Yeast diversity and persistence in botrytis-affected wine fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 4884-4893.
- Nunes, C. A., & Pinheiro, A. C. M. (2012). Sensomaker free user-friendly interface for sensory analysis. <http://www.ufla.br/sensomaker> Accessed 04.07.2016.
- Piccino, S., Boulanger, R., Descroix, F., & Sing, A. S. C. (2014). Aromatic composition and potent odorants of the “specialty coffee” brew “Bourbon Pointu” correlated to its three trade classifications. *Food Research International*, 61, 264–271.
- SCAA. Specialty Coffee Association of America. (2013). <http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf> Accessed 10.11.2016.

- Schwan, R. F., Silva, C. F., & Batista, L. R. (2012). Coffee fermentation. In: Y. H. Huí (Ed.), *Handbook of plant-based fermented food and beverage technology* (pp. 667–687). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Selmar, D., Kleinwächter, M., & Bytof, G. (2015). Metabolic responses of coffee beans during processing and their impact on coffee flavor. In: R. F. Schwan, & G. H. Fleet (Eds.), *Cocoa and coffee fermentations* (pp. 431-476). New York, CRC Press.
- Silva, C. F. (2015). Microbial activity during coffee fermentation. In: R. F. Schwan, & G. H. Fleet (Eds.), *Cocoa and coffee fermentations* (pp. 398–423). New York: CRC Press.
- Silva, C. F., Schwan, R. F., Dias, E. S., & Wheals, A. E. (2000). Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 60(2–3), 251–260.
- Silva, C. F., Vilela, D. M., Cordeiro, C. S. Duarte, W. F., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2013). Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 235–347.
- Souza, M. L., Passamani, F. R. F., Batista, L. R., Ávila, C. L. S., Duarte, W. F., SCHWAN, R. F., Batista, C. F. S. (2016). Use of wild yeasts as a biocontrol agent against toxigenic fungi and OTA production. *Acta Scientiarum Agronomy* (Online).
- Sunarharum, W. B., Williams, D. J., Smyth, H. E. (2014). Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. *Food Research International*, 62, 315-325.

- Toledo, P. R. A. B., Pezza, L., Pezza, H. R., Toci, A. T. (2016). Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 00, 1-15.
- Vaughan, M. J., Mitchell, T., & Gardener, B. B. Mc. S. (2015). What's inside that seed we brew? A new approach to mining the coffee microbiome. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(19), 6518-6527.
- Vilela, D. M., Pereira, G. V. M., Silva, C. F., Batista, L. R., & Schwan, R. F. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology*, 27(8), 1128–1135.
- Wendler, R., Veith, R., Dancer, J., Stitt, M., & Komor, L. (1991). Sucrose storage in cell suspension cultures of *Saccharum* sp. (sugarcane) is regulated by a cycle of synthesis and degradation. *Planta*, 183(1), 31–39.
- Zott, K., Claisse, O., Lucas, P., Coulon, J., Lonvaud-Funel, A., & Masneuf-Pomarede, I. (2010). Characterization of the yeast ecosystem in grape must and wine using real-time PCR. *Food Microbiology*, 27(5), 559–567.