

**OZÔNIO E ULTRA-SOM:
PROCESSOS ALTERNATIVOS PARA
TRATAMENTO E OBTENÇÃO
DO CAFÉ DESPOLPADO**

LUIZ CARLOS DO NASCIMENTO

2006

LUIZ CARLOS DO NASCIMENTO

**OZÔNIO E ULTRA-SOM:
PROCESSOS ALTERNATIVOS PARA TRATAMENTO
E OBTENÇÃO DO CAFÉ DESPOLPADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Nascimento, Luiz Carlos do

Ozônio e ultra-som: processos alternativos para tratamento e
obtenção do café despulpado / Luiz Carlos do Nascimento. -- Lavras :
UFLA, 2006.

172 p. : il.

Orientador: Luiz Carlos de Oliveira Lima.

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Café. 2. Ozônio. 3. Ultra-som. 4. Mucilagem. 5. Microbiologia. 6.
Qualidade. 7. Fermentação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-663.93

LUIZ CARLOS DO NASCIMENTO

**OZÔNIO E ULTRA-SOM:
PROCESSOS ALTERNATIVOS PARA TRATAMENTO
E OBTENÇÃO DO CAFÉ DESPOLPADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 14 de março de 2006

Profa. Dra. Celeste Maria Patto de Abreu **UFLA**

Prof. Dr. João Evangelista Fiorini **UNIFENAS**

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli **UFLA**

Profa. Dra. Sandra Maria Oliveira Morais Veiga **UNIFAL-MG**

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima

UFLA

(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

Aos meus pais, Aparecida e José Luiz, que me proporcionaram as condições para me tornar a pessoa que sou. Vocês, que se doaram por inteiro e renunciaram a seus sonhos para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus, envaidecendo-se das minhas vitórias, como se fossem suas,

OFEREÇO

À minha esposa, Mileny e
aos meus filhos, Laís, Luiza e Wilson,

Meu amor e carinho, na esperança de que entendam que, muitas vezes, privei-os de nossa convivência, dexando-os sempre a esperar, para dedicar-me a realização deste doutorado, mas, espero ter dado o exemplo da importância da conclusão de nossas metas.

Aos meus irmãos Lenilson, Linderlei, Luciane e suas famílias, minha gratidão pelo incentivo, compreensão, carinho e, principalmente, apoio e presença nos momentos mais difíceis, permitindo-me concluir este objetivo,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Expresso minha gratidão às pessoas e instituições que contribuíram, direta ou indiretamente, para possibilitar a concretização deste trabalho, servindo para que os admirasse e os respeitasse ainda mais, em especial:

Ao Professor Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima, meu orientador, pelo exemplo profissional e humano, paciência e sensibilidade às minhas dificuldades, confiança e experiência profissional e pessoal, sempre visando à ética e a idoneidade científica.

Ao Professor Dr. João Evangelista Fiorini, pela co-orientação, apoio, confiança, amizade e exemplo, por sua filosofia de ação e conduta. Não caberiam aqui os agradecimentos por ser meu “pai científico”.

À Professora Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli, minha co-orientadora, pela confiança por ocasião do processo de seleção, pela amizade, auxílio e apoio nas adversidades e também por verificar a adequação desta tese às normas para redação de teses da UFLA.

À Professora Dra. Sandra Maria Oliveira Morais Veiga, pela atitude solidária, lealdade, companheirismo e grande amizade, a qual me orgulha muito por possuir e que há de ser conservada. Agradeço, de coração, sua ajuda, presteza e incentivo, que foram fundamentais para a realização deste sonho.

À Professora Dra. Celeste Maria Patto de Abreu, pelo incentivo e por aceitar participar da banca de defesa, contribuindo com suas sugestões.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de aprimorar minha formação acadêmica e profissional.

À Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG), professores e funcionários, pelos equipamentos, reagentes, espaço e pelas palavras de estímulo

e amizade.

À Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), pela utilização de equipamentos e espaço nos Laboratórios de Microbiologia e Fisiologia de Microrganismos, Fitofármacos e Solos.

A White Martins Gases Industriais S.A., e seus funcionários, por fornecer equipamentos, gases e ajuda constante. Em especial, a Edilson Borin, pela amizade, paciência e boa vontade.

A Ipanema Agrícola S.A., em especial ao Washington Luiz Alves Rodrigues, Milton Verdade Costa, Márcio César Silveira, Adriano Reis da Silva, João Clara Alves, Antônio Emílio de Paula, Afonso José Marcelino, Paulo José Pereira Neto, Valnei Alves e todos os funcionários, pelas amostras de café doadas, auxílio e informações prestadas, cujo empenho foi decisivo para a realização deste trabalho.

Aos classificadores e julgadores de cafés especiais, Márcio César Silveira, Adriano Reis da Silva, Ewerton Satiro da Silva, Clóvis Venâncio de Jesus e Jorge José Menezes que, com sua experiência, engrandeceram este trabalho.

Aos amigos Maria de Fátima Barbosa, Maria Aparecida Pereira, Daniel Iscold, alunos, funcionários e pesquisadores do Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da UNIFENAS, pelo muito que me auxiliaram e incentivaram.

Às secretárias do Departamento de Ciência dos Alimentos, Rafaela Aparecida Fonseca, Helena Cristina Silva, Elizabeth Costa Caetano, Luciana Carvalho Costa e Gicelda Aparecida da Silva, sempre solícitas.

Às funcionárias dos Laboratórios do Departamento de Ciência dos Alimentos, em especial Constantina Maria Braga Torres, Sandra Maria Lacerda e Mércia Magalhães, pela amizade e boa vontade em auxiliar os alunos.

A FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos, importante suporte

durante parte deste trabalho.

A todos os professores e colegas de doutorado que, de certa forma, auxiliaram na minha formação.

À Cláudia Catelani Cardoso, pela amizade e oportunidade em trabalhar com tecnologias em destaque.

Ao professor Dr. José Maurício Schneedorf Ferreira da Silva, pela análise estatística deste trabalho, sugestões e amizade.

Aos professores Dr. Mário Sérgio Oliveira Swerts, Dr. José Carlos Tavares Carvalho e Jussara Maria de Oliveira Mesquita, pelas imprescindíveis sugestões e disposição para compartilharem informações e conhecimento.

Às amigas, colegas de doutorado e contribuidoras ativas neste trabalho, participando no dia-a-dia desta caminhada, Dra. Stella Maris da Silveira Duarte e Dra. Nelma de Mello Silva Oliveira, pelas etapas que passamos juntos e nos levaram a entender a dimensão do que representa a finalização de uma tese. Agradeço enormemente a contribuição que fizeram neste trabalho.

Aos amigos Ângelo José Mesquita de Moraes, Elcio Comastri Rocha, Ivana de Cássia Raimundo, Liliana Batista Vieira, Marco Valério Tiso Veiga, Michel Pereira de Angelis Cardoso Pedro Delfino Azevedo, Virgínia Maria Teófilo, e seus familiares, por terem me presenteado com suas amizades e apoio durante o desenvolvimento desta tese.

Finalmente, a todas as pessoas que não foram mencionadas, mas que foram importantes em algum momento da minha vida, contribuindo, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

Os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|---------------|
| RESUMO GERAL | i |
| GENERAL ABSTRACT | iii |
| CAPÍTULO 1 Ozônio, ultra-som e cafés especiais | 1 |
| 1 Introdução | 2 |
| 2 Referencial teórico | 4 |
| 2.1 Ozônio | 4 |
| 2.1.1 O que é o ozônio | 4 |
| 2.1.2 Usos do ozônio em pós-colheita | 9 |
| 2.2 Ultra-som | 9 |
| 2.3 O café | 12 |
| 2.3.1 Histórico | 12 |
| 2.3.2 Mercado | 14 |
| 2.3.3 Características | 15 |
| 2.3.4 Cultivo | 19 |
| 2.3.5 Processamento | 19 |
| 2.3.5.1 Métodos de processamento | 22 |
| 2.3.5.2 Fermentação | 24 |
| 2.3.5.3 Secagem | 25 |
| 2.3.5.4 Armazenamento | 26 |
| 2.3.5.5 Beneficiamento | 26 |
| 2.3.5.6 Moagem e processo de classificação | 26 |
| 2.3.5.7 Classificação | 26 |
| 2.3.5.8 Armazenamento | 29 |
| 2.3.5.9 Torração do café | 29 |
| 2.3.6 Cafés do mundo | 31 |
| 2.3.7 Fundamentos da prova de xícara | 32 |
| 2.3.7.1 Parâmetros principais da prova de xícara | 34 |
| 2.3.7.2 Outras características de definição | 36 |
| 2.3.8 Química do café - aroma | 37 |
| 2.3.9 Composição química do café | 40 |
| 2.3.10 Composição química da casca | 40 |
| 2.3.11 Composição química da mucilagem | 40 |
| 2.3.12 Composição química do grão de café (semente) | 41 |
| 2.3.12.1 Água | 42 |
| 2.3.12.2 Proteínas | 42 |
| 2.3.12.3 Açúcares | 43 |
| 2.3.12.4 Ácidos graxos | 44 |

| | | |
|-----------|----------------------------------|----|
| 2.3.12.5 | Caféina | 44 |
| 2.3.12.6 | Compostos voláteis..... | 45 |
| 2.3.12.7 | Compostos fenólicos | 46 |
| 2.3.12.8 | Fibras..... | 48 |
| 2.3.12.9 | Pectinas..... | 48 |
| 2.3.12.10 | Enzimas | 49 |
| 2.3.12.11 | Outros | 53 |
| 2.3.13 | Qualidade | 55 |
| 2.3.14 | Microbiologia..... | 57 |
| 2.3.15 | Fermentação | 59 |
| 3 | Referências bibliográficas | 62 |

CAPÍTULO 2 Ozônio e ultra-som: processos alternativos para tratamento e

| | | |
|---------|--|-----|
| | obtenção do café despolpad..... | 86 |
| 1 | Resumo..... | 87 |
| 2 | Abstract | 88 |
| 3 | Introdução..... | 89 |
| 4 | Material e métodos | 92 |
| 4.1 | Material | 92 |
| 4.1.1 | Café | 92 |
| 4.1.2 | Água | 92 |
| 4.2 | Aparelhagem | 93 |
| 4.2.1 | Gerador de ozônio | 93 |
| 4.2.2 | Cuba ultra-sônica..... | 93 |
| 4.3 | Determinação da concentração de ozônio | 94 |
| 4.4 | Modelos experimentais..... | 94 |
| 4.4.1 | Processamento inicial..... | 95 |
| 4.4.1.1 | Fermentação (controle)..... | 96 |
| 4.4.1.2 | Processamento com ozônio seguido de fermentação | 96 |
| 4.4.1.3 | Processamento com ultra-som seguido de fermentação | 97 |
| 4.4.1.4 | Processamento com ozônio | 97 |
| 4.4.1.5 | Processamento com ultra-som..... | 98 |
| 4.4.1.6 | Processamento com ozônio e ultra-som | 99 |
| 4.4.2 | Processamento final..... | 99 |
| 4.5 | Análises das amostras..... | 99 |
| 4.5.1 | Análises microbiológicas | 99 |
| 4.5.1.1 | Contagem global de microrganismos mesófilos..... | 100 |
| 4.5.1.2 | Contagem de leveduras e fungos filamentosos | 101 |
| 4.5.1.3 | Determinação do NMP de coliformes e <i>E. coli</i> | 101 |
| 4.5.2 | Análises de qualidade do café | 102 |
| 4.5.2.1 | Sólidos solúveis totais | 102 |
| 4.5.2.2 | Acidez titulável (AT) e pH..... | 102 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 4.5.2.3 | Açúcares totais, redutores e não redutores | 102 |
| 4.5.2.4 | Compostos fenólicos totais..... | 103 |
| 4.5.2.5 | Condutividade elétrica..... | 103 |
| 4.5.2.6 | Lixiviação de potássio | 103 |
| 4.5.2.7 | Enzima poligalacturonase (PG)..... | 104 |
| 4.5.2.8 | Enzima pectinametilesterase (PME)..... | 104 |
| 4.5.2.9 | Enzima polifenoloxidase (PFO)..... | 104 |
| 4.5.3 | Análises sensoriais da bebida do café | 105 |
| 4.5.3.1 | Pontos positivos..... | 106 |
| 4.5.3.2 | Pontos negativos..... | 106 |
| 4.6 | Análise estatística | 107 |
| 5 | Resultados e discussão | 109 |
| 5.1 | Análises microbiológicas | 109 |
| 5.1.1 | Contagem padrão de microrganismos mesófilos..... | 110 |
| 5.1.2 | Contagem de leveduras e fungos filamentosos | 112 |
| 5.1.3 | Determinação do NMP de coliformes e <i>E. coli</i> | 114 |
| 5.2 | Análises de qualidade do café | 118 |
| 5.2.1 | Sólidos solúveis totais | 118 |
| 5.2.2 | Acidez titulável (AT)..... | 119 |
| 5.2.3 | pH | 121 |
| 5.2.4 | Açúcares totais, redutores e não redutores | 122 |
| 5.2.5 | Compostos fenólicos | 126 |
| 5.2.6 | Lixiviação de potássio | 129 |
| 5.2.7 | Condutividade elétrica..... | 132 |
| 5.2.8 | Enzima poligalacturonase (PG)..... | 135 |
| 5.2.9 | Enzima pectinametilesterase (PME)..... | 137 |
| 5.2.10 | Enzima polifenoloxidase (PFO)..... | 139 |
| 5.3 | Análises sensoriais | 141 |
| 5.4 | Abertura dos grãos..... | 142 |
| 5.5 | Considerações finais..... | 145 |
| 6 | Conclusões | 146 |
| 7 | Referências bibliográficas | 147 |
| ANEXOS | | 160 |

RESUMO GERAL

NASCIMENTO, Luiz Carlos do. **Ozônio e ultra-som: processos alternativos para tratamento e obtenção do café despulpado.** 2006. 172 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*

Qualidade é uma exigência no mundo atual, principalmente no que diz respeito à saúde e a alimentos. Assim, metodologias são idealizadas com o objetivo de se obter produtos mais saudáveis, seguros e aprazíveis. O uso de ozônio e ultra-som como coadjuvantes no processamento de alimentos vem sendo cada vez mais instigante, com resultados incontestavelmente promissores. Tanto o ozônio como o ultra-som são utilizados na produção, processamento e tratamento de diversos alimentos, proporcionando produtos com melhor qualidade, segurança e aceitabilidade no mercado. São patentes suas propriedades sanificantes e reativas, mas, ainda mal exploradas. O café é a bebida popular mais consumida no mundo, além da água e o segundo produto de maior comércio (após o petróleo), movimentando bilhões de dólares anualmente. Portanto, o mercado do café exige intensas pesquisas para assegurar melhor produção e qualidade deste produto. Alguns segmentos de mercado demandam produtos diferenciados, como os cafés especiais, que exigem tratamentos peculiares na sua produção. O café despulpado, tipicamente de bebida mais suave, é um tipo de produto consumido por certos países e que requer técnicas que ainda não são as ideais para o seu processamento, melhoria e padronização de atributos químicos e sensoriais. Outro ponto de interesse geral é a segurança alimentar, uma vez que o café tem potencial para a produção de micotoxinas e de carrear microrganismos que podem causar efeitos detrimenais à qualidade do

*Comitê Orientador: Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima (orientador), Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli, Dr. João Evangelista Fiorini.

mesmo. Assim, se faz necessário controlar toda a produção do café, bem como investigar o uso de metodologias para a prevenção e o tratamento de possíveis contaminações. O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade do uso do ozônio e do ultra-som como substitutos e como coadjuvantes na obtenção do café despolpado, bem como seus efeitos em alguns parâmetros microbiológicos e de qualidade. Com o emprego do ozônio e ou ultra-som no processamento do café, foi observada a ocorrência ou não de alterações no número de alguns microrganismos, teor de açúcares, sólidos solúveis, pH, acidez titulável, compostos fenólicos, condutividade elétrica, lixiviação de potássio, poligalacturonase, pectinametilesterase, polifenoloxidase, porcentagem de abertura de grãos, bem como na prova de xícara. Os resultados mostraram que a utilização destas tecnologias pode melhorar a segurança alimentar do café, sem afetar sensivelmente sua qualidade sensorial, bem como produzir grãos com padrão semelhante ao café despolpado, com eliminação da etapa de fermentação.

GENERAL ABSTRACT

NASCIMENTO, Luiz Carlos do. **Ozone, ultrasound and special coffees**. 2006. 172 p. Thesis (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.*

Quality is a requirement in the world today, mainly with regard to health and food. So, methodologies are idealized with the purpose of obtaining healthier, safer and more pleasurable products. The use of ozone and ultrasound as support in the processing of foods has been more and more stimulant, with promising results. Both ozone and ultrasound are used in the production, processing and treatment of several foods, providing products with better quality, safety and acceptability in the market. Their sanitizing and reagent properties are evident, but still poorly explored. Coffee is the most popular and widely consumed beverage in the world, besides water, and the second product of larger trade (after petroleum), involving billions of dollars annually. Therefore, the coffee market demands intensive researches to assure better production and quality of this product. Some market segments require differentiated products, as special coffees, which demand peculiar treatments in their production. Fermented coffee, typically as a soft drink, is consumed by certain countries and requires techniques that are not yet the best for their processing, improvement and standardization of the chemical and sensorial attributes. Another point of general interest is alimentary safety, once coffee has potential for mycotoxin production and for carrying microorganisms that can cause detrimental effects to its quality. Therefore, it is necessary to control all the coffee production, as well as to investigate the use of methodologies for the

* Guidance Committee: Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima (Major Professor), Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli, Dr. João Evangelista Fiorini.

prevention and the treatment of possible contaminations. The objective of this work was to evaluate the applicability of the use of ozone and ultrasound as substitutes, and support for the obtainment of fermented coffee, as well as their effects on some microbiological and quality parameters. With the use of ozone and or ultrasound in coffee processing, the following indicators were observed: occurrence of alterations in the number of some microorganisms, sugar content, soluble solids, pH, titratable acidity, phenolic compounds, electric conductivity, potassium lixiviation, polygalacturonase, pectinmethylesterase, polyphenoloxidase, percentage of grain opening, as well as the cup test. The results showed that the use of these technologies can improve the alimentary safety of coffee, without sensibly affecting their sensorial quality, as well as produce grains with a pattern similar to that of fermented coffee, with the elimination of the fermentation stage.

CAPÍTULO 1

Ozônio, ultra-som e cafés especiais

1 INTRODUÇÃO

Vários métodos físicos e químicos têm sido propostos para o tratamento de água e alimentos, entre eles se destacam o ozônio e o ultra-som, os quais mostram grande potencial e eficácia na inativação de microrganismos e degradação de compostos orgânicos, com boa margem de segurança.

São conhecidas várias aplicações do ozônio e do ultra-som, como auxiliares em processos industriais que visam à obtenção de produtos de melhor qualidade.

O ozônio produz, em solução aquosa, radicais hidroxila, que são altamente reativos, degradando muitos compostos orgânicos. Sendo um oxidante poderoso, reage diretamente ou seletivamente com compostos orgânicos. Possui a desvantagem de não ser muito solúvel em água e de não ser estável, portanto, deve ser gerado *in situ*. É utilizado em uma infinidade de aplicações, como sanificante, desinfetante, desodorizante, atividades médicas, agrícolas, industriais, tratamento de água e efluentes, etc.

O ultra-som também produz radicais hidroxila, além de pirólise e outras reações mais complexas, responsáveis pela degradação de vários compostos. Tem aplicações na indústria de alimentos, em processos não-destrutivos e destrutivos.

O café é o produto agrícola mais valioso exportado pelos países do terceiro mundo e em desenvolvimento. É um bem com importância global que carrega interesses ambientais, econômicos, sociais e políticos.

Existe uma tendência, cada vez maior, da exigência da qualidade de produtos consumidos, principalmente em países desenvolvidos, levando a uma diferenciação dos produtos finais e, conseqüentemente, aumentando a competitividade por melhores lucros e mercado. No caso do café, há uma busca

incessante da melhoria de qualidade em vários atributos como características físicas (origem, cultivar, cor e tamanho), sensoriais (corpo, aroma, acidez e flavor), sociais e ambientais (sistema de produção, condições de cultivo e de trabalho).

Algumas características são influenciadas pelo tipo de produção e processamento, por condições climáticas, geográficas e culturais, que dificultam ou não permitem uma padronização do produto final. Faz-se necessário, portanto, considerar novas tecnologias que possam implicar em melhores resultados.

O objetivo deste trabalho foi aplicar as tecnologias do ozônio e ultra-som como auxiliares ou como substitutos no processo de fermentação do café por via úmida, visando melhorar e ou padronizar esta etapa no processamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ozônio

Muitas substâncias possuem aplicações em diversas áreas do conhecimento humano, mas poucas possuem uma infinidade de usos como o ozônio, comprovadas cientificamente.

O ozônio é empregado com fins terapêuticos ou industriais, com aplicações em medicina, odontologia, agricultura, indústrias têxteis e de alimentos, tratamento de água e efluentes e sanificação de alimentos, entre outros.

Faz-se necessário, então, o estudo aprofundado desta substância, otimizando o seu uso e investigando seus efeitos benéficos ou não ao material aplicado.

2.1.1 O que é o ozônio

O ozônio é a forma triatômica do oxigênio (O_3), apresentando-se como um gás incolor de odor pungente. Em fase aquosa, se decompõe rapidamente em oxigênio e formas radicalares (Mansten & Davies, 1994). O ozônio é um agente oxidante muito poderoso (potencial de redução, $E_0 = 2,08V$) quando comparado a outros agentes oxidantes, como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $E_0 = 1,78 V$), permitindo que esta espécie possa reagir com uma numerosa classe de compostos (Kunz et al., 2002).

O ozônio pode ser produzido naturalmente, chamado ozônio atmosférico, e artificialmente, conhecido, entre outros nomes, como ozônio medicinal, quando utilizado para fins terapêuticos.

O ozônio é formado pela contribuição de grande quantidade de energia, que divide a molécula de oxigênio (O_2). O oxigênio singlete (1O_2) se combina

rapidamente com moléculas de O_2 disponíveis, formando o ozônio (O_3), altamente reativo. Na natureza, é formado por radiação ultravioleta (185 nm) proveniente do sol ou por descarga de raios. Ironicamente, o ozônio é destruído por radiação ultravioleta na faixa de 250 a 260 nm. Equipamentos e dispositivos elétricos podem também formar ozônio, como fotocopiadoras, impressoras a laser, etc. Comercialmente, geradores de ozônio de baixo custo, com produção limitada do gás, são baseados na passagem de ar ambiente (20% de O_2) ou oxigênio puro por uma fonte luminosa de radiação ultravioleta, geralmente até 210 nm. Sistemas mais eficientes, com descarga corona (descarga elétrica acima de 5.000 V), semelhante a uma vela de ignição, produzem concentrações mais altas de ozônio (Lin & Yeh, 1993; Metcalf & Eddy, 1991; Summerfelt, 2003; Suslow, 2004). O rendimento deste processo varia entre 1% a 4% (m/m) e entre 6% a 14% (m/m) para sistemas alimentados por ar ou oxigênio, respectivamente (Rice, 1996).

O excesso de ozônio não utilizado deve ser capturado e destruído para prevenir corrosão material e danos pessoais. Um método de destruição seria a utilização de radiação ultravioleta com comprimento de onda mais longo (254 nm) combinado ao uso de agente catalítico ou carvão ativado (Suslow, 2004).

Devido à instabilidade do ozônio, o que impede sua armazenagem, torna-se necessária sua geração *in situ*, dispensando o uso de contêineres (Mendez et al., 2003; Rice, 1996).

A partir de sua descoberta, e considerando suas características altamente oxidantes, o ozônio despertou grande interesse, sendo atualmente empregado para as mais diversas finalidades. Sua primeira aplicação em escala industrial ocorreu no início do século XX, na França, sendo utilizado no tratamento de água de abastecimento (Glaze, 1987; Weber & Smith, 1986). No entanto, a grande dificuldade encontrada para utilização de ozônio em larga escala foi o alto custo dos sistemas de geração deste gás. Contudo, nas últimas décadas, o

ozônio adquiriu novamente importância no cenário internacional, principalmente devido ao seu emprego na indústria de papel, onde vem substituindo o uso de cloro no processo de branqueamento de polpa celulósica (Rounsaville & Rice, 1997). A principal característica deste processo é a obtenção de polpas livres de cloro, o que tem colaborado para uma diminuição da contaminação do meio ambiente pela indústria de papel. Isso impulsionou o desenvolvimento de novas tecnologias que possibilitaram a construção de ozonizadores de menor custo e de maior eficiência de conversão. Com isso, o ozônio tem se tornado atrativo para aplicação em outros campos, como, por exemplo, no tratamento de efluentes, motivado, principalmente, pelo barateamento de seus custos de geração.

O ozônio é correntemente utilizado na desinfecção de água de diversos tipos (potável, industriais, piscinas e poluídas por efluentes) (Austin, 1983; Suslow, 2004), bem como no tratamento de esgoto, aquacultura, sistema de água hospitalar, entre outros (Suslow, 2004). As suas propriedades fungicidas e bactericidas têm sido bem documentadas (Masaoka et al., 1982), constatando sua alta capacidade desinfetante e sanificante. Trata-se de um potente oxidante de compostos orgânicos e inorgânicos que, além de ser um efetivo agente microbicida (National Research Council, 1987), forma poucos subprodutos danosos à saúde (Glaze, 1987; Miller et al., 1986; Torres et al., 1996). Quando utilizado em concentrações adequadas, o ozônio não deixa resíduos tóxicos ou carcinogênicos nos alimentos (Torres et al., 1996).

Vários artigos mostram a eficiência do ozônio na eliminação de patógenos de alimentos, água e superfícies, como *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, entre outros (Cardoso et al., 2003; Nascimento et al., 2005; Restaino et al., 1995; Veiga, 2003; Veiga et al., 2003; Veiga, 2002a, 2002b e 2002c; Velano et al., 2001; Velano et al., 2002a e 2002b; Suslow, 2004). A maioria dos microrganismos patogênicos e contaminantes alimentares é susceptível aos

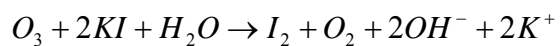
efeitos do ozônio, o qual oxida suas membranas celulares (Kim et al., 1999). O ozônio possui amplo espectro de ação, atuando sobre vírus, bactérias, fungos filamentosos e leveduras e formas esporuladas (Guzel-Seydim et al., 2004; Torres et al., 1996). Sua eficiência depende da temperatura, pH, teor de umidade, presença de matéria orgânica e do tipo de microrganismo presente (Graham, 1997).

O ozônio oxida rapidamente compostos insaturados, aminoácidos e proteínas contendo o grupo sulfidríla (SH). Na célula, oxida grupos sulfidríla e amino, coagula proteínas e inativa as enzimas catalase, peroxidase e desidrogenase, causando morte celular rápida. Em bactérias gram-negativas, as camadas de lipoproteínas e lipopolissacarídeos são os primeiros locais de destruição pelo ozônio, resultando em aumento da permeabilidade celular e eventual lise celular. A morte celular também ocorre devido à destruição e danos de ácidos nucleicos. Também destrói RNA e cadeias de polipeptídeos na camada protéica de vírus (Gurley, 1985; Kim et al., 1999).

Em água limpa, livre de resíduos orgânicos e partículas de terra, o ozônio é um sanificante altamente efetivo a concentrações de 0,5 a 2ppm. O ozônio é quase insolúvel em água (0,00003g/100mL a 20°C) e sua dispersão efetiva é essencial para a atividade antimicrobiana. A atividade desinfetante do ozônio só é afetada de maneira reduzida marginalmente a um pH de 6 a 8,5 (Suslow, 2004). O pH ácido é utilizado devido ao fato do ozônio apresentar, nesta condição, uma menor velocidade de autodecomposição (Kunz et al., 1999).

A concentração de ozônio dissolvido pode ser determinada pelo método colorimétrico de índigo (APHA, 1988) ou pelo método iodimétrico, de acordo com APHA (1992), como descrito a seguir.

O ozônio reage estequiometricamente para formar uma quantidade equivalente de iodo:



O iodo formado é titulado com tiosulfato de sódio, utilizando o amido como indicador para acentuar o ponto final de viragem (APHA et al., 1985).

O ozônio é altamente corrosivo para equipamentos e é letal para humanos, quando há exposição prolongada a concentrações acima de 4 ppm. É detectável pelo odor característico, em concentrações de 0,01 a 0,04 ppm. Nos Estados Unidos, a *Federal Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) limita em 0,1 ppm a concentração atmosférica para exposição contínua durante um período de 8 horas em 0,3 ppm para um período de 15 minutos. Em concentrações de 1ppm, possui um odor desagradável e pungente, irritando olhos e garganta (Suslow, 2004). Em humanos, o ozônio afeta, principalmente, o trato respiratório. Os sintomas da exposição ao ozônio incluem dor de cabeça, vertigem, sensação ardente nos olhos e garganta, gosto e cheiro agudos e tosse. A intoxicação crônica pode causar dor de cabeça, fraqueza, diminuição da memória, aumento da prevalência de bronquites e aumento da excitabilidade muscular (Hoof, 1982, citado por Guzel-Seydim et al., 2004).

Ozônio é altamente instável em água e se decompõe a oxigênio em um tempo muito curto e, portanto, não deixa resíduos indesejáveis. Em água pura, sua atividade diminui mais da metade após 20 minutos e apenas um remanescente de atividade após 2 a 3 minutos em água potável (Mendez et al., 2003; Suslow, 2004).

A meia-vida da atividade do ozônio pode durar menos de um minuto em processamentos pós-colheita, cuja água possui terra suspensa e matéria orgânica. Sua meia-vida pode ser estendida em baixas temperaturas. Ao contrário, sua meia-vida diminui com alcalinidade, ferro solúvel, manganês, cobre, amônia, níquel, sulfeto de hidrogênio, ácidos húmicos e compostos orgânicos solúveis (Bullock et al., 1997; Suslow, 2004).

2.1.2 Usos do ozônio em pós-colheita

O ozônio tem sido avaliado no controle de doenças pós-colheita e no armazenamento de frutos, vegetais e grãos, por muitos anos, tais como maçãs, laranjas, cerejas, cenouras, alho, kiwi, cebolas, pêssegos, ameixas, batatas, uvas, e grãos (Beuchat, 1999; Kim et al., 1999; Mendez et al., 2003; Palou et al., 2002 e 2003; Suslow, 2004). Há um interesse crescente na avaliação do ozônio para diversos tratamentos de água e ar (fumigação) usados na administração da qualidade pós-colheita, como, por exemplo, degradação de etileno em reator limitado, eliminação de odor para armazenamento misto, desinfecção de sistema de umidificação e de superfícies em câmaras frias, eliminação de esporos fúngicos em aerossóis nas câmaras de armazenamento e tratamento de mofos superficiais em transportes distantes de cebolas (Suslow, 2004).

O ozônio foi utilizado para o controle de insetos no armazenamento de café (Armstrong et al., 2003; Leesch et al., 2004). Nenhuma referência foi encontrada na utilização do ozônio no processamento do café.

2.2 Ultra-som

Ultra-som é a energia gerada por ondas sonoras de 20.000 ou mais vibrações por segundo (20KHz). Em altas frequências (0,1 a 20MHz) e baixa potência (100 mW cm^{-2}), o mesmo é aplicado em testes não destrutivos, como, por exemplo, na coagulação do leite (Gunasekaran & Chiyung, 1994). Está sendo testado também para avaliação de propriedades estruturais, qualidade e defeitos em alimentos, materiais e equipamentos da indústria alimentícia (Copland, 2004; Mizrach et al., 1994; Scanlon, 2004).

Floros & Liang (1994) e FDA (2000) relatam o seu uso para aprimorar o processamento de alimentos, incluindo medida de textura, viscosidade e concentração de alimentos sólidos ou líquidos; determinação da composição de

ovos, carnes, frutas e hortaliças, leite e derivados; mensuração de espessura e temperatura em diversos processos; inspeção não-destrutiva de ovos e embalagens de alimentos.

O ultra-som de alta-freqüência e alta potência (10 a 1000 W cm^{-2}) tem seu emprego em limpeza de superfícies, melhoria na retirada de água de produtos, secagem e filtração, inativação de microrganismos e enzimas, lise de células, degasagem de líquidos, reações de oxidação, entre vários outros processos com aplicações atuais e futuras na indústria de alimentos (FDA, 2000; Floros & Liang, 1994; McClements, 1995).

Em líquidos expostos a ondas ultra-sônicas de baixa freqüência ($<1\text{MHz}$), ocorre o efeito de cavitação, que é o processo de nucleação, crescimento e colapso de bolhas transitórias. Estas ondas se propagam em ciclos alternados de compressão e expansão e, com pressão suficientemente alta, vencem as forças intermoleculares num ponto do líquido, criando uma cavidade para onde se difundem, durante a fase de expansão, os gases e os vapores do líquido. Na fase de compressão, os gases e os vapores que não retornaram ao líquido aumentam a cavidade durante os ciclos seguintes de compressão e expansão até seu tamanho crítico, entrando em violento colapso e conseqüente liberação de grande quantidade de energia. Isso gera valores elevados de temperaturas locais instantâneas (aproximadamente 5.000°C) e de pressões (2.000atm) (Borges & Korn, 2002; FDA, 2000).

Acredita-se que a característica bactericida do ultra-som seja devido ao efeito de cavitação intracelular (Lee et al., 2004), levando à ruptura da membrana celular e conseqüente liberação do conteúdo celular (Entezari et al., 2004). Além do mecanismo físico, há também um mecanismo químico, pela produção de radicais livres (principalmente hidroxilas) e peróxido de hidrogênio (Entezari et al., 2004).

Porém, segundo FDA (2000), deve-se levar em consideração que os

patógenos de interesse em saúde pública geralmente apresentam maior resistência aos novos processos tecnológicos.

Segundo Entezari et al. (2004), o ultra-som também pode facilitar a desaglomeração de microrganismos agrupados, aumentando a eficiência de compostos antimicrobianos. Este mesmo autor sugere que o ultra-som pode aumentar a transferência de massa entre o interior e exterior de células fúngicas, ou seja, aumentar o seu metabolismo e, conseqüentemente, aumentando o seu crescimento. Mas, isso poderia ser explicado, talvez, pela propriedade de dispersão do ultra-som, fazendo com que aumente o número de unidades formadoras de colônias e não necessariamente o seu desenvolvimento (Jyoti & Pandit, 2004; Seymour et al., 2002).

A eficácia de sua utilização depende, entre outros, da natureza das ondas ultra-sônicas, do tempo de exposição, do tipo de microrganismo, do volume de alimento a ser processado, da composição do alimento e da temperatura. Seus efeitos podem não ser suficientes para uma redução de microrganismos, sendo necessária a combinação com outros métodos de preservação (Raso et al., 1998). Devido à complexidade e a algumas proteções naturais dos alimentos (cascas, por exemplo), torna-se impraticável sua utilização de forma simples, portanto, muitas pesquisas têm centrado suas atividades na combinação do ultra-som com outros métodos, com grande potencial de utilização na indústria (Butz & Tauscher, 2002).

Datta (2002) afirma que a força mecânica do ultra-som decresce com a viscosidade do meio utilizado.

Vários autores utilizaram os efeitos do ultra-som, demonstrando sua eficiência em tratar frango, leite, água e peixes (Lee et al., 1989; Lillard, 1993 e 1994; Oliveira, 2005; Veiga, 2003; Ying-Shih & Jih-Gaw, 1998).

Para potencializar seus efeitos, são utilizados tratamentos associados ao ultra-som. Assim, combinado ao calor (termo-ultrasonicação), é mais efetivo

contra bactérias (Datta, 2002). Combinado com calor e pressão (manotermossoneação ou MTS) chega a destruir esporos bacterianos (Datta, 2002).

Quando combinado a agentes químicos, reduz, com grande eficácia, a quantidade destes agentes (Datta, 2002). Dessa forma, pode ser utilizado com ozônio para inativar microrganismos patogênicos (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Pseudomonas* e *Vibrio*) (Burlison et al., 1975), tratar carcaças de frango (Veiga, 2003) e peixes (Oliveira, 2005). Também com cloro, tem sua eficácia aumentada no tratamento de carcaças de frango, além de reduzir ou eliminar trihalometanos (Veiga, 2003).

O ultra-som também tem aplicabilidade industrial, como extração de polissacarídeos em vegetais (Ebringerová & Hromádková, 2002).

2.3 O café

2.3.1 Histórico

A origem do café data de tempos antigos e a descoberta de suas propriedades envolve mitos e lendas. Uma destas lendas diz que o café foi consumido pela primeira vez por um pastor etíope chamado Kaldi. Segundo a lenda, Kaldi notou que cabras dóceis passavam a brincar freneticamente após ingerirem as bagas vermelhas de um arbusto próximo. Ao se sentir cansado, experimentou algumas destas bagas e, quase imediatamente, começou a saltar e dançar com suas cabras. Kaldi contou sua descoberta a um monge e este ferveu as cerejas e ofereceu o líquido a seus companheiros, mantendo-os despertos nas longas noites de oração (Coffee Talk, 2002; Lindsey-Wolcott, 2001).

Os historiadores ainda não chegaram a um consenso sobre onde o café apareceu ou quem primeiro descobriu suas propriedades. Acredita-se que tenha se originado no Iêmen (Arábia do Sul) e na região de abissínia de Kaffa (Etiópia) onde ainda se desenvolve de forma selvagem (Coffee Talk, 2002).

O café foi consumido de diversas formas. Acredita-se que os árabes fizeram uma bebida do café cereja. Outras culturas consumiram café como alimento, pulverizando o seu grão e misturando-o com gordura animal. Até o século XI, beber café tornou-se um ritual na religião muçulmana, sendo intensificado seu uso pela proibição do álcool, pelo Alcorão (Coffee Talk, 2002). A primeira cafeteria, de que se tem conhecimento foi aberta em Constantinopla (atual Istambul, Turquia), em 1475 (Clay, 2003).

O café chegou à Europa pelos portos de Veneza e Marselha com o título de “vinho árabe” (Coffee Talk, 2002), difundindo-se a partir do século XVI (Clay, 2003).

Nos Estados Unidos há registros de que o café já estava disponível aos colonos desde 1668, mas, foi somente a partir de 1765, com o boicote do chá pelos ingleses, que ele foi aceito, passando a ser considerado como bebida nacional, em 1774 (Coffee Talk, 2002).

O café foi introduzido no Brasil pelo sargento-mor Francisco de Melo Palheta, no ano de 1727, trazido da Guiana Francesa para Belém, no Pará. De lá seguiu ao Maranhão e se expandiu para os estados vizinhos em pequenas plantações, atingindo a Bahia em 1770. Em 1774, foi levado para o Rio de Janeiro, onde os cafezais se ampliaram. Espalhando-se para a Serra do Mar, alcançou, em 1825, o Vale do Paraíba e os estados de São Paulo e Minas Gerais (Amaral Lapa, 1998; Martins et al., 1998).

No Sul de Minas Gerais e no estado de São Paulo, encontrou condições climáticas favoráveis para o seu cultivo, chegando a Ribeirão Preto em 1835, Campinas em 1840 e Noroeste Paulista e Norte Paranaense entre 1928 e 1930. No Espírito Santo e na região norte do Rio de Janeiro, foi introduzido a partir de 1920 (Graner & Godoy Jr., 1967; Malavolta, 1974; Matiello et al., 2002; Romero, 1997).

2.3.2 Mercado

É um produto valioso internacionalmente, superado apenas pelo petróleo. Tem importância pelo impacto global, empregando mais de 20 milhões de pessoas no mundo (Clay, 2003; Coffee Talk, 2002).

O Brasil é o maior destaque mundial como produtor e exportador de café, juntamente com Vietnã, Colômbia, Indonésia, México, Costa do Marfim e Guatemala (Tabela 1). Os maiores importadores são Estados Unidos, Alemanha, Japão, Itália e França. A produção anual mundial é de, aproximadamente, 7,4 milhões de toneladas de café cru (Clay, 2003; FAO, 2004). Em 2004, o Brasil produziu mais de 38 milhões de sacas de café e exportou mais de 24 milhões de sacas (ICO, 2005a, b).

No Brasil, o estado de Minas Gerais é responsável por 40% da produção nacional, concentrando metade desta produção nas regiões Sul e Oeste do estado. A seguir, os estados do Espírito Santo (26%), São Paulo (9%), Paraná, Bahia, Rondônia (7% cada), Mato Grosso, Pará e Rio de Janeiro (1% cada) e os outros estados com 1% do total (CONAB, 2003).

O consumo do café cresce a cada ano, sendo que 40% da população mundial consome, pelo menos, uma xícara por ano. Nos Estados Unidos, são 463 xícaras por ano. Na Suécia, o maior consumidor *per capita* do mundo, chega a 1.100 xícaras por ano (Clay, 2003).

Atualmente, o café é um artigo básico na alimentação de muitos consumidores. Bilhões de pessoas ao redor do mundo são consumidores regulares deste produto; somente a Europa consome mais de 40% de todo o café comercializado globalmente (Clay, 2003).

Em relação ao consumo do café, o Brasil é um país em transição. É o maior produtor mundial, mas é o 2º maior consumidor, atrás apenas dos Estados Unidos (FAPEMIG, 2001).

TABELA 1 Principais países produtores de café cru, em 2004.

| País | Robusta/Arábica | Sacas (milhões) |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| Brasil | (A/R) | 38,67 |
| Colômbia | (A) | 11,50 |
| Vietnã | (R) | 9,90 |
| Indonésia | (R/A) | 6,48 |
| Etiópia | (A) | 5,00 |
| Índia | (A/R) | 4,85 |
| México | (A) | 3,87 |
| Peru | (A) | 3,46 |
| Guatemala | (A/R) | 3,45 |
| Uganda | (R/A) | 2,75 |
| Honduras | (A) | 2,75 |
| Costa do Marfim | (R) | 1,95 |
| Costa Rica | (A) | 1,91 |
| El Salvador | (A) | 1,27 |

(Fonte: ICO, 2005d)

No cultivo de café, há uma miríade de variáveis que devem ser monitoradas e reguladas. No caso dos cafés especiais ou de alta qualidade, deve ser mantido um rigoroso controle sobre múltiplos fatores no cafezal, em plantas isoladas e na xícara (Illy, 2001).

Da produção de café arábica, apenas 10% são considerados como cafés especiais (Coffee Talk, 2002). Cerca de 82% da exportação de café do Brasil, em 2004, foram de café arábica (ICO, 2005a).

A cadeia do mercado geral do café (fases entre produtores e consumidores) inclui cultivo, colheita, processamento e classificação, exportação, transporte, distribuição, torração, embalagem, redistribuição no varejo, aquisição pelo consumidor, preparo e degustação (Clay, 2003).

2.3.3 Características

O café é um arbusto lenhoso que pode alcançar dez metros de altura, mas

quando cultivado, para facilitar a colheita, é podado a aproximadamente 2,5 metros. Cresce em clima tropical, desenvolve-se bem com chuva moderada, altitudes entre o nível do mar e 1.800 metros (Clay, 2003).

Os grãos de café são as sementes do cafeeiro. A planta desenvolve flores brancas e delicadas que duram apenas alguns dias. Seis a nove meses depois, os frutos maduros começam a aparecer, passando de bagas verdes para amarelas e, finalmente, vermelhas. Devido à coloração, forma e tamanho, os frutos maduros são chamados cerejas. Dentro dos frutos maduros (cerejas), estão dois grãos de café (sementes), com formato redondo ou oval, com um lado plano (Coffee Talk, 2002; Lindsey-Wolcott, 2001). As sementes ficam envoltas por várias camadas (a partir da mais interna), como demonstrado na Figura 1 (Avallone et al., 2002; Chapagain & Hoekstra, 2003):

- membrana fina que recobre o grão, chamada película prateada (endosperma);
- camada doce chamada pergaminho, resistente e dourada (endocarpo). Corresponde a cerca de 12% da matéria seca do grão;
- polpa carnosa, rica em açúcar e mucilaginosa (mesocarpo). Aderida fortemente ao pergaminho, a mucilagem possui a espessura de 0,5 a 2mm. Representa cerca de 5% da matéria seca do grão;
- pele vermelha exterior (epicarpo ou exocarpo).

A mucilagem é um sistema coloidal líquido, liofílico, ou seja, um hidrogel. Quimicamente, é constituída por água, pectinas, açúcares e ácidos orgânicos e, portanto, constitui um excelente substrato para o crescimento de fungos, bactérias e outros organismos, razão pela qual possibilita a deterioração dos grãos de café (Elias, 1978; Feria-Morales, 1990; Matos et al., 2000).

A mucilagem deve ser retirada tão logo seja possível, uma vez que o seu contato prolongado com o grão, além de possibilitar o desenvolvimento de microrganismos, aumenta os custos de secagem do café (Matos et al., 2000).

Geralmente são encontradas duas sementes em cada fruto. Leva aproximadamente cinco anos para um pé de café produzir sua primeira colheita, com uma planta que produz aproximadamente 3.000 frutos anualmente (Coffee Talk, 2002; Lindsey-Wolcott, 2001).

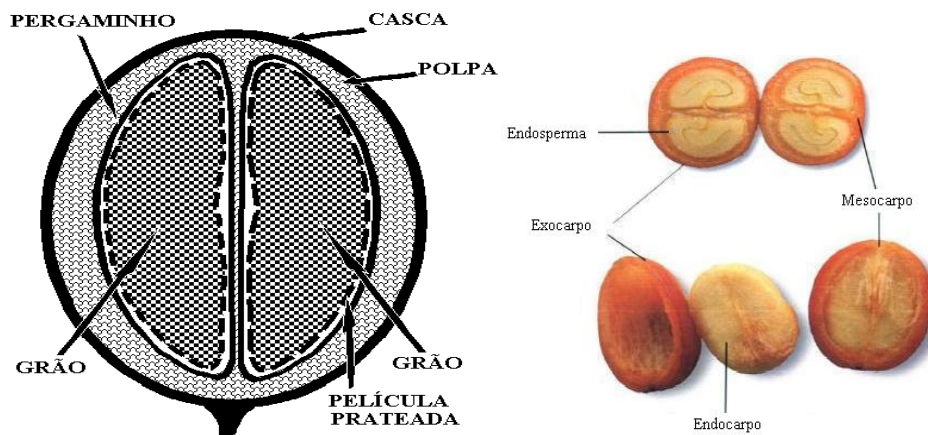


FIGURA 1 Componentes do café cereja (Chapagain & Hoekstra, 2003 modificado).

Apesar de existirem mais de 50 espécies, duas são mais utilizadas pela indústria de café: *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (robusta). Da produção mundial de café, 75% são do tipo arábica, de melhor qualidade e o restante é representado principalmente por café robusta e, em pequena escala, *C. liberica*, *C. racemosa* e *C. dewevrei* (café excelsa). Estas últimas são cultivadas em alguns países africanos, cujos grãos resultam em bebida de baixa qualidade e são comumente consumidos nesses países (Hicks, 2001; Mazzafera & Carvalho, 1991).

As duas espécies (arábica e robusta) e suas cultivares diferem em sabor, aroma, teor de cafeína, resistência a doenças e condições de cultivo. As

propriedades do solo, clima, umidade, declive do terreno e doenças de uma determinada região condicionam a cultivar que será cultivada. O Brasil é o maior produtor de café arábica e o segundo maior produtor de robusta (depois do Vietnã) (Clay, 2003).

Coffea arabica é uma espécie de planta delicada, que produz grãos utilizados em misturas e normalmente é conhecida por seu nome de espécie. Cafés arábicas crescem em altitudes que variam de 800 a 2.000 m. Os melhores grãos são produzidos acima de 1.200m de altitude, porque maiores altitudes permitem ao café “cereja” formar-se lentamente, produzindo um grão mais complexo e mais saboroso (Chapagain & Hoekstra, 2003; Coffee Talk, 2002; Hicks, 2001). Pode se desenvolver em climas frios e secos. Abrange dois terços do café disponível no comércio mundial (Lindsey-Wolcott, 2001). O café feito de grãos de arábica tem aroma intenso e intrincado, que pode ser reminescente de flores, fruta, mel, chocolate, caramelo ou pão torrado. A quantidade de cafeína do café arábica nunca ultrapassa a 1,5% do peso. Por sua qualidade e sabor superiores, o arábica tem preço mais elevado que o robusta (Illy, 2002).

Uma das cultivares de café arábica, a Catuaí Amarelo, foi originada do cruzamento artificial de “Caturra Amarelo” e “Mundo Novo”, pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em 1949, possuindo alta capacidade produtiva, porte baixo e maturação desuniforme (Pimenta, 2003).

Coffea robusta é uma planta maior, mais vigorosa, produzindo grãos considerados de qualidade inferior (embora, aproximadamente 5% dos grãos de robusta sejam considerados excelentes). Chegam a acumular o dobro do teor de cafeína encontrado nos grãos de café arábica. São muito utilizados na indústria de café solúvel (instantâneo) e na mistura de cafés mais baratos. Café moído enlatado é, geralmente, uma mistura de robusta e uma quantidade de arábica suficiente para somar um pouco de sabor e corpo. Robusta é menos exigente quanto ao clima e solo onde cresce, tolera temperaturas mais altas e prospera a

mais baixas altitudes (até 600m). Também, é mais resistente a doenças que o arábica (Chapagain & Hoekstra, 2003; Coffee Talk, 2002; Lindsey-Wolcott, 2001).

2.3.4 Cultivo

É produzido em cerca de oitenta países tropicais e subtropicais, principalmente entre os trópicos de Câncer e Capricórnio, em altitudes que variam de 150 a 1.800m ou mais (Clay, 2003; Coffee Talk, 2002). A qualidade dos grãos depende de uma variedade de condições propícias. Como toda árvore frutífera, o café não se adapta às mudanças súbitas no ambiente. A maioria dos cafés cresce melhor em altitudes mais altas (600 a 1.500m), em terra vulcânica, chuva moderada, temperaturas moderadas que variam entre 15°C a 21°C e com um equilíbrio de sombra e sol (Coffee Talk, 2002).

A colheita do café arábica de alta qualidade requer mão-de-obra muito intensiva, pois os frutos numa mesma planta e até mesmo em um mesmo ramo amadurecem desigualmente, devendo ser colhidos seletivamente a mão. Este método é conhecido como colheita seletiva. Em uma estação, podem ser necessárias oito colheitas numa mesma planta para retirar todos os frutos no auge da maturação. Deve ser evitada a fermentação dos frutos, pois ela deteriora o sabor (Lindsey-Wolcott, 2001).

Cafés mais baratos (robusta, principalmente) são freqüentemente colhidos de uma só vez, obtendo-se frutos maduros, verdes e deteriorados, além de folhas, ramos e sujeira (Coffee Talk, 2002).

2.3.5 Processamento

O processamento do café visa, basicamente, separar os grãos das

camadas externas (polpa exterior, pergaminho e película prateada), possibilitando a redução do seu conteúdo de água de 65% para um grau de umidade entre 10% a 12% e, por fim, classificar os grãos por tamanho. Assim, é produzido um café satisfatório para o transporte e torração. Para prevenir perdas, o processamento deve ser feito imediatamente após a colheita. Os grãos processados podem ser armazenados durante muitos meses sem alteração significativa do sabor e são chamados de café cru (Clarke & Macrae, 1987; Coffee Talk, 2002; Illy, 2002; Silva et al., 2003).

A demora no processamento do café permite a ocorrência de fermentações indesejáveis, provocando a produção de substâncias químicas, principalmente ácidos (acético, láctico, butírico e propiônico) que difundem da mucilagem para a semente, comprometendo a sua qualidade (Chalfoun & Carvalho, 2000).

Existem dois métodos de processamento de café: o “método via seca”, no qual se obtém o “café natural” e o “método via úmida”, resultando no “café despulpado” (Figura 2). Apesar de mais oneroso, o método por via úmida é preferido para a maioria dos cafés arábicas de alta qualidade e envolve grandes volumes de água e numerosas etapas (Coffee Talk, 2002; Oliveira et al., 2001).

Alguns trabalhos relatam que a mucilagem do café também pode ser removida quimicamente, usando ácido, álcali (NaOH) ou água quente. No entanto, podem não encontrar aplicabilidade por exigir altos custos e cuidados com a manipulação, controle e meio ambiente. Outras maneiras de remoção da mucilagem do café seriam a remoção mecânica ou o uso de enzimas comerciais (Arunga, 1982; Sivetz, 1979).

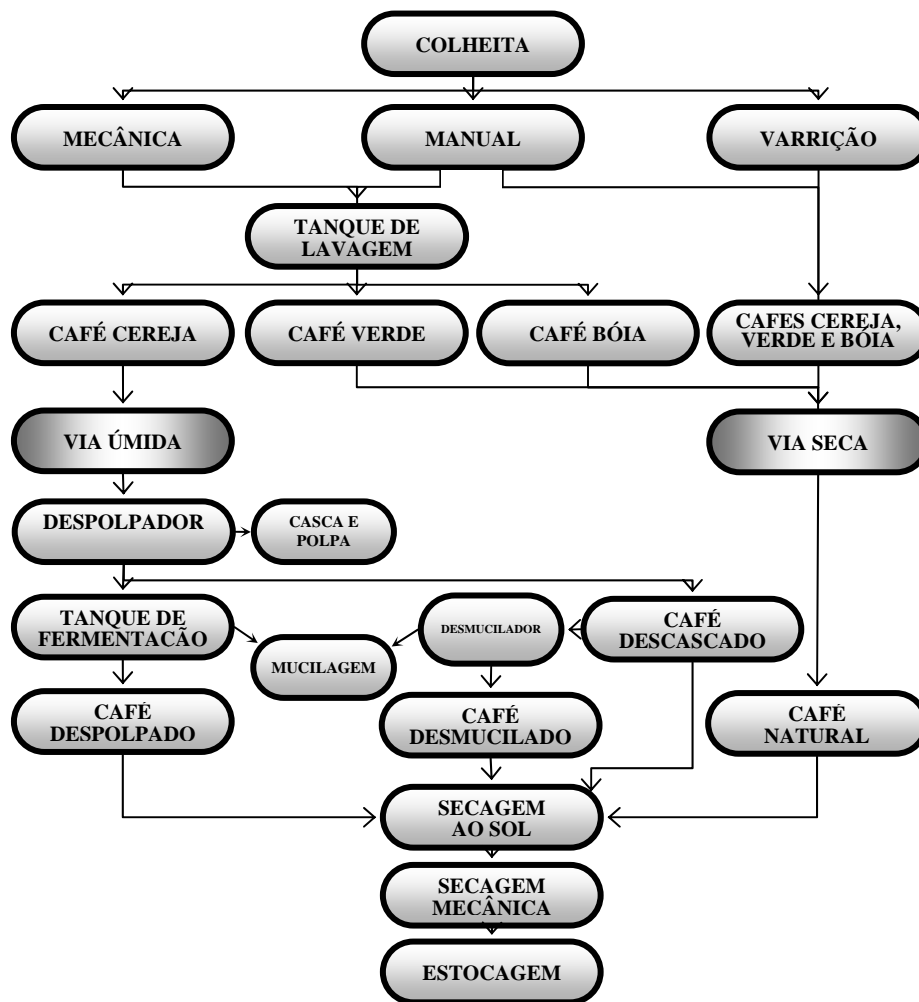


FIGURA 2 Fluxograma do processamento do café pelas vias úmida e seca (de acordo com Pandey et al., 2000; Moraes & Luchese, 2003; Borrelli et al., 2004).

2.3.5.1 Métodos de processamento

2.3.5.1.1 Via seca

O processo “via seca”, também conhecido como método natural, geralmente é feito onde há escassez de água, dando origem ao café denominado coco, de terreiro ou natural. É o método mais antigo, simples e requer pouco maquinário. Este método envolve o fruto inteiro e sofre variações, dependendo do tamanho da plantação, das condições climáticas, das instalações disponíveis e da qualidade final desejada (Chalfoun & Carvalho, 2000; Leloup et al., 2004; Puerta Quintero, 1998; Silva et al., 2001).

A colheita pode ser por derriça ou mecanizada e, após a mesma, o café deve ser separado das impurezas (paus, terra, pedras, folhas, etc.). Esta separação é feita, entre outras formas, por separador hidráulico, na qual são separados os frutos de acordo com sua maturação, ou seja, separando-se os frutos cerejas dos cafés verdes e bóias (secos, brocados e mal formados) (Chalfoun & Carvalho, 2000; Silva et al., 2001).

Neste processo, é consumido um volume de água que varia de 1,4 a 14 litros por quilograma de café processado, dependendo do equipamento utilizado (Clay, 2003; Silva et al., 2001).

Após a separação de impurezas e lavagem, os frutos passam no processo de secagem, que pode ser feita ao sol, em terreiros. O tempo de secagem pode chegar a quatro semanas, para, então, atingir aproximadamente 12% de umidade, pois o café fica sujeito às condições climáticas. Para acelerar o tempo de secagem dos grãos, podem ser usados secadores mecânicos após uma pré-secagem ao sol, durante alguns dias (Bartholo et al., 1989; Chalfoun & Carvalho, 2000; Silva et al., 2001).

A secagem é a fase mais importante do processo, uma vez que afeta a qualidade final do produto. Se os grãos ultrapassam a secagem ideal, tornam-se mais frágeis, produzindo grãos quebradiços, o que é considerado como defeito.

Ao contrário, os grãos que não tiveram uma secagem suficiente estarão propensos à deterioração rápida causada por fungos e bactérias (ICO, 2005c).

Os grãos secos são armazenados em silos especiais (tulhas) até que sejam comercializados, quando são removidas as camadas exteriores e classificados. No Brasil, quase todo café robusta é processado por este método (via seca) e também aproximadamente 95% do café arábica. O processamento via seca não é utilizado em regiões muito chuvosas, onde a umidade atmosférica é muito alta ou onde chove frequentemente durante a colheita (ICO, 2005c).

2.3.5.1.2 Via úmida

O processamento por via úmida origina os cafés descascados/lavados e despulpados. Os despulpados são caracteristicamente de bebida suave (Chalfoun & Carvalho, 2000; Leloup et al., 2004; Silva et al., 2001).

Neste processo, os frutos cereja passam por uma máquina que retira a polpa e a casca, obtendo-se o café descascado, mantendo-se o pergaminho e a mucilagem. Os grãos podem passar por outras etapas, visando à retirada desta mucilagem mecanicamente ou pelo método da fermentação. A fermentação é feita em grandes tanques com água, nos quais os grãos ficam por 24 a 48 horas, processo este que permite a retirada da mucilagem (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005c), a qual constitui um obstáculo para a secagem. Os cafés despulpados têm a vantagem de diminuir consideravelmente a área de terreiro e o tempo necessários para secagem (Chalfoun & Carvalho, 2000; Silva et al., 2001).

O processamento adequado, por via úmida, preserva as qualidades intrínsecas dos grãos, obtendo um produto homogêneo e com poucos defeitos. Conseqüentemente, o café produzido por este método é considerado de qualidade superior, obtendo melhores preços no mercado (ICO, 2005c).

Uma desvantagem deste processamento consiste na utilização de grande

quantidade de água, sendo necessários de 3.000 a 4.000 litros para processar 240 quilos de café (Clay, 2003).

A fermentação é crucial ao aroma e sabor do café. Pesquisas têm mostrado que a fermentação é responsável em parte pelo corpo e acidez (Coffee Talk, 2002; Lindsey-Wolcott, 2001).

Após a fermentação estar completa, os grãos de café são lavados completamente, removendo-se todo o remanescente de mucilagem, além de outros resíduos, como ramos e grãos bóias. Posteriormente, os grãos são secados em grandes pátios ou em secadores mecânicos, sendo denominados café em pergaminho (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005c).

2.3.5.2 Fermentação

A mucilagem é degradada no processo de fermentação, tornando-se dispersível e, portanto, passível de ser removida com lavagem. De viscosa e escorregadia, a mucilagem passa a consistência fluida (Avallone et al., 2001). O tempo de fermentação varia de acordo com a temperatura e a espessura da mucilagem, entre outros. Os grãos obtidos da fermentação, pela perda da mucilagem, tornam-se ásperos ao tato e possuem, aproximadamente, 57% de umidade (ICO, 2005c).

Durante o processo, os açúcares são fermentados, dando origem a etanol, ácidos láctico, acético, butírico e outros ácidos carboxílicos maiores. Com o aparecimento de ácidos butírico e propiônico, em particular, há perda da qualidade devido à sua difusão para os grãos (Amorim & Amorim, 1977). Fermentação excessiva ou prolongada pode levar à produção de gosto alcoólico indesejável na bebida do café, produzido pelas leveduras (Avallone et al., 2001). Assim, a fermentação deve ser realizada em tempo relativamente curto (o ideal é entre 24 a 48 horas), para evitar a formação destas substâncias prejudiciais à

bebida do café.

Se a fermentação for prolongada por carência de luz solar e pela umidade alta, haverá prejuízo ao produto e poderá haver predomínio de desenvolvimento dos microrganismos produtores de micotoxinas (Silva et al., 2000).

2.3.5.3 Secagem

A secagem é considerada a etapa mais complexa no processamento do café, uma vez que a umidade inicial do grão é elevada (cerca de 57%), com maior velocidade de deterioração que causará redução da qualidade do produto (ICO, 2005c; Silva & Rufato, 2001).

O teor, o conteúdo ou o grau de umidade do café são a quantidade de água retida (nas formas vicinal e livre, exceto a água de constituição), quimicamente presa ao material. Quanto menor o teor de umidade dos grãos (logicamente, não ultrapassando a secagem ideal), menor será a ocorrência de deterioração e diminuição da respiração (Silva & Rufato, 2001).

O café tolera temperatura do ar de secagem de 40°C por um ou dois dias, 50°C por algumas horas e 60°C por até meia hora, sem danos. A secagem natural é feita em terreiro e a artificial em secadores mecânicos (Silva et al., 2001).

De acordo com Silva et al. (2001), durante a secagem do café, deve-se tomar os seguintes cuidados: evitar fermentação indesejável, evitar temperatura excessivamente elevada, secar os grãos no menor tempo possível até 18% de umidade e procurar obter um produto que apresente uniformidade em coloração, tamanho e densidade.

2.3.5.4 Armazenamento

Após a secagem, o café é armazenado em locais adequados, ao abrigo do sol e chuva, dotados de boa ventilação, para evitar alterações na qualidade. Geralmente, o armazenamento é feito em tulhas ou sacarias (Silva et al., 2001).

2.3.5.5 Beneficiamento

O café beneficiado ou café cru é obtido pela remoção das cascas e separação dos grãos do fruto seco (coco ou pergaminho), em época próxima a de sua comercialização, mantendo suas características originais (Silva et al., 2001).

Além disso, o café é separado das impurezas, cascas, café coco e metais, e também classificado quanto ao tamanho, forma e densidade (Silva et al., 2001).

2.3.5.6 Moagem e processo de classificação

Máquinas removem a casca e a película prateada que envolvem cada grão, além de separar os grãos verdes ou danificados e, finalmente, são classificados por tamanho, peso e forma (Coffee Talk, 2002).

2.3.5.7 Classificação

O propósito da classificação é atribuir valores aos cafés ao serem comercializados. Os nomes e termos variam muito de uma região para outra, podendo ser confundidos, porém, os mesmos padrões básicos são utilizados. Ao julgar os grãos de café, os classificadores atentam para o número de defeitos, espécies, tamanho (os maiores normalmente são considerados melhores), altitude onde cresceram, cor e processos empregados na colheita e

processamento. É importante notar que a classificação de um café não é necessariamente indicativa de sabor e qualidade, mas, principalmente, aparência e padronização. Deve ser mencionado também que o café proveniente de uma mesma planta pode variar na sua classificação (Coffee Talk, 2002; Silva et al., 2001).

2.3.5.7.1 Classificação quanto ao tipo

Esta classificação está baseada no número e no grau de impurezas e defeitos encontrados em 300g de amostra, como pedras, torrões, paus, cascas, grãos quebrados, ardidos, pretos, brocados, verdes, não descascados (marinheiros), mal granados, chochos e com forma de concha. Cada impureza e defeito correspondem a valores padronizados, que somados darão uma classificação à amostra numa faixa de 2 a 8 (Chalfoun & Carvalho, 2000; IBC, 1977).

2.3.5.7.2 Classificação pela bebida

A “prova de xícara”, realizada por degustadores treinados, classifica a bebida do café de acordo com o sabor, como visto a seguir (Chalfoun & Carvalho, 2000; Franca et al., 2005):

- estritamente mole - bebida de sabor muito suave e adocicado;
- mole - bebida de sabor suave, acentuado e adocicado;
- apenas mole - bebida de sabor suave, porém, com leve adstringência;
- dura - bebida com sabor adstringente, gosto áspero, sem paladares estranhos;
- riada - bebida com leve sabor de iodofórmio ou ácido fênico;
- rio - bebida com sabor forte e desagradável, lembrando iodofórmio

ou ácido fênico;

- rio zona - bebida de sabor e odor intoleráveis ao paladar e ao olfato.

A Organização Internacional do Café estabeleceu uma classificação da bebida de cafés especiais, em que são considerados vários sabores e aromas, além de sensações bucais como adstringência, corpo, etc. (ICO, 1991).

2.3.5.7.3 Classificação pela peneira

De acordo com a forma dos grãos, o café é classificado em peneiras com crivo redondo, como chato ou em crivos alongados, como moca, além do tamanho dos grãos (IBC, 1977):

- chato grosso - peneira 17 e maiores;
- chato médio - Peneira 15 e 16;
- chatinho - peneiras 12, 13 e 14;
- moca grosso - peneira 11 a 13;
- moca médio - peneira 10;
- moquinha - peneira 8 e 9.

Existem também os tipos quebrado (com, no mínimo, 2/3 do grão inteiro) e mínimas que compreendem os resíduos (conchas, triângulos, quebrados, marinheiros, coco, etc.) (IBC, 1977).

2.3.5.7.4 Classificação pela cor

Os cafés recebem também classificação, levando-se em considerações as características de cor, ou seja: verde cana, esverdeados, chumbados amarelados, amarelos, pampas e marrons (Chalfoun & Carvalho, 2000).

A classificação adotada para a exportação é a seguinte: verde, esverdeada, clara, amarelada e amarela.

2.3.5.8 Armazenamento

O café cru é considerado relativamente estável e, em condições controladas, pode durar anos. Porém, uma vez torrado, retém o auge de seu sabor por, no máximo, duas semanas, na forma de grão inteiro. Após ser moído, seu sabor inicial persiste, no melhor das hipóteses, apenas algumas horas, deteriorando-se rapidamente. Existem opiniões discrepantes sobre o melhor método de armazenar café. Alguns o armazenam em congeladores, enquanto outros preferem manter em um ambiente fresco, de preferência escuro. A disponibilidade de espaço para armazenar, combinada com o uso, ditará o melhor método de armazenamento. Calor e oxigênio são os piores inimigos do café, por isso, o melhor é armazenar em um recipiente hermético (Coffee Talk, 2002).

2.3.5.9 Torração do café

O processo de torração é fundamental no desenvolvimento do aroma e sabor do café. Em geral, a torra é feita a uma temperatura final de 185°C a 240°C, durante 2 a 22 minutos, dependendo do grau desejado de torra. O calor do processo força a saída da umidade do grão e libera uma substância oleosa, geralmente conhecida como “essência de café” ou “óleo de café”. Esta substância, solúvel em água, é que faz a diferença entre uma bebida desagradável e outra nobre (Coffee Talk, 2002; Illy, 2002).

O processo de torra extrai o sabor do café. A maneira como o produto é torrado depende da preferência e da variedade do grão. Durante o processo, a cor dos grãos muda de verde a marrom-dourado e óleos começam a aparecer na superfície dos mesmos. Assume os tons mais escuros, por alterar os açúcares presentes no grão. Uma torra mais prolongada fará com que se chegue a uma cor marrom-escuro ou, ainda, quase preto. Quanto mais torrado, menor a acidez e

menor o teor de cafeína (Coffee Talk, 2002). Por outro lado, existe a torra leve (canela), típica de cafés enlatados e que é utilizada pelos degustadores para melhor observar as características naturais dos grãos (Coffee Talk, 2002).

Os degustadores geralmente reconhecem muitas nuances da torra do café, mas, infelizmente, não concordam na terminologia. Existem inúmeros tipos de café produzidos por mistura de grãos, visando redução de custos, qualidade, preferências, etc. Generalizando, o consumidor ocidental tem preferência por cafés mais escuros, enquanto o oriental tem predileção pelo tradicional, mais claro (Coffee Talk, 2002).

A torração é um processo pirolítico (induzido pelo calor), fazendo com que a água retida nas células seja convertida em vapor, promovendo várias reações entre açúcares, proteínas, lipídeos e minerais encontrados no seu interior. O café cru possui aproximadamente 250 espécies moleculares voláteis diferentes, formando o seu aroma, enquanto o torrado possui centenas de compostos (Moreira et al., 2000; Illy, 2002; Franca et al., 2005; Monroy, 2005).

Na torração, sob temperatura alta, os açúcares se combinam com substâncias nitrogenadas, como aminoácidos, peptídeos e proteínas, em um processo chamado reação de Maillard. Os produtos finais, glicosilamina e melanoidinas, de cor marrom e sabor agridoce, produzem o gosto dominante do café, além de dióxido de carbono (até 12 litros por quilograma de café torrado). Concomitantemente, várias moléculas aromáticas menores se formam, dando ao café uma fragrância familiar. As paredes grossas e pouco porosas das células, além da presença de uma camada de óleo, resistem à pressão exercida pelo vapor e pelo dióxido de carbono (Illy, 2002).

Alguns aspectos no grão torrado são considerados pelos classificadores. Por exemplo, a torração do café despulpado é considerada característica, quando a maioria dos grãos apresenta uma película clara e bem nítida no sulco ventral do grão (fenda central) (IBC, 1972) (Figura 3). Quando a retirada da mucilagem

é feita de forma apressada ou é eliminada por processos químicos, esta abertura característica não é observada (Graner & Godoy Jr., 1967).



FIGURA 3 Amostras de café despulpado (a) e cereja descascado, mostrando a abertura típica, após o processo de torração.

2.3.6 Cafés do mundo

O sabor e o aroma do café se devem à combinação de centenas de diferentes compostos e permitem que o produto seja classificado em regiões geográficas distintas. O fato de cafés terem, por exemplo, sabor de uvas, deve-se às condições de cultivo e métodos de processamento específicos. Chuva, exposição à luz solar, condições do solo e procedimentos rígidos de classificação determinam como será o sabor do café. Adicionalmente, o café proveniente de altitudes mais elevadas, pelas sutilezas e nuances do sabor, será mais desejável. Assim, cada região tem características próprias que interferem no sabor, aroma e qualidade do café (Coffee Talk, 2002; Franca et al., 2005).

O Departamento de Agricultura dos EUA classifica o café em quatro categorias geográficas (Coffee Talk, 2002):

- cafés norte-americanos: estes cafés são geralmente fraco/leve a

médio corpo, com sabores vivos. O equilíbrio e a consistência formam uma base excelente para muitas e boas misturas de café;

- América do Sul: médio a encorpado, com acidez moderada;
- África e Arábia: estes cafés são inigualáveis e, a maior parte, desconhecida. Combinam a acidez cintilante de bons cafés com traços florais ou de vinho. Muitos têm um sabor selvagem e exótico. São tipicamente médios a encorpados;
- cafés indonésios: freqüentemente encorpados e suaves, com baixa acidez e gosto térreo. Sua intensidade e abundância fazem com que seja um café de base para misturas.

2.3.7 Fundamentos da prova de xícara

A prova de xícara é um método para avaliar sistematicamente as características de aroma e sabor de uma amostra de grãos de café. É uma maneira estabelecida de se preparar e conduzir várias etapas específicas na avaliação sensorial completa do olfato, paladar e sensações na boca (Coffee Talk, 2002).

Para este teste, a amostra de café deve estar fria e devem ser feitas de três a cinco repetições, compensando os efeitos da temperatura no sabor básico, além de dar uma impressão mais precisa do gosto global (Coffee Talk, 2002).

No ritual da prova de xícara, é habitual compararem-se duas amostras, lado a lado, para testar a uniformidade ou semelhança. Para uniformidade, três ou quatro amostras do mesmo café seriam experimentadas ao mesmo tempo. Para semelhança, uma ou mais xícaras do mesmo café seriam testadas contra uma amostra padrão (Coffee Talk, 2002).

Se houver um número grande de amostras de café, usualmente o provador cospe a porção do café não engolido em uma cuspeira, para clarear o

paladar para a próxima amostra. A boca pode ser enxaguada com pequenas porções de água morna. O ambiente deve estar livre de interferência externa, particularmente visões, sons e cheiros (Coffee Talk, 2002).

De acordo com Mazzafera et al. (2002), os julgadores, dependendo do treinamento e da frequência com que provam determinados tipos de café ou também da região em que atuam, podem desenvolver habilidades sensoriais distintas. Isso acarreta distorções, fazendo com que, frequentemente, haja discordância entre amostras provadas por diferentes provadores.

Tudo aquilo que pode ser percebido pelo sentido do olfato denomina-se aroma. A combinação de gosto, sensações e aroma confere o sabor.

Existem três componentes principais na percepção sensorial do café: aroma, gosto e sensações bucais. O primeiro, aroma, é reconhecido por padrões apreendidos, assim como acontece com padrões de música, assimilados desde a infância (Coffee Talk, 2002).

O gosto se compara à experiência com as cores, que podem ser identificadas como milhares de tons, mas são, de fato, mistura de três cores primárias. Para o sabor, existem cinco conhecidos: salgado, doce, azedo, amargo e umami (Coffee Talk, 2002; Coutre, 2004).

O último componente na percepção sensorial seria a sensação tátil da boca, reconhecido pela pressão e textura (Coffee Talk, 2002).

Degustadores experientes de café podem distinguir a origem geral dos grãos em uma mistura, simplesmente cheirando e provando o café. Aroma, acidez, corpo e sabor são os fundamentos principais na descrição de café (Coffee Talk, 2002; Pendergrast, 1999). Estas características sensoriais avaliam a presença de componentes subjetivos de qualidade, que é determinada por profissionais especializados na prova da xícara.

Normalmente, a prova de xícara está associada com o propósito econômico, seja na compra ou na mistura de cafés. Assim, os provadores

profissionais executam seriamente os procedimentos e técnicas, que consistem de seis etapas que avaliam: fragrância, aroma, sabor, odor, sabor residual (*aftertaste*) e corpo (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005e).

2.3.7.1 Parâmetros principais da prova de xícara

2.3.7.1.1 Fragrância

A fragrância é avaliada pelo cheiro do café em pó, moído recentemente. Odor doce conduz à prova de acidez e odor pungente conduz a gostos afiados. A intensidade da fragrância indica o frescor da amostra ou o tempo que passou entre a torra e a moagem (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005e).

2.3.7.1.2 Aroma

O aroma é o odor formado ao verter-se água quase fervente sobre o café moído e, depois, agitado com uma colher longa, aspirado vigorosamente, levando os gases formados para a cavidade nasal. Esta ação de cheirar mede o caráter aromático da amostra, que é variado (frutas, ervas, nozes, chocolate, animal, queimado e vinho, entre outros) (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005e), classificando o café como deficiente, fraco, delicado, moderado, forte ou agradável e típico em caráter.

2.3.7.1.3 Sabor

Com uma colher arredondada, normalmente utilizada para a prova de xícara, com capacidade para 8 a 10mL de fluido e prateada para dissipar rapidamente o calor, coletam-se porções de 6 a 8mL da bebida de café, sorvendo-a vigorosamente na boca. A aspiração rápida esparrama o fluido na

superfície da língua e, assim as terminações nervosas respondem simultaneamente às sensações doce, salgada, azeda, amarga e umami, permitindo uma modulação completa do gosto (Coffee Talk, 2002; Coutre, 2004; ICO, 2005e).

A impressão total de aroma, acidez e corpo classifica o café em forte, bom, agradável (saboroso) ou pobre.

Sabores específicos podem sugestionar temperos, chocolate, nozes ou algo menos nobre, como palha, grama, terra, borracha, etc.

2.3.7.1.4 Odor

Simultaneamente ao gosto, a bebida do café é analisada quanto ao odor. A aspiração da bebida faz com que haja uma aeração da mesma, modificando compostos orgânicos regularmente presentes em gases. A ação da aspiração leva estes gases à cavidade nasal (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005e), onde é percebido o odor.

2.3.7.1.5 Sabor residual ou remanescente (*aftertaste*)

A quinta etapa é avaliar o sabor residual da bebida de café. Após reter a bebida por alguns segundos na boca, uma pequena porção é engolida e, rapidamente, a laringe força os vapores restantes na parte posterior do palato para a cavidade nasal (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005e).

2.3.7.1.6 Corpo

Concluindo a prova de xícara, é determinada a sensação tátil da bebida do café na boca, língua e garganta. A sensação de oleosidade mede o conteúdo

de gordura da bebida. O teor de fibras e proteínas determina a sensação de densidade ou viscosidade. Juntas, oleosidade e densidade determinam o corpo da bebida do café (Coffee Talk, 2002; ICO, 2005e). O corpo é mais fácil ser avaliado em café forte.

2.3.7.2 Outras características de definição

Existem vários atributos utilizados para tentar expressar, da melhor maneira possível, os efeitos organolépticos de uma amostra de café. Alguns são utilizados com frequência pelos provadores profissionais, outros são utilizados de acordo com as experiências vivenciadas por cada um e são, às vezes, utilizados individualmente.

Um atributo muito utilizado, a acidez, não deve ser confundido com sabores azedo ou amargo ou nível de pH. Cafés ácidos têm uma qualidade acentuada, agradável e picante, realçando o seu sabor, tornando-o acentuado. Representa a adstringência que acrescenta prazer à bebida.

Outros exemplos de parâmetros (Coffee Talk, 2002):

- equilíbrio: significa que nenhuma qualidade é dominante;
- amargor: gosto desagradável, percebido na parte posterior da língua, normalmente encontrado em cafés supra-extraídos, supratorrados ou com defeitos de sabor;
- amanteigado: descreve o tato amanteigado criado na boca pelos óleos e gorduras transferidos do grão à bebida;
- canela: aroma subjacente picante do café, às vezes, presente em torra mais clara;
- complexidade: descreve sabores trocados e sensações múltiplas simultâneas;
- luz: qualifica aroma, acidez ou corpo; um café claro seria de sabor

delicado;

- suave, completo, equilibrado: café para apreciação; sugerindo acidez média ou baixa;
- rico: termo frequentemente utilizado para indicar profundidade e complexidade de sabor e corpo;
- picante: diz-se de aroma bom ou sabor sugestivo de temperos;
- forte: tecnicamente, refere-se à intensidade da presença de vários defeitos de gosto e virtudes ou à proporção relativa de café solúvel em uma determinada bebida de café. Utilizado também quando se refere ao sabor de grãos com torra escura ou incorretamente associado ao alto teor de cafeína;
- doce ou macio: diz-se de um café suave, saboroso, livre de defeitos ou aspereza;
- vinháceo: um sabor desejável remanescente de vinho fino. Às vezes indica corpo denso e qualidade branda, mas também é usado para denotar excitante. Característica de certos bons cafés, particularmente café queniano.

2.3.8 Química do café - aroma

O aroma de um café é responsável por todos os atributos de sabor diferente da textura e gostos que são percebidos pela língua. Pode-se dizer que o aroma é o atributo mais importante para um café especial (Griffin, 2005).

O aroma é percebido por dois mecanismos diferentes: ao cheirar o café pelo nariz ou pela percepção retronasal. Esta última acontece quando são liberadas combinações voláteis aromáticas do café presente na boca ou que é engolido (Griffin, 2005).

O número de combinações aromáticas encontradas no café aumenta a

todo ano, devido à descoberta de métodos analíticos novos e mais precisos. Atualmente, ultrapassa a mil o número de compostos conhecidos. A percepção de aroma depende da concentração dos compostos e seu limiar de odor. Provavelmente, um pequeno grupo de combinações apresenta uma concentração alta e um baixo limiar de odor, compondo a fragrância que se conhece como aroma de café (De Maria et al., 1999; Franca et al., 2005; Griffin, 2005).

O aroma resulta da combinação de centenas de compostos químicos produzidos por reações que ocorrem em três estágios: secagem, torração ou pirólise e fervura (Franca et al., 2005)

Segundo Illy & Viani (2004), o aparecimento dos compostos voláteis no café se deve a:

- reação de Maillard ou de escurecimento não enzimática entre substâncias que contêm nitrogênio (aminoácidos, proteínas, bem como trigonelina, serotonina) e açúcares redutores, hidróxi-ácidos, fenóis entre outras, formando, por condensação, glicosilaminas e ou aminoaldoses e ou aminocetonas;
- degradação de Strecker - reação entre substâncias dicarbonílicas e substâncias aminadas, formando aminocetona que, por sua vez, se condensa, formando pirazinas ou compostos heterocíclicos nitrogenados ou reage com formaldeído para formar oxazóis;
- degradação de aminoácidos individuais, particularmente aminoácidos sulfurados, hidróxi-aminoácidos e prolina, que podem reagir com açúcares reduzidos ou produtos intermediários da reação de Maillard, formando vários compostos voláteis (tiofenóis, tiazóis, alquilpirazinas, pirróis, piridinas e pirrolizinas) importantes no café;
- degradação de trigonelina - formando alquilpiridinas e pirróis;
- degradação de açúcar - dando origem a aroma, substâncias poliméricas escuras e dióxido de carbono;

- degradação de ácidos fenólicos, particularmente o ácido quínico - originando ácido acético;
- degradação secundária de lipídio - formando compostos voláteis;
- interação entre produtos intermediários de decomposição.

Clarke & Macrae (1987) e Sanz et al. (2001, 2002) confirmam que já foram identificados cerca de 150 compostos alifáticos, incluindo compostos carbonílicos e compostos contendo enxofre, compostos alicíclicos (incluindo cetonas), aromáticos benzênicos (fenóis, furanos, hidrofuranos, pirróis, piridinas, quinolinas, pirazinas, quinoxalinas, indóis, tiofenos, tiofenonas, tiazóis e oxazóis).

O grupo dos furanos, considerado o mais predominante dos compostos aromáticos do café, tem odores típicos de caramelo, já que resulta da pirólise de açúcares (De Maria et al., 1999; Griffin, 2005).

As pirazinas constituem a segunda classe mais abundante de compostos que contribuem, no café, para os sabores de torrado, noz, vegetais crus, cereal, terra, batata, carne, bolacha ou torrada. Junto com os tiazóis, as pirazinas têm o mais baixo limiar de odor e, portanto, contribuem significativamente para o aroma de café. Em seguida, existem os pirróis, responsáveis por alguns aromas do café, como doce, caramelo e cogumelo. Reciprocamente, os tiofenóis são conhecidos por terem um aroma carnosos, produzido, talvez, por reações de Maillard entre aminoácidos sulfurados e açúcares. Outros odores encontrados para os tiofenos são os de cebola frita, mel, caramelo, benzeno e, até mesmo, de café. Tiazóis têm uma presença menor no aroma global e são formados pela degradação de açúcar, tendo odores semelhantes ao de carne, vegetais, nozes e matéria torrada (De Maria et al., 1999; Griffin, 2005).

2.3.9 Composição química do café

O grão do café é constituído de casca, mucilagem e sementes, tendo, cada uma destas partes, sua composição química característica. No processamento do fruto, principalmente na secagem, as alterações na composição de cada uma destas partes influenciam na composição das outras e, conseqüentemente, na qualidade do produto final (Chalfoun & Carvalho, 2000). Os processos de armazenamento, torração e classificação são importantes também na composição química dos grãos (Rodrigues et al., 2003)

2.3.10 Composição química da casca

Na casca predominam os carboidratos insolúveis, destacando-se a celulose e hemicelulose que, juntamente com outros compostos (ceras, ligninas, etc.), formam uma barreira protetora contra injúrias e dificultam a saída de água durante a secagem (Chalfoun & Carvalho, 2000).

2.3.11 Composição química da mucilagem

A mucilagem totalmente formada é encontrada quando o fruto atinge o ponto de maturação ideal, ou seja, cereja. Nos frutos verdes, não há mucilagem e, nos frutos muito maduros ou senescentes, há o desaparecimento por fermentação (Carvalho, 1997).

A mucilagem do café é composta, basicamente, de 85% água e 15% de sólidos na forma de um hidrogel insolúvel e coloidal. Da porção de sólidos, 80% correspondem a substâncias pécticas e os 20% restantes aos açúcares (Carvalho, 1997; Silva et al, 2001), entre eles, arabinose, xilose, ramnose, açúcares redutores, e ácidos orgânicos (Feria-Morales, 1990; Oliveira et al., 2001). A mucilagem também apresenta enzimas hidrolíticas e oxidativas, como as

pectinesterases, poligalacturonases, galacturonases, peroxidases e polifenoloxidasas (Amorim & Amorim, 1977; Amorim & Mello, 1991; Wong, 1995).

Esta composição torna a mucilagem um meio adequado ao desenvolvimento de microrganismos e as fermentações que propiciarão alterações nos componentes químicos com produção de compostos que, por difusão, penetram na semente, modificando sua composição, na maioria dos casos, de forma detrimental à qualidade. Estes compostos podem também ser provenientes do metabolismo de fungos, como *Aspergillus* e *Fusarium*, os quais produzem substâncias que se difundem da mucilagem para a semente (Chalfoun & Carvalho, 2000).

2.3.12 Composição química do grão de café (semente)

É a composição química da semente que influencia diretamente na qualidade da bebida do café. Sabe-se que o sabor e o aroma característicos do café devem-se à presença e aos teores de vários constituintes químicos voláteis e não voláteis, destacando-se, entre eles, os ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ésteres, ácidos graxos, compostos fenólicos e também à ação de enzimas em alguns destes constituintes, produzindo compostos que interferem no sabor, no aroma e na coloração (Carvalho, 1997; Chalfoun & Carvalho, 2000; Pimenta, 2003).

Muitos componentes do café cru (café beneficiado) são precursores e ou participam de reações que ocorrem durante o processo de torração e que estão estreitamente relacionados à coloração, sabor e aroma do café torrado (reações de caramelização, de Maillard, oxidação lipídica) (Chalfoun & Carvalho, 2000).

No grão cru, os açúcares se sobressaem, principalmente a sacarose, seguidos das proteínas e ácido clorogênico. Os açúcares e proteínas estão

diretamente envolvidos na reação de Maillard, responsável pela coloração do café torrado e pela produção de compostos voláteis ou fixos relacionados ao sabor e aroma (doçura, caramelo, chocolate, cereal, erva, frutado, azedo, medicinal, etc.) (Carvalho, 1997)

Os principais constituintes químicos do grão de café são: água, proteínas, açúcares, acidez, ácidos graxos, cafeína, compostos voláteis, compostos fenólicos, fibras, pectinas e enzimas (Pimenta, 2003, 2004; Theodoro et al., 2002).

2.3.12.1 Água

A umidade do grão de café chega a 75% do peso total do grão (Franca et al., 2005) ou a, aproximadamente, 50%, considerando-se apenas os grãos despolidos e descascados (Oliveira et al., 2001; Silva et al., 2001). Como anteriormente citado, um dos objetivos do processamento do café é fazer com que a umidade fique em torno de 12%, dificultando o desenvolvimento de microrganismos, para que não haja quebra dos grãos (Martins et al., 2005a; Pimenta et al., 2003, 2004)

Após o processamento do café, o teor de umidade é muito variável, pois é afetado por vários fatores, entre eles: umidade relativa, temperatura de armazenamento, integridade, uniformidade e tamanho dos grãos (Nasser et al., 2001).

2.3.12.2 Proteínas

Os grãos crus são constituídos de 9% a 16% de proteínas (Pimenta, 2003), variação esta devido a fatores como composição inicial do grão, maturação dos frutos, espécie e cultivar. Além destes, o grau de torração

interfere também nos teores de proteínas nos grãos após a torração (Fernandes et al., 2003; Illy & Viani, 2004).

A degradação de proteínas contribui para as características de cor, sabor e aroma do café (Illy & Viani, 2004).

A maioria dos *flavors* característicos do café é proveniente das proteínas que liberam aminas e carbonilas quando suas ligações peptídicas são hidrolisadas em temperaturas inferiores à pirólise, durante a torração (Sivetz & Desroisier, 1979).

As proteínas, peptídeos e aminoácidos se combinam com açúcares, na reação de Maillard, em temperaturas entre 185 °C e 240°C (Illy, 2002), proporcionando a coloração característica do grão torrado (Pimenta, 2003).

2.3.12.3 Açúcares

Os açúcares solúveis são originados da degradação do amido e perfazem de 5% a 10% dos constituintes químicos do café cru (Amorim, 1972; Prete, 1992; Pimenta, 2003; Villela, 2002).

Os monossacarídeos, glicose e frutose, são chamados açúcares redutores por possuírem grupo carbonílico livre, ou potencialmente livre, capaz de se oxidar na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. Os dissacarídeos, que não possuem essa característica, sem sofrerem hidrólise da ligação glicosídica, são denominados de açúcares não-redutores (Martins et al., 2005b).

A sacarose, açúcar não-redutor, é o açúcar livre presente em maior quantidade no café cru e seus teores variam em função da espécie e da variedade do café, além do estágio de maturação, do processamento e das condições de armazenamento (Ky et al., 2000; Trugo et al., 1985; Vilela & Pereira, 1998).

A sacarose não é encontrada no café torrado, pois é perdida rapidamente durante o processo de torração, no caso de torra média ou escura (Ky et al.,

2000). Neste processo, a sacarose é desidratada e hidrolisada, formando açúcares redutores que, por sua vez, também sofrem nova desidratação e polimerização, dando origem a compostos orgânicos voláteis, água e dióxido de carbono (Vitorino et al., 2001).

Os açúcares contribuem para a doçura, que é uma característica desejável na bebida do café (ICO, 1991), além de contribuírem com importantes reações químicas durante a torração, como as reações de Maillard e de caramelização, dando origem a compostos característicos pela formação de aroma, sabor e cor do café (Pereira, 1997).

Segundo Pimenta (1995), é desejável um teor mais elevado de açúcares, pois isso indica uma quantidade maior de frutos cerejas e secos/passas, potencializando a qualidade. A presença de grãos defeituosos leva a uma diminuição do teor de açúcares totais (Pereira, 1997).

2.3.12.4 Ácidos graxos

Segundo Miya et al. (1974), o café apresenta um aumento na porcentagem de ácidos graxos livres com o aumento da intensidade de injúrias, como defeitos verdes, ardidos e pretos.

Partículas insolúveis de proteínas ligadas às substâncias graxas formam, quando coado, partículas coloidais que conferem turbidez ao café (Pimenta, 2003).

2.3.12.5 Cafeína

A cafeína constitui mais de 1% a 2% do peso seco dos grãos maduros de café arábica e robusta, respectivamente (Carvalho et al., 1983; Mazzafera & Carvalho, 1991).

A partir da década de 1970, teve início a preocupação de que a cafeína, quando ingerida em grande quantidade, poderia trazer efeitos deletérios à saúde, principalmente para pessoas idosas, aumentando a venda de café descafeinado (Mazzafera & Carvalho, 1991). A primeira obtenção de café descafeinado foi publicada por Roselius e Wimmer, em 1905, na Alemanha, utilizando solventes orgânicos (Katz, 1987). Atualmente, é um processo sofisticado, mas, ainda não é completamente livre de resíduos de solventes, apesar de ser considerado um avanço na qualidade do café (Katz, 1987; King, 1980).

A cafeína possui efeitos fisiológicos, ou seja, é estimulante e bastante estável com a torração, permanecendo quase inalterável com a torração (Illy & Viani, 2004; Pimenta, 2003).

Segundo Illy & Viani (2004), a quantidade de cafeína presente no café é citada como responsável por 10% no seu amargor, não exercendo efeito direto e intenso na qualidade sensorial da bebida. A variabilidade dos teores de cafeína pode ser atribuída tanto à diferença genética quanto ao ambiente, conforme Charrier & Berthaud (1975), sugerindo que mesmo os cafés provenientes de mesmas regiões podem apresentar diferenças.

2.3.12.6 Compostos voláteis

Os compostos voláteis são responsáveis pelo aroma característico da bebida e são produzidos durante a torração do café cru. Na atualidade, cerca de mil componentes já foram detectados e alguns especialistas da área sugerem que dezenas de componentes ainda poderão vir a serem identificados (De Maria et al., 1999).

Vários compostos heterocíclicos têm sido identificados no café torrado; tendo, alguns destes, algum impacto positivo no aroma do café. Outros compostos estão associados ao amargor e ao odor de queimado identificados no

café submetido à torração drástica. Exemplos destes compostos são: furanos, pirróis, oxazóis, tiazóis, tiofenos, pirazinas e piridinas (De Maria et al., 1999; Francis, 2000).

Além dos heterocíclicos, existem compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos, normalmente encontrados em baixas concentrações, o que dificulta seu estudo quantitativo e a avaliação de suas propriedades sensoriais. Desse grupo de compostos, podem ser destacados fenóis, aldeídos, cetonas, álcoois, éteres, hidrocarbonetos, ácidos orgânicos, anidridos, ésteres, lactonas, aminas e compostos contendo átomos de enxôfre (ex. sulfetos e dissulfetos). Vários compostos apresentam, evidentemente, mais de uma função química, dificultando sua classificação (Francis, 2000; Maria et al., 1999).

A composição dos compostos voláteis é enormemente influenciada pelo tipo de torra. As torras americana (fraca), média e forte fornecem diferentes resultados nos teores de compostos voláteis (Nascimento et al., 2003).

Entretanto, as técnicas normalmente empregadas para estimar os valores de compostos voláteis podem apresentar valores inexatos pois, como lembram Amstalden et al. (2001), pode ocorrer mudança na composição das amostras ou alteração nas proporções de voláteis na extração por polímeros.

2.3.12.7 Compostos fenólicos

As classes de compostos fenólicos mais importantes são: a lignina, que fortalece mecanicamente as paredes celulares; os pigmentos flavonóides, que agem como uma proteção contra a radiação ultravioleta e como atrativos para os polinizadores e dispersores de sementes e os taninos, que parecem ter um papel importante na proteção das plantas contra estresses ambientais, como baixa fertilidade do solo e deficiência hídrica (Salgado, 2004).

De acordo com Zucker (1983), a presença dos taninos representa uma

defesa natural contra os herbívoros (taninos hidrolizáveis) e microrganismos patogênicos (taninos condensáveis ou poliflavonóides).

A lignina e os taninos representam os dois tipos de polímeros fenólicos de natureza complexa nos vegetais (Benitez et al., 2003; Ramirez, 1987).

O ácido clorogênico (ACG), atualmente conhecido como ácido 5-cafeoilquínico), é o principal composto fenólico do café e relaciona-se ao sabor adstringente (De Maria & Moreira, 2004).

A descompartimentalização dos fenóis pode levar à sua rápida oxidação pela ação das peroxidases, em resposta a uma infecção. Quando livres no citoplasma, podem ser tóxicos aos patógenos e à própria célula vegetal (Hrazdina, 1994; Isaac, 1992).

Os compostos fenólicos são responsáveis pela adstringência e, quando em quantidades maiores, são associados à diminuição da qualidade, interferindo no seu sabor. Estes compostos, principalmente os ácidos caféico e clorogênicos, exercem ação protetora, antioxidante dos aldeídos. Em qualquer injúria que venha a sofrer (colheita, processamento e armazenamento inadequados), haverá ação das polifenoloxidasas sobre os polifenóis, diminuindo sua ação antioxidante sobre os aldeídos, facilitando a oxidação destes com interferência no sabor e aroma do café após a torração (Clifford, 1999; Pimenta, 2001).

Durante a torração, os compostos fenólicos são gradualmente decompostos, resultando na formação de compostos voláteis do aroma, materiais poliméricos (melanoidinas) e liberação de CO₂ (gás carbônico). O ácido clorogênico é hidrolisado em ácidos caféico e quínico, cujos sabores são mais amargos e adstringentes do que dos outros ácidos, pois seu grupo cíclico é um fenol. Um grande número de compostos fenólicos tem sido identificado em café torrado e alguns deles são originados dos ácidos clorogênicos (Menezes, 1994).

Os compostos fenólicos diminuem gradativamente com o prolongamento na época de colheita, uma vez que os frutos verdes contribuem para elevar o teor

destes compostos (Pimenta, 2002).

2.3.12.8 Fibras

Os polissacarídeos de plantas que revestem as células vegetais são genericamente chamados de fibras ou gomas, conforme sua solubilidade (Buckeridge et al., 2000). Tais polímeros são conceituados como carboidratos complexos que não são digeridos no sistema digestivo humano (Martins, 2005b).

As fibras são importantes na qualidade do café, pois retêm compostos voláteis e dão viscosidade à bebida do café. A viscosidade é um dos atributos que dão corpo ao café (Pinto et al., 1999)

Vários autores mostram diferenças nos teores de polissacarídeos entre cafés arábica e robusta, mas, no trabalho de Fisher et al. (2001), há evidências de que isso poderia ser explicado pela solubilidade destes compostos e a dificuldade apresentada na sua extração, principalmente em relação a arabinogalactanas, que são mais facilmente extraídas em café robusta.

2.3.12.9 Pectinas

As substâncias pécticas são polissacarídeos ácidos com peso molecular elevado, compostas por unidades de ácido D-galacturônico, esterificados em ligações glicosídicas α -1,4 (Fennema, 1993), e praticamente ocorrem em todas as plantas superiores, principalmente sob a forma de protopectina na lamela média e parede celular. Nos frutos, encontram-se nos espaços intercelulares, sendo constituídas por unidades de ácido D-galacturônico, estando presente em grande quantidade nos frutos verdes na forma de protopectina (Wosiack, 1971). É o principal componente estrutural de polissacarídeos da lamela e da parede

celular nos frutos (Flickinger & Drew, 1999). Os grupos carboxílicos dos resíduos de ácido galacturônico podem ser metil esterificados na posição C₆ e acetil esterificados na posição C₂ ou C₃. Formas helicoidais, que são até 50% metil esterificadas, podem formar um gel e condensar por ligações cruzadas com íons cálcio, os quais estão presentes na parede celular primária, formando zonas de junção (*egg-box*). O grau de metil esterificação e peso molecular das pectinas varia de acordo com a espécie de fruto, mas diminui com a maturação. A diminuição do grau de esterificação deve-se à ação da pectinametilesterase e pectinacetilesterase. A degradação dos polissacarídeos pécticos envolve a ação destas enzimas e outras, como é o caso da poligalacturonase, levando ao processo de amolecimento dos frutos (Flickinger & Drew, 1999; Hultin & Levine, 1965; Palmer, 1971).

2.3.12.10 Enzimas

A maioria das plantas contém várias formas de carboidratos, ou como parte da sua estrutura celular, ou como componentes de seus tecidos. As pectinas são exemplos destes carboidratos. Várias enzimas degradam a pectina endógena, contribuindo para o amolecimento de vegetais.

A textura é afetada por enzimas endógenas, as quais hidrolisam o material celular que, em grande parte, é composto de várias formas de carboidratos. Os mais comumente encontrados em plantas incluem celulose, hemicelulose, amido, pectinas e ligninas. Estes carboidratos estão envolvidos na estrutura celular da maioria das plantas e são responsáveis pela textura consistente de frutos jovens e imaturos (Francis, 2000). A pectinametilesterase e a poligalacturonase estão envolvidas nos processos de perda de consistência.

A mudança de coloração também pode ser um processo enzimático, como ocorre com a polifenoloxidase.

2.3.12.10.1 Polifenoloxidase (PFO)

A enzima polifenoloxidase (EC 1.14.18.1) é uma enzima cúprica de elevada importância na determinação dos atributos de qualidade de vários frutos e vegetais. Está correlacionada positivamente com a qualidade da bebida do café, catalizando a oxidação aeróbica de compostos fenólicos, influenciando, principalmente, no sabor e aroma. Esta enzima atua nos polifenóis, diminuindo a ação antioxidante desses compostos sobre aldeídos e facilitando sua oxidação, resultando na produção de quinonas que, por sua vez, agem sobre proteínas, inclusive as próprias polifenoloxidases (Amorim & Silva, 1968; Northmore, 1965; Mazzafera et al., 2002; Robinson & Eskin, 1991).

As polifenoloxidases catalisam duas reações: (1) oxigenação de um fenol para o-difenol e (2) oxidação de um difenol para o-quinona (Francis, 2000).

Vários pesquisadores têm relacionado valores mais elevados desta enzima a cafés de melhor qualidade (Carvalho et al., 1994; Chagas et al., 1996a; Chalfoun, 1996; Malta et al., 2002; Pereira, 1997; Pimenta, 1995, 2000; Rotemberg & Iachan, 1971; Silva et al., 1999), mas, outros autores concordam em que os procedimentos de extração e dosagem da atividade da enzima sejam reavaliados (Francis, 2000; Martins et al., 2005a; Mazzafera et al., 2002; Vitorino et al., 2001).

Goulart (2002) e Mazzafera et al. (2002) sugerem que seja interrompida a oxidação dos fenóis, seguida de sua eliminação do extrato, e se realize o doseamento da atividade enzimática por consumo de oxigênio, por ser mais preciso que o método espectrofotométrico.

As alterações estruturais e deterioração provocam degradação de membranas celulares, facilitando o contato das polifenoloxidases com substratos, alterando cor e densidade dos grãos (Cividanes et al., 1993; Pimenta, 1995, 2003; Vieira et al., 2001). No café, os substratos principais desta enzima são os ácidos clorogênico e caféico (Araújo, 1990).

O índice de coloração de grãos de café beneficiados tem uma relação direta com a qualidade da bebida e, conseqüentemente, com a atividade enzimática da polifenoloxidase (Carvalho et al., 1994). Os grãos de café beneficiados com maior atividade da polifenoloxidase, ou seja, melhor qualidade de bebida (de acordo com certos autores), também possuem maior índice de coloração (Silva et al., 2002).

A mudança de coloração, após injúrias fisiológicas ou mecânicas de frutos e plantas, deve-se a reações oxidativas de compostos fenólicos pela polifenoloxidase (PFO) e os produtos da reação, as o-quinonas, se polimerizam em vários pigmentos escuros (melaninas) e outros compostos polifenólicos. Geralmente, em frutos e hortaliças, este escurecimento é indesejável, além de mudanças no sabor e redução do valor nutritivo. No caso do café, chá e coco, este processo de escurecimento é essencial (Francis, 2000).

2.3.12.10.2 Poligalacturonase (PG)

A poligalacturonase (EC 3.2.1.15) é uma pectinase ou enzima pectolítica, ou seja, é uma das enzimas que degradam as substâncias pécticas constituintes da lamela média (Ahmad & Labavitch, 1980; Balardin, 2005; Fonseca, 1974; Hadfield & Bennett, 1998). Sua atividade é sempre maior durante a fase de maturação (Fennema, 1993).

Com a maturação do fruto, ocorre o amaciamento do mesmo, devido à solubilização da pectina por ação da poligalacturonase (Evangelista et al., 2000). Esta enzima hidrolisa as ligações glicosídicas α -1,4 presentes em ácido poligalacturônico, insolúvel, formando ácidos pécticos, solúveis em água (Awad, 1993; Huber, 1983; Kashyap et al., 2001; Mehri-Kamoun, 2001; Pressey & Avants, 1982).

Existem uma forma endo-PG e duas formas exo-PG, que atuam sobre o

substrato, com típico rompimento aleatório das ligações glicosídicas e rompimento terminal, respectivamente, agindo em pectinas pouco esterificadas. A forma exo-PG induz rápida despolimerização, reduzindo a viscosidade (Hadfield & Bennett, 1998; Konno et al., 1983). A forma endo-PG é mais comum e aparentemente mais eficiente na indução do amolecimento de frutos. A forma exo-PG provoca uma dissolução limitada das pectinas e um amolecimento mais acentuado (Awad, 1993).

Estas enzimas conduzem a uma extensa degradação do carboidrato do substrato, conduzindo à perda significativa de integridade estrutural e à perda concomitante de consistência no produto (Francis, 2000).

Segundo Pimenta (2000), no café, há um aumento significativo desta enzima, com quantidades maiores em frutos secos e passas.

2.3.12.10.3 Pectinametilesterase (PME)

A pectinametilesterase (EC 3.1.1.11) age em cadeias longas e altamente metiladas, hidrolisando o metil-éster das unidades de galactose metiladas, levando à formação de ácido péctico e metanol, mas, com pouca diminuição na viscosidade da pectina (Flickinger & Drew, 1999; Francis, 2000; Grasdalen et al., 1996; Micheli, 2001).

A pectinametilesterase tem uma atividade ótima em pH 7,5 e, para desesterificar uma unidade esterificada, requer, pelo menos, uma unidade de ácido galacturônico livre do grupo metílico. A atuação da pectinametilesterase desmetilando as pectinas faz-se necessária, uma vez que a poligalacturonase torna-se inativa na presença de grupos metílicos. Ela atua provocando a hidrólise glicosídica do ácido péctico (Braverman, 1963).

De acordo com Pimenta & Vilela (2002), a atividade da pectinametilesterase não sofre variação com a antecipação ou o retardamento da

colheita do café.

2.3.12.11 Outros

2.3.12.11.1 Íons potássio

O potássio é o íon mais abundante no café. Nos cafés com injúrias, como os atacados por insetos, apresentam níveis mais altos de lixiviação de potássio, sugerindo características de café de pior qualidade (Cividanes et al., 1993). Frutos verdes contribuem com valores mais elevados de lixiviação de potássio (Pimenta, 1995; Pimenta & Vilela, 2002; Prete, 1992), por não apresentarem membranas celulares bem estruturadas e elevado teor de potássio nas suas células.

Frutos em processos fermentativos também possuem maiores valores de lixiviação de potássio, pelo comprometimento de suas membranas (Pimenta & Vilela, 2002).

O potássio tem sido, há muito tempo, considerado o “elemento da qualidade” em nutrição de plantas, pois melhora a qualidade e aumenta a produção (Malavolta et al., 1997; Zehler et al., 1986).

2.3.12.11.2 Acidez titulável

O valor da acidez titulável está relacionada com a concentração total de ácidos na amostra (Francis, 2000).

Apesar de se apresentarem em pequenas quantidades, os ácidos málico, cítrico, oxálico e tartárico conferem ao café o sabor ácido desejável, conhecido como acidez na avaliação sensorial. Cabe ressaltar, porém, que, em casos de fermentações anaeróbias indesejáveis, provenientes de preparo inadequado do café, os açúcares, tanto da mucilagem quanto da semente, se transformarão em

ácidos acético, láctico, butírico e propiônico, sendo, principalmente os dois últimos ácidos, responsáveis pelo sabor "azedo" ou fermentado do café. Para os provadores de café "gourmet", esta característica, definida como "sour" (azedo), compromete a utilização no mercado deste tipo de café (Coffee Talk, 2002; Ginz & Engelhardt, 2000).

O aumento no grau de torração do café faz com que haja eliminação dos ácidos por degradação (Lopes, 2000; Pádua, 2002).

É um parâmetro que varia em função das condições climáticas durante a colheita e secagem, local de cultivo, tipo de processamento e estágio de maturação (Pimenta, 1995; Souza, 1996).

2.3.12.11.3 pH

O pH indica a concentração de íons hidrogênio não associados e pode ter pequena relação com a acidez titulável de uma solução, que pode conter ácidos fracos ou substâncias tampões (Francis, 2000).

2.3.12.11.4 Sólidos solúveis totais

São constituintes do café que estão diretamente relacionados com o corpo da bebida do café, sendo desejáveis valores mais elevados. Os valores diferem com a espécie, a cultivar, o tipo de processamento, o grau de maturação, a época de colheita, o tipo de torra, o tipo de moagem e o tipo de bebida. Obtêm-se valores mais elevados com maturação mais avançada, torra mais intensa, moagem fina e bebidas de padrão mole (Carvalho Júnior et al., 2003; Mendonça et al., 2005; Pádua, 2002; Pinto et al., 2002; Villela, 2002).

De acordo com Sivetz (1963), citado por Vilela (2002), os sólidos solúveis são constituídos por carboidratos, ácidos voláteis e compostos nitrogenados.

2.3.13 Qualidade

Diversos constituintes físicos, físico-químicos e químicos são diretamente relacionados com a aparência do grão torrado, o sabor e o aroma característicos da bebida do café (Amorim & Silva, 1968). No entanto, ao ser torrado, o café tem a grande maioria dos seus compostos alterados e outros novos formados, gerando uma situação mais complexa que, mesmo técnicas mais modernas, têm falhado na distinção entre cafés de melhor ou pior qualidade (Mazzafera et al., 2002).

A atividade enzimática da polifenoloxidase (PFO) é utilizada como um indicador bioquímico da qualidade do café por vários autores. Assim, poderiam ser diferenciados quatro tipos comerciais da bebida de café, de acordo com sua qualidade (Amorim & Silva, 1968; Chagas et al., 1996a; Chalfoun, 1996; Leite, 1991; Carvalho et al., 1994; Melo et al., 1980; Pereira, 1997; Pimenta, 1995; Silva et al., 1999)

- café riado e rio: atividades inferiores a 55,99 U g⁻¹ de amostra;
- cafés de bebida “dura” - atividades entre 55,99 e 62,99 U g⁻¹ de amostra;
- cafés de bebida “mole” - atividades entre 62,99 e 67,66 U g⁻¹ de amostra;
- cafés de bebida “estritamente mole” - atividades superiores a 67,66 U g⁻¹ de amostra.

Segundo estes autores, os cafés de melhor qualidade de bebida possuem elevada atividade enzimática da polifenoloxidase.

Mas, este parâmetro é contestado por Mazzafera et al. (2002), por serem utilizados métodos tradicionais de extração que não removem os fenóis e nem protegem o extrato protéico da oxidação pelos mesmos, além de utilizarem a espectrofotometria para a determinação da atividade da enzima, que não é ideal nem precisa quando comparada ao método do consumo de O₂.

A determinação da lixiviação de potássio das sementes de café também pode ser usada para distinguir cafés de qualidades diferentes, como descrito por Amorim (1978), que encontrou diferenças significativas na lixiviação de potássio em grãos de café cru que diferiram em qualidade, sendo tanto maior a lixiviação de potássio quanto pior a qualidade do café. Assim, este trabalho indica que diferentes tipos de danos causados às sementes de café, assim como a variação de umidade e ou temperatura, afetam a permeabilidade e estrutura das membranas das células, aumentando a lixiviação de potássio e modificando a sua qualidade.

Os açúcares não parecem afetar a qualidade do café, de modo geral. No entanto, deve ressaltar-se que os açúcares participam de importantes reações químicas que ocorrem durante a torração, como a reação de Maillard e ou caramelização, que serão responsáveis pela formação da cor, sabor e aroma peculiares da bebida (Pereira, 1997). Segundo a *International Coffee Organization* (ICO, 1991), a doçura é uma das características de sabor desejáveis nos cafés gourmets e a presença de certos compostos orgânicos no café cru pode servir de padrão na avaliação da qualidade. Ainda é discutível qual deve ser o tipo e concentração de açúcares nos grãos que exerceriam maior influência na qualidade da bebida. No entanto, sabe-se que a sacarose é degradada praticamente quase que em sua totalidade, durante a torração originando açúcares menores, precursores de ácidos e aldeídos, responsáveis pelo aroma. Segundo Amorim et al. (1976) e Chagas et al. (1996b), cafés de melhor qualidade de bebida possuem teores mais elevados de açúcares. Os açúcares totais do grão de café beneficiado possuem um teor em torno de 8%, segundo Navellier (1970) e numa faixa de 5% a 10% proposta por Prete (1992).

2.3.14 Microbiologia

Considera-se um alimento deteriorado aquele lesado por agentes microbianos, químicos ou físicos, tornando-se inaceitável para consumo humano. É uma causa importante de perdas econômicas. Os agentes microbianos que causam deterioração podem ser, principalmente, bactérias e fungos filamentosos, seguidos pelas leveduras. De todos os microrganismos presentes no café, apenas alguns são capazes de se reproduzirem ativamente, fazendo com que, com o tempo, a população heterogênea inicial seja reduzida a uma população mais homogênea e, finalmente, uma ou poucas espécies de microrganismos colonizem todo o alimento. Assim, durante o processo de deterioração, haveria uma seleção da população predominante. Esta seleção seria possível de acordo com as condições do alimento, como grau de umidade, temperatura e condições de armazenamento, entre outros (Pisabarro & Solano, 2005).

Todos os alimentos possuem um conjunto de condições, chamado parâmetros intrínsecos, que pode ser influenciado por outro conjunto denominado parâmetros extrínsecos. Os dois grupos de parâmetros exercem uma grande influência no número e tipos de microrganismos que predominam no alimento e sobre suas atividades fisiológicas (Francis, 2000; Pisabarro & Solano, 2005).

Os parâmetros intrínsecos incluem pH, umidade, potencial de oxidação-redução, conteúdo de nutrientes, ocorrência de constituintes antimicrobianos e estruturas biológicas. Os fatores extrínsecos também influenciam de maneira importante, principalmente umidade relativa, temperatura de armazenamento, composição da atmosfera, tempo de armazenamento e incidência de radiações (Francis, 2000).

No caso do café, existem fatores específicos para a biodiversidade de microrganismos que poderão utilizar os frutos e grãos do café como substrato

para o seu desenvolvimento. Exemplos destes fatores são os ambientais (umidade, temperatura, época do ano e população do solo), cultivar do café e tipo de processamento (via úmida ou seca) (Silva et al., 2003).

A aparência, sabor, aroma e valor nutricional, além da segurança, do ponto de vista toxicológico, são fundamentais para a qualidade do café (Chalfoun, 1997).

As contaminações microbianas que podem comprometer a qualidade final do café são oriundas principalmente de práticas inaceitáveis, como colheita de grãos no solo, secagem não uniforme dos grãos ou permanência sob condições de chuva. Além disso, existem, ainda, as condições climáticas antes, durante e após a colheita, adubação, tratamentos fitossanitários, microbiológicos, maturação e cuidados na colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento (Carvalho et al., 1989).

Há uma grande diversidade encontrada pelos pesquisadores, relacionados aos tipos de microrganismos encontrados no café. Isso se deve a vários fatores, como cultivar, local de cultivo, práticas agrícolas, tipo de colheita, tipo de processamento, água utilizada para transporte e processamento dos grãos, condições de secagem, condições e tempo de armazenamento entre outros (Camargo et al., 1992; Viana et al., 1997).

Em amostras de café colhidas em 15 fazendas, nos estágios cereja, passa, seco e colhidos no chão, Silva et al. (2000) encontraram 44 gêneros, incluindo 32 espécies de bactérias, 24 de leveduras e 8 de fungos filamentosos.

Conforme os autores Ahmad & Magan (2002), Batista (2005), Bitancourt (1957), Pandey et al. (2000) e Silva et al. (2000), os microrganismos mais citados são:

- fungos filamentosos: *Absidia*, *Aspergillus*, *Aspergillus niger*, *Ceratocystis fimbriata*, *Cladosporium*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Eurotium*, *Fusarium stilboides*, *F. semitectum*, *F.*

moniliforme, *Gibberella fujikuroi*, *L. edodes*, *Mucor*, *Penicillium* sp., *P. crustosum*, *P. restrictum*, *P. implicatum*, *P. citrinum*, *Pleurotus* sp., *P. ostreatus*, *P. chrysosporium*, *Rhizopus* sp., *Syncephalastrum*, *Trichoderma* sp., *T. harzianum*, *T. viride*, *Volvariella volvacea*;

- leveduras: *Arxula*, *Candida*, *C. lambica*, *C. famata*, *C. colliculosa* e *C. guillermondii*, *Cryptococcus laurentii*, *C. albidus*, *Pichia*, *Pachysolen tannophilus*, *P. verrucosum*, *Saccharomycopsis*;
- bactérias: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, , *Brochothrix Cedecea*, *Cellulomonas*, *Chromobacterium*, *Citrobacter*, *Dermabacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* e *Tatumella*.

2.3.15 Fermentação

Para evitar fermentação indesejável da polpa, o café deve ser processado imediatamente após a colheita.

Após o despulpamento, os grãos, ainda com mucilagem, são fermentados para que haja degradação da mesma. Subseqüentemente, os grãos são lavados para retirar a mucilagem remanescente e, depois, submetidos à secagem até alcançar umidade em torno de 12%. A retirada da mucilagem permite uma secagem mais rápida e melhora a aparência dos grãos.

A fermentação é feita em grandes tanques, com os grãos imersos em água. Neste processo, o pH diminui devido à exposição de grupos carboxila da pectina, durante sua degradação e, segundo alguns autores, à produção de ácidos pelos microrganismos presentes.

A duração da fermentação pode ser alterada com a cultivar do café, maturação dos frutos, temperatura, pH, concentração de íons, população de

microrganismos e aeração (Arunga, 1982).

Fermentação não controlada pode levar à produção de sabor e aroma indesejáveis.

O fruto do café maduro contém, especialmente no mesocarpo mucilaginoso, açúcares simples, polissacarídeos, minerais, proteínas e lipídeos, entre outros compostos, constituindo-se um excelente meio de cultura para o crescimento de bactérias, fungos filamentosos e leveduras (Amorim & Silva, 1968).

Vários pesquisadores têm investigado a microbiota do café durante o processo de fermentação e atribuíram a quebra de pectina a diferentes grupos microbianos (Castelein & Pilnik, 1976; Frank et al., 1965; Silva, 2000; Van Pee & Castelein, 1972; Vaughn et al., 1958; Wosiacki, 1971).

No entanto, Avallone et al. (2001, 2002) pesquisaram microrganismos pectinolíticos durante o processo de fermentação de café e notaram não haver um aumento significativo destes e, mesmo, não haver atividade enzimática eficiente para degradar pectinas altamente esterificadas. Concluíram que não há despolimerização de substâncias pécicas por microrganismos pectolíticos ou, se ocorre, é desprezível. Segundo estes autores, o crescimento microbiano é necessário não para a produção de enzimas, mas para acidificação do meio pela produção de metabólitos, como ácidos orgânicos (lático e acético). Sugeriram, ainda, que poderiam ser utilizadas cepas de microrganismos sabidamente produtoras de ácido lático para padronizar o produto fermentado.

Dentre as bactérias presentes na fermentação do café, incluem-se as produtoras de ácido lático dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*, as bactérias coliformes dos gêneros *Aerobacter* e *Escherichia*, além de *Erwinia* e *Bacillus*. Dentre os fungos, foram isolados *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Muitas leveduras foram isoladas, porém, sem atividade pectinolítica. Ainda, em relação às bactérias, Arunga (1982) afirma que existem

indícios de que espécies do gênero *Erwinia* sejam importantes na produção de enzimas pectinolíticas, mas, isso é contestado por Avallone et al. (2001, 2002).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, A. E.; LABAVITCH, J. M. Cell wall metabolism in ripening fruits. **Plant Physiology**, Rockville, v. 65, n. 5, p. 1009-1013, May 1980.

AHMAD, R.; MAGAN, N. Microfloral contamination and hydrolytic enzyme differences between monsooned and non-monsooned coffees. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 34, n. 4, p. 279-282, Apr. 2002.

AMARAL LAPA, J. R. **A economia cafeeira**. 6. ed. São Paulo: Brasiliense, 1998. 120 p.

AMORIM, H. V. **Aspectos bioquímicos e histoquímicos do grão de café verde relacionados com a deterioração da qualidade**. 1978. 85 p. Tese (Livre-Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

AMORIM, H. V. **Relação entre alguns compostos orgânicos do grão do café verde com a qualidade da bebida**. 1972. 136 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

AMORIM, H. V.; AMORIM, V. L. Coffee enzymes and coffee quality. In: ORY, R. L.; St ANGELO, A. J. (Ed.) **Enzymes in food and beverages processing**. Washington: ACS, 1977. p. 27-56. (Symposium Series, 47).

AMORIM, H. V.; LEGENDRE, M. G.; AMORIM, V. L.; ANGELO, A. J. S.; ORY, R. L. Chemistry of Brazilian green coffee and the quality of the beverage: VII. Total carbonyls, activity of polyphenol oxidase, and hydroperoxides. **Turrialba**, San José, v. 26, n. 2, p. 193-195, abr./jun. 1976.

AMORIM, H. V.; MELLO, M. Significance of enzymes in non alcoholic coffee beverage. In: FOX, P. F. (Ed.) **Food Enzymology**. Amsterdam: Elsevier, 1991. 378 p.

AMORIM, H. V.; SILVA, D. M. Relationship between the polyphenol oxidase activity of coffee beans and the quality of the beverage. **Nature**, London, v. 219, n. 5152, p. 381-382, 1968.

AMSTALDEN, L. C.; LEITE, F.; MENEZES, H. C. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução / espectrometria de massas empregando um amostrador automático de "headspace". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 123-128, jan./abr. 2001.

APHA - American Public Health Association. **Metodos normalizados para el analisis de águas potables y residuales** (II parte). 17. ed. New York: APHA, 1988. cap. 4, p. 183.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18. ed. Washington: American Public Health Association, 1992.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 16. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1985.

ARAÚJO, J. M. A. **Escurecimento enzimático em alimentos**: aspectos químicos e controle. Viçosa: UFV, 1990. 12p.

ARMSTRONG, J. W.; MCHUGH, T. H.; OLSEN, C. W.; LEESCH, J. G.; TEBBETS, J. S.; CAVALETTO, C. G.; BITTENBENDER, H. C. S. Ozone vacuum fumigation as a methyl bromide alternative for green coffee. In: INTERNATIONAL RESEARCH CONFERENCE ON METHYL BROMIDE ALTERNATIVES, 1., 2003, San Diego. **Proceedings...** San Diego, California, 2003. p. (63-1)-(63-2).

ARUNGA, R. O. Coffee. In: ROSE, A. H. (Ed.). **Fermented Foods**. London: Academic Press, 1982.

AUSTIN, B. Effectiveness of the ozone for the disinfection of laboratory effluent **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 19, n. 2/3, p. 211-214, 1983.

AVALLONE, S.; BRILLOUET, J. M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J. P. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 2, p. 191-198, Feb. 2002.

AVALLONE, S.; BRILLOUET, J. M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J. P. Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. **Current Microbiology**, New York, v. 42, n. 4, p. 252-256, Apr. 2001.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. cap. 7. Textura, p. 93-100.

BALARDIN, R. S. **Fundamentos da resistência em plantas**. 93 p. Disponível em: <http://www.balardin.com.br/adm/arquivos/5_fundderesistencia.pdf>. Acesso em: 25 set. 2005.

BARTHOLO, G. F.; MAGALHÃES FILHO, A. A. R.; GUIMARÃES, P. T. G.; CHALFOUN, S. M. Cuidados na colheita, no preparo e no armazenamento do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, n. 162, p. 33-44, 1989.

BATISTA, L. R. **Incidência de fungos produtores de ocratoxina A em grãos de café (*Coffea arabica* L.) pré-processados por via seca e úmida**. 2005. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BENITEZ, F. J.; ACERO, J. L.; GARCIA, J.; LEAL, A. I. Purification of cork processing wastewaters by ozone, by activated sludge, and by their two sequential applications. **Water Research**, Oxford, v. 37, n. 17, p. 4081-4090, Oct. 2003.

BEUCHAT, L. R.; CHMIELEWSKI, R.; KESWANI, J.; LAW, S. E.; FRANK, J. F. Inactivation of aflatoxigenic *Aspergilli* by treatment with ozone. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 202-205, 1999.

BITANCOURT, A. A. O tratamento das cerejas de café para melhorar a bebida. **O Biológico**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 1-11, jan. 1957.

BORGES, S. S.; KORN, M. Geração sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de carbono. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 558-562, jul./ago. 2002.

BORRELLI, R. C.; ESPOSITO, F.; NAPOLITANO, A.; RITIENI, A.; FOGLIANO, V. Characterization of a new potential functional ingredient: coffee silverskin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 5, p. 1338-1343, Mar. 2004.

- BRAVERMAN, J. B. S. **Introduction to the biochemistry of foods**. Amsterdam: Elsevier, 1963. 336p.
- BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. S.; SANTOS, H. P.; LIMA, D. U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes: estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 137-162, 2000. Edição Especial.
- BULLOCK, G. L.; SUMMERFELT, S. T.; NOBLE, A.; WEBER, A.; DURANT, M. D.; HANKINS, J. A. Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system: I. Effects on bacterial gill disease and heterotrophic bacteria. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 158, n. 1/2, p. 43-55, Dec. 1997.
- BURLESON, G. R.; MURRAY, T. M.; POLLARD, M. Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. **Applied Microbiology**, Washington, v. 29, n. 3, p. 340-344, 1975.
- BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, Amsterdam, v. 35, n. 2/3, p. 279-284, 2002.
- CAMARGO, A. P.; SANTINATO, R.; CORTEZ, J. G. Aptidão climática para a qualidade da bebida nas principais regiões cafeeiras de arábica no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 18., 1992, Araxá-MG. **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro: IBC, 1992. p. 70-74
- CARDOSO, C. C.; VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; FIORINI, J. E.; AMARAL, L. A. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 59-61, jan./abr. 2003.
- CARVALHO JÚNIOR, C.; BORÉM, F. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; SILVA, F. M. Influência de diferentes sistemas de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.). **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1089-1096, set./out. 2003.
- CARVALHO, A.; SONDAHL, M. R.; SLOMAN, C. Teor de cafeína em seleções de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Poços de Caldas. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1983. p. 111-113.
- CARVALHO, V. D. **Qualidade do café**. Lavras: Faepe-UFLA, 1997. 37 p.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. de R.; CHALFOUN, S. M.; BOTREL, N.; JUSTE JR., E. S. G. Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e a qualidade de bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 449-454, mar. 1994.

CARVALHO, V. D.; CHALFOUN, S. M.; CHAGAS, S. J. R. Relação entre classificação do café pela bebida e composição físico-química, química e microflora do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p. 25-26.

CASTELEIN, J. M.; PILNIK, W. The properties of the pectatylase produced by *Erwinia dissolvens*, a coffee fermenting organism. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 9, p. 277-283, 1976.

CHAGAS, S. J. R.; CARVALHO, V. D.; COSTA, L. Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 8, p. 555-561, ago. 1996a.

CHAGAS, S. J. R.; CARVALHO, V. D.; COSTA, L.; SILVA, E. B. Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios da região da Zona da Mata. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 22., 1996, Lindóia. **Trabalhos apresentados...** Lindóia, 1996b. p. 47-48.

CHALFOUN, S. M. **O café (*Coffea arabica* L.) na Região Sul de Minas Gerais:** relação da qualidade com fatores ambientais, estruturais e tecnológicos. Lavras, 1996. 171 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro:** importância, identificação e métodos de controle. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 96 p.

CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. D. Colheita, preparo e armazenamento. In: GUIMARÃES, R. J. (Coord.). **Cafeicultura:** tecnologias de produção, gerenciamento e comercialização. Lavras: UFLA, 2000. 1CD-Rom.

CHAPAGAIN, A. K.; HOEKSTRA, A. Y. **The water needed to have the Dutch drink coffee.** Delft, Holanda: UNESCO-IHE, Aug. 2003. Value of water research report series, n. 14.

CHARRIER, A., BERTHAUD, J. Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. **Café Cacao Thé**, Paris, v. 19, n. 4, p. 251-264, oct./dic. 1975.

CIVIDANES, F. J.; NAKANO, O.; MELO, M. Avaliação da qualidade de frutos de café atacados por *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 2, p. 220-225, jun./set. 1993.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee: technology**. London: Elsevier, 1987. v. 2.

CLAY, J. **World agriculture and the environment: a commodity-by-commodity guide to impacts and practices**. Washington: Island Press, 2003. 282 p.

CLIFFORD, M. N. Chorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science and Food Agriculture**, London, v. 79, n. 3, p. 363-372, Mar. 1999.

COFFEE TALK. **The New Java U**. Vashon, WA, USA: Coffee Talk, 2002. 280p. p. 23-49 (The world of coffee). Disponível em <<http://www.coffeetalk.com/2%20The%20World%20of%20Coffee.pdf>> Acessado em 10 de julho de 2005.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Cafés do Brasil: safra 2003/2004. 1ª estimativa (pós-florada)**. Dezembro/2002. 3. ed. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, abr. 2003. 10p.

COUPLAND, J. N. Low intensity ultrasound. **Food Research International**, Amsterdam, v. 37, n. 6, p. 537-543, 2004.

COUTRE, J. Capturing the captivating aroma of coffee. In: NESTLÉ RESEARCH CENTER. **The fountain of knowledge: research for nutrition, health and wellness**. Vers-Chez-Les-Blancs, Suíça: Nestlé Research Center, Oct. 2004. p. 24-25. Disponível em: <http://www.research.nestle.com/NR/rdonlyres/74F4E727-E0BE-4E03-9F54-822A587EAAD3/0/nrc_brochure_en.pdf>, Acesso em: 04 out. 2005.

DATTA, N. Food 4002 **Emerging Food Technologies and Biotechnology Lectures Notes**. Ultrasonication. Disponível em <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>. Acesso em: 16 out. 2002

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Métodos para análise de ácido clorogênico. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 586-592, jul./ago. 2004.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 209-217, mar./abr. 1999.

EBRINGEROVA, A.; HROMADKOVA, Z. Effect of ultrasound on the extractibility of corn bran hemicelluloses. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 225-229, Sept. 2002.

ELIAS, L. G. Composición química de la pulpa de café y otros subproductos. In: BRAHAM, J. E.; BRESSANI, R. **Pulpa de café: composición, tecnología y utilización**. Bogotá, Colombia: CIID, 1978. p. 19-29.

ENTEZARI, M. H.; NAZARY, S. H.; KHODAPARAST, M. H. H. The direct effect of ultrasound on the extraction of date syrup and its micro-organisms. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 11, n. 6, p. 379-384, Sept. 2004.

EVANGELISTA, R. M.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Influência da aplicação pré-colheita de cálcio na textura e na atividade das enzimas poligalacturonase, pectinametilsterase e B-galactosidase de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 174-181, dez. 2000. Edição Especial.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Agricultural Data 2003**. 2004. Disponível em: <<http://apps.fao.org>> Acessado em 3 dezembro de 2004.

FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais. Café: mais sabor, qualidade e tecnologia em Minas Gerais. **Minas Faz Ciência**, Belo Horizonte, n. 8, set./dez. 2001. Disponível em <<http://revista.fapemig.br/materia.php?id=147>>. Acesso em: 20 ago. 2005.

FDA - U. S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies: ultrasound**. Jun. 2000. disponível em <<http://www.unusualresearch.com/GovLab/FDA/ift/ift-us.html>>. Acesso em: 07 fev. 2005.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. 1100 p.

FERIA-MORALES, A. M. **Changes in cup quality when using innovate field practices**. London: International Coffee Organization, 1990. p. 2-8.

FERNANDES, S. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; PINTO, N. A. V. D.; NERY, M. C.; PÁDUA, F. R. M. Constituintes químicos e teor de extrato aquoso de cafês arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*Coffea canephora* Pierre) torrados. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1076-1081, set./out. 2003.

FISCHER, M.; REIMANN, S.; TROVATO, V.; REDGWELL, R. J. Polysaccharides of green arabica and robusta coffee beans. **Carbohydrate Research**, Oxford, v. 330, n. 1, p. 93-101, Jan. 2001.

FLICKINGER, M. C.; DREW, S. W. (Ed.). **Encyclopedia of bioprocess technology**: fermentation, biocatalysis, and bioseparation. New York: J. Wiley, 1999. 5v.

FLOROS, J. D.; LIANG, H. Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 12, p. 79-84, Dec. 1994.

FONSECA, H. **Bioquímica de alimentos**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 249 p.

FRANCA, A. S.; MENDONÇA, J. C. F.; OLIVEIRA, S. D. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 38, n. 7, p. 709-715, Nov. 2005.

FRANCIS, F. J (Ed.). **Encyclopedia of food science and technology**. 2. ed. New York: Wiley, 2000. 2907 p.

FRANK, H. A.; LUM, A. N.; DE LA CRUZ, A. S. Bacteria responsible for mucilage layer decomposition in Kona coffee cherries. **Applied Microbiology**, Washington, v. 13, n. 2, p. 201-207, 1965.

GINZ, M.; ENGELHARDT, U. H. Identification of proline-based diketopiperazines in roasted coffee **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 8, p. 3528-3532, Aug. 2000.

GLAZE, W. H. Drinking-water treatment with ozone. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 21, n. 3, p. 224-230, Mar. 1987.

GOULART, P. F. P. **Purificação da polifenol oxidase e avaliação de métodos bioquímicos para aferir a qualidade da bebida do café**. 2002. 80 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 6, p. 72-75, June 1997.

GRANER, E. A.; GODOY JÚNIOR, C. (Coord.) **Manual do cafeicultor**. São Paulo: Melhoramentos, 1967. 320 p.

GRASDALEN, H.; ANDERSEN, A. K.; LARSEN, B. NMR spectroscopy studies of the action pattern of tomato pectinesterase: generation of block structure in pectin by a multiple-attack mechanism. **Carbohydrate Research**, Oxford, v. 289, p. 105-114, Aug. 1996.

GRIFFIN, M. **Coffee Chemistry: Aroma**. Austin, TX (USA): Coffee Research Institute, [20001?] Disponível em:
<<http://www.coffeeresearch.org/science/aromamain.htm>>. Acesso em: 10 jul. 2005.

GUNASEKARAN, S. AND CHIYUNG, A. Evaluating milk coagulation with ultrasonics. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 12, p. 74-78, Dec. 1994.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterililant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, Philadelphia, v. 39, n. 6, p. 256-261, Nov./Dec. 1985.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 37, p. 453-460, 2004.

HADFIELD, K. A.; BENNETT, A. B. Polygalacturonases: many genes in search of a function. **Plant Physiology**, Rockville, v. 117, n. 2, p. 337-343, June 1998.

HICKS, P. A. Postharvest processing and quality assurance for speciality / organic coffee products. In: ASIAN REGIONAL ROUND-TABLE ON SUSTAINABLE, ORGANIC AND SPECIALITY COFFEE PRODUCTION, PROCESSING AND MARKETING, 1., 2001, Chiang Mai, Thailand. **Papers and Abstracts...** Chiang Mai, Thailand: FAO, 2001. Disponível em
<http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/003/x6938e/x6938e05.htm>. Acesso em: 15 out. 2005.

HRAZDINA, G. Compartmentation in phenolic metabolism. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 1, n. 381, p. 8693, 1994.

HUBER, D. J. Polyuronide degradation and hemicelulose modifications in ripening tomato fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 3, p. 405-409, May 1983.

HULTIN, H. O.; LEVINE, A. S. Pectin methyl esterase in ripening banana. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 30, n. 6, p. 917-921, Nov./Dec. 1965.

IBC - Instituto Brasileiro do Café. **Classificação de café**: noções gerais. Rio de Janeiro: IBC/MIC - Ministério da Indústria e Comércio, 1972. 88 p.

IBC - Instituto Brasileiro do Café. **Cultura do café no Brasil**: manual de recomendações. 2. ed. Rio de Janeiro: IBC, 1977. 36 p.

ICO - International Coffee Organization. **Breakdown of exports of arabica and robusta for countries exporting both types of coffee**. May 2005a. Disponível em: <<http://dev.ico.org/prices/ml-a.htm>> Acesso em: 10 jul. 2005.

ICO - International Coffee Organization. **Definitions for the vocabulary to describe the flavour of a coffee brew**. May 2005e. Disponível em: <<http://www.ico.org/vocab.asp>> Acesso em: 10 jul. 2005.

ICO - International Coffee Organization. **Flavour profiles of commercial roasted and ground coffee samples from Brasil**. London, 1991. (Sensory Report).

ICO - International Coffee Organization. **Total production of exporting countries crop years 1999/00 to 2004/05**. May 2005b. Disponível em: <<http://dev.ico.org/prices/po.htm>> Acesso em: 10 jul. 2005.

ICO - International Coffee Organization. **Total production of exporting countries crop years 1999/00 to 2004/05**. May 2005c. Disponível em: <http://www.ico.org/field_processing.asp> Acesso em: 10 jul. 2005.

ICO - International Coffee Organization. **Total production of exporting countries crop years 1999/00 to 2004/05**. May 2005d. Disponível em: <<http://www.ico.org/prices/po.htm>> Acesso em: 10 jul. 2005.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee**: the science of quality. 2. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004. 398 p.

ILLY, E. The complexity of coffee. **Scientific American**, New York, v. 286, n. 6, p. 86-91, June 2002.

ILLY, E. The factors of quality in green coffee beans. In: ASIAN REGIONAL ROUND-TABLE ON SUSTAINABLE, ORGANIC AND SPECIALITY COFFEE PRODUCTION, PROCESSING AND MARKETING, 1., 2001, Chiang Mai, Thailand. **Papers and abstracts...** Chiang Mai: FAO, 2001. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/003/x6938e/x6938e05.htm#bm5.3>> Acesso em: 11 maio 2005.

ISAAC, S. **Fungal and plant interactions**. Cambridge: Chapman and Hall, 1992. 418 p.

JYOTI, K. K.; PANDIT, A. B. Effect of cavitation on chemical disinfection efficiency. **Water Research**, Oxford, v. 38, n. 9, p. 2249-2258, May 2004.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 215-227, May 2001.

KATZ, S. N. Decaffeination of coffee. In: Clarke, R. J.; MACRAE, R. C. (Ed.) **Coffee: technology**. London: Elsevier, 1987. v. 2.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, Sept. 1999.

KING, C. J. **Separation processes**. New York: McGraw-Hill, 1980. 880 p.

KONNO, H.; YAMASAKI, Y.; KATOH, K. Degradation of pectic polysaccharides extracted from suspension cultures of carrot by purified exo-polygalacturonase. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 61, n. 1, p. 20-26, Jan. 1983.

KUNZ, A.; FREIRE, R. S.; ROHWEDDER, J. J. R.; DURAN, N.; MANSILLA, H.; RODRIGUEZ, J. Construção e otimização de um sistema para produção e aplicação de ozônio em escala de laboratório. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 425-428, maio/jun. 1999.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURAN, S. G. M. N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 78-82, jan./fev. 2002.

KY, C. L.; DOULBEAU, S.; GUYOT, B.; AKAFFOU, S.; CHARRIER, A.; HAMON, S.; LOUARN, J.; NOIROT, M. Inheritance of coffee bean sucrose content in the interspecific cross *Coffea pseudozanguebariae* x *Coffea liberica* 'dewevrei'. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 2, p. 165-168, abr. 2000.

LEE, B. H., KERMASHA, S.; BAKER, B. E. Thermal, ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate. **Food Microbiology**, London, v. 6, p. 143-152, 1989.

LEE, E. K.; GALLAGHER, R. J.; CAMPBELL, A. M.; PRAUSNITZ, M. R. Prediction of ultrasound-mediated disruption of cell membranes using machine learning techniques and statistical analysis of acoustic spectra. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, Piscataway, v. 51, n. 1, p. 82-89, Jan. 2004.

LEESCH, J. G., ARMSTRONG, J. W., TEBBETS, J. S., TEBBETS, J. C. Insect control with ozone gas as an alternative to methyl bromide. In: INTERNATIONAL RESEARCH CONFERENCE ON METHYL BROMIDE ALTERNATIVES, 2004, San Diego. **Proceedings...** San Diego, Nov. 2004. p. (63-1)-(63-2).

LEITE, I. P. **Influência do local de cultivo e do tipo de colheita nas características físicas, composição química do grão e qualidade do café (*Coffea arabica*, L.)**. 1991. 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

LELOUP, V.; GANCEL, C.; LIARDON, R.; RYTZ, A.; PITHON, A. Impact of wet and dry process on green coffee composition and sensory characteristics. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 20., 2004, **Proceedings...** Paris: Association Scientifique Internationale du Café, 2004. p. c304.

LILLARD, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached *Salmonellae* with and without sonification. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 56, n. 8, p. 716-717, Aug. 1993.

LILLARD, H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 12, p. 72-73, Dec. 1994.

LIN, S. H.; YEH, K, 1993. L. In: KUNZ, A.; FREIRE, R. S.; ROHWEDDER, J. J. R.; DURAN, N.; MANSILLA, H.; RODRIGUEZ, J. Construção e otimização de um sistema para produção e aplicação de ozônio em escala de laboratório. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 425-428, jul./ago. 1999.

LINDSEY-WOLCOTT, E. **Coffee for a better world**. Paonia, CO, USA: Wild Forests Forever, 2001. 45p. Disponível em: <<http://www.wild.paonia.com/coffee%20for%20a%20better%20world.pdf>> Acesso em: 10 jul. 2005.

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos de cafés crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MALAVOLTA, E.; HAAG; H. P.; MELLO, F. A. P. **Nutrição mineral e adubação de plantas cultivadas**. São Paulo: Pioneira, 1974. 727 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MALTA, M. R.; SANTOS, M. L.; MELO, F. A. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1385-1390, Sept. 2002.

MANSTEN, S. J.; DAVIES, S. H. R. The use of ozonation to degrade organic contaminants in wastewaters. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 28, n. 4, p. a180-a185, Apr. 1994.

MARIA, C. A. B; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 209-217, mar./abr. 1999.

MARTINS, A. L.; RODRIGUES, M.; PAES, M. H. S. **Império do café: a grande lavoura no Brasil - 1850 a 1890**. 13. ed. São Paulo: Atual, 1998. 98 p. História em documentos.

MARTINS, D. R.; CAMARGO, O. A.; BATAGLIA, O. C. Qualidade do grão e da bebida em cafeeiros tratados com lodo de esgoto. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 1, p. 115-126, 2005a.

MARTINS, M. C. M.; SILVA, C. O.; BUCKERIDGE, M. S.; VIEIRA, C. C. J. Carboidratos na bebida do café preparado sob diferentes processos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 382-386, abr./jun. 2005b.

MASAOKA, T.; KUBOTA, Y.; NAMIUCHI, S.; TAKUBO, T.; UEDA, T.; SHIBATA, H.; NAKAMURA, H.; YOSHITAKE, J.; YAMAYOSHI, T.; DOI, H.; KAMIKI, T. Ozone decontamination of bioclean rooms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 43, n. 3, p. 509-513, 1982.

MATIELLO, J. B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A. W. R.; ALMEIDA, S. R.; FERNANDES, D. R. **Cultura de café no Brasil**: novo manual de recomendações. Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ, 2002. 387 p.

MATOS, A. T.; LO MÔNACO, P. A.; GARCIA, G. O. **Caracterização dos resíduos sólidos e líquidos no processamento dos frutos do cafeeiro**. Viçosa: UFV, [2000?]. Disponível em: <<http://www.ufv.br/poscolheita/aguas/caracterizacao.htm>> Acesso em: 10 jul. 2005.

MAZZAFERA, P.; CARVALHO, A. **A cafeína do café**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1991. (Documentos IAC, 25)

MAZZAFERA, P.; GONÇALVES, K. V.; SHIMIZU, M. M. Extração e dosagem da atividade da polifenoloxidase do café. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 4, p. 695-700, out./dez. 2002

MCCLEMENTS, D. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. **Trends in Food, Science & Technology**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 293-299, Sept. 1995.

MEHRI-KAMOUN, R. Effet de la pectolyase Y-23 et de la cellulase RS sur le rendement en protoplastes viables de *Prunus cerasus* L. "Montmorency". **Biotechnologie Agronomie Societe et Environnement**, Gembloux, v. 5, n. 2, p. 99-104, 2001.

MELO, M.; FAZUOLLI, L. C.; TEIXEIRA, A. A.; AMORIM, H. V. Alterações físicas, químicas e organolépticas em grãos de café armazenados. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 468-471, abr. 1980.

MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 33-44, Jan. 2003.

MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetros bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 239-243, abr./jun. 2005.

MENEZES, H. C. **Variação dos monoisômeros e diisômeros do ácido cafeoilquínico com maturação de café**. 1994. 171 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - UNICAMP, Campinas.

METCALF & EDDY Inc. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. 3. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1991. 349 p.

MICHELI, F. Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. **Trends in Plant Science**, London, v. 6, n. 9, p. 414-419, Sept. 2001.

MILLER, R. G.; KOPFLER, F. C.; CONDIE, L. W.; PEREIRA, M. A.; MEIER, J. R.; RIN GHAND, H. P.; ROBINSON, M.; CASTRO, B. C. Results of toxicological testing of Jefferson parioh plant samples. **Environmental Health Perspectives**, Trianglepk, v. 69, p. 129-139, Nov. 1986.

MIYA, E. E.; GARRITI, R. S.; CHAIB, M. A.; ANGELUCCI, R. S.; FIGUEIREDO, I.; SHIROSE, I. Defeito do café e qualidade da bebida. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 5, p. 417-432, 1973/74.

MIZRACH, A.; GALILLI, N.; ROSENHOUSE, G. Determining quality of fresh products by ultrasonic excitation. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 12, p. 68-71, 1994.

MONROY, G. M. E. R. **Caracterización del aroma del café molido de Puerto Rico mediante la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas (GC/MS)**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Puerto Rico, Puerto Rico.

MORAES, M. H. P.; LUCHESE, R. H. Ochratoxin A on green coffee: influence of harvest and drying processing procedures. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 19, p. 5824-5828, Sept. 2003.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 195-203, mar./abr. 2000.

NASCIMENTO, E. A.; MORAIS, S. A. L.; ROCHA, R. S. Constituintes voláteis de cafés "gourmet" e mole do cerrado do Triângulo Mineiro em função da torra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 282-284, maio/ago. 2003.

NASCIMENTO, L. C.; VEIGA, S. M. O. M.; FIORINI, J. E.; LIMA, L. C. O.; VALLE, R. H. P. Uso de derivados clorados, ozônio e ultra-som na sanificação de água e alimentos: revisão. **Revista de Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 136, p. 48-57, out. 2005.

NASSER, P. P.; CHALFOUN, S. M.; CHALFOUN, I.; MERCER, J. R. Influência da separação de café (*Coffea arabica* L.) de acordo com o tamanho sobre espectro de coloração dos grãos. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória-ES. **Anais...** Brasília-DF: EMBRAPA/MAA, 2001. v. 1. p. 66-67.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Drinking water and health**. Washington: National Academy Press, 1987. v. 7.

NAVELLIER, P. Coffee. In: **Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis**. New York: Wiley, 1970. v. 10, p. 373-447.

NORTHMORE, J. M. Some factors affecting the quality of Kenya arabica coffee. **Turrialba**, San José, v. 15, n. 3, p. 184-193, jul./sept. 1965.

OLIVEIRA, N. M. S. **Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-ozônio em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, R. M.; CARVALHO, E. P.; SILVEIRA, I. A. Influência da diversidade microbiana na qualidade da bebida do café: uma revisão. **Interação**, Curitiba, v. 3, n. 3, p. 15-21, 2001.

PÁDUA, F. R. M. **Composição química e qualidade de diferentes tipos de café torrado e moído durante o armazenamento**. 2002. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PALMER, J. K. The banana. In: HULME, A. C. **Biochemistry of fruits and their products**. New York: Academic Press, 1971, v. 2, cap. 2, p. 65-105.

PALOU, L.; CRISOSTO, C. H.; SMILANICK, J. L.; ADASKAVEG, J. E.; ZOFFOLI, J. P. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 39-48, Jan. 2002.

PALOU, L.; SMILANICK, J. L.; CRISOSTO, C. H.; MANSOUR, M.; PLAZA, P. Ozone gas penetration and control of the sporulation of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* within commercial packages of oranges during cold storage. **Crop Protection**, Oxford, v. 22, n. 9, p. 1131-1134, Nov. 2003.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; BRAND, D.; MOHAN, R.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, Lansanne, v. 6, n. 2, p. 153-162, Oct. 2000.

PENDERGRAST, Mark. **Uncommon Grounds: the history of coffee and how it transformed our world**. New York: Basic Books, 1999. 522 p.

PEREIRA, R. G. F. A. **Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (*Coffea arabica* L.) “estritamente mole”**. 1997. 96 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIMENTA, C. J. **Época de colheita e tempo de permanência dos frutos à espera da secagem, na qualidade do café**. 2001. 145p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PIMENTA, C. J. **Qualidade de café**. Lavras: UFLA, 2003. 297 p.

PIMENTA, C. J. **Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) originado de diferentes frutos colhidos em quatro estádios de maturação**. 1995. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIMENTA, C. J.; CHAGAS, S. J. R.; COSTA, L. Pectinas e enzimas pectinolíticas no café (*Coffea arabica*) em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 1079-1083, out./dez. 2000.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-MG. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1481-1491, dez. 2002. Edição especial.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R.; CARVALHO JUNIOR, C. Componentes de parede celular de grãos de frutos de café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tempos à espera da secagem. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 203-209, abr./jun. 2004.

PINTO, N. A. V. D.; FERNANDES, S. M.; GIRANDA, R. N.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V. D. Avaliação de componentes químicos de padrões de bebida para preparo do café expresso. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 826-829, jul./ago. 2002.

PINTO, N. A. V. D.; SANTANA, M. S.; ALVES, R. L.; PARISI, B. C.; CARVALHO, V. D. Caracterização da fração fibra no café e sua relação com padrões de bebida provenientes de duas cooperativas do sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 25., 1999, Franca - SP. **Resumos...** Rio de Janeiro: MAA/PROCAFÉ, 1999. p. 130-131.

PISABARRO, A. G.; SOLANO, C. **Microbiología general: Guión de Prácticas**. 1er curso de ingenieros agrónomos, curso 2005-2006. Navarra: Unavarra, 2005. Disponível em: <<http://www.unavarra.es/genmic/microgral/manual%20practicas%20micagral.pdf>> Acesso em 28 dez. 2005.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Separation and characterization the exopoligalacturonase and endopoligalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 3, p. 252-256, Sept. 1973.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 6, n. 1, p. 57-74, Mar. 1982.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade de bebida**. 1992. 125 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

PUERTA QUINTERO, G. I. Calidad en taza de las variedades de *Coffea arabica* L. cultivadas en Colombia. **Cenicafé**, Chinchila, v. 49, n. 4, p. 265-278, oct./dic. 1998.

RAMIREZ, J. Compuestos fenólicos en la pulpa de café: cromatografía de papel de pulpa fresca de 12 cultivares de *Coffea arabica* L. **Turrialba**, San Jose, v. 37, n. 4, p. 317-323, oct./dic. 1987.

RASO, J.; PAGAN, R.; CONDON, S.; SALA, F. J. Influence of temperature and pressure on the lethality of ultrasound. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 2, p. 465-471, Feb. 1998.

RESTAINO, L.; FRAMPTON, E. W.; HEMPHILL, J. B.; PALNIKAR, P. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 9, p. 3471-3475, Sept. 1995.

RICE, R. G. **Principles and practices of chemical oxidation in wastewater treatment**. Nashville, Tennessee: p. 13-14, Apr. 1996.

ROBINSON, D. S.; ESKIN, N. A. M. **Oxidative enzymes in foods**. New York: Elsevier Applied Science, 1991. 314 p.

RODRIGUES, M. A. A.; BORGES, M. L. A.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; CORRÊA, P. C. Evaluation of physical properties of coffee during roasting. In: ASAE ANNUAL INTERNATIONAL MEETING/CIGR XVth WORLD CONGRESS, 2003, Chicago. **The CIGR Journal Of Scientific Research And Development**. v. V, Dec. 2003, p. FP 03 004. Disponível em: <<http://cigr-ejournal.tamu.edu/submissions/volume5/FP%2003%20004%20Franca2.pdf>>, Acesso em: 20 abr. 2004.

ROMERO, J. P.; ROMERO, J. C. P. **Cafeicultura prática: cronologia das publicações e dos fatos relevantes**. São Paulo: Ceres, 1997. 400 p.

ROTEMBERG, G. B.; IACHAN, A. Método químico automático para diferenciação de café-bebida. **Revista Brasileira de Tecnologia**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 67-69, jun. 1971.

ROUNSAVILLE, J.; RICE, R. G. Evolution of ozone for the bleaching of paper pulps. **Ozone Science & Engineering**, Boca Raton, v. 18, n. 6, p. 549-566, Jan. 1997.

SALGADO, P. R. **Fenóis totais no cafeeiro em razão das fases de frutificação e do clima**. 2004. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SANZ, C.; ANSORENA, D.; BELLO, J.; CID, C. Optimization headspace temperature and time sampling for identification of volatile compounds in ground roasted arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 3, p. 1364-1369, Mar. 2001.

SANZ, C.; MAEZTU, L.; ZAPELENA, M. ; BELLO, J.; CID, C. Profiles of volatile compounds and sensory analysis of three blends of coffee: influence of different proportions of arabica and robusta and influence of roasting coffee with sugar. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 82, n. 8, p. 840-847, June 2002.

SCANLON, M. G. Editorial: low-intensity ultrasound for food research and the food industry. **Food Research International**, Amsterdam, v. 37, n. 6, p. 535-536, 2004.

SEYMOUR, I. J.; BURFOOT, D.; SMITH, R. L.; COX, L. A.; LOCKWOOD, A. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 547-557, June 2002.

SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F.; DIAS, E. S.; WHEALS, A. E. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 60, n. 2/3, p. 251-260, Sept. 2000.

SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F.; DIAS, E. S.; WHEALS, A. E. Microbiota presente em frutos e grãos de café (*Coffea arabica* L.) despolpado e natural: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, n. 1, p. 22-28, jan./jun. 2003.

SILVA, E. B.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G. Qualidade de grãos de café beneficiados em resposta à adubação potássica. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 173-179, jan./mar. 2002.

SILVA, E. B.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G.; CHAGAS, S. J. R.; COSTA, L. Fontes e doses de potássio na produção e qualidade do grão de café beneficiado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 335-345, mar. 1999.

SILVA, J. S.; RUFATO, S. Determinação da umidade do café. In: SILVA, J. S. (Ed.) **Preparo, secagem e armazenagem de café: tecnologias e custos**. Viçosa: UFV/CBP&D-Café, 2001. 162 p. cap. 5, p. 133-148.

SILVA, J. S.; SAMPAIO, C. P.; MACHADO, M. C.; LO MONACO, P. A. In: SILVA, J. S. (Ed.) **Preparo, secagem e armazenagem de café: tecnologias e custos**. Viçosa: UFV/CBP&D-Café, 2001. 162p. cap. 1, p. 1-60.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 337-341, set./dez. 2003.

SIVETZ, M.; DESROISIER, N. W. **Coffee technology**. Westport, CO: AVI, 1979. 716 p.

SOUZA, S. M. C. **O café (*Coffea arabica* L.) na região Sul de Minas Gerais: relação da qualidade com fatores ambientais, estruturais e tecnológicos**. 1996. 171 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SUMMERFELT, S. T. Ozonation and UV irradiation: an introduction and examples of current applications. **Aquacultural Engineering**, Oxford, v. 28, n. 1/2, p. 21-36, June 2003.

SUSLOW, T. V. **Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops**. Oakland: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 2004. 8 p. Publication 8133.

THEODORO, V. C. A.; GUIMARÃES, R. F.; MOURÃO JÚNIOR, M.; CHAGAS, S. J. R. Alteração da qualidade de grãos de café (*C. arabica* L.) colhidos no pano e no chão, provenientes de sistemas de manejo orgânico, em conversão e convencional. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 38-44, 2002.

TORRES, E. A. F. S.; ROGÊ FERREIRA, A. F.; RÍMOLI, C. D.; OLIVO, R. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

TRUGO, L. C. Carbohydrates. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee: chemistry**. London: Elsevier, 1985. v. 1, cap. 3, p. 83-114.

VAN PEE, W.; CASTELEIN, J. M. Study of the pectinolytic microflora, particularly the Enterobacteriaceae, from fermenting coffee in the Congo. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 37, n. 1, p. 171-174, Jan./Feb. 1972.

VAUGHN, R. H.; CAMARGO, R.; FALLANGE, H.; MELLO AYRES, G.; SERGEDELLO, A. Observations on the microbiology of the coffee fermentation in Brazil. **Food Technology**, Chicago, v. 12, n. 1, p. 12-57, Jan. 1958.

VEIGA, S. M. O. M. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; CARVALHO, E. P.; CARDOSO, C. C.; FIORINI, J. E. Avaliação da eficiência da água potável, água hiperclorada e água ozonizada na redução de microrganismos em carcaça de frango. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SEGURANÇA DE MICROBIOLOGIA DOS ALIMENTOS, 2002, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002a.

VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; CARDOSO, C. C.; CARVALHO, E. P.; FIORINI, J. E. Efeito da água ozonizada sobre as cepas de *Listeria monocytogenes*, *S. typhimurium* e *E. coli* 0157:H7. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002b.

VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; CARVALHO, E. P.; CARDOSO, C. C.; FIORINI, J. E. Eficácia da água ozonizada contra patógenos encontrados em água e alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 95-99, 2003.

VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; CARVALHO, E. P.; CARDOSO, C. C.; FIORINI, J. E. Utilização do ozônio e do cloro como sanitizantes em água de chiller de frangos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SEGURANÇA DE MICROBIOLOGIA DOS ALIMENTOS, 2002, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002c.

VELANO, C. H.; VELANO, H. E.; BARROS, L. H.; NASCIMENTO, L. C.; FERREIRA, L. R.; PANZERI, H. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana da água ozonizada frente a *Escherichia coli*. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CLÍNICA MÉDICA DA UNIFESP-EPM, 1., 2002. São Paulo. **Anais...** São Paulo: UNIFESP, 2002a.

VELANO, C. H.; VELANO, H. E.; BARROS, L. H.; NASCIMENTO, L. C.; FERREIRA, L. R.; PANZERI, H. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CLÍNICA MÉDICA DA UNIFESP-EPM, 1., 2002. São Paulo. **Anais...** São Paulo:UNIFESP, 2002b.

VELANO, H. E.; NASCIMENTO, L. C.; BARROS, L. M.; PANZERI, H. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 18-22, jan./mar. 2001.

VIANA, S. C.; MARTINS, D. N.; PEREIRA, A. A.; MORAIS, C. A. Identificação de bactérias isoladas do mesocarpo mucilaginoso do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997, Rio de Janeiro. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997, v. 1. 344p.

VIEIRA, G.; SILVA, J. N.; VILELA, E. R.; SOUZA E SILVA, J. Avaliação da qualidade de café beneficiado armazenado em silo sem e com aeração e em sacos de juta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 3, n. 1/2, p. 75-90, 2001.

VILELA, E. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Armazenamento e processamento de produtos agrícolas: pós-colheita e qualidade do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 27., 1998, Poços de Caldas. **Anais...** [S. l. : s. n.], 1998. p. 219-274.

VILLELA, T. C. **Qualidade do café despulpado, desmucilado, descascado e natural, durante o processo de secagem**, 2002. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VITORINO, VITORINO, P. F. P. G.; ALVES, J. D.; CHAGAS, S. J. R.; BÁRTHOLO, G. F. Seria a atividade da polifenoloxidase um bom indicativo da qualidade da bebida do café? In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória, ES. **Resumos...** Brasília, DF. Embrapa Café, 2001. p. 1019-1024.

WEBER, W. J.; SMITH, E. H.; Removing dissolved organic contaminants from water. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 20, n. 10, p. 970-979, Oct. 1986.

WONG, D. W. S. **Food enzymes: structure and mechanism**. New York: Chapman & Hall, 1995. 390 p.

WOSIACK, G. **Produção de enzimas hidrolíticas por fungos isolados do café**. 1971. Dissertação (Mestrado em Ciências - Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

YING-SHIH, M.; JIH-GAW, L. Effect of pre-sonication on removal of organic matters resulting from chlorinated humic acids. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 38, n. 6, p. 253-260, Nov./Dec. 1998.

ZEHLER, E.; KREIPE, H.; GETHING, P. A. **Sulfato de potássio e cloreto de potássio: sua influência na produção e na qualidade das plantas cultivadas**. Campinas: Fundação Cargil, 1986. 111 p.

ZUCKER, W. V. Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. **The American Naturalist**, Lancaster, v. 121 n. 3, p. 335-365, 1983.

CAPÍTULO 2

Ozônio e ultra-som: processos alternativos para tratamento e obtenção do café despulpado

1 RESUMO

NASCIMENTO, Luiz Carlos do. **Ozônio e ultra-som: processos alternativos para tratamento e obtenção do café despulpado.** 2006. 172 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Há um crescente interesse em tecnologias que reduzam o tempo de processamento na indústria de alimentos e que também mantenham ou melhorem a qualidade dos mesmos, bem como o aspecto segurança alimentar. Após a água, o café é a bebida mais consumida no planeta, existindo uma demanda crescente por tipos especiais em alguns países importadores, como o café despulpado. Este tipo é obtido pela remoção da mucilagem, ao submeter o café à fermentação, cujo processo é demorado e sofre variações com o clima e a microbiota associada, entre outros fatores, podendo levar ao detrimento da qualidade do produto e, até mesmo, da saúde do consumidor. Assim, faz-se necessário investigar novas tecnologias que possam auxiliar na obtenção de produtos com melhor padronização, qualidade e que ofereçam maior segurança alimentar. O ozônio e o ultra-som, combinados ou não, são tecnologias usadas em diversas áreas, demonstrando, cada vez mais, grande flexibilidade e resultados promissores na obtenção e no tratamento de uma infinidade de alimentos, com substancial redução no tempo de processamento. São conhecidas as potentes características oxidantes e microbicidas de ambos, mas, cujos mecanismos ainda não são bem esclarecidos quando utilizados em tecidos vivos. Seus efeitos sobre os vários parâmetros de qualidade devem ser estudados, compreendidos e ajustados, antes de serem utilizados em larga escala na indústria. No presente trabalho, foi aplicado o ozônio ou o ultra-som como tratamentos prévios à fermentação do café, demonstrando sua eficácia na melhoria da segurança alimentar do café despulpado. Também foram utilizados o ozônio e o ultra-som, combinados ou não, para a remoção de mucilagem do café, como alternativas ao processo de fermentação, com redução do tempo, maior padronização e sem alteração perceptível da qualidade da bebida.

*Comitê Orientador: Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima (orientador), Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli, Dr. João Evangelista Fiorini.

2 ABSTRACT

NASCIMENTO, Luiz Carlos do. **Ozone and ultrasound:** alternative processes for the treatment and obtaining of the fermented coffee. 2006. 172 p. Thesis (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.*

There is a growing interest in technologies that reduce the time of processing in the industry of foods and also maintain or improve their quality, as well as alimentary safety. Coffee is the most widely consumed beverage in the planet, after water, there being a growing demand for special types in some importing countries, such as fermented coffee. This type is obtained by the removal of the mucilage, when coffee is submitted to fermentation, whose process is time-consuming and undergoes variations with the climate and the associated microflora, among other factors, which might reduce the quality of the product, and even jeopardize the consumer's health. Therefore, it is necessary to investigate new technologies that can help the obtainment of products with better standardization, quality, and alimentary safety. Ozone and ultrasound, whether combined or not, are technologies used in several areas, demonstrating great flexibility and promising results in the obtainment and in treatment of many kinds of food, with substantial reduction in the time of processing. The potent characteristics of both are known, as oxidizers and antimicrobial, but their mechanisms still are not well-known when used in living tissues. Their effects on the several quality parameters should be studied, understood and adjusted, before being used in large scale in industry. In the present work, ozone or the ultrasound were used as previous treatments to the coffee fermentation, demonstrating its effectiveness in the improvement of alimentary safety of fermented coffee. Ozone and ultrasound were used, combined or not, for the removal of mucilage of coffee, as alternatives to the fermentation period, with reduction of time, greater standardization and no perceptible change in the quality of the beverage.

* Guidance Committee: Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima (Major Professor), Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli, Dr. João Evangelista Fiorini.

3 INTRODUÇÃO

Cada vez mais se intensifica a demanda por produtos com qualidade diferenciada. O café, por ser um produto consumido mundialmente, tem sua produção vista com atenção e regulamentada por órgãos certificadores, que buscam qualidade não só do produto em si, mas também de onde, como e por quem é produzido. Sabe-se que o café, para ter qualidade assegurada, depende de vários fatores que se estendem desde o local de plantio até o seu consumo.

Desse modo, o café de qualidade depende de muitos fatores, tais como: boas práticas agrícolas, de processamento, de beneficiamento, de armazenamento, de transporte, de industrialização e de consumo.

O café despulpado é um tipo de café especial, apreciado em alguns países do primeiro mundo, que se certificam da qualidade do mesmo para o adquirirem, impondo limites de tolerância cada vez mais restritos. Assim, o café deve ser homogêneo, com características bem definidas de sabor, corpo, doçura, acidez, entre outras, e, principalmente, seguro, em relação ao seu consumo.

A segurança alimentar tem por finalidade a obtenção de alimentos nutricionalmente adequados, seguros e em quantidade suficiente para se ter uma vida ativa e saudável. O café não é considerado um alimento nutritivo, mas, deve-se observar que, após a água, é o líquido mais ingerido no planeta e, por isso, deve haver a preocupação com a sua qualidade. Para tanto, são necessários conhecimentos indispensáveis que venham garantir a sua produção de forma adequada.

Existe uma grande preocupação com microrganismos que afetam os frutos do café, cujos danos se expressam no aspecto, na qualidade, no sabor, na segurança alimentar e no rendimento do produto (Embrapa, 2004), sendo necessária a busca por processamentos que eliminem ou atenuem estes danos.

Com esta preocupação em relação aos alimentos, alguns autores, como Palou et al. (2002) e Suslow (2004), citam determinadas aplicações do ozônio no controle de fungos na pós-colheita de certos vegetais consumidos pelo homem. Alguns autores, utilizando ozônio, reduziram os fungos ou as suas toxinas em alimentos (Kells et al., 2001; Kim et al., 1999; Veiga, 2003) ou em suspensões (Beuchat et al., 1999).

Vários autores citam a questão da ocratoxina (OTA), principal micotoxina encontrada no café, produzida por espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* (Batista et al., 2003; Fung, 2000; ICO, 2002; Mantle & Chow, 2000; Suárez-Quiroz et al., 2004), enfatizando a necessidade de medidas preventivas para evitar a contaminação e ou desenvolvimento de fungos. A OTA não é destruída durante o processo de torração e é totalmente extraída no preparo da bebida do café (Ahmad et al., 2003).

No processo de obtenção do café despulpado (via úmida), o mesmo passa por uma etapa de fermentação (dependente de condições climáticas, tipos de microrganismos, tempo, entre outros), na qual a microbiota se desenvolve, acidificando o sistema e degradando a mucilagem dos grãos de café. Ao retirá-la, há uma redução no tempo de secagem do café com conseqüente redução da deterioração e contaminação microbiana, evitando prejuízo aos produtores e à saúde dos consumidores.

Além dos microrganismos responsáveis pela fermentação do café, existem aqueles que podem causar doenças ou produzir toxinas potentes, justificando a utilização de processos de obtenção do café que evitem ou minimizem estes agravos.

O ozônio e o ultra-som são empregados como tecnologias modernas, reconhecidas por serem eficazes na obtenção de vários alimentos, com redução ou mesmo eliminação de microrganismos, além de melhorarem as condições de processamento de muitos produtos, atendendo às novas tendências de mercado.

Como tecnologias emergentes, há a necessidade de estudos aprofundados para seu emprego, buscando melhores padronização e quantificação.

O Brasil, como líder mundial na produção e exportação de café, além de grande consumidor do produto (Androcioni Filho, 1994), deve atender às exigências do mercado internacional por cafés de melhor qualidade, buscando e adotando novas tecnologias de produção.

À vista disso, foi objetivo deste trabalho avaliar o emprego do ozônio e do ultra-som em tratamentos prévios à fermentação e também como alternativas ao processo de fermentação para a retirada de mucilagem dos grãos de café, visando melhorar a padronização e a obtenção de café sem mucilagem, bem como avaliar as amostras de café tratadas quanto aos aspectos microbiológicos, físico-químicos, químicos e sensoriais, para se certificar da viabilidade do emprego de tais tecnologias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG; no Laboratório de Produtos Vegetais I do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG e com a colaboração da empresa White Martins Gases Industriais S/A., da Ipanema Agroindústria Ltda. e da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

4.1 Material

4.1.1 Café

As amostras de grãos de café tiveram como procedência a Fazenda Conquista, de propriedade da Ipanema Agrícola S.A., sediada em Alfenas, MG. Em cada experimento, foram utilizados aproximadamente 50 kg de amostras de café arábica, estágio cereja, cultivar Catuaí Amarelo, colhidas, separadas e descascadas mecanicamente na própria fazenda. O transporte foi feito em frascos plásticos, com capacidade para 50 litros, lavados com água ozonizada. Para evitar a fermentação das amostras, estas foram levadas ao laboratório, distante aproximadamente 20 km, onde foram processadas imediatamente.

4.1.2 Água

A água utilizada em todos os experimentos era proveniente da própria fazenda, que é captada no Lago de Furnas e armazenada em um grande tanque, sem nenhum tratamento. Essa mesma água é utilizada pelo produtor na lavagem

e fermentação do café.

Para o transporte da água até o laboratório, foram utilizados frascos plásticos com capacidade para 50 litros, lavados com água ozonizada.

4.2 Aparelhagem

4.2.1 Gerador de ozônio

Para a produção de ozônio, foram utilizados um gerador de ozônio (Ozone, EAS 30-UV), um cilindro de oxigênio, válvulas redutoras de pressão, fluxômetros e manômetros, além de outros aparatos necessários resistentes à ação do ozônio, fornecidos pela empresa White Martins Gases Industriais.

O gerador tem a capacidade nominal de gerar 10,0g/h de ozônio, na proporção de 3% p/p da mistura de ozônio/oxigênio, com pressão de entrada de oxigênio e vazão constantes (4,2 litros/minuto a 1,0 kgf cm⁻² de pressão). Nos experimentos, foram utilizadas 5,0 litros/minuto a 0,5 kgf cm⁻² de pressão, com produção de ozônio em torno de 6,88g h⁻¹. Na saída do gerador foi adaptado um tubo de poliuretano (*PolyFlow*), ao qual foi acoplado um espargidor (difusor) em aço inox sinterizado (Figura 4), com a finalidade de produzir de bolhas finas.

Para se certificar da produção e da concentração de ozônio, foram utilizadas amostras de água com volume de 50 litros, em frascos plásticos, ozonizadas por 30 minutos. Após este período, alíquotas foram analisadas, estabelecendo-se, após a revisão dos trabalhos de Veiga (2003) e Oliveira (2005), uma concentração mínima de 3,5 mg L⁻¹ de ozônio dissolvido na água para serem iniciados os tratamentos dos grãos com este gás.

4.2.2 Cuba ultra-sônica

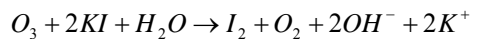
Durante os experimentos com emprego do ultra-som, foi utilizada uma

cuba lavadora ultra-sônica, em aço inoxidável, marca Sercon, modelo USC 5080, com frequência de 37 kHz (Figura 5) e temperatura ambiente, cedida pela Universidade de Alfenas e White Martins Gases Industriais S/A.

4.3 Determinação da concentração de ozônio

Durante os experimentos, a concentração de ozônio foi verificada pelo método iodimétrico, de acordo com APHA (1992), utilizando-se material e reagentes, como descrito a seguir.

O ozônio reage estequiometricamente para formar uma quantidade equivalente de iodo:



O iodo formado é titulado com tiosulfato de sódio, utilizando o amido como indicador para acentuar o ponto final de viragem (APHA et al., 1985).

Para a determinação da concentração de ozônio, foram adicionados 10mL de ácido sulfúrico 1,0N e 4 mL de iodeto de potássio 2% a um volume de 100mL de amostra de água coletada durante os experimentos. Foi feita a titulação utilizando-se amido como indicador e tiosulfato de sódio 0,1N até a coloração desaparecer. Este procedimento mensura o ozônio residual, que é capaz de liberar iodo do iodeto de potássio.

4.4 Modelos experimentais

Todas as amostras receberam números aleatórios de três algarismos, obtidos em uma tabela de números aleatórios (Haahr, 1999).

4.4.1 Processamento inicial

Nos tratamentos, foram utilizados 8 kg de café para cada amostra e água até completar o volume de 10 litros. Para evitarem-se variáveis, todos os tratamentos com ozônio e ultra-som foram realizados na cuba ultra-sônica, a qual possui volume de 10 litros.

Durante os tratamentos, em intervalos regulares, foram verificados o pH e a temperatura de cada sistema.



FIGURA 4 Gerador de ozônio (a, b), cilindro de oxigênio com reguladores de pressão, manômetros e fluxômetro (c); difusor sinterizado (d). Cortesia White Martins Gases Industriais, Alfenas, 2005.



FIGURA 5 Cuba ultra-sônica em aço inoxidável, adaptada com saídas de água e degasagem. Cortesia White Martins Gases Industriais e Universidade de Alfenas, Alfenas, 2005.

4.4.1.1 Fermentação (controle)

Amostras de café foram colocadas em recipientes plásticos com capacidade para 10 litros, em porções de 8 kg, cobertas com água até completar o volume total, ficando em ambiente isolado do laboratório para que ocorresse fermentação (Figura 6). O tempo de fermentação foi estipulado em 24 horas (Coffee Talk, 2002; ICO; 2005; Hicks, 2001).

Estas amostras, que passaram apenas pelo processo de fermentação, sem tratamento prévio, foram denominadas amostras controle.

4.4.1.2 Processamento com ozônio seguido de fermentação

As amostras de café foram colocadas na cuba ultra-sônica, cobertas com água até o volume de 10 litros e, no fundo da cuba, foi colocado um difusor de ozônio, acoplado à extremidade da saída do gerador de ozônio, com a finalidade de produzir bolhas finas para facilitar a ação do gás. Em seguida, o gerador de ozônio foi acionado pelo período de 60 minutos, com freqüente agitação da amostra, uma vez que a concentração de ozônio é maior próximo ao difusor

(Figura 7). Durante o experimento, alíquotas da água do sistema foram coletadas e analisadas quanto ao teor de ozônio.

Após o término do tratamento com ozônio, as amostras de café tratadas foram transferidas para frascos plásticos com capacidade de 10 litros, cobertas com água até o volume total e deixadas fermentando por 24 horas.

4.4.1.3 Processamento com ultra-som seguido de fermentação

Amostras de café foram colocadas na cuba ultra-sônica, em porções de 8 kg, e cobertas com água até o volume de 10 litros. Em seguida, o ultra-som foi acionado por um período de 60 minutos, com freqüente agitação da amostra, uma vez que não é uniforme a ação do ultra-som em toda a cuba.

Após o tratamento com ultra-som, as amostras de café foram transferidas para frascos plásticos com capacidade de 10 litros, cobertas com água até completar o volume total e deixadas fermentando por 24 horas.

4.4.1.4 Processamento com ozônio

As amostras de café foram colocadas na cuba ultra-sônica (para se evitar variáveis entre os processamentos), em porções de 8 kg, cobertas com água até o volume de 10 litros e, no fundo da cuba, foi colocado um difusor de ozônio, acoplado à extremidade da saída do gerador de ozônio, com a finalidade de produzir bolhas finas, para facilitar a ação. Em seguida, o gerador de ozônio foi acionado por 3 períodos iguais e consecutivos, de 20 minutos cada, totalizando 60 minutos de tratamento, com freqüente agitação da amostra, uma vez que a concentração de ozônio é maior próximo ao difusor. No início de cada período, a água foi trocada. Durante o experimento, alíquotas da água do sistema foram coletadas e analisadas quanto ao teor de ozônio.

4.4.1.5 Processamento com ultra-som

Amostras de café foram colocadas na cuba ultra-sônica, em porções de 8 kg e cobertas com água até o volume de 10 litros. Em seguida, o ultra-som foi acionado por 3 períodos iguais e consecutivos, de 20 minutos cada, com freqüente agitação da amostra, uma vez que não é uniforme a ação do ultra-som em toda a cuba. Entre um ciclo e outro, foi feita a troca de água.



FIGURA 6 Amostra de café sendo fermentado em frasco plástico.



FIGURA 7 Tratamento do café em cuba ultra-sônica com borbulhamento de ozônio.

4.4.1.6 Processamento com ozônio e ultra-som

Amostras de café foram colocadas na cuba ultra-sônica, em porções de 8 kg e cobertas com água até o volume de 10 litros. No fundo da cuba, foi colocado um difusor de ozônio, acoplado à extremidade da saída do gerador de ozônio, com a finalidade de produzir bolhas finas. Em seguida, o gerador de ozônio foi acionado, concomitante ao ultra-som, por 3 períodos iguais e consecutivos, de 20 minutos cada, totalizando 60 minutos de tratamento, com freqüente agitação da amostra. No início de cada período, a água foi trocada. Durante cada período, alíquotas da água do sistema foram analisadas quanto ao teor de ozônio.

4.4.2 Processamento final

Após cada tratamento, as amostras de café foram lavadas por imersão em água e levadas para secar em peneiras, expostas ao sol, na fazenda produtora, até atingir umidade aproximada de 12%.

As amostras foram, então, beneficiadas, retirando-se o pergaminho, colocadas em embalagens plásticas e armazenadas em ambiente fresco e seco (Figura 8).

4.5 Análises das amostras

4.5.1 Análises microbiológicas

Foram realizadas análises de amostras de café e água, antes dos tratamentos, a fim de quantificar mesófilos, fungos filamentosos, leveduras e o número mais provável (NMP) de coliformes.

Para os testes microbiológicos, as amostras de café foram retiradas após os tratamentos e antes de serem levadas para a secagem.



FIGURA 8 (a) Secagem do café em peneiras expostas ao sol. (b) Café após secagem. (c) Café após retirada do pergaminho. (d) Café beneficiado e acondicionado em embalagens plásticas.

Em frascos estéreis, com capacidade para 500mL, foram pesados 25g de grãos de café e adicionados de 225mL de solução salina peptonada, sendo, então, homogeneizados em agitador mecânico orbital, tipo *shaker*, marca Tecnal, modelo TE140, a 120rpm, por cinco minutos. Esta suspensão (diluição 10^{-1}) e diluições decimais subsequentes foram utilizadas para os experimentos descritos a seguir.

4.5.1.1 Contagem global de microrganismos mesófilos

Aliquotas das diluições foram inoculadas em PCA (*Plate Count Agar*,

Oxoid), para proceder à contagem global de mesófilos nas amostras de café. Os inóculos foram feitos, em triplicata, pela técnica do plaqueamento em profundidade (*pour plate*) e as placas inoculadas foram mantidas invertidas em estufa microbiológica a 35,5°C, por 24 horas. Após este período, foram contadas as unidades formadoras de colônias (UFC) e realizados os cálculos do número de microrganismos mesófilos presentes nas amostras por grama de café.

4.5.1.2 Contagem de leveduras e fungos filamentosos

Alíquotas das diluições foram inoculadas em ágar batata dextrose (*potato dextrose agar*, Difco) acidificado com ácido tartárico a 1%, a fim de se obter o número de leveduras e fungos filamentosos nas amostras. Os inóculos foram feitos, em triplicata, pela técnica de semeadura em superfície, com auxílio de alça de Drigalski e as placas foram incubadas à temperatura de 21°C, por 7 dias. Após este período, foram realizadas as contagens, sendo os resultados expressos em UFC g⁻¹ de café.

4.5.1.3 Determinação do NMP de coliformes e *E. coli*

Alíquotas de 100mL da suspensão inicial (10⁻¹) foram adicionadas do sistema reagente *Colilert* (Idexx Laboratories Inc), em triplicatas, e inoculadas em cartelas próprias com 97 cavidades, as quais foram seladas utilizando-se uma seladora térmica (Idexx Laboratories). Depois, foram incubadas, a 35,5°C, por 24 a 48 horas.

Os resultados, dados como o número mais provável de coliformes a 35°C e *E. coli*, mediante uma tabela própria, fornecida pelo fabricante, foram expressos em número mais provável por grama do produto (NMP g⁻¹).

4.5.2 Análises de qualidade do café

As determinações de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio foram realizadas nos grãos inteiros. As determinações de atividades enzimáticas (polifenoloxidase, pectinametilesterase e poligalacturonase), sólidos solúveis totais, acidez titulável, pH, açúcares e compostos fenólicos totais foram realizadas com os grãos congelados em nitrogênio líquido, moídos em moinho tipo Croton Mod. TE-580, utilizando-se peneira de 30 mesh e mantidos em freezer a -60°C até serem analisados.

4.5.2.1 Sólidos solúveis totais

O teor de sólidos solúveis totais nas amostras de café foi determinado usando-se refratômetro de bancada Abbe modelo 2 WAJ, conforme descrito por Maeztu et al. (2001). Os resultados foram expressos em porcentagem na matéria seca.

4.5.2.2 Acidez titulável (AT) e pH

A acidez titulável foi determinada por titulação com NaOH 0,1N, de acordo com técnica descrita pela AOAC (1990) e expressa em mL de NaOH 0,1N por 100g de amostra.

O pH foi determinado por potenciometria, utilizando-se eletrodo de vidro, segundo técnica da AOAC (1990).

4.5.2.3 Açúcares totais, redutores e não redutores

Os açúcares totais e redutores foram extraídos de acordo com técnica de Lane-Enyon, citado por AOAC (1990) e determinados pela técnica de Somogy, adaptada por Nelson (1944). Os valores de açúcares não-redutores foram obtidos

pela diferença entre os totais e os redutores. Os valores foram expressos em porcentagem na matéria seca.

4.5.2.4 Compostos fenólicos totais

Os polifenóis foram extraídos de acordo com o método de Goldstein & Swain (1963), utilizando-se metanol 50% (V/V) como extrator e determinados pelo método de Folin Denis, descrito pela AOAC (1990). Os resultados foram expressos em porcentagem na matéria seca.

4.5.2.5 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica dos grãos crus foi determinada adaptando-se a metodologia de Loeffler et al. (1988). Foram pesados 50 grãos da amostra, sem defeitos visíveis, imersos em 75mL de água deionizada e mantidos em estufa ventilada a 25°C, pelo tempo de embebição de 5 horas. Após calibração com padrão, a leitura foi feita em condutímetro Analion modelo C-701, em intervalos de 30 minutos. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

4.5.2.6 Lixiviação de potássio

A determinação da quantidade de íons potássio lixiviados foi feita com a mesma solução obtida para a determinação da condutividade elétrica, seguindo a metodologia proposta por Prete (1992), utilizando-se de um fotômetro de chama Digimed modelo DM-61. Os resultados foram expressos em ppm g^{-1} .

4.5.2.7 Enzima poligalacturonase (PG)

A extração da enzima poligalacturonase foi feita de acordo com a metodologia de Pressey e Avants (1973) e a determinação pela técnica de Somogy, adaptada por Nelson (1944). A unidade de atividade de PG foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de um nmol de grupos redutores por minuto sob as condições do ensaio. Os resultados foram expressos em $U\ g^{-1}\ min^{-1}$.

4.5.2.8 Enzima pectinametilsterase (PME)

A extração e o doseamento de PME foram feitos pela técnica descrita por Ratner et al. (1969). Uma unidade de atividade de pectinametilsterase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina, correspondente a um nanomol de NaOH por minuto, nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em $U\ g^{-1}\ min^{-1}$.

4.5.2.9 Enzima polifenoloxidase (PFO)

A obtenção do extrato enzimático utilizado na determinação da atividade da polifenoloxidase foi feita como descrito por Draetta & Lima (1976), adaptado por Carvalho et al. (1994). Foram pesados 5g da amostra de café moído e adicionados a 40mL de solução tampão de fosfato de potássio 0,1M pH 6,0. Em seguida, foram agitadas por 5 minutos. Após a agitação, as amostras foram filtradas a vácuo, em papel de filtro Whatman nº 1. Todo material utilizado foi mantido na temperatura de, aproximadamente, 4°C.

A determinação foi feita pelo método descrito por Ponting & Joslyng (1948), utilizando-se extrato de amostra sem DOPA (L-3,4-dihidroxifenilalanina) como branco. Os resultados foram expressos em $U\ g^{-1}\ min^{-1}$.

4.5.3 Análises sensoriais da bebida do café

Nas análises sensoriais, as amostras foram preparadas com a metodologia adotada pela fazenda fornecedora dos grãos de café, conforme descrito a seguir.

Para o preparo da bebida, foram utilizados 120g de café beneficiado, livre de defeitos (catação), com torração americana feita em torrador de café marca Leogap - Probat, modelo TP4-G, por, aproximadamente, 7 a 8 minutos, a 140°C a 150°C, sob agitação constante. Após a torra, o café foi moído em moedor de café marca Mecamau, modelo 1990, passando por moagem grossa.

Em cada xícara, foram transferidos 10g de café moído, sobre o qual foram vertidos 100mL de água quente (água mineral com pH de 5 a 7, 90°C a 96°C), deixando em repouso para decantar e resfriar até a temperatura próxima de 55°C para ser provado. A mesa de prova consistiu de sete xícaras para cada amostra de café. Cada provador fez duas provas por xícara (Figura 9).

As amostras tratadas e controle foram avaliadas mediante análise sensorial e classificação da bebida, mediante prova de xícara por um painel de cinco classificadores de cafés especiais, utilizando tabela adotada pela Associação Brasileira de Cafés Especiais (ABCE) (Tabela 2), com modificações.

Nesta avaliação, foram adotados os parâmetros bebida limpa, doçura, acidez, corpo, sabor, sabor remanescente (after taste), balanço e geral, atribuindo notas em escala crescente de aceitação de 0 a 8 para cada. O valor final é dado pela soma de todos os atributos com um fator de correção próprio para cada tipo de café (dependente da cultivar, tipos de colheita, processamento, etc.). Na utilização de amostras de frutos cereja de café arábica, colhidas, lavadas e descascadas mecanicamente, é atribuído o valor 36 como fator de correção. No caso dos cafés especiais, para ser certificado, necessita obter nota mínima de 80.

Nos atributos utilizados, as notas dadas para cada um, segundo a ABCE

(2003), são:

| | | | |
|-----------------|------------|---------------|--------------------|
| 0 – inaceitável | 4 – normal | 6 – fino | 8 – extraordinário |
| 2 – pobre | 5 – bom | 7 – excelente | |

4.5.3.1 Pontos positivos

- Xícara limpa: uniformidade, pureza, límpida, etc.
- Doçura: amadurecida, caramelo, mel, baunilha, etc.
- Acidez: viva, suave, sensível, brilho, prazerosa, cítrica, branda, firme, etc.
- Corpo: cremoso, redondo, denso, cheio, encorpado, aveludado, rico, etc.
- Sabor: caráter, intensidade, simples ou complexo, profundidade, doce, frutas, chocolate, baunilha, passas, amêndoa, nozes, floral, etc.
- Sabor remanescente: doce, durável, demorado, etc.
- Balanço: equilíbrio, harmonia, consistente, afinado, etc.
- Geral: complexo, dimensão, uniformidade, riqueza, etc.

Na avaliação da bebida, são considerados pontos positivos e negativos que podem ser notados pelos classificadores e contribuem para a nota.

4.5.3.2 Pontos negativos

- Defeitos: rio, riada, dura, fenólico, acebolado, suado, fermentação, etc.
- Xícara limpa: suja, térreo, obscuro, eucalipto, etc.
- Doçura: imaturo, pouco desenvolvida, fechada, azeda, verde, etc.
- Acidez: azeda, magra, acética, agressiva, morto, dureza, picante, fraca, etc.

- Corpo: adstringente, áspero, aguado, ralo, arenoso, etc.
- Sabor: amargor ruim, couro, azedo, fumaça, sacaria, amendoim, batata, ervilhas, grama, esterco, vegetal, madeira, peixe, etc.
- Sabor remanescente: lento, amargo, severo, duro, sujo, desagradável, etc.
- Balanço: choco, agressivo, inconsistente, etc.
- Geral: simplista, chato, estranho, etc.

4.6 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto de seis tratamentos (controle, ozônio+fermentação, ultra-som+fermentação, ozônio, ultra-som e ozônio+ultra-som), com três repetições. A unidade experimental constou de grãos de café descascado, na quantidade de 8 kg cada. Os dados são apresentados por média \pm DP (desvio padrão). As medianas foram comparadas entre si pelo teste de Kruskal-Wallis, adotando-se o nível de significância de 5%. Comparações pareadas foram realizadas por teste U de Mann-Whitney.

Foi utilizado, na análise estatística, o pacote XLStatistics, desenvolvido por Carr (2004).

Os resultados foram sumarizados em tabelas (Anexos).



FIGURA 9 Preparo das amostras de café e avaliação sensorial.

TABELA 2 Tabela adaptada para avaliação sensorial das amostras de café (ABCE, 2003)

| AMOSTRA | Aspecto | Tipo bebida | BEBIDA | | | | | | | | Fator de correção | NOTA FINAL |
|---------|---------|-------------|--------|--------|--------|-------|-------|-------------|---------|-------|-------------------|------------|
| | | | Limpa | Doçura | Acidez | Corpo | Sabor | After taste | Balanço | Geral | | |
| | | | | | | | | | | | 36 | |

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todos os tratamentos, o pH se manteve próximo de 5,5 e a temperatura dos sistemas manteve-se, em média, a 22,3°C, exceto quando utilizava o ultra-som, cujo sistema aquecia fracamente, fazendo com que chegasse a 24,4°C.

Os resultados dos tratamentos foram avaliados apenas em relação ao controle.

Não foram encontrados, na literatura, trabalhos utilizando o ozônio ou o ultra-som durante o processamento do café, não sendo possível, portanto, confrontar os dados obtidos com outros autores.

5.1 Análises microbiológicas

As contagens totais de microrganismos são utilizadas como parâmetros da carga microbiana presente, não indicando se a população tem efeito prejudicial ou benéfico. Contudo, servem como um alerta das condições de higiene durante a manipulação e armazenamento, como também dos potenciais riscos à saúde do consumidor (Brasil, 1997; ICMSF, 1985).

Apenas para informação (dados não analisados estatisticamente), os valores médios encontrados na água utilizada no experimento foram de $9,1 \times 10^2$ UFC mL⁻¹ de mesófilos, $1,05 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ de fungos filamentosos e leveduras, acima de $2,4 \times 10^3$ NMP 100mL⁻¹ de coliformes a 35°C e $1,0 \times 10^0$ NMP 100mL⁻¹ de coliformes a 45°C. No café, antes do processamento, foram encontrados, em cada grama, os valores médios de $3,6 \times 10^5$ UFC de mesófilos, $8,2 \times 10^6$ UFC de fungos filamentosos e levedura, acima de $2,4 \times 10^3$ NMP de coliformes a 35°C e $6,0 \times 10^1$ NMP de coliformes a 45°C.

5.1.1 Contagem padrão de microrganismos mesófilos

Na contagem padrão em placa de mesófilos, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS), foram, respectivamente, 2,17, 2,83, 1,23, 4,17, 4,32 e 4,45 log UFC g⁻¹, como observa-se na Figura 10. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre o controle (café fermentado) e os tratados (Figura 10).

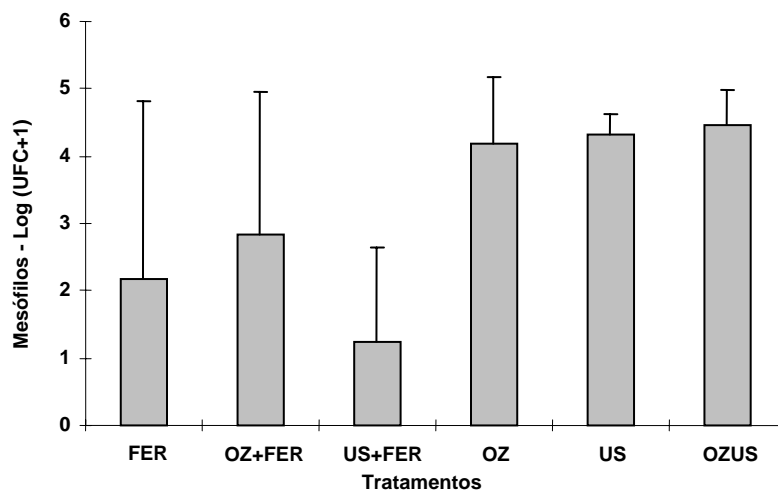


FIGURA 10 Valores médios de bactérias aeróbias em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância. Os dados estão representados como log (UFC+1).

Cardoso et al. (2003) demonstraram a eficácia da água ozonizada no tratamento de galões de água mineral, em relação aos mesófilos. Jyoti & Pandit

(2004) relatam a eficácia do ozônio e do ultra-som na redução destes microrganismos em água. Veiga (2003) constatou a eficácia do ozônio e ultra-som na redução logarítmica de aeróbios mesófilos em água de chiller de frangos.

Apesar de não apresentarem diferenças significativas nos tratamentos propostos, em relação ao controle, nota-se, pela Figura 10, uma tendência a valores maiores de mesófilos, provavelmente devido à propriedade do ozônio e ultra-som em degradar a matéria orgânica presente, formando compostos de baixo peso molecular (Figura 10). Assim, substâncias orgânicas próprias do café, como substâncias pécnicas, açúcares, celulose, lignina e outras (Pimenta et al., 2004; Ramalakshmi & Raghavan, 1999), poderiam estar sendo degradadas a compostos com maior facilidade de assimilação pelos microrganismos, favorecendo seu desenvolvimento durante o processo de fermentação. Este atributo do ozônio é apontado nos trabalhos de Yavich et al. (2004), mostrando a degradação da lignina em matéria orgânica natural e de Quesada et al. (1998) e Yosef et al. (1994), que verificaram, respectivamente, seu efeito em talos de milho e algodão, reduzindo compostos complexos em outros de menor peso molecular.

Além disso, o ozônio tem efeito dispersante em microrganismos agrupados e aderidos a superfícies de alimentos, causando um aumento virtual do número destes, da mesma forma como sugerido por Velano et al. (2001).

Igualmente, o ultra-som possui propriedades de degradação de matéria orgânica (Gonze et al., 1999) e, como observado por Schläfer et al. (2002), ao tratar matéria orgânica de efluente de indústria alimentícia com ultra-som, houve um aumento temporário no crescimento de biomassa seguido por um decréscimo deste crescimento, acompanhado da degradação dos compostos orgânicos. Jyoti & Pandit (2004) e Seymour et al. (2002) citam também esta propriedade de desagregação dos microrganismos com o emprego de ultra-som. Isso justificaria os valores oscilantes na contagem de microrganismos encontrada neste trabalho,

pois, provavelmente, o ultra-som, assim como o ozônio, estaria degradando os compostos orgânicos do café (devendo a mucilagem que envolve os grãos de café ser a primeira a sofrer sua ação), aumentando a taxa de açúcares e outros compostos assimiláveis pelos microrganismos, dispersando os microrganismos, mas, com tempo e ou frequência insuficientes para degradá-los.

Portanto, são previstos aumento inicial e, como se verifica na revisão feita por Nascimento et al. (2005), decréscimo da contagem de microrganismos com o decorrer do tratamento com ultra-som.

A tendência a menores valores de mesófilos nos tratamentos prévios com ozônio e ultra-som, seguidos de fermentação, pode ser devido ao pH reduzido na fermentação, como sugerido por Avallone et al. (2001)

Pelo exposto e sabendo-se que o ozônio e o ultra-som são capazes de reduzir e eliminar microrganismos (Cardoso et al., 2003; Veiga, 2003), sugere-se que o tempo dos tratamentos propostos foi insuficiente para tal, haja vista a grande quantidade de matéria orgânica resultante do tratamento e também a quantidade de grãos que certamente diminuem a ação destes tratamentos.

Observando-se a Figura 10, podem ser notados ainda desvios padrões menores nos tratamentos, principalmente com ultra-som, sugerindo uma melhor padronização no processo de retirada de mucilagem do café, se comparado com a fermentação.

5.1.2 Contagem de leveduras e fungos filamentosos

Na contagem de fungos filamentosos e leveduras, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 4,54, 3,56, 3,74, 3,88, 3,85 e 3,54 log UFC g⁻¹

(Figura 11). Observa-se que houve redução significativa ($p < 0,05$) nas amostras tratadas em relação ao café controle (fermentado).

Vários autores demonstraram a eficiência do ozônio, como Restaino et al. (1995), em água; Sarig et al. (1996), em uvas e Palou et al. (2002), em laranjas) e do ultra-som Idrissi et al. (1996), em frutas e outros vegetais e Radel et al. (2000), em leveduras na redução de fungos filamentosos e leveduras em água e alimentos.

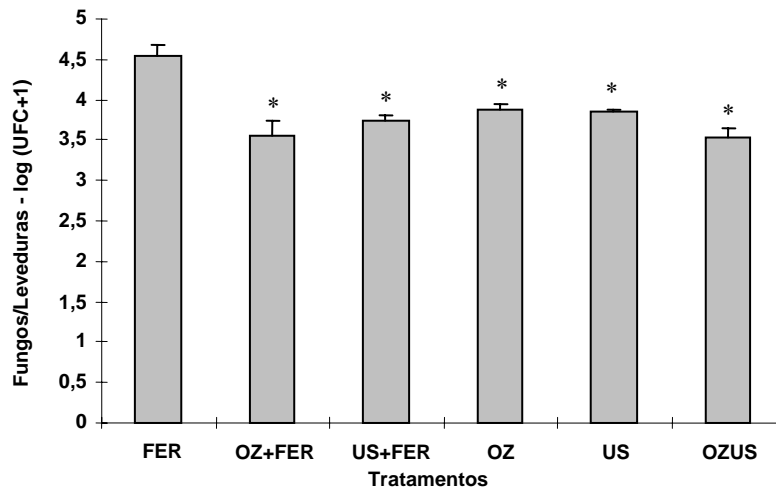


FIGURA 11 Valores médios de fungos filamentosos e leveduras em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância. Os dados estão representados como log (UFC+1).

No presente trabalho, comprova-se a eficiência dos tratamentos por ozônio e ou ultra-som no café, pela diminuição na contagem de células fúngicas que podem vir a causar danos à saúde do consumidor. Isso foi obtido nos

tratamentos seguidos ou não por fermentação, mas, com maior ênfase no café tratado com a associação de ozônio e ultra-som.

Como já discutido anteriormente, o ozônio e o ultra-som possuem propriedades microbidas e também dispersantes de microrganismos. Assim, provavelmente, nos tratamentos, houve ação dispersante de ambos em relação aos fungos filamentosos e leveduras, mas não houve tempo ou poder de ação suficiente do ozônio e do ultra-som para uma inativação mais pronunciada dos microrganismos em questão. Mesmo assim, são evidentes suas ações e conseqüente acréscimo à segurança alimentar em produtos por eles tratados.

5.1.3 Determinação do NMP de coliformes e *E. coli*

Na determinação de contagem daqueles atualmente denominados coliformes a 35°C, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 4,38, 4,38, 4,38, 0,28, 0,15 e 0,10 log NMP g⁻¹ como se verifica na Figura 12. Observa-se que houve redução significativa ($p < 0,05$) nas amostras tratadas que não passaram pelo processo de fermentação.

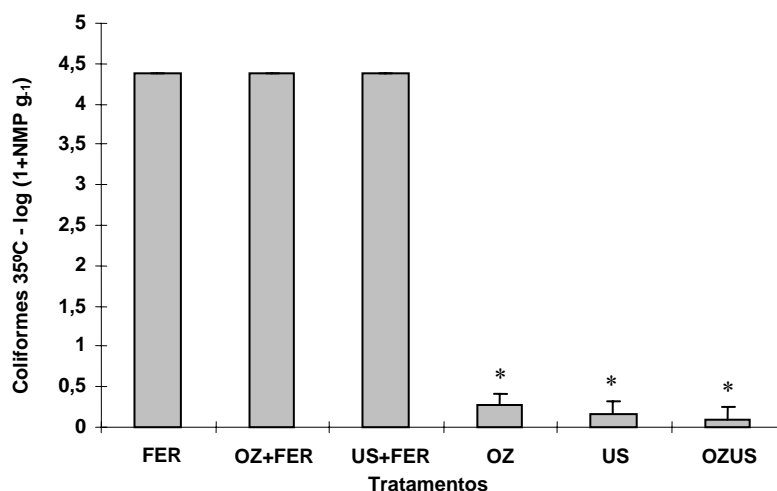


FIGURA 12 Valores médios de coliformes a 35°C em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância. Os dados estão representados como log (UFC+1).

Na determinação do NMP de *E. coli*, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 0,90, 0,36, 0,45, 0,00, 0,00 e 0,00 log NMP g⁻¹, como se verifica na Figura 13. Observa-se que houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, principalmente os que não passaram pelo processo de fermentação.

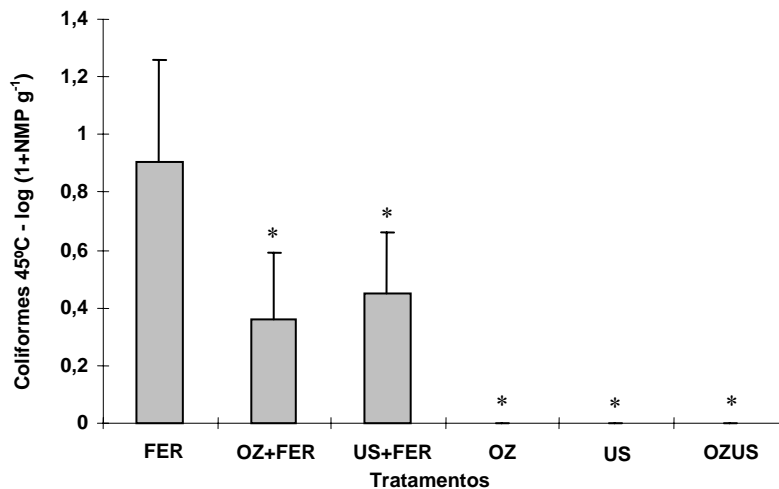


FIGURA 13 Valores médios de coliformes a 45°C [log (NMP+1)] em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância. Os dados estão representados como log (UFC+1).

Bactérias gram-negativas, como *Escherichia*, *Enterobacter*, *Erwinia* e *Klebsiella*, são comumente distribuídas no ambiente e são encontradas no café. Assim, durante a fermentação do café, há o desenvolvimento destes coliformes (Avallone et al., 2001 e 2002; Oliveira et al., 2001; Silva et al., 2000). Admite-se que o ozônio dissolvido em água seja muito eficiente para reduzir ou eliminar coliformes (Gehr et al., 2003; Guzel-Seydim et al., 2004; Jyoti & Pandit, 2003 e 2004; Nascimento et al., 2005; Restaino et al., 1995; Velano et al., 2001; Veiga, 2003; Xu et al., 2002), bem como o emprego do ultra-som (Jyoti & Pandit, 2003 e 2004; Veiga, 2003). Provavelmente, nos tratamentos por ozônio e ou ultra-som (OZ, US e OZUS), houve redução ou eliminação dos coliformes, demonstrado pelos resultados. Nas amostras em que, após tratadas pelo ozônio ou ultra-som, seguiu-se um período de fermentação (OZ+FER e US+FER), aliado aos fatos da

utilização de água não tratada neste período e também na lavagem final das amostras, além da exposição das amostras ao ambiente, supõe-se que houve o crescimento destes microrganismos (remanescentes ou não dos tratamentos iniciais) que se desenvolveram rapidamente, durante o período de fermentação, com o auxílio de produtos assimiláveis gerados pela degradação de matéria orgânica. Assim, nestes dois tratamentos, não houve redução da contagem de coliformes a 35°C (Figura 12), mas, ocorreu redução na detecção de *E. coli* (Figura 13).

Deve ser considerado também que o pH ácido durante o período de fermentação poderia estar influenciando negativamente no crescimento dos coliformes e de outras bactérias.

Deve ser considerado também que, durante os tratamentos com ozônio e ultra-som, pela alta reatividade da hidroxila formada, possivelmente, pode ocorrer a produção de diversas substâncias, entre as quais alguma com atividade antimicrobiana e com probabilidade de ser mais específica para determinados microrganismos.

Nos tratamentos com ozônio e ou ultra-som, sem fermentação, observa-se a eficácia dos mesmos na eliminação de *E. coli*, pois foi eliminada das amostras de café nestes tratamentos.

Mesmo sem tratamento, as amostras estavam aquém do aceitável, de acordo com as normas vigentes (Brasil, 2001), em termos de coliformes a 45°C ou preferencialmente *E. coli*. Mas, considerando a redução obtida para coliformes, fungos filamentosos e leveduras, principalmente nos tratamentos sem fermentação, pode ser sugerido que os tratamentos propostos melhoram a qualidade microbiológica do café. Assim, extrapolando-se os resultados obtidos e considerando que as bactérias patogênicas são mais sensíveis que as bactérias indicadoras (Hach, 1998), os tratamentos com ozônio e ou com ultra-som podem vir a ser grandes aliados no combate aos microrganismos que levam a uma

deterioração da qualidade e da segurança alimentar do café.

5.2 Análises de qualidade do café

5.2.1 Sólidos solúveis totais

Na análise de sólidos solúveis, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 34,38, 32,71, 32,50, 35,42, 35,63, 34,38%, como se observa na Figura 14. Observa-se que houve redução significativa ($p < 0,05$) apenas nos tratamentos prévios com ozônio e ultra-som.

Alguns autores citam resultados de sólidos solúveis próximos aos desta pesquisa, em relação ao café despulpado (Villela, 2002; Mendonça et al., 2005). Em cafés despulpados, a OIC (1992) verificou valores abaixo dos obtidos neste estudo (20,27%).

Mendonça et al. (2005) encontraram, em café da cultivar Catuaí Amarelo, 33,54% de sólidos solúveis em grãos crus. Carvalho Júnior et al. (2003) encontraram valores oscilando entre 32,78% a 35,28% de sólidos solúveis em grãos de café Acaiá Serrado, colhido por seis sistemas diferentes de colheita. Villela (2002) encontrou valores próximos ao deste estudo em grãos de café despulpado, ao testar vários tempos de secagem. O teor de sólidos solúveis é desejável durante a torração, por propiciar maior rendimento e corpo da bebida (Lopes, 2000; Pádua, 2002; Villela, 2002).

Os sólidos solúveis são desejáveis em altas quantidades no café, devido à sua relação direta com o corpo da bebida (Villela, 2002) e, nos resultados deste estudo, houve diminuição apenas nos tratamentos prévios (OZ+FER e US+FER), mas, com valores dentro ou acima da faixa encontrada pelos autores

citados acima. Sugere-se, assim, que os tratamentos propostos alteraram estes valores no café, porém não de forma acentuada que pudesse influenciar a bebida.

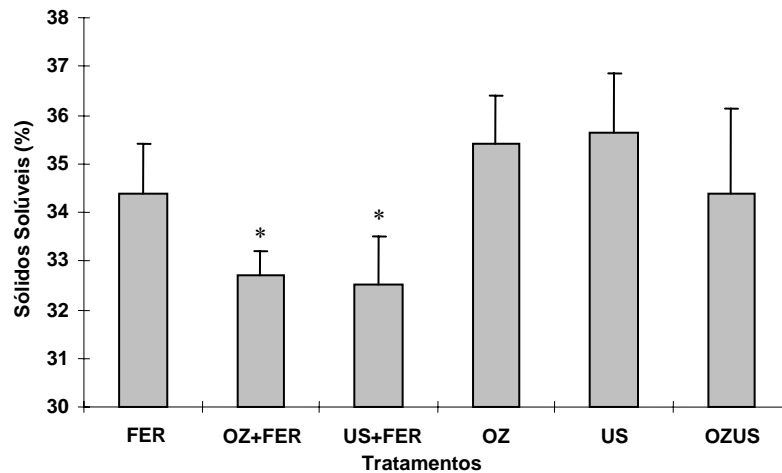


FIGURA 14 Valores médios de sólidos solúveis (%) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

5.2.2 Acidez titulável (AT)

Na análise de acidez titulável, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 229,17, 239,58, 226,56, 242,19, 234,38 e 226,56 mL de NaOH 0,1N por 100g de amostra, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Figura 15).

Carvalho et al. (1994) e Pereira (1997) notaram haver uma relação inversa entre qualidade dos grãos de cafés e valores de acidez, sendo maior acidez encontrada em cafés de pior qualidade.

Neste trabalho, foram utilizadas amostras de café da região Sul de Minas que, como afirma Souza (1996), é uma região de cafés com menores teores de acidez. Alguns autores obtiveram resultados semelhantes ao deste estudo, como Carvalho et al. (1994), Mendonça et al. (2005) e Souza (1996), trabalhando com grãos de café. Villela (2002) encontrou valores menores para café despulpado, classificado como bebida mole (despulpado) (117,87 a 155,76 mL de NaOH 0,1N 100g⁻¹). Ribeiro (2003) encontrou desde valores menores até mais elevados de AT (213,89 a 238,89 mL de NaOH 0,1N 100g⁻¹), trabalhando com amostras de café cereja descascado.

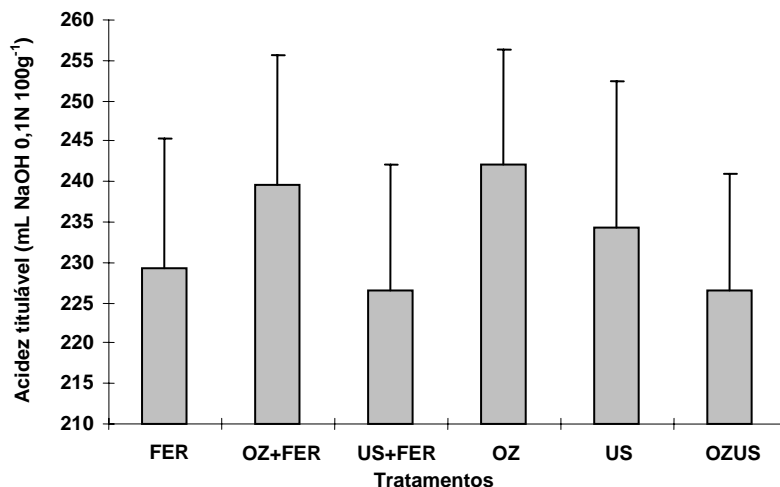


FIGURA 15 Valores médios de acidez titulável (mL NaOH 0,1N 100g⁻¹) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

O valor da acidez titulável está relacionado com a concentração total de ácidos na amostra (Francis, 2000). Considerando que o ozônio e o ultra-som degradam matéria orgânica, levando à produção de ácidos, como fórmico e acético (Gonze et al., 1999; Yosef et al., 1994), supunha-se que haveria aumento significativo de acidez titulável. Entretanto, o tempo de aplicação de ozônio e ultra-som não foi suficiente para que houvesse intensa degradação, com formação de ácidos capazes de alterar a acidez titulável de modo apreciável.

5.2.3 pH

Na análise de pH, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 5,69, 5,71, 5,73, 5,75, 5,77 e 5,76, não havendo diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos (Figura 16).

Os resultados obtidos estão dentro do intervalo de valores de pH (5,66 a 6,02) encontrados em cafés do Sul de Minas, por Barrios (2001). Também estão próximos aos encontrados por Ribeiro (2003), que trabalhou com diferentes temperaturas e tempos de secagem de café cereja descascado.

Resultados com valores mais elevados foram encontrados por Mendonça et al. (2005), avaliando grãos crus e torrados de diversos cultivares; Siqueira (2003), trabalhando com café despulpado não irrigado e Villela (2002), em cafés despulpados (5,85 a 6,25).

A acidez aparente ou livre acidez (pH) é importante na qualidade da bebida por ser perceptível ao sabor (Sivetz, 1963).

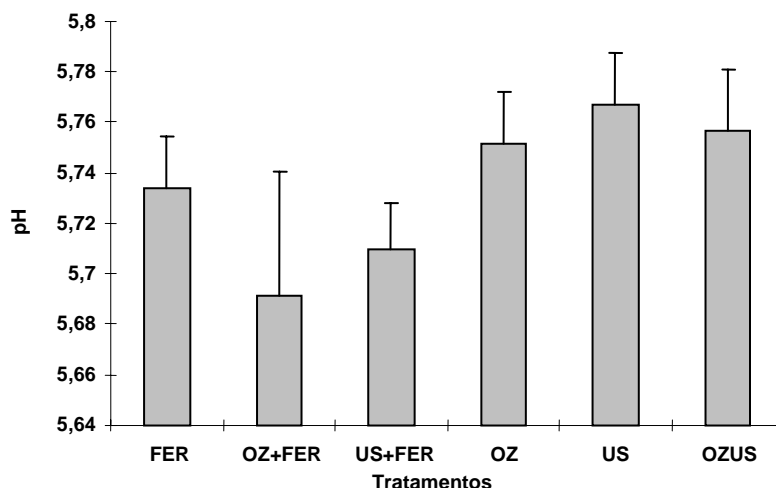


FIGURA 16 Valores médios de pH em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

A tendência a valores menores de pH nas amostras que passaram pelo processo de fermentação talvez possa ser explicada pelo próprio processo, cuja característica é o abaixamento de pH. Mas, as diferenças entre os diversos tratamentos foram irrisórias, levando a inferir que os tratamentos propostos não alteraram os valores de pH das amostras.

5.2.4 Açúcares totais, redutores e não redutores

Na análise de açúcares totais, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram,

respectivamente, 12,18, 10,67, 9,02, 10,09, 9,81 e 10,72%. Houve redução significativa ($p < 0,05$) ou, mesmo, tendência à diminuição nos tratamentos quando comparados ao controle (café fermentado) (Figura 17).

Na análise de açúcares não-redutores, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 11,34, 9,94, 8,36, 9,35, 9,11 e 10,01, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, com exceção do café tratado com a combinação de ozônio e ultra-som (Figura 18).

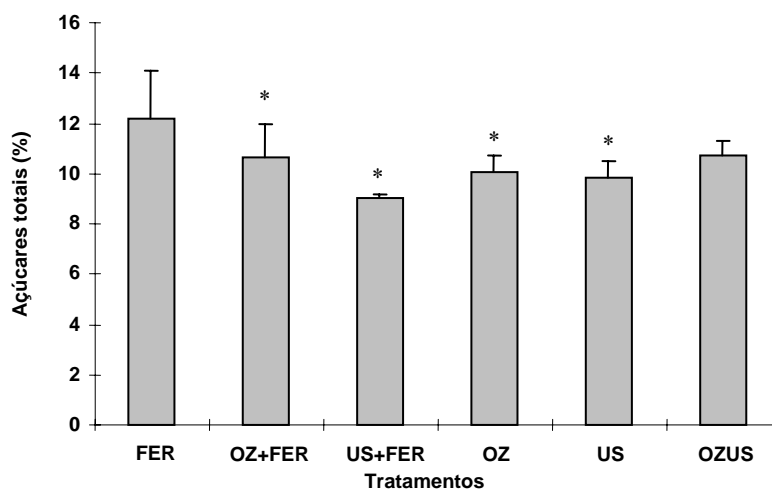


FIGURA 17 Valores médios de açúcares totais (%) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

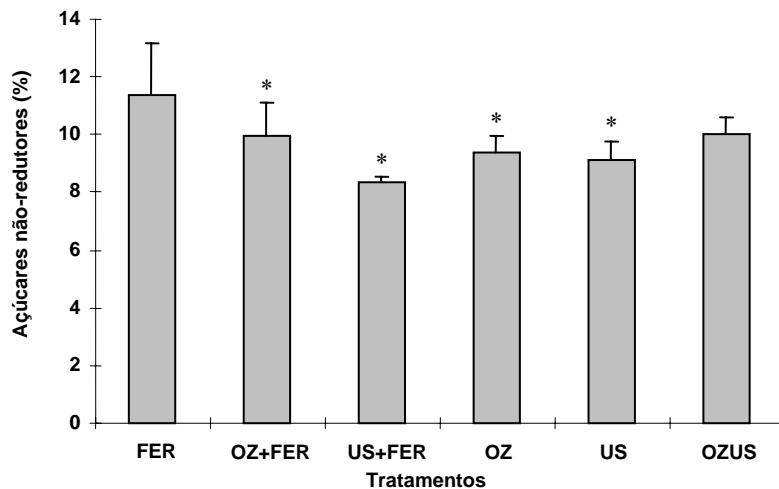


FIGURA 18 Valores médios de açúcares não-redutores (%) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Na análise de açúcares não-redutores, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 0,25, 0,21, 0,22, 0,24, 0,22 e 0,19%, apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em todos os tratamentos, com exceção do café tratado com ozônio (Figura 19).

Entre outros autores, Chagas (1994), Illy & Viani (1995) e Silva et al. (1999) concordam em afirmar que maiores teores de açúcares propiciam melhor qualidade na bebida.

Malta et al. (2002) e Pimenta & Vilela (2002) encontraram teores menores de açúcares totais em amostras de café despulpado de várias cultivares,

quando comparados aos dados de café apenas fermentado deste trabalho. Villela (2002) também encontrou valores menores em cafés despulpados, com diferentes tempos de secagem. A concentração de açúcares no café pode variar com injúrias mecânicas, microbianas e fermentativas, já que estão presentes principalmente na mucilagem, e constituem um substrato para o desenvolvimento de microrganismos (Chagas, 1994).

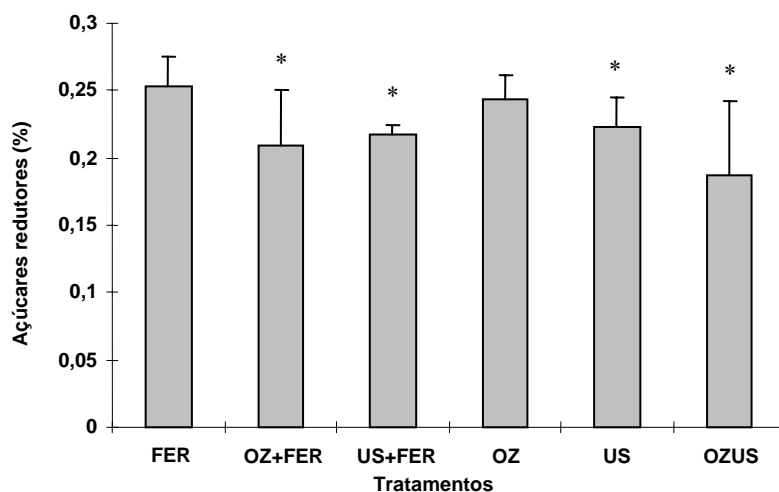


FIGURA 19 Valores médios de açúcares redutores (%) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Clifford & Wilson (1985) citam vários autores que encontraram valores entre 4,6% e 8,3% de sacarose. Villela (2002) também encontraram valores menores para açúcares não-redutores (6,58% a 8,39%).

Clifford & Wilson (1985) citam autores que encontraram valores de

0,09% até acima de 1,2% de açúcares redutores. Villela (2002), trabalhando com tempo de secagem, encontrou valores de 0,30% a 0,56% e, portanto, menores que o da presente pesquisa.

O ozônio tem a capacidade de hidrolisar parte da celulose da parede celular a açúcares (Tock et al., 1982), bem como de outros polissacarídeos (Quesada et al., 1998). Portanto, esta propriedade poderia estar causando uma liberação mais facilitada da mucilagem e seus constituintes que, provavelmente, foram carreados com a água desprezada após o tratamento com o ozônio, justificando a diminuição dos teores de açúcares com este tratamento. Além disso, a redução no teor de carboidratos na mucilagem diminui a transferência destes para o interior dos grãos, durante o processo de fermentação (Carvalho, 1997).

Alguns artigos mostram a eficácia do ultra-som para a extração de polissacarídeos (Ebringerová & Hromádková, 2002; Mason et al., 1996; McClements, 1995; Mecozzi et al., 1999). Além disso, o ultra-som tem o poder também de extrair açúcar pela combinação dos efeitos de ruptura de parede celular e aumento da transferência de massa, devido ao aumento de penetração do solvente (Mason et al., 1996). A diminuição no teor de açúcar das amostras tratadas com ultra-som pode ser explicada também pelo efeito carreador da água utilizada durante este tratamento.

5.2.5 Compostos fenólicos

Na análise de compostos fenólicos, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 5,45, 5,71, 5,59, 5,75, 6,29 e 6,50% na matéria seca,

apresentando elevação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todos os tratamentos propostos (Figura 20), sendo maior com o emprego do ozônio, seguido do ultra-som e apenas fermentado.

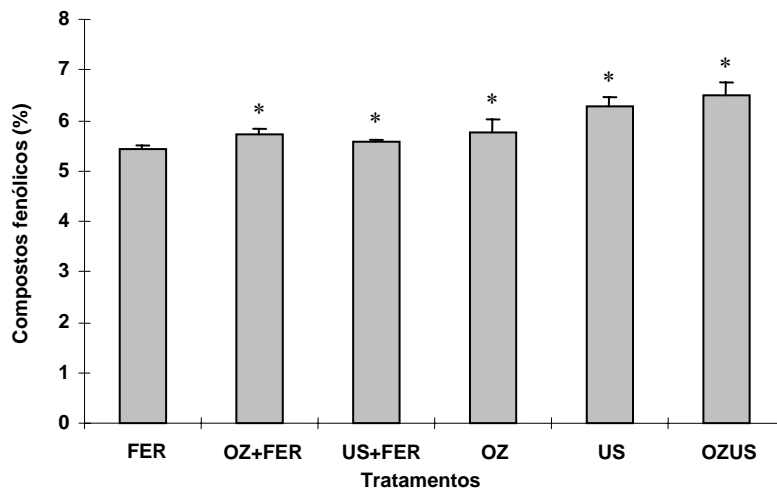


FIGURA 20 Valores médios de compostos fenólicos (%) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Os compostos fenólicos são responsáveis pela adstringência dos frutos e sua concentração é inversamente proporcional à qualidade da bebida (Costa & Chagas, 1997).

Pádua (2002) obteve resultados semelhantes com café bebida mole comparados com os obtidos neste estudo com café somente fermentado. Valores maiores (7,12% a 7,70%) foram citados por Ribeiro (2003), ao trabalharem com pré-secagem de três dias para café descascado. Villela (2002) cita o valor médio

de 7,31 para cafés despolpados.

O que poderia ter contribuído para o aumento do teor destes compostos nas amostras tratadas com ozônio seria a degradação de polímeros fenólicos, como a lignina. De fato, Quesada et al. (1998) e Wiese & Pell (2003) apresentaram resultados de degradação de lignina por ozônio, formando vários compostos, entre eles, fenólicos mais simples, como derivados de ácidos benzóico e cinâmico.

O ozônio é altamente reativo com compostos fenólicos, como observado por Benitez et al. (2003), ao obterem altos valores de degradação destes compostos (65% a 81%) a partir de matéria orgânica, proveniente de efluente de processamento de cortiça, tratada com ozônio por 1,5 a 6 h. Beltrán et al. (1999, 2001) reduziram em mais da metade os polifenóis de efluente de destilaria. Naffrechoux et al. (2000) também observaram a degradação de fenol pelo ozônio, propondo a formação da seqüência fenol, hidroquinona, p-benzoquinona, ácido dioxi-3-hexenodióico, ácido oxálico e ácido metanóico. Estes autores utilizaram ozônio por períodos mais prolongados que deste experimento. Assim, pode-se aventar a hipótese de que o tempo foi insuficiente para degradar os compostos liberados dos polímeros durante o tratamento das amostras de café.

A degradação de compostos fenólicos também foi obtida pelo uso do ultra-som na decomposição de matéria orgânica de efluentes (Benitez et al., 2003; Naffrechoux et al., 2000), lignina em milho (Ebringerová & Hromádková, 2002) e fenol (Gogate et al., 2004). Como sugerido para o tratamento com ozônio, acredita-se que o tempo também foi insuficiente para degradar os compostos fenólicos, devido à alta concentração de matéria orgânica.

Assim, possivelmente, nos tratamentos propostos, o ozônio e o ultra-som degradaram parcialmente os polímeros dos grãos, deixando mais livres vários compostos, inclusive os fenólicos, o que explicaria seu aumento significativo

nos mesmos, principalmente na combinação de ambos os tratamentos, mas não havendo tempo de ação suficiente para degradá-los.

5.2.6 Lixiviação de potássio

Na análise de lixiviação de potássio, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 42,99, 29,21, 29,08, 57,77, 49,61 e 52,79 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, apresentando diferenças estatisticamente significativa ($p < 0,05$) apenas os grupos OZ+FER (redução) e OZ (elevação) em relação ao grupo apenas fermentado (Figura 21).

Em amostras de café da região de Alfenas, Chagas et al. (2005) encontraram valores médios de lixiviação próximos de 75 ppm g^{-1} , quase o dobro dos obtidos neste estudo. Deve ser considerado que estes autores trabalharam com amostras de dez produtores de cada cidade, o que, provavelmente, levou a uma mistura de cafés de várias padrões de qualidade. Neste estudo, foram utilizadas apenas amostras de café selecionado para exportação e, portanto, de qualidade superior, justificando os menores valores. Pimenta & Vilela (2002), trabalhando com várias épocas de colheita, obtiveram valores de lixiviação de potássio entre 51,00 e 62,62 ppm g^{-1} , com valores diminuindo com a maturação dos frutos e aumentando com defeito verde ou fermentações indesejáveis. Estes valores estão próximos dos encontrados nesta pesquisa, bem como os citados por Vilela (2002), que obteve a média de 45,14 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ para o café despulpado. Valores semelhantes são citados por Goulart (2002), ao trabalhar com café de bebida apenas mole.

Wang et al. (2004) trataram coentro com ozônio, obtendo maiores

valores de lixiviação de eletrólitos durante o período de armazenamento.

O ozônio é um gás altamente reativo que pode levar à formação de radicais livres e a um aumento no potencial oxidativo das células (Pell et al., 1994). A toxicidade do ozônio tem sido atribuída aos efeitos danosos nos componentes de membrana, resultando no aumento da sua permeabilidade (Runeckles & Chevone, 1992).

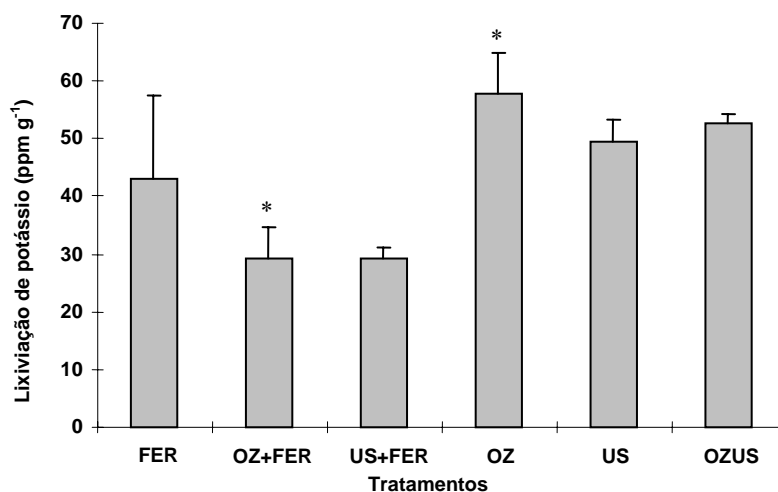


FIGURA 21 Valores médios de lixiviação de potássio (ppm g^{-1}) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

O ultra-som também provoca efeitos danosos nas membranas, além de possuir um mecanismo químico, pela formação de radicais livres e peróxido de hidrogênio (Entezari et al., 2004).

Os tratamentos com ozônio (OZ), ultra-som (US) e a combinação de

ambos (OZUS) foram realizados em três períodos consecutivos, havendo troca da água entre eles. Dessa forma, a matéria orgânica desprendida das amostras foi desprezada entre um ciclo e outro, otimizando o efeito destes tratamentos. Isso explicaria os valores significativamente mais altos no tratamento com ozônio (OZ) e com tendência a valores mais elevados nos tratamentos com ultra-som (US) e a combinação de ozônio e ultra-som (OZUS), nos quais os tratamentos foram mais drásticos, provocando maiores injúrias nos grãos e, conseqüentemente, maior lixiviação de íons.

No caso dos tratamentos prévios com ozônio e ultra-som (OZ+FER e US+FER), em que houve redução nos valores de lixiviação de potássio, pode ser proposto que, no grão de café, a degradação pelo ozônio ocorra, primeiramente, na mucilagem e, posteriormente, durante a sua penetração através da membrana. A presença de antioxidantes, como polifenóis (principalmente ácido clorogênico), no café (Duarte, 2004; Trugo, 2001), provavelmente contribui para a defesa do mesmo da ação lesiva de substâncias oxidantes, como o ozônio. Os polifenóis agem como efetivos seqüestrantes de radicais livres e protegem o grão de seus efeitos danosos, sendo, portanto, eficientes na defesa contra o ozônio e seus produtos de reação.

Por outro lado, a ação quelante de metais pelos polifenóis (Duarte, 2004) poderia contribuir também para uma menor lixiviação de íons. Os dados do presente trabalho induzem a concluir que os tratamentos prévios com ozônio e ultra-som (OZ+FER e US+FER) não alteraram, em vez de aumentarem, a permeabilidade da membrana do café, o que foi demonstrado pela menor lixiviação de potássio. Sugere-se, portanto, que o potencial danoso do ozônio sobre a membrana pode ter sido mascarado por ter sido retida certa quantidade de potássio no grão, devido à ação quelante de polifenóis. Embora o valor relativo de cátions dissolvidos em água não tenha sido alterado significativamente com o tratamento pelo ozônio, não pode ser afirmado que a

concentração total de potássio no grão não tenha sido aumentada. O potássio está primeiramente presente no citoplasma e somente pequenas concentrações de potássio estão ligadas a grupos funcionais na parede celular. Por fim, pode ser sugerido ainda que o tempo de exposição ao ozônio e ultra-som nestes tratamentos (OZ+FER e US+FER) não tenha sido suficiente para causar injúria severa, uma vez que a quantidade de matéria orgânica liberada pode ter reduzido a ação dos mesmos.

Beckerson & Hofstra (1980) encontraram que a exposição a 150 ppb de ozônio causou significativo aumento na liberação de solutos da soja e feijão branco, medida por condutividade elétrica. Ao ser comparado a estes grãos, o café parece ser menos sensível ao ozônio. Embora o nível de ozônio capaz de penetrar no interior de tecidos seja desconhecido, a ocorrência dessa menor sensibilidade ao ozônio poderia ser relacionada ao maior teor de polifenóis encontrado no café (Duarte, 2004; Trugo, 2001).

5.2.7 Condutividade elétrica

Na análise de condutividade elétrica, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 134,93, 104,68, 115,29, 158,38, 148,72 e 152,57 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. Observou-se redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos tratamentos prévios seguidos de fermentação (OZ+FER e US+FER) e aumento significativo no tratamento com ozônio (OZ), mas, com tendência a valores elevados também nos tratamentos com ultra-som (US) e combinação de ozônio e ultra-som (OZUS) (Figura 22), sendo maior com o emprego do ozônio.

Prete (1992) encontrou valores entre 84 a 114 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, para cafés de

bebida apenas mole/mole e, portanto, menores que as amostras de café fermentado deste estudo. Valores menores para condutividade elétrica também foram citados por Vilela (2002) para café despulpado ($111,82 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$). Chagas et al. (2005) encontraram valores mais elevados (próximos de $180 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) em cafês com e sem defeitos, da região de Alfenas, MG. Favarin et al. (2004) encontraram valores também elevados ($123,10 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) em grãos de café cereja. Notam-se, portanto, discrepâncias nos resultados obtidos por autores diversos.

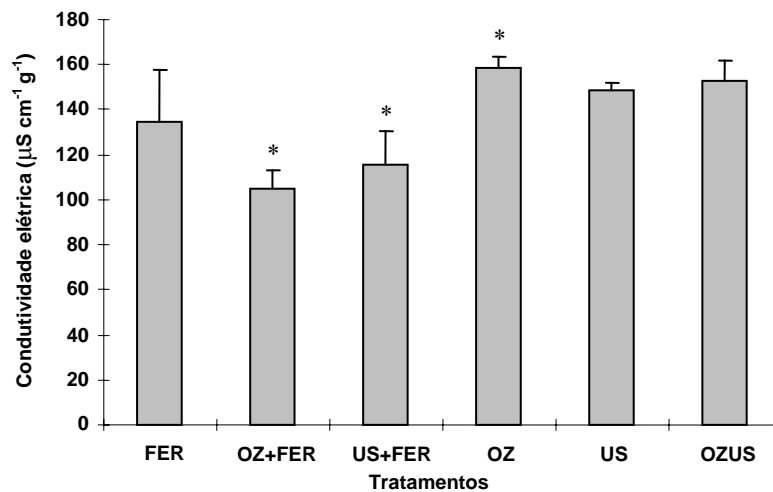


FIGURA 22 Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Sabe-se que a condutividade elétrica aumenta com danos causados à integridade das membranas celulares, sendo considerada um indicador

consistente desta integridade (Ribeiro, 2003). Acreditava-se, portanto, que o valor da condutividade elétrica aumentaria com o uso de ozônio ou do ultra-som, mas, curiosamente, isso não ocorreu nos tratamentos prévios com ozônio e ultra-som (OZ+FER e US+FER), apesar do alto poder de degradação de membranas de ambos (Jyoti & Pandit, 2003 e 2004; Mason et al., 2003).

A condutividade elétrica está diretamente relacionada com a lixiviação de potássio, pois, com as injúrias sofridas pelos grãos de café, o íon mais lixiviado para o exterior das células é o potássio. Isso justifica o comportamento idêntico de ambos em relação aos tratamentos propostos. E da mesma forma que a condutividade elétrica, surpreendentemente houve diminuição da lixiviação de potássio nos tratamentos OZ+FER e US+FER.

Vários íons estão presentes no café, principalmente o potássio, sendo responsável por 40% do total de íons. Estão presentes também magnésio, rubídio, cobre, manganês, cálcio e ferro, entre outros (Illy & Viani, 1995).

Está bem documentada a propriedade da molécula de polifenol formar fortes complexos com íons metálicos, como ferro, manganês, alumínio, cálcio, etc. (Duarte, 2004; Halliwell & Gutteridge, 1999; Haslan, 1996) e também sódio, potássio e magnésio (Haslan, 1996).

A ação do ozônio e do ultra-som, como já sugerido, pode ter aumentado a concentração de fenóis, que apresentam uma grande capacidade de complexação com íons metálicos. Portanto, embora tenha havido ação destrutiva dos tratamentos prévios com ozônio e ultra-som sobre a membrana celular, o poder quelante exercido pela maior concentração de fenóis impediria o aumento da condutividade elétrica, o que não ocorreu com o café apenas fermentado (FER). Desse modo, a redução da condutividade elétrica se deveria mais ao poder quelante de metais dos ácidos clorogênicos que a um verdadeiro efeito protetor do ozônio e ultra-som na membrana celular.

A grandeza condutividade elétrica, provavelmente, é mesmo

influenciada por muitos fatores, como concluíram Favarin et al. (2004) e não deve ser correlacionada com bebida de café ou integridade de membranas, pura e simplesmente. Mas, deve ser levado em consideração o teor de polifenóis existente no grão do café.

5.2.8 Enzima poligalacturonase (PG)

Na análise de poligalacturonase (EC 3.2.1.15), os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 18,65, 20,60, 18,15, 24,18, 21,76 e 22,54 U g⁻¹ min⁻¹. Observa-se que não houve diferença estatisticamente significativas (p<0,05) nos tratamentos prévios seguidos de fermentação (OZ+FER e US+FER) e aumento significativo (p<0,05) nos tratamentos sem fermentação (OZ, US e OZUS) (Figura 23), sendo maior com o emprego do ozônio.

Alguns trabalhos também apresentam análises da atividade de poligalacturonase em frutos de café, como o de Pimenta & Vilela (2002), que obtiveram valores de 4,23 nmol g⁻¹ min⁻¹ para amostras de frutos de café com 21,65% e 31,26%, respectivamente de frutos cerejas e passas, que mais se aproximam das amostras utilizadas no presente trabalho, mas com valores diferenciados por tratarem-se de frutos inteiros. Pimenta et al. (2004), mostra valores de 6,77 nmol g⁻¹ min⁻¹ para grãos de café com vários estádios de maturação. Pimenta et al. (2000), também trabalhando com frutos cerejas, encontraram 193,52 U g⁻¹ min⁻¹.

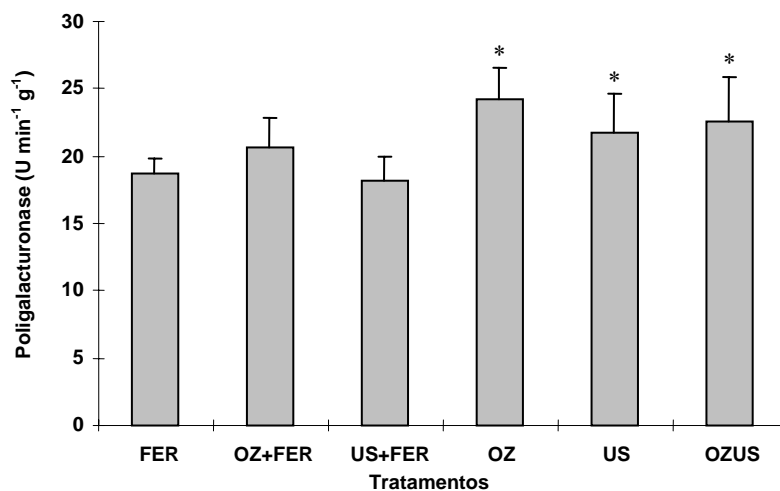


FIGURA 23 Valores médios de poligalacturonase ($\text{U g}^{-1} \text{min}^{-1}$) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Sabe-se que o ozônio produz radicais hidroxila e peróxido, que provocam a cisão de polissacarídeos (Quesada et al., 1998; Tock et al., 1982), podendo ser considerado um mecanismo alternativo não-enzimático para a despolimerização ou solubilização dos mesmos (Dumville & Fry, 2003; Entezari et al., 2004). A produção de radicais hidroxila e peróxido também é obtida com o emprego do ultra-som (Mecozzi et al., 1999). Assim, sugere-se que o ozônio e ultra-som, agindo nas amostras de café, poderiam ter degradado parte da pectina, formando polissacarídeos menores e mais acessíveis à poligalacturonase, possivelmente aumentando sua ação.

Nos tratamentos prévios com ozônio e ultra-som, seguidos de fermentação (OZ+FER e US+FER), foram obtidos resultados semelhantes ao da fermentação por terem sido tratamentos menos drásticos, devido à presença de

grande quantidade de matéria orgânica no sistema.

5.2.9 Enzima pectinametilesterase (PME)

Na análise de pectinametilesterase (EC 3.1.1.11), os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 8477,78, 8155,56, 7733,33, 8394,44, 8616,67 e 7866,67 U g⁻¹ min⁻¹. Observa-se, na Figura 24, redução estatisticamente significativas (p<0,05) nos tratamentos prévios seguidos de fermentação (OZ+FER e US+FER) e no tratamento com combinação de ozônio e ultra-som (OZUS). Nos tratamentos com ozônio e ultra-som (OZ e US) não houve diferença significativa (p>0,05) nos tratamentos sem fermentação (OZ, US e OZUS).

Valores muito próximos do presente trabalho foram obtidos por Pimenta et al. (2002), variando de 8,44 a 8,96 nmol min⁻¹ kg⁻¹ para amostras colhidas em sete épocas diferentes. Pimenta et al. (2004) obtiveram em cafés com vários estádios de maturação, valores médios pouco menores (6,77 nmol min⁻¹ kg⁻¹).

São sugestivas as ações do ozônio e do ultra-som como tratamento de amostras de café antes de fermentação (OZ+FER e US+FER) e do tratamento com ozônio (OZ), diminuindo significativamente a atividade de pectinametilesterase. Como já sugerido no tópico anterior, a produção de radicais hidroxila e peróxidos, pelo ozônio e ultra-som, pode ter solubilizado e degradado parte da pectina, diminuindo a quantidade de grupos metílicos e, portanto, diminuindo a atividade da pectinametilesterase. Não foram encontrados dados de pesquisa semelhante para confrontar com os encontrados no presente trabalho. As oscilações encontradas nos diversos tratamentos podem

ser devido à produção de grande quantidade de matéria orgânica.

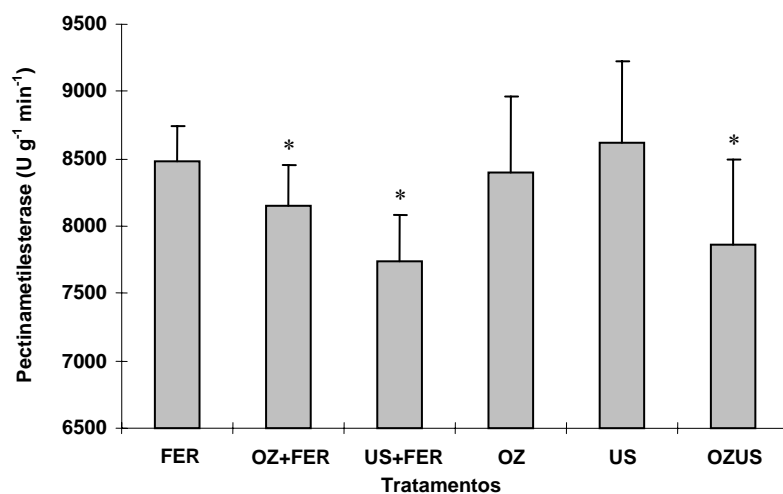


FIGURA 24 Valores médios de pectinametilesterase ($\text{U g}^{-1} \text{min}^{-1}$) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Vercet et al. (2002), trabalhando com pasta de tomates, observaram que o tratamento com ultra-som e aquecimento inativou a pectinametilesterase, sendo 50 vezes mais eficiente que o uso isolado do aquecimento. Resultados semelhantes a este foram encontrados também por Kuldiloke (2002) que inativou a PME de sucos de limão e morango com termossonicação, sendo mais eficiente que o tratamento com aquecimento. No presente trabalho, foi observada também uma redução na atividade desta enzima, possivelmente pela geração de radicais livres que podem ter causado desmetilação do C₆ da pectina, onde a PME atua.

5.2.10 Enzima polifenoloxidase (PFO)

Na análise de polifenoloxidase (EC 1.14.18.1), os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 63,25, 63,53, 63,50, 62,64, 60,19 e 59,97833 U g⁻¹ min⁻¹. Observa-se, na Figura 25, redução estatisticamente significativas (p<0,05) nos tratamentos com ozônio, ultra-som e combinação de ambos (respectivamente, OZ, US e OZUS).

Pimenta & Vilela (2002) encontraram valores próximos (61,44 U g⁻¹ min⁻¹) em cafés com maior porcentagem de frutos cerejas, assim como Goulart (2002) em café de bebida apenas mole. Valores mais elevados (68,21 U g⁻¹ min⁻¹) foram citados por Pimenta et al. (2004), em café com vários estágios de maturação. Valores semelhantes são encontrados no trabalho de Malta et al. (2002) ao utilizarem a cultivar Catuaí Amarelo (64,94 U g⁻¹ min⁻¹).

A injúria sobre a membrana celular, provocada por microrganismos durante a fermentação, libera e, portanto, ativa a enzima polifenoloxidase que, por sua vez, oxida compostos fenólicos a quinonas, as quais, quando em teor representativo, atuam inibindo a polifenoloxidase, diminuindo sua atividade (Illy & Viani, 1995; Pimenta, 2001). Com a ação da polifenoloxidase sobre os polifenóis, diminui a ação destes na proteção contra a oxidação dos aldeídos, podendo afetar, de forma negativa, a qualidade da bebida (Pimenta, 1995). Portanto, aumentando a atividade desta enzima, significa que houve maior injúria do café e conseqüente perda na qualidade da bebida.

Com a utilização antecipada do ozônio e também do ultra-som (OZ+FER e US+FER), houve uma redução de microrganismos e, conseqüentemente, uma redução da injúria. Por outro lado, a ação lesiva do ozônio e do ultra-som sobre a membrana celular, embora presente, é reduzida pelo efeito dos mesmos na

mucilagem, promovendo quebra na estrutura, funcionando como uma primeira barreira, protegendo a membrana celular.

Portanto, a atividade da enzima permaneceu com valores semelhantes, embora por mecanismos diferentes. Houve um equilíbrio: por um lado, a ação de grande quantidade de microrganismos na membrana celular do café apenas fermentado e, por outro, o efeito aditivo provocado pela menor concentração de microrganismos mais o efeito direto dos tratamentos sobre a membrana celular, mas amenizado pela presença de mucilagem.

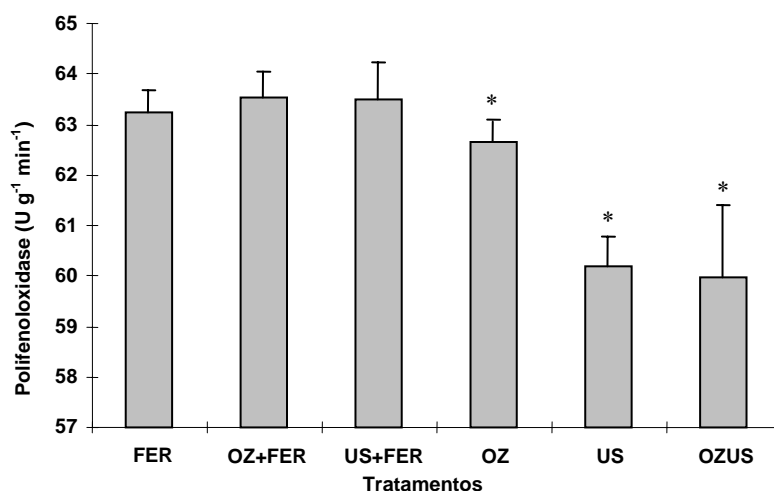


FIGURA 25 Valores médios de polifenoloxidase ($\text{U g}^{-1} \text{min}^{-1}$) em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Os tratamentos com ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS), possivelmente, por serem mais drásticos, causaram maiores injúrias nos grãos, o

que induz a uma quantidade maior de polifenoloxidase, mas, tiveram sua atuação também sobre a enzima, degradando-a, como sugerem Butz & Tauscher (2002), Kuldiloke (2002), Guzel-Seydim et al. (2004), Vercet et al. (2002).

5.3 Análises sensoriais

Na análise sensorial da bebida, os valores médios obtidos nas avaliações feitas pela prova de xícara das amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, 81,83, 81,86, 81,50, 81,43, 81,25 e 81,17, não apresentando diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre os tratamentos propostos, como pode ser observado na Figura 26.

O tratamento de alimentos com ozônio e ultra-som é citado por vários autores como não interferindo na avaliação sensorial, como Oliveira (2005), tratando tilápias com ozônio e ultra-som; Veiga (2003), tratando carcaças de frango também com ozônio e ultra-som, Manousaridis et al. (2005), tratando moluscos com ozônio e Wang et al. (2004), tratando coentro com ozônio; entre outros.

Os julgadores avaliaram as amostras de café, atribuindo valores de 0 a 8 aos atributos bebida limpa, doçura, acidez, corpo, sabor, *aftertaste* (gosto remanescente), balanço e geral, de acordo com valores e parâmetros positivos e negativos previamente definidos.

Podem ser observados, na Figura 27, os atributos avaliados isoladamente e que deram origem às notas finais das amostras de café, plotada na Figura 26. Nela, os atributos bebida limpa, sabor e *aftertaste*, em todas as amostras obtiveram nota média 6, ou seja, julgadas finas. No atributo doçura, as amostras FER e OZ+FER foram julgadas boas (notas próximas de 5) e as outras como finas (notas 6). As mesmas amostras FER e OZ+FER foram julgadas finas

(notas 6), quanto ao corpo da bebida, enquanto as outras foram julgadas boas (notas próximas de 5). A maioria das amostras foram julgadas boas no atributo acidez, com exceção das amostras US+FER e US que foram classificadas como finas. No atributo balanço, apenas as amostras US foram julgadas finas. No atributo geral, apenas as amostras OZ+FER foram julgadas finas (ver Anexo).

Na somatória, todas as amostras obtiveram valores próximos de 81, ou seja, todas foram julgadas como amostras de café especial, cuja nota deve ser superior a 80, como aceito no comércio deste tipo de café. Os resultados sugerem, portanto, que as amostras em que foram aplicados os tratamentos propostos, não mostraram alterações perceptíveis na avaliação sensorial, podendo ser consideradas, dentro da classificação de cafés especiais, como de padrão médio.

Apesar de alguns parâmetros de qualidade analisados neste trabalho sugerirem um decréscimo na qualidade da bebida, não houve diferenças drásticas que pudessem causar uma depreciação excessiva na avaliação sensorial. Deve ser considerado também que, além de subjetiva, esta avaliação é feita após a torração que mascara defeitos em amostras de café.

5.4 Abertura dos grãos

Na análise de abertura de grãos de café após a torra, típica de cafés despulpados, os valores médios obtidos para as amostras de café fermentado (FER), tratado previamente com ozônio, seguido de fermentação (OZ+FER), previamente com ultra-som, seguido de fermentação (US+FER), ozônio (OZ), ultra-som (US) e ambos (OZUS) foram, respectivamente, de 56,0%; 71,7%, 63,0%, 73,0%, 71,5% e 64,3%, apresentando diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) somente nos tratamentos das amostras de café com ozônio, seguido de fermentação e ozônio apenas (Figura 28).

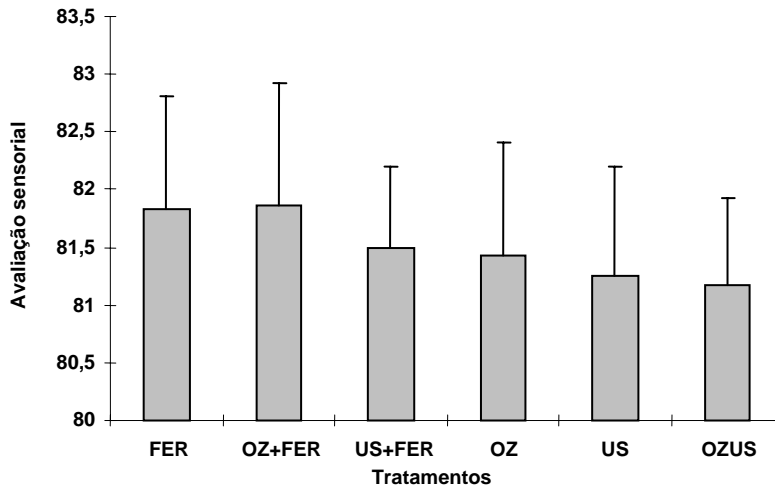


FIGURA 26 Valores médios de notas de avaliação sensorial em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

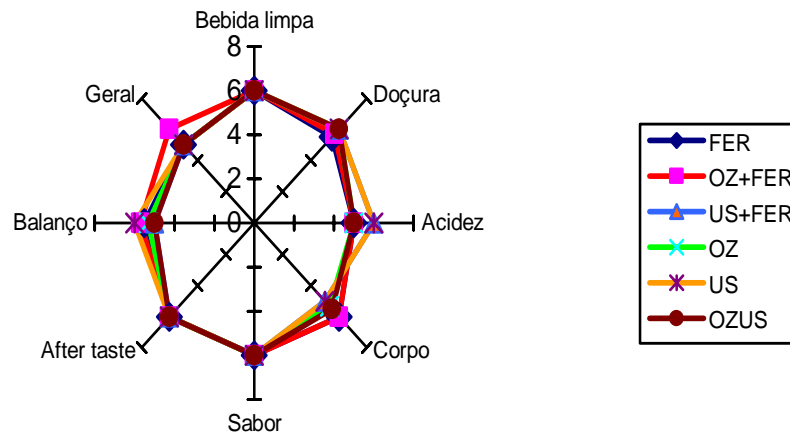


FIGURA 27 Valores médios dos atributos sensoriais em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação.

De acordo com Graner & Godoy Jr. (1967), IBC (1972) e Zanotti & Souza Neto (2005), a torração do café é considerada como característica de café despulpado quando a maioria dos grãos apresenta a “membrana prateada” ou “película branca”, clara e bem nítida no sulco ventral dos grãos. No comércio do café despulpado, esta é a única forma de classificadores de cafés conseguirem distinguir entre cafés despulpados e os obtidos por outros processos, após a torra (informação pessoal).

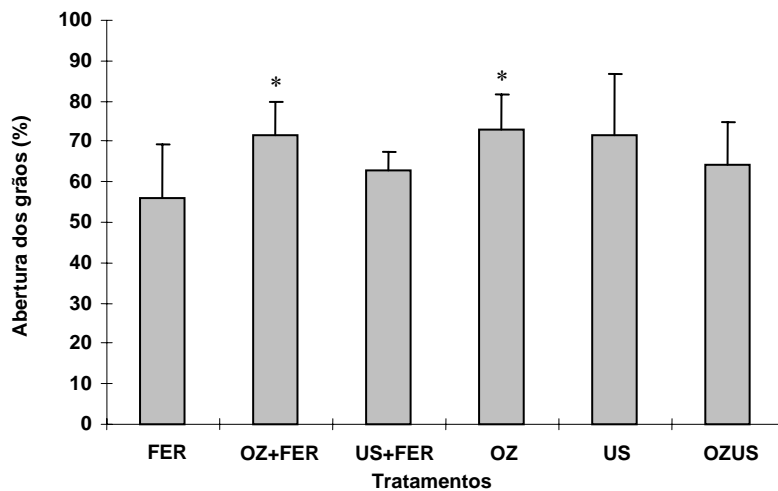


FIGURA 28 Valores médios da porcentagem de abertura dos grãos durante o processo de torração em amostras de café fermentado, tratado previamente com ozônio e ultra-som, tratado com ozônio, ultra-som e ambos. OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação. Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância.

Com os tratamentos utilizados, a quantidade de grãos com a mesma característica de cafés despulpados foi maior com o ozônio e semelhante quando utilizado o ultra-som (mas com tendência a aumentar). Provavelmente, a atuação destes dois tratamentos alterou a textura dos grãos,

facilitando a abertura dos mesmos e expondo a camada germinativa do embrião. Sugere-se, então, que o tratamento prévio com ozônio e ultra-som reproduzam esta característica de café despulpado, sendo útil na comercialização, pois o mercado valoriza mais o café fermentado.

5.5 Considerações finais

Observando-se os vários parâmetros avaliados, nota-se certa tendência na diminuição do desvio padrão dos valores obtidos em algumas análises. Pode ser considerado, portanto, que houve uma maior padronização dos grãos na remoção da mucilagem, utilizando o ozônio e, principalmente, o ultra-som. Esta tendência é bem notada nas contagens de microrganismos, teores de açúcares totais, redutores e não-redutores, lixiviação de potássio, condutividade elétrica e compostos fenólicos. É possível dizer que o ultra-som tem a vantagem de atuar não apenas superficialmente, mas também em profundidade nos grãos. O ozônio, por sua vez, obviamente atua quase que exclusivamente na superfície das estruturas que estão em contato com a solução aquosa, de modo paulatino.

O atual apelo mundial está na busca de processos que utilizem quantidade de água cada vez menor. Dessa forma, sugere-se que os processos aqui descritos, antes de serem utilizados, sejam adaptados a sistemas fechados que reciclem a água, como já obtido para outros alimentos.

Notam-se discrepâncias consideráveis quando são comparados os resultados obtidos com os de outros pesquisadores. Vale ressaltar a importância da qualidade nos dados produzidos para assegurar uma comparatividade entre as informações e uma melhor aceitação científica. Seria interessante o estudo da aplicação de padrões confiáveis em todas as análises químicas como comparativo e como aferição de soluções, equipamentos e boas práticas de laboratório.

6 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos, é possível concluir que:

- o emprego do ozônio ou do ultra-som como tratamento prévio ao processo de obtenção de café despulpado (fermentação) pode vir a ser um possível aliado à segurança alimentar;
- o emprego do ozônio e ou do ultra-som é viável como alternativa na remoção de mucilagem de café, com redução de tempo, maior padronização do produto e maior segurança alimentar;
- os tratamentos propostos não alteraram, de modo depreciável, a qualidade do café.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCE - Associação Brasileira de Cafés Especiais. **Cup of excellence 2003**. Alfenas: BSCA, 2003.

AHMAD, R.; THARAPPAN, B.; BONGIRWAR, D. R. Impact of gamma irradiation on the monsooning of coffee beans. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 149-157, 2002.

ANDROCIOLI FILHO, A. Procedimento para o adensamento de plantio e contribuição para o aumento da produtividade. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAFÉ ADENSADO, 1994, Londrina. **Anais...** Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 1994. p. 249-275.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analyses of the Association of Official Analytical Chemists**. 15. ed. Washington: AOAC, 1990.

APHA - American Public Health Association. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 18. ed. Washington: American Public Health Association, 1992.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 16. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1985.

AVALLONE, S.; BRILLOUET, J. M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J. P. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 2, p. 191-198, Feb. 2002.

AVALLONE, S.; GUYOT, B.; BRILLOUET, J.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J. Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. **Current Microbiology**, New York, v. 42, n. 4, p. 252-256, Apr. 2001.

BARRIOS, B. B. E. **Caracterização física, química, microbiológica e sensorial de cafés (*Coffea arabica* L.) da região Alto Rio Grande – Sul de Minas Gerais**. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G.; SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 85, n. 3, p. 293- 300, Aug. 2003.

BECKERSON, D. W.; HOFSTRA, G. Effects of sulphur dioxide and ozone, singly or in combination, on membrane permeability. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 58, n. 4, p. 451-457, 1980.

BELTRÁN, F. J.; ÁLVAREZ, P. M.; RODRÍGUEZ, E. M.; GARCÍA-ARAYA, J. F.; RIVAS, J. Treatment of high strength distillery wastewater (cherry stillage) by integrated aerobic biological oxidation and ozonation. **Biotechnology Progress**, v. 17, p. 462-467, 2001.

BELTRÁN, F. J.; GARCÍA-ARAYA, J. F.; ÁLVAREZ, P. M. A. Wine distillery wastewater degradation. 2. Improvement of aerobic biodegradation by means of an integrated chemical (ozone) - biological treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 9, p. 3919-3924, Sept. 1999.

BENITEZ, F. J.; ACERO, J. L.; GARCIA, J.; LEAL, A. I. Purification of cork processing wastewaters by ozone, by activated sludge, and by their two sequential applications. **Water Research**, Oxford, v. 37, n. 17, p. 4081-4090, Oct. 2003.

BEUCHAT, L. R.; CHMIELEWSKI, R.; KESWANI, J.; LAW, S. E.; FRANK, J. F. Inactivation of aflatoxigenic *Aspergilli* by treatment with ozone. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 202-205, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC n. 12**: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: ANVISA, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária, Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 451. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 8-15, 22 de set. 1997.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, Amsterdam, v. 35, n. 2 - 3, p. 279-284, 2002.

CARDOSO, C. C.; VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; FIORINI, J. E.; AMARAL, L. A. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 59-61, jan./abr. 2003.

CARR, R. **XLStatistics**: statistics analysis workbooks for Microsoft Excel. versão 5. 73 (2004), XLent Works, 2004. Disponível em: <<http://www.deakin.edu.au/~rodneyc/XLStats.htm>>. Acesso em: 25 jul. 2004.

CARVALHO JÚNIOR, C.; BORÉM, F. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; SILVA, F. M. Influência de diferentes sistemas de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.). **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1089-1096, set./out. 2003.

CARVALHO, V. D. **Qualidade do café**. Lavras: Faepe-UFLA, 1997. 37 p.

CARVALHO, V. D. de; CHAGAS, S. J. de R.; BOTREL, N.; JUSTE JÚNIOR, E. S. G. Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e a qualidade da bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 449-454, mar. 1994.

CHAGAS, S. J. R. **Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais**. 1994. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHAGAS, S. J. R.; MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Potencial da Região Sul de Minas Gerais para a produção de cafés especiais (I - Atividade da polifenoloxidase, condutividade elétrica e lixiviação de potássio). **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 590-597, maio/jun. 2005.

CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. (Ed.). **Coffee**: botany, biochemistry and production of beans and beverage. London: Croom Helm, 1985.

COFFEE TALK. **The New Java U**. Vashon, WA, USA: Coffee Talk, 2002. 280p. p. 23-49 (The world of coffee). Disponível em <<http://www.coffeetalk.com/2%20The%20World%20of%20Coffee.pdf>> Acessado em 10 de julho de 2005.

COSTA, L.; CHAGAS, S. J. R. Gourmets - uma alternativa para o mercado de café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 187, p. 63-67, 1997.

DRAETTA, I. S.; LIMA, D. C. Isolamento e caracterização das polifenoloxidasas do café. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 7, p. 3-28, 1976.

DUARTE, S. M. S. **Atividade antioxidante e antimutagênica *in vitro* e *in vivo* da bebida do café**. 2004. 118 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DUMVILLE, J. C.; FRY, S. C. Solubilisation of tomato fruit pectins by ascorbate: a possible non-enzymic mechanism of fruit softening. **Planta**, Berlin, v. 217, n. 6, p. 951-961, Oct. 2003.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z. Effect of ultrasound on the extractibility of corn bran hemicelluloses. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 225-229, Sept. 2002.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do café**: relatório de gestão. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento, [2004?]. 142 p. Disponível em: <http://www22.sede.embrapa.br/café/outros/arq_Relat_Gestao/Tecnologias_PARTE1.pdf>. Acessado em 02 dezembro 2005.

ENTEZARI, M. H.; NAZARY, S. H.; KHODAPARAST, M. H. H. The direct effect of ultrasound on the extraction of date syrup and its micro-organisms. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 11, n. 6, p. 379-384, Sept. 2004.

FAVARIN, J. L.; VILLELA, A. L. G.; MORAES, M. H. D.; CHAMMA, H. M. C. P.; COSTA, J. D.; DOURADO-NETO, D. Qualidade da bebida de café de frutos cereja submetidos a diferentes manejos pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 187-192, fev. 2004.

FRANCIS, F. J. (Ed.). **Encyclopedia of food science and technology**. 2. ed. New York: Wiley, 2000. 2907 p.

FUNG, D. Y. C. Foodborne diseases. In: FRANCIS, F. J. (Ed.). **Encyclopedia of food science and technology**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 2000. p. 1078-1089.

GEHR, R.; WAGNER, M.; VEERASUBRAMANIAN, P.; PAYMENT, P. Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater. **Water Research**, Oxford, v. 37, n. 19, p. 4573-4586, Nov. 2003.

GOGATE, P. R. ; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. **Advances in Environmental Research**, Oxford, v. 8, n. 3-4, p. 553-597, Mar. 2004.

GOLDSTEIN, J. L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 371-382, 1963.

GONZE, E.; FOUREL, L.; GONTHIER, Y.; BOLDO, P.; BERNIS, A. Wastewater pretreatment with ultrasonic irradiation to reduce toxicity. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 73, n. 2, p. 93-100, May 1999.

GOULART, P. F. P. **Purificação da polifenol oxidase e avaliação de métodos bioquímicos para aferir a qualidade da bebida do café**. 2002. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRANER, E. A.; GODOY JÚNIOR, C. (Coord.) **Manual do cafeicultor**. São Paulo: Melhoramentos, 1967. 320 p.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 37, p. 453-460, 2004.

HAAHR, M. **Randon.org**: web interface to the true random numbers. 1999. Disponível em <<http://www.random.org/nform.html>> Acesso em: 20 dez. 2002.

HACH. **Hach**: bottled water analysis handbook. Loveland, Colorado (EUA): Hach Company, 1998. 260 p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 3. ed. Oxford: University Press, 1999. 936 p.

HASLAN, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, Chicago, v. 59, p. 205-215, 1996.

HICKS, P. A. Postharvest processing and quality assurance for speciality / organic coffee products. In: ASIAN REGIONAL ROUND-TABLE ON SUSTAINABLE, ORGANIC AND SPECIALITY COFFEE PRODUCTION, PROCESSING AND MARKETING, 1., 2001, Chiang Mai, Thailand. **Papers and Abstracts...**Chiang Mai, Thailand: FAO, 2001. Disponível em <http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/003/x6938e/x6938e05.htm> Acesso em: 15 out. 2005.

IBC - Instituto Brasileiro do Café. **Classificação de café**: noções gerais. Rio de Janeiro: IBC/MIC - Ministério da Indústria e Comércio, 1972. 88 p.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Ecologia microbiana de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1985. v. 2, 1989 p.

ICO - International Coffee Organization. **Code of Practice**: enhancement of coffee quality through prevention of mould formation. London: ICO / Private Sector Consultative Board, June 2002.

ICO - International Coffee Organization. **Total production of exporting countries crop years 1999/00 to 2004/05**. May 2005. Disponível em: <http://www.ico.org/field_processing.asp> Acesso em: 10 jul. 2005.

IDRISSI, F. Z.; AGUT, M.; LARRONDO, J.; CALVO, M. A. Effect of ultrasound on fungal cells. **Cytobios**, Cambs, v. 88, n. 353, p. 119-122, 1996.

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

JYOTI, K. K.; PANDIT, A. B. Effect of cavitation on chemical disinfection efficiency. **Water Research**, Oxford, v. 38, n. 9, p. 2249-2258, May 2004.

JYOTI, K. K.; PANDIT, A. B. Hybrid cavitation methods for water disinfection: simultaneous use of chemicals with cavitation. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 10, n. 4-5, p. 255-264, July 2003.

KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 37, n. 4, p. 371-382, Oct. 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, Sept. 1999.

KULDILOKE, J. **Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices.** 2002. 119 p. Tese (Doutorado em Engenharia) - Technischen Universität Berlin, Berlin.

LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean quality. **Journal of Seed Technology**, Sangamon, v. 12, n. 1, p. 3-6, 1988.

LOPES, L. M. V. **Avaliação da qualidade de grãos de cafés crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).** 2000. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MAEZTU, L.; ANDUEZA, S.; IBANEZ, C.; PAZ DE PENA, M.; BELLO, J.; CID, C. Multivariate methods for characterization and classification of espresso coffees from different botanical varieties and types of roast by foam, taste, and mouthfeel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 10, n. 11, p. 4743-4747, Nov. 2001.

MALTA, M. R.; SANTOS, M. L.; MELO, F. A. Qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1385-1390, Sept./Oct. 2002.

MANOUSARIDIS, G.; NERANTZAKI, A.; PALEOLOGOS, E. K.; TSIOTSIAS, A.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. **Food Microbiology**, London, v. 22, n. 1, p. 1-9, 2005.

MANTLE, P. G.; CHOW, A. M. Ochratoxin formation in *Aspergillus ochraceus* with particular reference to spoilage of coffee. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 105-109, May 2000.

MASON, T. J.; JOYCE, E.; PHULL, S. S.; LORIMER, J. P. Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 10, n. 6, p. 319-323, Oct. 2003.

MASON, T. J.; PANIWNKY, L.; LORIMER, J. P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 3, n. 3, p. S253-S260, Nov. 1996.

MCCLEMENTS, D. J. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. **Trends in Food , Science & Technology**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 293-299, Sept. 1995.

MECOZZI, M.; AMICI, M.; PIETRANTONIO, E.; ACQUISTUCCI, R. Ultrasound-assisted analysis of total carbohydrates in environmental and food samples. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 6, n. 3, p. 133-139, June 1999.

MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetros bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 239-243, abr./jun. 2005.

NAFFRECHOUX, E.; CHANOUX, S.; PETRIER, C.; SUPTIL, J. Sonochemical and photochemical oxidation of organic matter. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 7, n. 4, p. 255-259, Oct. 2000.

NASCIMENTO, L. C.; LIMA, L. C. O.; VALLE, R. H. P.; VEIGA, S. M. O. M.; FIORINI, J. E. Uso de derivados clorados, ozônio e ultra-som na sanificação de água e alimentos - revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 136, p. 48-57, out. 2005.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, p. 375-380, 1944.

OIC - Organizacion Internacional del Café. **El despulpado del café por medio de desmucilagadoras mecánicas sin proceso de fermentación y su efecto en la calidad de bebida de café producido en la región de Apucarana en el estado de Paraná en Brasil**: 1992. [S. l. : s. n.], 1992. (Reporte de Evaluación Sensorial).

OLIVEIRA, N. M. S. **Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-ozônio em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. 156 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, R. M.; CARVALHO, E. P.; SILVEIRA, I. A. Influência da diversidade microbiana na qualidade da bebida do café: uma revisão. **Interação**, Curitiba, v. 3, n. 3, p. 15-21, 2001.

PÁDUA, F. R. M. **Composição química e qualidade de diferentes tipos de café torrado e moído durante o armazenamento.** 2002. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PALOU, L.; CRISOSTO, C. H.; SMILANICK, J. L.; ADASKAVEG, J. E.; ZOFFOLI, J. P. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 39-48, Jan. 2002.

PELL, E. J.; ECKARDT, N. A.; GLICK, R. E. Biochemical and molecular basis for impairment of photosynthetic potential. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 39, n. 3, p. 453-462, Mar. 1994.

PEREIRA, R. G. F. A. **Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (*Coffea arabica* L.) “estritamente mole”.** 1997. 96 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIMENTA, C. J. **Época de colheita e tempo de permanência dos frutos à espera da secagem, na qualidade do café.** 2001. 145p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIMENTA, C. J. **Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) originado de diferentes frutos colhidos em quatro estádios de maturação.** 1995. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIMENTA, C. J.; CHAGAS, S. J. R.; COSTA, L. Pectinas e enzimas pectinolíticas no café (*Coffea arabica*) em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 1079-1083, out./dez. 2000.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1481-1491, dez. 2002. Edição Especial.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R.; CARVALHO JUNIOR, C. Componentes de parede celular de grãos de frutos de café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tempos à espera da secagem. **Acta Scientiarum - Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 203-209, abr./jun. 2004.

PONTING, J. D.; JOSLYNG, M. A. Ascorbic acid oxidation and browning in apple tissue extracts. **Archives of Biochemistry**, New York, v. 19, n. 1, p. 47-63, 1948.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Separation and characterization of endopolygalacturonase and exopolygalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 3, p. 252-256, Sept. 1973.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (Coffea arabica L.) e sua relação com a qualidade de bebida**. 1992. 125 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

QUESADA, J.; RUBIO, M.; GÓMEZ, D. Ozonation products of organosolvolytic extracts from vegetal materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 2, p. 692-697, Feb. 1998.

RADEL, S.; MCLOUGHLIN, A. J.; GHERARDINI, L.; DOBLHOFF-DIER, O.; BENES, E. Viability of yeast cells in well controlled propagating and standing ultrasonic plane waves. **Ultrasonics**, Amsterdam, v. 38, n. 1-8, p. 633-637, Mar. 2000.

RAMALAKSHMI, K.; RAGHAVAN, B. Caffeine in coffee: its removal. Why and how? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 39, n. 5, p. 441-456, 1999.

RATNER, A.; GOREN, R.; MONSELINE, S. P. Activity of pectin esterase and cellulase in the abscission zone of citrus leaf explants. **Plant Physiology**, Washington, v. 44, n. 12, p. 1717-1723, Dec. 1969.

RESTAINO, L.; FRAMPTON, E. W.; HEMPHILL, J. B.; PALNIKAR, P. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 9, p. 3471-3475, Sept. 1995.

RIBEIRO, D. M. **Qualidade do café descascado submetido a diferentes temperaturas, fluxos de ar e períodos de pré-secagem**, 2003. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RUNECKLES, V. C.; CHEVONE, B. I. Crop responses to ozone. In: LEFOHN, A. (Ed.) **Surface level ozone exposures and their effects of vegetation**. Michigan: Lewis, Chelsea, p. 189-270.

SARIG, P.; ZAHAVI, T.; ZUTKHI, Y.; YANNAI, S.; LISKER, N.; BEN-ARIE, R. Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 48, n. 6, p. 403-415, June 1996.

SCHLÄFER, O.; ONYECHE, T.; BORMANN, H.; SCHRÖDER, C.; SIEVERS, M. Ultrasound stimulation of micro-organisms for enhanced biodegradation. **Ultrasonics**, Amsterdam, v. 40, n. 1-8, p. 25-29, May 2002.

SEYMOUR, I. J.; BURFOOT, D.; SMITH, R. L.; COX, L. A.; LOCKWOOD, A. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 547-557, June 2002.

SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F.; DIAS, E. S.; WHEALS, A. E. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 60, n. 2-3, p. 251-260, Sept. 2000.

SILVA, E. B.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G.; CHAGAS, S. J. R.; COSTA, L. Fontes e doses de potássio na produção e qualidade do grão de café beneficiado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 335-345, mar. 1999.

SIQUEIRA, H. H. **Parâmetros físico-químicos, químicos e sensoriais de cafés com diferentes tipos de processamento**. 2003. 46 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIVETZ, M. Chemical properties of coffee. **Coffee Processing Technology**, Westport, v. 2, p. 162-186, 1963.

SOUZA, S. M. C. **O café (*Coffea arabica* L.) na região Sul de Minas Gerais: relação da qualidade com fatores ambientais, estruturais e tecnológicos**. 1996. 171 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SUÁREZ-QUIROZ, M.; GONZÁLEZ-RIOS, O.; BAREL, M.; GUYOT, B.; SCHORR-GALINDO, S.; GUIRAUD, J. P. Study of ochratoxin A-producing strains in coffee processing. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 501-507, May 2004.

SUSLOW, T. V. **Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops.** Oakland: University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, 2004. 8 p. Publication 8133.

TOCK, R. W.; RICHARDSON, C. R.; OANCARZ, I.; CHANG, J.; OWSIEY, M. R. Ruminant rations from mesquite biomass pretreated with water and ozone. **Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development**, Washington, v 21, n. 1, p. 101-106, 1982.

TRUGO, L. C. Café: composição química e potencial nutracêutico. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS, 1., 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: Adriana Z. Mercadante, 2001. 272 p.

VEIGA, S. M. O. M. **Sanificação de carcaças de frango:** processos alternativos. 2003. 291 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VELANO, H. E.; NASCIMENTO, L. C.; BARROS, L. M.; PANZERI, H. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 18-22, jan./mar. 2001.

VERCET, A.; SANCHEZ, C.; BURGOS, J.; MONTAÑES, L.; BUESA, P. L. The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 53, n. 3, p. 273-278, July 2002.

VILLELA, T. C. **Qualidade do café despulpado, desmucilado, descascado e natural, durante o processo de secagem.** 2002. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WANG, H.; FENG, H.; LUO, Y. Microbial reduction and storage quality of fresh-cut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. **Food Research International**, Amsterdam, v. 37, n. 10, p. 949-956, 2004.

WIESE, C. B.; PELL, E. J. Oxidative modification of the cell wall in tomato plants exposed to ozone. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 41, n. 4, p. 375-382, Apr. 2003.

XU, P.; JANEX, M.; SAVOYE, P.; COCKX, A.; LAZAROVA, V. Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design. **Water Research**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 1043-1055, Feb. 2002.

YAVICH, A. A.; LEE, K. H.; CHEN, K. C.; PAPE, L.; MASTEN, S. J.
Evaluation of biodegradability of NOM after ozonation. **Water Research**,
Oxford, v. 38, n. 12, p. 2839-2846, Dec. 2004.

YOSEF, E.; BEN-GHEDALIA, D.; MIRON, J. J.; HUTTERMANN, A.;
MAJCHERCZYK, A.; MILSTEIN, O.; LUDEMANN, S. H. D.; FRUNDS, R.
Characterization of Some Cell Wall Components of Untreated and Ozone-
Treated Cotton Stalks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,
Washington, v. 42, n. 1, p. 06-90, Jan. 1994.

ZANOTTI, P. D.; SOUSA NETO, E. M. **O café no Espírito Santo, no Brasil e
no mundo**. Vitória: s. n., 2005.

ANEXOS

| | | |
|------------|--|-----|
| TABELA 1A | Estatística descritiva para a contagem global de mesófilos em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos | 163 |
| TABELA 2A | Estatística descritiva para a contagem de fungos filamentosos e leveduras em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos. | 163 |
| TABELA 3A | Estatística descritiva para a contagem de coliformes em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 164 |
| TABELA 4A | Estatística descritiva para sólidos solúveis totais em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 164 |
| TABELA 5A | Estatística descritiva para acidez titulável em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 165 |
| TABELA 6A | Estatística descritiva para pH em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos. | 165 |
| TABELA 7A | Estatística descritiva para açúcares totais em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 166 |
| TABELA 8A | Estatística descritiva para açúcares redutores em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 166 |
| TABELA 9A | Estatística descritiva para açúcares não-redutores em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 167 |
| TABELA 10A | Estatística descritiva para compostos fenólicos totais em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 167 |
| TABELA 11A | Estatística descritiva para condutividade elétrica em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 168 |
| TABELA 12A | Estatística descritiva para lixiviação de potássio em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 168 |
| TABELA 13A | Estatística descritiva para poligalacturonase em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 169 |
| TABELA 14A | Estatística descritiva para pectinametilsterase em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 169 |
| TABELA 15A | Estatística descritiva para polifenoloxidase em amostras | |

| | | |
|------------|--|-----|
| | de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 170 |
| TABELA 16A | Estatística descritiva para avaliação sensorial em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos..... | 170 |
| TABELA 17A | Estatística descritiva para abertura de grãos na torração em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos | 171 |

ANEXO B

Página

| | | |
|-----------|--|-----|
| TABELA 1B | Estatística descritiva para a contagem global de mesófilos de em amostras de café submetidas a três tratamentos..... | 172 |
|-----------|--|-----|

ANEXO A

TABELA 1A Estatística descritiva para contagem global de mesófilos em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Mesófilos - $\log(1+\text{UFC g}^{-1})$ |
|-------------------------|---|
| | Média \pm DP |
| Fermentação | 2,165939 \pm 2,650583 |
| Ozônio + fermentação | 2,833910 \pm 2,115710 |
| Ultra-som + fermentação | 1,225772 \pm 1,420725 |
| Ozônio | 4,169902 \pm 0,998287 |
| Ultra-som | 4,317065 \pm 0,294698 |
| Ozônio + ultra-som | 4,452786 \pm 0,519686 |

As médias se referem aos dados transformados em Log (UFC+1). Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 2A Estatística descritiva para contagem de fungos filamentosos e leveduras em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Fungos filamentosos e leveduras |
|-------------------------|---|
| | $\log(1+\text{NMP g}^{-1})$ Média \pm DP |
| Fermentação | 4,544176 \pm 0,141066 |
| Ozônio + fermentação | 3,557797 \pm 0,185734* |
| Ultra-som + fermentação | 3,736237 \pm 0,062665* |
| Ozônio | 3,875275 \pm 0,079386* |
| Ultra-som | 3,848481 \pm 0,023554* |
| Ozônio + ultra-som | 3,536363 \pm 0,100758* |

As médias se referem aos dados transformados em Log (UFC+1). Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Whitney.

TABELA 3A Estatística descritiva para contagem de coliformes em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Coliformes a 35°C - log (1+NMP g ⁻¹) | |
|-------------------------|--|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 4,380229 | ± 0 |
| Ozônio + fermentação | 4,380229 | ± 0 * |
| Ultra-som + fermentação | 4,380229 | ± 0 * |
| Ozônio | 0,283182 | ± 0,141066 * |
| Ultra-som | 0,150515 | ± 0,173800 * |
| Ozônio + ultra-som | 0,100343 | ± 0,155451 * |

| Tratamentos | Coliformes 45°C - log (1+NMP g ⁻¹) | |
|-------------------------|--|------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 0,903096 | ± 0,353997 |
| Ozônio + fermentação | 0,359107 | ± 0,231985 |
| Ultra-som + fermentação | 0,451545 | ± 0,212860 |
| Ozônio | 0 | ± 0 * |
| Ultra-som | 0 | ± 0 * |
| Ozônio + ultra-som | 0 | ± 0 * |

As médias se referem aos dados transformados em Log (NMP+1). Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 4A Estatística descritiva para sólidos solúveis totais em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Sólidos Solúveis Totais | |
|-------------------------|-------------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 34,37500 | ± 1,045825 * |
| Ozônio + fermentação | 32,70833 | ± 0,510310 * |
| Ultra-som + fermentação | 32,50000 | ± 1,020621 * |
| Ozônio | 35,41667 | ± 0,973124 |
| Ultra-som | 35,62500 | ± 1,250000 |
| Ozônio + ultra-som | 34,37500 | ± 1,767767 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 5A Estatística descritiva para acidez titulável em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Acidez Titulável | |
|-------------------------|------------------|------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 229,1667 | ± 16,13743 |
| Ozônio + fermentação | 239,5833 | ± 16,13743 |
| Ultra-som + fermentação | 226,5625 | ± 15,62500 |
| Ozônio | 242,1875 | ± 14,13334 |
| Ultra-som | 234,3750 | ± 18,04220 |
| Ozônio + ultra-som | 226,5625 | ± 14,46594 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 6A Estatística descritiva para pH em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | pH | |
|-------------------------|----------|------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 5,733833 | ± 0,021009 |
| Ozônio + fermentação | 5,691667 | ± 0,049160 |
| Ultra-som + fermentação | 5,710000 | ± 0,018257 |
| Ozônio | 5,751917 | ± 0,020309 |
| Ultra-som | 5,767250 | ± 0,020123 |
| Ozônio + ultra-som | 5,756625 | ± 0,024219 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 7A Estatística descritiva para açúcares totais em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Açúcares Totais | |
|-------------------------|-----------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 12,18541 | ± 1,930838 |
| Ozônio + fermentação | 10,67083 | ± 1,295390 * |
| Ultra-som + fermentação | 9,015065 | ± 0,175201 * |
| Ozônio | 10,09109 | ± 0,636978 * |
| Ultra-som | 9,812045 | ± 0,691740 * |
| Ozônio + ultra-som | 10,72271 | ± 0,557367 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 8A Estatística descritiva para açúcares redutores em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Açúcares Redutores | |
|-------------------------|--------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 0,25355 | ± 0,022236 |
| Ozônio + fermentação | 0,208967 | ± 0,041318 * |
| Ultra-som + fermentação | 0,217025 | ± 0,006709 * |
| Ozônio | 0,243617 | ± 0,018214 |
| Ultra-som | 0,222825 | ± 0,022417 * |
| Ozônio + ultra-som | 0,186663 | ± 0,055710 * |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 9A Estatística descritiva para açúcares não-redutores em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Açúcares Não-Redutores | |
|-------------------------|------------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 11,33525 | ± 1,832581 |
| Ozônio + fermentação | 9,937472 | ± 1,199994 * |
| Ultra-som + fermentação | 8,358151 | ± 0,162306 * |
| Ozônio | 9,354413 | ± 0,605783 * |
| Ultra-som | 9,109174 | ± 0,675601 * |
| Ozônio + ultra-som | 10,00914 | ± 0,572303 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 10A Estatística descritiva para compostos fenólicos totais em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Compostos Fenólicos Totais | |
|-------------------------|----------------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 5,445778 | ± 0,073780 |
| Ozônio + fermentação | 5,712667 | ± 0,113181 * |
| Ultra-som + fermentação | 5,593333 | ± 0,005164 * |
| Ozônio | 5,746389 | ± 0,260428 * |
| Ultra-som | 6,288000 | ± 0,185451 * |
| Ozônio + ultra-som | 6,503917 | ± 0,258213 * |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 11A Estatística descritiva para condutividade elétrica em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Condutividade Elétrica | |
|-------------------------|------------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 134,9344 | ± 22,57891 |
| Ozônio + fermentação | 104,6833 | ± 8,767557 * |
| Ultra-som + fermentação | 115,2883 | ± 15,52822 * |
| Ozônio | 158,3828 | ± 5,285771 * |
| Ultra-som | 148,7183 | ± 2,839066 |
| Ozônio + ultra-som | 152,5742 | ± 9,628838 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 12A Estatística descritiva para lixiviação de potássio em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Lixiviação de Potássio | |
|-------------------------|------------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 42,99111 | ± 14,38128 |
| Ozônio + fermentação | 29,21111 | ± 5,501887 * |
| Ultra-som + fermentação | 29,08333 | ± 2,107166 |
| Ozônio | 57,77389 | ± 7,127429 * |
| Ultra-som | 49,60500 | ± 3,616804 |
| Ozônio + ultra-som | 52,79417 | ± 1,471959 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 13A Estatística descritiva para poligalacturonase em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Poligalacturonase | |
|-------------------------|-------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 18,65085 | ± 1,158419 |
| Ozônio + fermentação | 20,60153 | ± 2,236512 |
| Ultra-som + fermentação | 18,14745 | ± 1,781459 |
| Ozônio | 24,17877 | ± 2,380880 * |
| Ultra-som | 21,76099 | ± 2,904171 * |
| Ozônio + ultra-som | 22,53725 | ± 3,319084 * |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 14A Estatística descritiva para pectinametilsterase em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Pectinametilsterase | |
|-------------------------|---------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 8477,778 | ± 268,2246 |
| Ozônio + fermentação | 8155,556 | ± 300,4626 * |
| Ultra-som + fermentação | 7733,333 | ± 355,9026 * |
| Ozônio | 8394,444 | ± 569,2846 |
| Ultra-som | 8616,667 | ± 608,0022 |
| Ozônio + ultra-som | 7866,667 | ± 634,3692 * |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 15A Estatística descritiva para polifenoloxidase em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Polifenoloxidase | |
|-------------------------|------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 63,25111 | ± 0,428790 |
| Ozônio + fermentação | 63,53333 | ± 0,510465 |
| Ultra-som + fermentação | 63,49833 | ± 0,729669 |
| Ozônio | 62,64278 | ± 0,437672 * |
| Ultra-som | 60,19167 | ± 0,573181 * |
| Ozônio + ultra-som | 59,97833 | ± 1,443297 * |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 16A Estatística descritiva para avaliação sensorial em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Avaliação Sensorial | |
|-------------------------|---------------------|------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 81,83333 | ± 0,983192 |
| Ozônio + fermentação | 81,85714 | ± 1,069045 |
| Ultra-som + fermentação | 81,50000 | ± 0,707107 |
| Ozônio | 81,42857 | ± 0,975900 |
| Ultra-som | 81,25000 | ± 0,957427 |
| Ozônio + ultra-som | 81,16667 | ± 0,752773 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

TABELA 17A Estatística descritiva para abertura de grãos na torração em amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Tratamentos | Abertura de Grãos | |
|-------------------------|-------------------|--------------|
| | Média | ± DP |
| Fermentação | 56,00000 | ± 13,38656 |
| Ozônio + fermentação | 71,71429 | ± 8,035635 * |
| Ultra-som + fermentação | 63,00000 | ± 4,242641 |
| Ozônio | 73,00000 | ± 8,736895 * |
| Ultra-som | 71,50000 | ± 15,26434 |
| Ozônio + ultra-som | 64,33333 | ± 10,30857 |

Asterisco (*) indica que houve diferença estatística em relação ao controle (fermentação), a 5% de significância, pela aplicação do teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações pareadas pelo teste U de Mann-Witney.

ANEXO B

TABELA 1B Médias dos valores obtidos de atributos avaliados na análise sensorial de amostras de café submetidas aos tratamentos propostos.

| Amostras | Atributos avaliados | | | | | | | |
|----------|---------------------|--------|--------|-------|-------|-------------|---------|-------|
| | Bebida limpa | Doçura | Acidez | Corpo | Sabor | After taste | Balanço | Geral |
| FER | 6 | 5,5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5,5 | 5 |
| OZ+FER | 6 | 5,7 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5,7 | 6 |
| US+FER | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 |
| OZ | 6 | 6 | 6 | 5 | 6 | 6 | 5,3 | 5 |
| US | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 5 |
| OZUS | 6 | 6 | 6 | 5 | 6 | 6 | 5 | 5 |

OZ=ozônio, US=ultra-som, FER=fermentação