



HULLY ALVES ROCHA

**AVALIAÇÃO SENSORIAL E QUÍMICA DE CAFÉ NATURAL
COM INOCULAÇÃO TARDIA**

**LAVRAS – MG
2022**

HULLY ALVES ROCHA

**AVALIAÇÃO SENSORIAL E QUÍMICA DE CAFÉ NATURAL COM INOCULAÇÃO
TARDIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Processamento de Produtos Agrícolas, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Flávio Meira Borém
Orientador

LAVRAS – MG
2022

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

Rocha, Hully Alves.

Avaliação sensorial e química de café natural com inoculação
tardia / Hully Alves Rocha. - 2022.

58 p.: il.

Orientador(a): Flávio Meira Borém.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Fermentação. 2. Cultura Iniciadora. 3. Qualidade. I. Borém,
Flávio Meira. II. Título.

HULLY ALVES ROCHA

**AVALIAÇÃO SENSORIAL E QUÍMICA DE CAFÉ NATURAL COM INOCULAÇÃO
TARDIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Processamento de Produtos Agrícolas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 29 de julho de 2022.

| | |
|--|--------|
| Prof. Dr. Flávio Meira Borém | UFLA |
| Prof. Dra. Giselle Figueiredo de Abreu | UFLA |
| Dra. Luciana Silva Ribeiro | UFLA |
| Prof. Dr. Marcelo Ângelo Cirillo | UFLA |
| Dr. Marcelo Ribeiro Malta | EPAMIG |

Prof. Dr. Flávio Meira Borém
Orientador

**LAVRAS – MG
2022**

AGRADECIMENTOS

Para a finalização desta etapa, foi necessária a ajuda de muitas pessoas. Utilizo este espaço para agradecer a todos esses que fizeram parte da minha trajetória, mesmo aqueles que aqui não foram mencionados.

A Deus, por reunir todas as pessoas necessárias no momento em que precisei, por me dar força, coragem, perseverança, para realizar e finalizar esta etapa.

Aos meus maiores amores, minha família, Zilda, Belchior, Kallyna, Thalyk, Gabriel e Augusto pela confiança, pelo apoio e incentivo.

Ao Nelson, pela parceria, pelo amor e, principalmente, pela paciência.

Ao Professor Flávio Borém, meu orientador, pelo aceite da orientação, pelas oportunidades e pelos valiosos ensinamentos.

À Ana Paula, por toda dedicação, ensinamentos, apoio e confiança.

Aos membros da banca pela disponibilidade em contribuir e pelos ensinamentos compartilhados.

Agradeço ao LPPA e PÓS-CAFÉ pelos melhores momentos na Ufla e em Lavras.

À empresa Suntory e à Veloso Green Coffee por proporcionar a realização deste trabalho.

Aos amigos, familiares e colegas que, de alguma forma, contribuíram na elaboração deste trabalho, torceram por mim e me apoiaram.

À Universidade Federal de Lavras e ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola pela oportunidade e à CAPES, pela disponibilização da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Sou muito grata por tudo e todos!

RESUMO

Nos frutos de café, em todas as etapas de produção, existe uma microbiota presente composta por bactérias, leveduras e fungos filamentosos. No processamento dos frutos, a atividade metabólica desses microrganismos pode influenciar na qualidade final do produto. O uso de culturas iniciadoras durante esta etapa é uma alternativa interessante, pois promove a remoção mais rápida da mucilagem e incorpora compostos que melhoram a qualidade sensorial, resultando em uma grande diversificação sensorial para a bebida. Nesse sentido, este trabalho foi elaborado com o objetivo de avaliar o efeito da fermentação em frutos de café variedade Catucaí amarelo de *Coffea arabica*, com microrganismos indígenas, seguida da inoculação da cultura iniciadora *Torulaspota delbrueckii* CCMA 0684 ao longo da etapa de secagem, nas características químicas e sensoriais do café. Os frutos foram divididos em dois lotes, que se diferenciam pelo processo de fermentação indígena, antes do início da secagem. A inoculação da cultura iniciadora foi realizada nos diferentes momentos antes do início da secagem: 0h, 24h, 48h e 72h. Foi observado o efeito da fermentação ao longo da secagem; analisadas as características sensoriais de aroma, sabor, acidez e corpo; a intensidade dos atributos como, doçura, acidez, amargor, corpo, adstringência, finalização e nota final da bebida; a composição volátil dos grãos torrados; o perfil de ácidos orgânicos, compostos bioativos e perfil de ácidos graxos dos grãos crus. Os conteúdos de ácidos graxos e de compostos bioativos apresentaram pouca variação entre os tratamentos. Por meio das análises de compostos voláteis e ácidos orgânicos foi possível a separação entre os dois lotes. O atributo aroma apresentou maior diversificação de atributos quando combinado à fermentação indígena com posterior inoculação da cultura iniciadora, nos tempos de 48h e 72h. Assim como maior doçura, nota final e acidez. Para o atributo sabor, houve predominância de adocicado, no tempo 0h e 24h, dos dois lotes. Foi observado que a combinação da Fermentação Indígena seguida da cultura iniciadora contribui para maior acidez e maior nota final das amostras.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Fermentação. Cultura iniciadora. Qualidade.

ABSTRACT

In coffee fruits, at all stages of production, there is a microbiota present composed of bacteria, yeasts and filamentous fungi. In fruit processing, the metabolic activity of these microorganisms can influence the final quality of the product. The use of starter cultures during this stage is an interesting alternative, as it promotes faster mucilage removal and incorporates compounds that improve sensory quality, resulting in a great sensory diversification for the beverage. In this sense, this work was carried out with the objective of evaluating the effect of fermentation on fruits; of coffee variety Catucaí yellow of *Coffea arábica*, with indigenous microorganisms, followed by the inoculation of the starter culture *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684 during the drying stage, in the chemical and sensorial characteristics of the coffee. The fruits were divided into two lots, which are differentiated by the indigenous fermentation process, before the beginning of drying. Inoculation of the starter culture was performed at different times before the start of drying: 0h, 24h, 48h and 72h. The effect of fermentation during drying was observed; the sensory characteristics of aroma, flavor, acidity and body were analyzed; the intensity of attributes such as sweetness, acidity, bitterness, body, astringency, finish and final note of the drink; the volatile composition of the roasted beans; the profile of organic acids, bioactive compounds and fatty acid profile of raw grains. The contents of fatty acids and bioactive compounds showed little variation between treatments. Through the analysis of volatile compounds and organic acids, it was possible to separate the two batches. The aroma attribute showed greater diversification of attributes when combined with indigenous fermentation with subsequent inoculation of the starter culture, in the times of 48h and 72h. As well as greater sweetness, final note and acidity. For the flavor attribute, there was a predominance of sweetness, at 0h and 24h, in both batches. It was observed that the combination of Indigenous Fermentation followed by the starter culture contributes to higher acidity and higher final grade of the samples.

Keywords: *Coffea arábica*. Fermentation. Starter culture. Quality.

SUMÁRIO

| | | |
|--------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 11 |
| 2.1 | Cafés especiais e o processo de fermentação..... | 11 |
| 2.2 | Microbiota presente nos frutos de café..... | 12 |
| 2.3 | Culturas iniciadoras..... | 14 |
| 2.4 | Composição química do café e o processo de fermentação..... | 15 |
| 2.5 | Fermentação e Secagem..... | 18 |
| 2.6 | Análise Sensorial..... | 19 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 22 |
| 3.1 | Cultura iniciadora e processo de Inoculação..... | 22 |
| 3.2 | Caracterização do experimento..... | 23 |
| 3.3 | Secagem..... | 25 |
| 3.4 | Análise Sensorial..... | 26 |
| 3.5 | Análise da composição volátil dos grãos torrados..... | 28 |
| 3.6 | Análise da composição química dos grãos crus..... | 28 |
| 3.7 | Perfil dos ácidos orgânicos..... | 29 |
| 3.8 | Perfil de ácidos graxos..... | 29 |
| 3.9 | Compostos Bioativos..... | 30 |
| 3.10 | Análise estatística..... | 31 |
| 3.10.1 | Análise sensorial..... | 31 |
| 3.10.2 | Compostos voláteis – grão torrado..... | 31 |
| 3.10.3 | Composição química dos grãos crus..... | 31 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 33 |
| 4.1 | Caracterização sensorial..... | 33 |
| 4.2 | Perfil dos compostos voláteis..... | 43 |
| 4.3 | Perfil de ácidos orgânicos..... | 45 |
| 4.4 | Compostos Bioativos..... | 46 |
| 4.5 | Perfil de Ácidos Graxos..... | 47 |
| 5 | CONCLUSÃO..... | 50 |
| | REFERÊNCIAS..... | 51 |

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo. O valor dado a ele, mesmo que produzidos para comercialização via *commoditie*, é influenciado por sua qualidade e suas características sensoriais.

Atualmente, o café especial representa uma parte importante do mercado global (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION - SCA, 2017). O consumo de cafés especiais está crescendo em proporções maiores do que o consumo de cafés comuns, no mercado mundial, indicando a preferência dos consumidores, cada vez mais, por bebidas diferenciadas e por características sensoriais agradáveis (CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL - CECAFE, 2021). Com a popularidade da bebida e consumidores cada vez mais exigentes há necessidade de buscar constantemente novas técnicas, informações e tecnologias para alcançar uma maior diversidade sensorial e atender novos mercados que demandam sabores mais complexos.

O sabor é um atributo sensorial, que pode ser definido como a combinação complexa de sensações olfativas e gustativas percebidas durante a degustação que pode ser influenciado por efeitos táteis, térmicos, dolorosos e/ou cenestésicos (INTERNATIONAL STANDARDS ORGANIZATION - ISO, 2008).

Durante a formação de um grão que será transformado em uma bebida de café especial, diversos fatores influenciarão na construção dessa qualidade final do café: espécie, origem geográfica, clima, temperatura, altitude, método de colheita, processamento e armazenamento (BRESSANI *et al.*, 2018). Sendo a etapa do processamento dos frutos de grande impacto na qualidade sensorial e formação de diversos perfis de bebidas. Os processos de fermentação são realizados durante essa etapa. A fermentação de frutos de café, tem se tornado uma prática cada vez mais conhecida, com excelentes resultados e boa aceitação dos consumidores.

Na fermentação de cafés, a inoculação de microrganismos, tem apresentado diversas vantagens, como redução do tempo de fermentação, inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis, e a produção de metabólitos que agreguem a qualidade sensorial (MASSAWE; LIFA, 2010; SILVA *et al.*, 2013), sendo uma excelente alternativa para a melhoria da qualidade de cafés.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é uma das mais comuns utilizadas no processo de fermentação de alimentos, porém, inúmeras espécies de diferentes gêneros foram

detectadas nas etapas de processamento do café, que incluem *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces* e *Torulaspota* (BRUYN *et al.*, 2016).

Bressani *et al.* (2018), Evangelista *et al.* (2014a, 2014b), Martinez *et al.* (2017) e Ribeiro *et al.* (2017), obtiveram bebidas com alta qualidade sensorial, confirmando a viabilidade da utilização de culturas iniciadoras no processo de fermentação do café. Em um estudo realizado entre as leveduras *Torulaspota delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*, realizado por Martins *et al.* (2019) a *Torulaspota delbrueckii* apresentou melhores resultados em relação à análise sensorial.

Após o processamento, a etapa de secagem é de extrema importância na pós-colheita, empregada como forma de manutenção da qualidade dos alimentos. Um dos benefícios dessa etapa é a redução do teor de água, minimizando reações de deterioração e alterações físicas e químicas durante o armazenamento (ARAUJO *et al.*, 2014).

Assim também, a variação do teor de água dos frutos correlacionado com a atividade de água é um fator que afeta o grau de colonização e as espécies colonizadas (MAGAN; LACEY, 1984). Leveduras são microrganismos que necessitam de uma atividade de água intermediária, quando comparadas às bactérias e aos fungos filamentosos (SILVA *et al.*, 2008).

Nesse sentido, este trabalho foi elaborado com objetivo de avaliar o efeito da fermentação em frutos; de café variedade Catucaí amarelo de *Coffea arábica*, com microrganismos indígenas, seguida da inoculação da cultura iniciadora *Torulaspota delbrueckii* CCMA 0684 durante a secagem. Nas características químicas dos grãos e sensoriais da bebida.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cafés especiais e o processo de fermentação

As atividades fermentativas dos microrganismos são responsáveis pela produção de muitos alimentos e, principalmente, por suas características singulares. Diversos alimentos, como queijos maturados, conservas, chucrutes, linguiças fermentadas, kombucha, entre outros, possuem uma vida de prateleira consideravelmente maior do que a matéria-prima da qual eles foram obtidos. Os alimentos fermentados possuem aroma e sabor característico que resultam direta ou indiretamente dos organismos fermentadores (JAY, 2005; SONG; JEONG; BAIKI, 2015).

Jay (2005, p. 673-674) ao compilar as conclusões de Prescott, Dunn e Doelle sobre o conceito de fermentação chegou à seguinte definição: “um processo, no qual, transformações químicas são realizadas em um substrato orgânico pela ação de enzimas produzidas por microrganismos”.

A população microbiana dos alimentos e das fermentações envolvidas é alvo de investigação e estudo, há muitos anos, em vários produtos, dentre eles o café. Estudos têm revelado a microbiota presente em frutos de café e ao longo de seu processamento (EVANGELISTA *et al.*, 2015; FRANK; LUM; CRUZ, 1965; MASOUD *et al.*, 2004; PEE; CASTELEIN, 1971; SILVA *et al.*, 2000; VILELA *et al.*, 2010) e mostrado a viabilidade da utilização de organismos fermentativos, naturalmente presentes no fruto, como culturas iniciadoras na produção de cafés especiais (BRESSANI *et al.*, 2018; EVANGELISTA *et al.*, 2014a, 2014b; RIBEIRO *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2013).

O conceito de cafés especiais está relacionado com o prazer que a bebida pode proporcionar ao consumidor por meio de algum atributo específico. A definição desse conceito, por ser ampla e abrangente, é dependente do segmento da cadeia produtiva ao qual se aplica. A SCA (2015) contextualiza esse conceito no âmbito do agricultor, comprador de café cru, torrefador, barista e consumidor, e resume dizendo que um grão de café se torna especial quando todos os envolvidos na cadeia trabalham em harmonia e mantêm um foco aguçado em padrões e excelência do início ao fim.

Café especial, segundo a Brazil Specialty Coffee Association (BSCA, 1991), é definido como grãos isentos de impurezas e defeitos que possuem atributos sensoriais diferenciados. Esses atributos, que incluem bebida limpa e doce, corpo e acidez equilibrada, qualificam sua bebida acima de 80 pontos na análise sensorial da escala da SCA (*Specialty Coffee Association*). Além da qualidade intrínseca, os cafés especiais devem ter

rastreabilidade certificada e respeitar critérios de sustentabilidade, considerando os quesitos ambientais, econômicos e sociais em todas as etapas de produção.

O Brasil é cada vez mais reconhecido por sua indústria de cafés especiais (GUIMARÃES *et al.*, 2019), indicando a preferência dos consumidores por cafés que possuem qualidade de bebida diferenciada.

Evangelista *et al.* (2014a, 2014b) em seus estudos, avaliaram o uso de culturas iniciadoras selecionadas para fermentação de café durante o processamento natural e descascado. Esses autores observaram que o aroma do café inoculado foi melhor em comparação com cafés produzidos sem inoculação. Para o processamento natural, os cafés inoculados apresentaram sabor caramelo e frutado e, para o processamento cereja descascado, apresentaram aroma de caramelo. Esses resultados demonstram que o emprego de fermentação por meio da utilização de culturas iniciadoras possibilita a obtenção de cafés de alta qualidade sensorial, agrega valor ao produto e padroniza o processo.

Ribeiro *et al.* (2017) avaliaram o efeito sensorial da inoculação de três linhagens de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0200 e CCMA 0543 e *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684, respectivamente) em duas variedades de café (Ouro Amarelo e Mundo Novo) processadas pelo método semiseco. Os autores concluíram que o uso de culturas iniciadoras auxilia o controle do processo de fermentação, garantindo a formação de aromas e sabores desejáveis, aumentando a possibilidade da produção de cafés especiais.

Assim, a fermentação aplicada à produção de cafés especiais, com o uso de culturas iniciadoras sugere que a utilização da tecnologia é uma excelente alternativa, pois promovem diversos benefícios, tais como, incremento de características sensoriais, controle sobre o processo fermentativo, previsibilidade do produto final e agregação de valor ao produto (EVANGELISTA *et al.*, 2014a).

2.2 Microbiota presente nos frutos de café

A ecologia microbiana presente nos frutos e grãos de café varia em função da região de cultivo, variedade do café cultivada e do tipo de processamento (SILVA *et al.*, 2000). O café natural e o café descascado, por apresentarem em sua polpa grande quantidade de carboidratos, estão expostos a uma diversidade de microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos filamentosos que encontram no fruto condições favoráveis para se desenvolver.

Agate e Bhat (1966) ao pesquisarem os microrganismos presentes em café robusta na Índia, durante a fermentação do café processado por via úmida para a degradação mais

acelerada da mucilagem, identificaram a presença dos gêneros de bactérias pectinolíticas *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e *Proteus* e a presença das espécies de leveduras *Saccharomyces marxianus*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae* var *ellipsoideus* e *Schizosaccharomyces sp.*, de forma positiva; com destaque para as espécies de leveduras.

Erwinia herbicola, *Klebsiella pneumoniae* e *Lactobacillus brevis* foram identificadas durante a fermentação de café descascado no México por Avallone *et al.* (2001). As bactérias identificadas são pectinolíticas e podem estar relacionadas com a degradação da mucilagem.

Em estudos na Tanzânia, na África, Masoud *et al.* (2004) identificaram diferentes espécies, presentes no café arábica processado via úmida durante a fermentação e secagem. *Pichia kluyveri* e *Pichia anomala* foram identificados em diferentes estágios da fermentação e durante o período da secagem. *Hanseniaspora uvarum* foi identificado, principalmente, durante a fermentação. *Kluyveromyces marxianus*, *Candida pseudointermedia*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia ohmeri*, *Torulaspora delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida xestobii* também foram identificadas.

No Brasil, vários estudos já foram realizados para investigar a ecologia microbiana presente nos frutos de café e ao longo do processamento e fermentação. Silva *et al.* (2000) realizaram um trabalho minucioso ao longo de duas safras em diferentes fazendas do estado de Minas Gerais. Os autores identificaram em cafés processados pela via seca os seguintes gêneros de bactérias: *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Lactobacillus* e *Bacillus* e em relação às leveduras foram *Pichia*, *Candida* e *Arxula*. Os autores concluíram que existe uma diversidade e abundância de espécies microbianas em cafés naturais, e mais importante que a quantidade de microrganismos é a presença de grupos que possuem a capacidade de degradação de compostos, os quais são essenciais na etapa de fermentação.

Vilela *et al.* (2010), em Minas Gerais, avaliaram a microbiota presente em café arábica processado por via úmida. Das leveduras presentes, as espécies mais encontradas foram *Pichia anomala*, *Torulaspora delbrueckii*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces bayanus*, *Hanseniaspora uvarum* e *Kloeckera sp.*

A cultura iniciadora *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684 pertencente à Coleção de Culturas de Microbiologia Agrícola (CCMA, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil), foi previamente isolada de frutos do cafeeiro da espécie *Coffea arabica* L. Var. Acaia durante os processos fermentativos realizados por via úmida e via seca (SILVA *et al.*, 2000; VILELA *et al.*, 2010).

Evangelista *et al.* (2015) investigaram a microbiota presente em frutos de café e ao longo do processamento por via úmida de uma mesma cultivar (Catuaí) em duas regiões distintas do estado de Minas Gerais. *Hanseniaspora uvarum*, *Meyerozyma caribbica*, *Pichia fermentans*, *Debaryomyces hansenii*, *Torulaspota delbrueckii*, *Candida railenensis*, *Candida quercitrusa*, *Wickerhamomyces ciferriv*, *Candida glabrata* e *Wickerhamomyces anomalus* foram às espécies de leveduras identificadas.

2.3 Culturas iniciadoras

Culturas iniciadoras são populações isoladas de microrganismos, de uma mesma espécie ou uma mistura, que serão inoculadas na matéria-prima, para que possam predominar sobre a microbiota existente e promover alterações desejáveis ao produto final (VILELA *et al.*, 2010).

Alguns autores isolaram e identificaram espécies microbianas em frutos de café (BRESSANI *et al.*, 2018; EVANGELISTA *et al.*, 2014a, 2014b; MARTINEZ *et al.*, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2017) e estas foram utilizadas como culturas iniciadoras em cafés processados por via seca e úmida, dentre elas, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Pichia guilliermondii* e *Torulaspota delbrueckii*. Os autores obtiveram bebidas com alta qualidade sensorial, confirmando a viabilidade da utilização de culturas iniciadoras no processo de fermentação do café.

A levedura *Torulaspota delbrueckii* em diversos trabalhos na qual foi utilizada (BRESSANI *et al.*, 2018; EVANGELISTA *et al.*, 2014a, 2014b; MARTINEZ *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2019; RIBEIRO *et al.*, 2017), os autores obtiveram bebidas com alta qualidade sensorial.

Os alimentos fermentados de boa qualidade possuem características sensoriais distintas que agregam valor e isso ocorre devido ao metabolismo de microrganismos. A produção desses alimentos resulta da presença, do crescimento e do metabolismo de microrganismos específicos. A fermentação de alimentos pode resultar em produtos com sabor, gosto e propriedades nutritivas características, por meio da associação microbiana, produção de metabólitos e ativação de enzimas. Atualmente, a lista de produtos fermentados é vasta gerando alimentos e bebidas como: Pão, vinho, cerveja, cidra, queijo, iogurte, carne, vegetais, cacau entre outros (BAMFORTH; COOK, 2019; SCHWAN; FLEET, 2014).

Uma tecnologia viável para produção de alimentos fermentados se baseia na utilização de uma população isolada de microrganismos, de uma mesma espécie ou uma mistura, que

são denominadas de cultura “*starter*” ou iniciadora. Essa população previamente conhecida é inoculada diretamente na matéria-prima para que possa predominar sobre a microbiota natural e provocar alterações desejáveis e proporcionar uma previsão do produto final (JUNG *et al.*, 2019).

Na etapa de processamento do café, o uso de culturas iniciadoras para a realização de fermentações é uma alternativa interessante, pois promove a remoção mais rápida da mucilagem e incorporam compostos que melhoram a qualidade sensorial (EVANGELISTA *et al.*, 2014a).

Evangelista *et al.* (2014a) avaliaram o potencial de linhagens de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* UFLA YCN727, *S. cerevisiae* UFLA YCN724, *Candida parapsilosis* UFLA YCN448 e *Pichia guilliermondii* UFLA YCN731) como culturas iniciadoras para a fermentação a seco de cafés naturais, lavados e não-lavados. Foi observado que a população de leveduras persistiu do início ao fim da secagem, e foram maiores em cafés não lavados. Em comparação ao controle, os cafés inoculados apresentaram um aumento da qualidade sensorial, a bebida apresentou sabor característico de caramelo e frutado. Dessa forma, os autores indicam todas as estirpes para o uso como culturas iniciadoras em cafés processados por via seca.

Bressani *et al.* (2018) avaliaram o potencial de três leveduras utilizando duas formas de inoculação em cafés naturais. As cepas avaliadas foram *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 e *Torulaspota delbrueckii* CCMA 0684 e as formas de inoculação utilizadas foram por pulverização direta sobre os frutos dispostos em terreiro e em baldes, por 16h antes da secagem. *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, inoculado em baldes, obteve a maior pontuação na prova de xícara. A inoculação direta de *Candida parapsilosis* CCMA 0544 apresentou melhores resultados em relação ao método de baldes, já *Torulaspota delbrueckii* CCMA 0684 apresentou bons resultados nos dois métodos de inoculação avaliados.

2.4 Composição química do café e o processo de fermentação

Além da avaliação sensorial, análises físico-químicas e fisiológicas têm sido comumente utilizadas com o objetivo de relacionar os componentes físicoquímicos e químicos do grão com a qualidade do café (CARVALHO *et al.*, 2005; MAZZAFERA, 1999; PIMENTA; COSTA; CHAGAS, 2000; PRETE, 1992).

O aroma do café é uma mistura complexa de compostos voláteis (cerca de mil compostos já foram identificados), dentre os quais pode-se separar em dois grupos, os heterocíclicos (furanos, pirróis, oxazóis, tiazóis, tiofenos, pirazinas, piridinas) e os compostos classificados como alifáticos, alicíclicos e aromáticos (fenóis, aldeídos, cetonas, alcoóis éteres, hidrocarbonetos, ácidos orgânicos, anidridos, ésteres, lactonas, aminas e os compostos sulfurados) (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999).

A manifestação e/ou presença desses componentes químicos, muitos dos quais precursores do sabor e aroma do café dependem de fatores genéticos, ambientais e tecnológicos (ALPIZAR; BERTRAND, 2004; FARAH *et al.*, 2006).

A qualidade da bebida do café é determinada, principalmente, pelo sabor e aroma formados durante a torra dos grãos, processo em que aproximadamente 300 compostos químicos presentes nos grãos crus originam cerca de 850 compostos nos grãos torrados (FLAMENT, 2001).

Segundo Evangelista *et al.* (2014a) há uma influência direta do processo de fermentação na qualidade da bebida do café, seja pela degradação de compostos presentes nos frutos, assim como pela excreção de metabólitos que se difundem para o interior da semente, que são causadas pela biodiversidade de microrganismos, presente naturalmente nos frutos do cafeeiro. O uso de culturas iniciadoras pode ser um aliado na melhoria da qualidade sensorial por meio da produção de ácidos orgânicos e compostos voláteis desejáveis durante a fermentação.

Joët *et al.* (2010) relataram que os cafés já possuem todos os precursores requeridos para o aroma e sabor que são gerados durante a torra, sendo identificados mais de 700 compostos tanto voláteis como não voláteis, contudo, o crescimento de microrganismos durante os estágios de processamento pode conferir notas adicionais de sabor devido aos metabólitos produzidos pela fermentação, e o seu potencial de migrar para dentro do grão (NIGAM; SINGH, 2014).

Evangelista *et al.* (2014b) detectaram vinte e três compostos voláteis em café verde, grão cru, processado pela via úmida. Entre esses, o hexanal apresentou maior quantidade, seguido pelo acetato de propila. O café verde foi mais rico em aldeído, éster e álcool. Em grãos de café torrado, quarenta e dois compostos voláteis foram encontrados. Os furanos foram o maior grupo identificado, seguido por ácidos e álcoois. O álcool furfurílico, furfural, ácido isobutírico e 1-pentanol foram os principais compostos detectados. Em relação ao conteúdo de ácidos orgânicos, ácidos láctico, acético e succínico foram predominantes e detectados durante toda a fermentação. Ácido cítrico e málico foram detectados no início da

fermentação. Ácido oxálico, tartárico, butírico e propiônico não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas.

Já em cafés naturais lavados e não lavados, Evangelista *et al.* (2014a) detectaram quarenta e oito compostos voláteis, de forma semelhante para o café verde, grão cru e torrado. A classe mais abundante de compostos foi álcoois (11-27%) seguidos por furano em grãos torrados (~ 27%) e aldeídos (~ 13%) em grãos verdes.

Ribeiro *et al.* (2017) avaliaram duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* inoculadas em cafés processados pela via úmida das variedades Mundo Novo e Ouro Amarelo. Um total de 96 compostos voláteis foi detectado, ou seja, 46 detectados em café verde e 54 detectados em café torrado. Ácidos, alcoóis, aldeídos, hidrocarbonetos, cetonas e furanos foram predominantes em café verde. Após a torrefação, foram identificados grupos como ésteres, furaldeídos, furanos, cetonas, pirazinas e pirróis.

Em cafés processados pela via úmida Martinez *et al.* (2017) identificaram 112 compostos voláteis em estudo com as espécies de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Candida parapsilosis* CCMA 0544 e *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684 variando a forma de inoculação. Alguns dos compostos detectados estão relacionados com o sabor e aroma de frutas, doces, caramelo, nozes e florais, entre outros. Os principais compostos voláteis detectados nos grãos de café verde e torrados foram ácidos, pirazinas e piridinas. Ao investigar a presença de ácidos orgânicos, os autores detectaram ácido cítrico e succínico ao longo de toda a fermentação.

Bressani *et al.* (2018) identificaram um total de 217 compostos voláteis ao estudar diferentes leveduras e métodos de inoculação em cafés naturais. Compostos voláteis correspondentes ao sabor caramelo foram detectados em amostras inoculadas de forma direta (pulverização de leveduras sobre os frutos) com *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 em café torrado. Compostos de sabor frutado (maçã, cereja) foram observados em amostras inoculadas de forma direta com o *Candida parapsilosis* CCMA 0544. Em relação ao conteúdo de ácidos orgânicos, todos os tratamentos com inoculação direta apresentaram altas concentrações de ácido cítrico e málico.

Os principais compostos responsáveis pela acidez do café são os ácidos orgânicos. Uma das sensações gustativas primárias do café é a acidez, como sensação positiva, ou a acidez, como sensação negativa, que tem influência direta na qualidade sensorial da bebida, juntamente com aroma e compostos amargos e doces (FARAH, 2019).

Os ácidos orgânicos produzidos por microrganismos durante o processo de fermentação dos frutos de café podem influenciar as características sensoriais da bebida do

café de diferentes maneiras. Os ácidos butírico, acético e propiônico, que são produtos de sobre-fermentação podem prejudicar a qualidade final da bebida, conferindo um sabor de cebola quando presente em concentrações superiores a 1 mg mL^{-1} (LOPEZ *et al.*, 1989; SILVA *et al.*, 2013). Por outro lado, a produção de ácido lático pode auxiliar no processo de acidificação da polpa de café favorecendo o desenvolvimento de *Lactobacillus plantarum* LPBR01, sem interferir na qualidade final do produto (PEREIRA, 2016).

A presença de determinados ácidos orgânicos nos grãos de café pode atuar como indicador de boa qualidade do produto final, a concentração desses ácidos é variável em função do processo utilizado, variedade de café e método de inoculação (SILVA *et al.*, 2008; SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014; VILELA *et al.*, 2010).

2.5 Fermentação e Secagem

Resultados de pesquisa apontam que a composição química dos grãos crus de café depende da forma de processamento e secagem utilizada (BORÉM, 2008; BORÉM *et al.*, 2006; BYTOF *et al.*, 2005; KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; LELOUP *et al.*, 2004), as quais imprimem características distintas na qualidade do café. A forma de processamento do café exerce influência no teor de açúcares (MARQUES *et al.*, 2008; PEREIRA; VILLELA; ANDRADE, 2002) e na acidez do café.

Durante o processo de fermentação e secagem, muito se é falado sobre teor de água, atividade de água e como esses fatores podem ter influência no desenvolvimento de microrganismos e também na qualidade final do café. Segundo Borém (2008), a água nos grãos deve ser definida tanto em termos quantitativos como qualitativos. O teor de água de uma substância indica seu grau de hidratação. Para expressar o estado da água em relação aos grãos, utiliza-se o termo atividade de água (aw). Atividade de água trata-se de um parâmetro termodinâmico definido como o “potencial químico” da água nos grãos, ou seja, a disponibilidade potencial da água para participar de reações químicas, bioquímicas e no desenvolvimento de microrganismos.

Ao longo do processamento do café há predominância de grupos ou espécies microbianas devido a mudanças químicas e físicas que acontecem nos frutos de café, principalmente na etapa de secagem. A variação do teor de água dos frutos correlacionado com a atividade de água é um fator que afeta o grau de colonização e as espécies colonizadas (BATISTA *et al.*, 2015; MAGAN; LACEY, 1984; SILVA *et al.*, 2008).

No uso de culturas iniciadoras, no processo de fermentação, a forma de se inocular também pode influenciar nas características e resultado do processo. Em geral, Silva *et al.* (2013), comparando métodos de inoculação, observaram que o método de inoculação direta em baldes, manteve uma população maior de levedura, ácido lático e bactérias mesófilas no final da fermentação. Portanto, esse método pode ter dado condições ambientais favoráveis, levando à sua sobrevivência e crescimento da levedura. Fatores como umidade e temperatura dos frutos de café podem afetar o grau de colonização e as espécies de colonização

Durante a secagem, normalmente ocorre a fermentação indígena, devido à presença de diversos microrganismos (SCHWAN; WHEALS, 2003; SILVA *et al.*, 2000). Silva *et al.* (2008) estudaram a sucessão microbiana durante a fermentação indígena a seco de cafés naturais, e puderam observar que as bactérias foram identificadas em maior número no início da secagem, quando o teor de água dos frutos de café estava em torno de 69% e 0,95, representando 93% do total dos microrganismos isolados. Após 14 dias de secagem, a população bacteriana diminuiu, representando 10% dos isolados.

Em relação às leveduras, Silva *et al.* (2008) identificou a presença de *Pichia burtonii*, *Debaryomyces polymorphus*, *Arxula adenivorans*, *P. holstii* e *P. anomala*, essas espécies possuem atividade de pectina liase e podem ser importantes para a fermentação do café. A contagem de leveduras foi maior comparada à contagem de bactérias quando a atividade de água foi entre 0,82 e 0,85.

Pichia anomala, *Torulasporea delbrueckii* e *Rhodotorula mucilaginosa* foram às leveduras dominantes identificadas por Vilela *et al.* (2010). Espécies do gênero *Candida* apresentaram alta frequência após 96h de secagem, essas leveduras podem tolerar condições de baixa atividade de água (BARNETT; PAYNE; YARROW, 2000).

2.6 Análise Sensorial

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993) define análise sensorial como método científico usado para recordar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

Essa prática é fundamental para determinar a qualidade da bebida do café, permitindo a percepção dos diversos atributos sensoriais que se manifestam após o processo de torra dos grãos, a partir dos componentes químicos e precursores do sabor e aroma presentes nos grãos crus, associados com a estruturação e integridade de membranas celulares do endosperma

(GIOMO *et al.*, 2011), havendo vários métodos para descrever a qualidade da bebida (BRASIL, 2003; LINGLE, 2011).

As metodologias utilizadas para avaliar comercialmente a qualidade do café são baseadas, principalmente, no aspecto físico e na prova de xícara (aspectos sensoriais). Na literatura, os métodos mais utilizados, nos últimos anos, para a descrição das bebidas são: a prova de xícara segundo a Specialty Coffee Association - SCA (ALVES *et al.*, 2017; ISQUIERDO *et al.*, 2012; LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2014), Brazil Specialty Coffee Association (BSCA) (SILVEIRA *et al.*, 2016) e de acordo com a Resolução SAA-37 - Regulamento de Boas Práticas e Bem-Estar Animal (PINO; VEGRO; ASSUMPCÃO, 2017); a análise descritiva com avaliadores treinados (MODESTA *et al.*, 1999; MONTEIRO, 2002; MONTEIRO; MINIM; SILVA, 2005; SANTOS *et al.*, 2013; SILVA, 2003); e estudos de consumidor por meio do uso de escala hedônica e análise multivariada dos dados (FRANCISCO; SANTOS; BENASSI, 2014; OSSANI *et al.*, 2017), relatando a respeito da aceitabilidade, emoções, percepções e comportamento do consumidor diante de diferentes contextos de consumo. Esses métodos vêm fornecendo configurações sensoriais semelhantes às obtidas pela análise descritiva convencional e são eficientes na discriminação de amostras, mesmo utilizando consumidores na avaliação (ALCANTARA; FREITAS-SÁ, 2018).

O método utilizado pela Specialty Coffee Association (SCA) se baseia em uma análise sensorial descritiva quantitativa da bebida e é um dos métodos para a avaliação sensorial mais utilizada nos principais países envolvidos na comercialização de cafés especiais, pela consistência que apresenta na discriminação da qualidade da bebida (LINGLE, 2011). Essa metodologia tem grande aceitação nos Estados Unidos, Japão e em países da América Central, Europa e África.

Nessa avaliação, o café é submetido a uma análise sensorial descritiva quantitativa por equipes constituídas por provadores treinados em conformidade com o comitê de normas técnicas da SCA. O café é avaliado utilizando uma escala de notas de 0 a 10 pontos para fragrância/aroma, uniformidade, xícara limpa, doçura, sabor, acidez, sabor residual, corpo, equilíbrio e impressão global. A soma das notas de todos os atributos constitui a nota final que indica a qualidade global da bebida (GIOMO *et al.*, 2009).

Os cafés especiais são aqueles que atingem, no mínimo, 80 pontos na escala de pontuação da metodologia SCA *Cupping Method*, que vai até 100. Esses cafés são avaliados e certificados pela Brazil Specialty Coffee Association (BSCA). Os grãos torrados e moídos são

avaliados nos aspectos: bebida limpa, doce, acidez, corpo, sabor, gosto remanescente e balanço geral (BSCA, 2017).

Existem métodos baseados na avaliação de atributos individuais, como comumente feito em perfis convencionais: perfil livre, Check-all-that-apply - CATA (ARES *et al.*, 2010) e perfil flash (DAIROU; SIEFFERMANN, 2002). Outros métodos são baseados na avaliação de diferenças globais, como o *sorting* (LAWLESS; SHENG; KNOOPS, 1995) e Napping®. Outra alternativa são os métodos baseados na comparação com referências, como o posicionamento sensorial polarizado - PSP (TEILLET *et al.*, 2010) e, na avaliação global ou descrição de produtos individualmente, como o método de perguntas abertas (open-ended questions). Cada abordagem pode ser mais adequada conforme as diferentes aplicações a que se destinam.

A metodologia check-all-that-apply (CATA) é uma técnica muito utilizada para coletar informações sobre a percepção dos consumidores sobre as características sensoriais de produtos. O formato do questionário CATA permite aos consumidores escolher todos os atributos possíveis para descrever um produto a partir de uma lista apresentada. De acordo com Dooley, Lee e Meullenet (2010), os termos podem ser gerados por uma equipe de avaliadores treinados, ou por um grupo de consumidores ao testar o produto (por exemplo, em um grupo focal). A metodologia CATA é descrita como eficiente para descrever e discriminar os produtos, sendo suas principais vantagens a simplicidade, a rapidez com que as análises são efetuadas e pelo fato de o questionário permitir múltiplas opções a serem selecionadas, ao invés de limitar os questionados a selecionar apenas uma resposta ou forçar os consumidores a focar sua atenção e avaliar atributos específicos (ARES *et al.*, 2010; BRUZZONE; ARES; GIMÉNEZ, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cultura iniciadora e processo de Inoculação

O processo de fermentação, nomeado neste trabalho como fermentação indígena, considerou a presença dessa microbiota nativa, presente naturalmente nos frutos. A cultura iniciadora utilizada para o processo de fermentação dos frutos de café foi a *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684 pertencente à Coleção de Culturas de Microbiologia Agrícola (CCMA, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil).

A *Torulaspora delbrueckii* trata-se de uma levedura potencial previamente selecionada e testada com base em sua atividade pectinolítica e produção de ácidos orgânicos Silva *et al.* (2013). Além de proporcionar atributos sensoriais desejáveis, como caramelo, amêndoas e mel a bebida.

A levedura armazenada a -80 °C foi reativada em tubos contendo 9 ml de meio líquido YEPG (g/L: extrato de levedura, 10; peptona, 20 e glicose, 20). A cultura foi incubada a 28°C, durante 48 h, e depois transferida para 90 ml de meio e incubada a 28°C, 150 rpm, durante 24 h. As células de levedura foram transferidas para volumes maiores de meio até que uma quantidade suficiente de células para inocular em frutos de café com cerca de 10⁷ células/g.

As leveduras se desenvolvem em uma atividade de água intermediária entre bactérias e fungos filamentosos (SILVA *et al.*, 2008). Com o objetivo de simular condições ideais para o desenvolvimento desses microrganismos, antes da inoculação, os frutos foram imersos em uma quantidade de água (Tabela 1), suficiente para absorção pela casca do fruto, determinada pelo cálculo de porcentagem de quebra (Equação 1), antes da inoculação com a cultura iniciadora. O tempo de contato da água com os frutos foi de 5 horas e em seguida realizada a inoculação. Desse total, foi descontado em todas as amostras 200 ml, quantidade referente a solução contendo a cultura iniciadora.

Equação 1 - Cálculo da porcentagem de quebra (PQ)

$$PQ = \frac{U_i - U_f}{100 - U_f} \times 100$$

Legenda: PQ = Porcentagem de quebra (%), U_i = Umidade inicial (% b. u) e U_f = Umidade final (% b.u).

Tabela 1 - Quantidade de água adicionada aos frutos de café antes da inoculação.

| | Teor de água (% b. u) | Água adicionada (kg) |
|-------|------------------------------|-----------------------------|
| C | 65% | sem adição |
| FT0 | 65% | sem adição |
| FT24 | 60% | 1,5 |
| FT48 | 55% | 2,664 |
| FT72 | 51% | 3,42 |
| T | 65% | sem adição |
| FIT0 | 65% | sem adição |
| FIT24 | 59% | 1,752 |
| FIT48 | 54% | 2,868 |
| FIT72 | 41% | 4,872 |

Legenda: C – controle (sem nenhum processo de fermentação); FT0 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* após 0 horas de secagem; FT24 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FT48 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem; FT72 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem; T – Testemunha (fermentação apenas com microbiota indígena); FIT0 – Fermentação indígena seguida de *Torulaspora delbrueckii* após 0 hora de secagem; FIT24 - Fermentação indígena seguida de *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FIT48 - Fermentação indígena seguida de *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem e FIT72 - Fermentação indígena seguida de *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem.

Fonte: Da autora (2022).

O procedimento para inoculação da cultura iniciadora foi realizado da seguinte forma: as amostras de frutos de café foram acondicionadas em um saco de polietileno de alta densidade, higienizado e sanitizado (com solução de álcool 70%), e a solução contendo as células foram homogeneizadas, por agitação manual e inoculadas diretamente sobre os frutos. A mistura (frutos de café + cultura iniciadora) permaneceu nesse recipiente, em contato direto, por 24 horas; homogeneizadas, por agitação manual a cada 12 horas. Essa etapa ocorreu respeitando o diagrama de inoculação pré-estabelecido (Figura 1).

3.2 Caracterização do experimento

O experimento foi conduzido na região do Cerrado Mineiro, município de Carmo do Paranaíba, Minas Gerais, Brasil, situado a 1.117 metros de altitude. Foram utilizados frutos maduros de *Coffea arabica* da variedade Catucaí, processados por via seca.

O experimento foi dividido em dois lotes. O primeiro lote, denominado Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* (FT) e o segundo lote, de nome Fermentação Indígena seguida

da inoculação com *Torulaspora delbrueckii* (FIT), contendo cinco amostras de 15L de café cereja em cada uma delas. As inoculações foram realizadas conforme os frutos iam diminuindo seu teor de água (Figura 1).

O momento da inoculação da cultura iniciadora foi analisado em cinco níveis: sem inoculação, 0 hora, 24 horas, 48 horas e 72 horas após o início da secagem. Composto o trabalho por um fatorial 2 x 5 (2 processos de fermentação e 5 momentos de inoculação após início da secagem), totalizando 10 tratamentos realizados em triplicata. Os tratamentos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição das codificações utilizadas nos tratamentos.

| Código | Descrição |
|---------------|--|
| C | Controle (frutos <i>in natura</i> , encaminhados diretamente para secagem). |
| FT0 | Fermentação com <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 0 horas de secagem. |
| FT24 | Fermentação com <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 24 horas de secagem. |
| FT48 | Fermentação com <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 48 horas de secagem. |
| FT72 | Fermentação com <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 72 horas de secagem. |
| T | Testemunha – (Fermentação indígena (24h) antes da secagem). |
| FIT0 | Fermentação indígena seguida de <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 0 hora de secagem. |
| FIT24 | Fermentação indígena seguida de <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 24 horas de secagem. |
| FIT48 | Fermentação indígena seguida de <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 48 horas de secagem. |
| FIT72 | Fermentação indígena seguida de <i>Torulaspora delbrueckii</i> após 72 horas de secagem. |

Fonte: Da autora (2022).

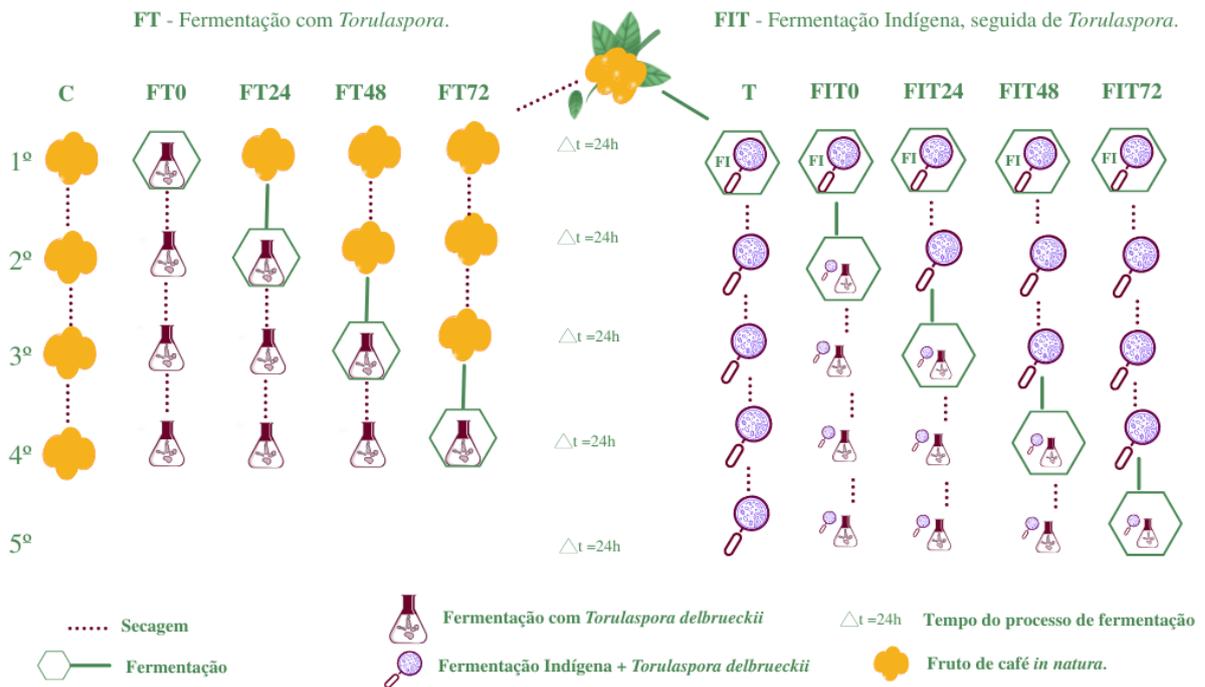
O que difere um lote do outro são as condições criadas para que haja Fermentação Indígena, nas primeiras 24 horas do experimento, nas amostras do lote denominado FIT. As etapas que sucedem a essa são idênticas nos dois lotes. Isso pode ser verificado na Figura 1. Se imaginarmos a sobreposição do lote FT sobre o FIT, a partir da segunda linha, torna-se mais clara a compreensão do delineamento.

As amostras da primeira coluna do lote FT, denominada como Controle (C) foi diretamente encaminhada à secagem. As amostras (exceto controle) foram inoculadas com a cultura iniciadora *Torulaspora delbrueckii*, e essa etapa de fermentação, durou 24 horas. Após

o período de fermentação, os frutos voltaram à etapa de secagem. Todas as amostras foram secadas até atingirem 11% (b.u) do teor de água.

Na Figura 1, é representado em um diagrama as etapas e processos aos quais cada amostra foi submetida.

Figura 1 - Diagrama do processo de fermentação do lote FT (Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*) e do lote FIT (Fermentação Indígena seguida de *Torulaspora delbrueckii*).



Legenda: $\Delta t = 24h$, corresponde ao tempo de duração do processo de fermentação. C = Controle; T = testemunha; FT = Fermentação com *Torulaspora*; FIT = Fermentação Indígena seguida de *Torulaspora*; 0, 24, 48 e 72 = tempo de inoculação da Levedura após início da secagem.

Fonte: Da autora (2022).

3.3 Secagem

A secagem foi realizada em leito suspenso. Inicialmente, em camada fina, grão a grão (15 L de frutos de café / m²), expostos diariamente ao sol, nos períodos das 9h às 15h, até atingirem 11% (b.u) do teor de água.

Após as 15h, os frutos eram cobertos com pano de colheita e lona para evitar reumedecimento com o orvalho da noite e auxiliar na uniformização da secagem.

Todo o processo de secagem foi acompanhado por análises de teor de água utilizando o método de estufa $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3$, seguindo as Regras de Análises para Sementes (BRASIL, 2009), a cada 24 horas.

Após atingirem o teor de água ideal para o armazenamento, 11% (b.u), as amostras foram adequadamente embaladas em sacos de papel craft e sacos plásticos, mantidas sobre armazenamento refrigerado (50% UR, 10°C), por 30 dias. Após esse período, foram beneficiadas para o início da realização das análises químicas e sensoriais.

3.4 Análise Sensorial

A metodologia utilizada para a análise sensorial foi a proposta pela *Specialty Coffee Association* (SCA) *Protocols – Cupping Specialty Coffee* (LINGLE, 2011), realizada por sete provadores treinados e certificados pelo *Coffee Quality Institute* (CQI).

Antes da prova das bebidas, um levantamento de descritores sensoriais que retratavam de maneira mais assertiva os atributos aroma, sabor, acidez e corpo, foi realizado e foi gerada uma lista. Como referência, a Coffee Taster's Flavor Wheel (SPENCER *et al.*, 2016) foi utilizada para agrupar em nove classes os atributos listados, com um termo que melhor descrevia cada uma das classes, sendo elas: Frutado, Floral, Adocicado, Chocolate, Castanhas, Especiarias, Defeitos, Herbáceo e Fermentado.

Posteriormente, a metodologia descritiva CATA (*Check All That Apply*) (ADAMS *et al.*, 2007) foi utilizada na análise sensorial das amostras. A lista de descritores sensoriais gerada, anteriormente, foi utilizada na ficha da análise sensorial CATA (Figura 2). As degustações foram realizadas utilizando o seguinte questionário, e, nele os provadores assinalavam a classe de descritores que melhor descrevia os atributos sensoriais de cada amostra. Não houve restrições no número de marcações feitas pelos degustadores.

3.5 Análise da composição volátil dos grãos torrados

Para determinação dos compostos voláteis presentes os grãos foram torrados e armazenados por aproximadamente 30 dias a -80 graus. Após esse período, os grãos foram moídos, pesados 2 g de cada amostra e colocadas em *vials* hermeticamente fechados. Os compostos voláteis foram extraídos utilizando o headspace estático do equipamento GC-MS modelo QP - 2010 SE (Shimadzu) equipado com uma coluna NST- 100 ($30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$) com fase de polietilenoglicol similar a Carbowax®.

Os *vials* contendo as amostras foram colocados no equipamento e, após o equilíbrio, a 70°C durante 30 min, a fase volátil foi injetada no cromatógrafo a gás (GC) com posterior detecção utilizando espectrômetro de massa (MS). A temperatura do injetor foi ajustada a 220°C , e o gás hélio, utilizado como transportador, foi mantido a uma taxa de fluxo de $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de velocidade linear.

Após testes para determinação da melhor separação, definiu-se como melhor programação: durante 6 min temperatura do forno mantida a 25°C , logo após aumentando a temperatura até 70°C com a taxa de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, até 95°C a $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, até 115°C a $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, até 170°C a $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e finalmente, até 215°C a $40^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. O tempo total da corrida foi de 35 minutos.

Após a separação por cromatografia gasosa, os compostos voláteis foram identificados por um detector de massas. A identificação dos compostos foi baseada nos espectros obtidos na espectrometria de massas com ionização por elétrons a 70 eV de 50 a 350 m/z e comparados com os dados da biblioteca de espectros de massa NIST/2014.

3.6 Análise da composição química dos grãos crus

Em grãos de café cru, foram realizadas as seguintes análises químicas: Ácidos Orgânicos, Perfil de Ácidos Graxos e Compostos Bioativos (cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos).

Os grãos de café foram moídos em moinho 11A basic (IKA, Brasil) por cerca de 1 minuto, nitrogênio líquido foi adicionado para facilitar a maceração e evitar oxidações nas amostras. Após a moagem, as amostras foram acondicionadas em tubos tipo *falcon* e armazenadas em *deepfreezer*, à temperatura de -80°C , até a realização das análises.

3.7 Perfil dos ácidos orgânicos

Para a determinação dos ácidos orgânicos, foram pesados 250 mg de café cru moído e colocados em tubo tipo *falcon* juntamente com 25 ml de água deionizada. A solução foi agitada durante 10 minutos. Posteriormente, 1 ml da solução homogeneizada foi diluído 10 vezes e uma alíquota de 20 μ L foi tomada e filtrada em filtro com abertura de poro de 0,45 μ M para análise por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com base na metodologia descrita por Jham *et al.* (2002).

Soluções padrões dos ácidos, cítrico, tartárico, málico, quínico, succínico, láctico e acético (Sigma-Aldrich) foram empregadas para a identificação dos picos dos cromatogramas comparando-se os tempos de retenção e para o cálculo das suas concentrações nas amostras. Os teores finais dos ácidos orgânicos foram dados em porcentagem de matéria seca (% m.s).

3.8 Perfil de ácidos graxos

Toda a metodologia utilizada para a determinação dos ácidos graxos foi adaptada da metodologia utilizada por Christie (1989). Foram pesados 250 mg de grão cru moído de cada amostra e acondicionados em tubos de micro centrífuga de 2,5 ml com a adição de 1,0 ml de hexano. Em seguida, os tubos foram colocados e mantidos em banho ultrassônico por 10 minutos a temperatura ambiente. Após, os tubos foram centrifugados a 5.000 rpm por 2 minutos. Foi tomada uma alíquota de 500 μ L de cada sobrenadante e transferida para tubos criogênicos de 2,0 ml. O hexano residual, presente na alíquota, foi evaporado (50 °C) em capela de exaustão e o conteúdo de ácido graxo foi conduzido para as etapas de hidrólise de lipídeos.

Para a hidrólise de lipídeos, aproximadamente 10 mg de óleo extraído foi diluído em 100 μ L de uma solução de etanol (95%) / hidróxido de potássio 1 mol/l (5%). Após agitação em vórtex por 10 segundos, o óleo foi hidrolisado utilizando um forno de micro-ondas doméstico Panasonic®, à potência de 80 W, durante 5 minutos. Após resfriamento, foi adicionado 400 μ L de ácido clorídrico a 20%, 40 mg de NaCl e 600 μ L de acetato de etila. Após agitação em vórtex por 10 segundos e repouso por 5 minutos, uma alíquota de 300 μ L da camada orgânica foi retirada, colocada em tubos de micro centrífuga e secada por evaporação (50 °C), obtendo-se, assim, os ácidos graxos livres.

Os ácidos graxos livres foram metilados com 100 μL BF_3 /metanol (14%) e aquecidos em banho de água, a 80 $^\circ\text{C}$ por 10 minutos. Em seguida, foram diluídos com 300 μL de metanol e analisados por cromatografia gasosa.

Os ácidos graxos mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico, araquídico, eicosenoico, linolênico, eicosadienóico, behênico, erúcido e lignocérico foram determinados em um cromatógrafo a gás Shimadzu GC2010 que possui um detector por ionização de chamas. Foi utilizada uma coluna SP-2560 (Supelco) 100 m x 0,25 mm, com gradiente de temperatura: 140 $^\circ\text{C}$, 5 minutos, 4 $^\circ\text{C}/\text{min}$ até 240 $^\circ\text{C}$ permanecendo nessa temperatura por 30 min; injetor (split de 1/20), a 240 $^\circ\text{C}$ e detector a 240 $^\circ\text{C}$; Hélio como gás de arraste (2 mL/min) e volume de injeção de 2 μL . A identificação dos picos correspondentes a cada ácido graxo foi feita por comparação com padrões de ácidos graxos metilados Supelco37. Os teores finais foram dados em porcentagem de área relativa.

3.9 Compostos Bioativos

Os compostos bioativos cafeína, trigonelina e os ácidos clorogênicos, ácido-3-cafeiolquínico, ácido-4-cafeiolquínico e ácido-5-cafeiolquínico (3- ACQ, 4-ACQ 5-ACQ) foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo metodologia de Vitorino *et al.* (2001).

Amostras de 0,5 g de café cru moído foram extraídas em 50 mL água destilada em ebulição e colocadas em banho-maria, com água em ebulição (aproximadamente 94 $^\circ\text{C}$), durante 3 min. O extrato foi filtrado em papel de filtro comum e em seguida, filtrado em membrana de 0,45 μm .

A determinação desses compostos foi realizada em cromatógrafo a líquido, da marca Shimadzu, com sistema de detecção por ultravioleta, coluna cromatográfica C18 (250 x 4,6 mm, cinco μm), comprimento de onda de 210 e 272 nm. A fase móvel constituiu-se de água: metanol (70:30 v/v), com fluxo de 1 mL.min⁻¹. A temperatura do forno foi de 25 $^\circ\text{C}$ e o software utilizado foi o Chromera. Para a identificação e análise quantitativa, foi elaborada uma curva-padrão, utilizando-se padrões de cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos.

3.10 Análise estatística

3.10.1 Análise sensorial

Na análise sensorial realizada, além da análise de nota final e intensidade dos atributos (doçura, acidez, amargor, adstringência e finalização), foi realizada a técnica de *Check All That Apply* (CATA) por meio da aplicação de um questionário.

Os resultados obtidos por meio das frequências dos descritores para os atributos de aroma, sabor, acidez e corpo foram analisados por meio da Análise Múltipla de Fatores (MFA), foram utilizados apenas os descritores que apresentaram frequência superior a 20%.

Os dados correspondem à frequência de uso de cada classe de descritores para descrever cada tratamento, e a frequência foi determinada pela contagem do número de degustadores que usaram a classe, multiplicado pelo número de repetições do tratamento.

Os resultados obtidos nas análises de MFA, neste trabalho, foram apresentados em três gráficos: (1) Gráfico de inércia dos grupos, que analisa o efeito dos tratamentos nas descrições dos atributos; (2) Gráfico de correspondência, que associa os tratamentos com suas fontes de variação de momento de inoculação após início da secagem; (3) Círculo de correlação, que relaciona as variáveis respostas (descritores dos atributos) com as fontes de variação obtidas no gráfico de correspondência.

As análises foram realizadas conforme metodologia descrita por Ossani *et al.* (2017) pelo software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017).

3.10.2 Compostos voláteis – grão torrado

As áreas percentuais relativas, dos compostos voláteis encontrados nos tratamentos foram submetidas à análise dos componentes principais (PCA), utilizando o software estatístico CHEMOFACE (CHEMOFACE, version 1.64). Uma matriz “m x n” foi construída com as áreas relativas dos “n” picos cromatográficos identificados para as “m” amostras avaliadas.

3.10.3 Composição química dos grãos crus

Em relação aos tratamentos com a composição química, foi realizada uma análise dos componentes principais (PCA), utilizando o software estatístico CHEMOFACE (CHEMOFACE, version 1.64) (NUNES *et al.*, 2012). Uma matriz m x n foi construída com o

conteúdo dos compostos químicos identificados e atributos sensoriais para as m amostras avaliadas.

A metodologia de componentes principais é um tipo de análise multivariada que auxilia a melhor compreensão das características investigadas, principalmente, quando são avaliadas características de diferentes unidades (BRO; SMILDE, 2014; JOLLIFFE; CADIMA, 2016). Aliados a essa metodologia, os gráficos do tipo biplot permitem explorar a informação dos tratamentos e das variáveis, simultaneamente, retornando representações gráficas que facilitam, sobremaneira, a interpretação dos resultados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização sensorial

O aroma e o sabor são atributos sensoriais de grande importância na descrição da qualidade da bebida do café.

Para o atributo aroma, os descritores percebidos na análise de múltiplos fatores foram:

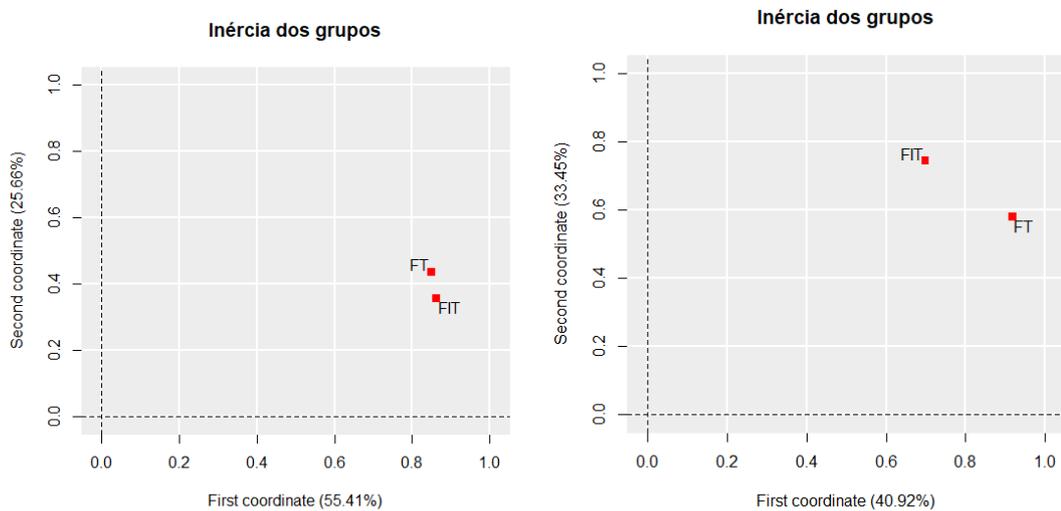
- Lote – Fermentação com *Torulaspota delbrueckii* (FT)
 - FT0 – Chocolate e Especiarias
 - FT24 – Chocolate e Especiarias
 - FT48 – Adocicado, Frutado, Castanha e fermentado
 - FT72 – Adocicado, Frutado, Castanha e fermentado
- Lote – Fermentação Indígena com *Torulaspota delbrueckii* (FIT)
 - FIT0 – Fermentado e especiarias
 - FIT24 – Chocolate, castanhas e floral
 - FIT48 – Fermentado e especiarias
 - FIT72 – Chocolate, castanhas e floral

Para o atributo sabor, os descritores percebidos na análise de múltiplo fatores foram:

- Lote – Fermentação com *Torulaspota delbrueckii* (FT)
 - FT0 – Adocicado
 - FT24 – Adocicado
 - FT48 – Frutado e castanha
 - FT72 – Fermentado, floral e especiarias
- Lote – Fermentação Indígena com *Torulaspota delbrueckii* (FIT)
 - FIT0 – Adocicado
 - FIT24 – Adocicado
 - FIT48 – Chocolate, floral, especiarias
 - FIT72 – Nenhum descritor associado.

Na Figura 3, estão apresentados os gráficos de inércia dos grupos, dos resultados obtidos pela análise múltipla de fatores (MFA) dos descritores de aroma e sabor, respectivamente.

Figura 3 - Gráfico da inércia de grupos da análise de múltiplos fatores (MFA) dos descritores do aroma e sabor (respectivamente) da análise sensorial dos lotes FT (Fermentação com *Torulaspora*) e FIT (Fermentação Indígena seguida com *Torulaspora*), em diferentes momentos de inoculação de *Torulaspora delbrueckii* (0h, 24h, 48h e 72h) após início da secagem.

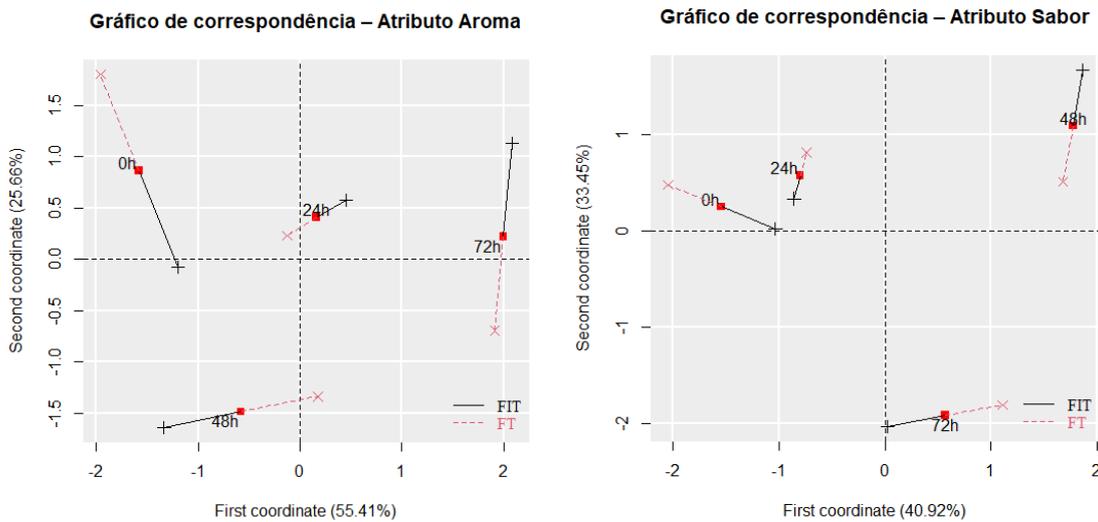


Legenda: FIT – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii*; FT: Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*.

Fonte: Da autora (2022).

As duas primeiras dimensões da análise múltipla de fatores explicaram 81,07% da variância dos dados experimentais para os descritores de aroma e 74,37% da variabilidade dos descritores de sabor (Figura 3). Para o atributo aroma, houve um distanciamento mínimo entre os centroides dos lotes FIT – Fermentação Indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* e FT – Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*. Quanto mais próximos estão os centroides, maior similaridade entre os tratamentos. Para o atributo aroma, os dois lotes possuem o mesmo efeito, pois as variações apresentam baixa variabilidade, o que demonstra uma concordância entre os provadores. Para o atributo sabor, a variabilidade foi maior, supostamente causada por alguma aferição realizada pelos provadores.

Figura 4 - Gráfico de correspondência da análise de múltiplos fatores (MFA) dos descritores do aroma e sabor (respectivamente) da análise sensorial dos lotes FT (Fermentação com *Torulaspora*) e FIT (Fermentação Indígena seguida com *Torulaspora*), em diferentes momentos de inoculação de *Torulaspora delbrueckii* (0h, 24h, 48h e 72h) após início da secagem.



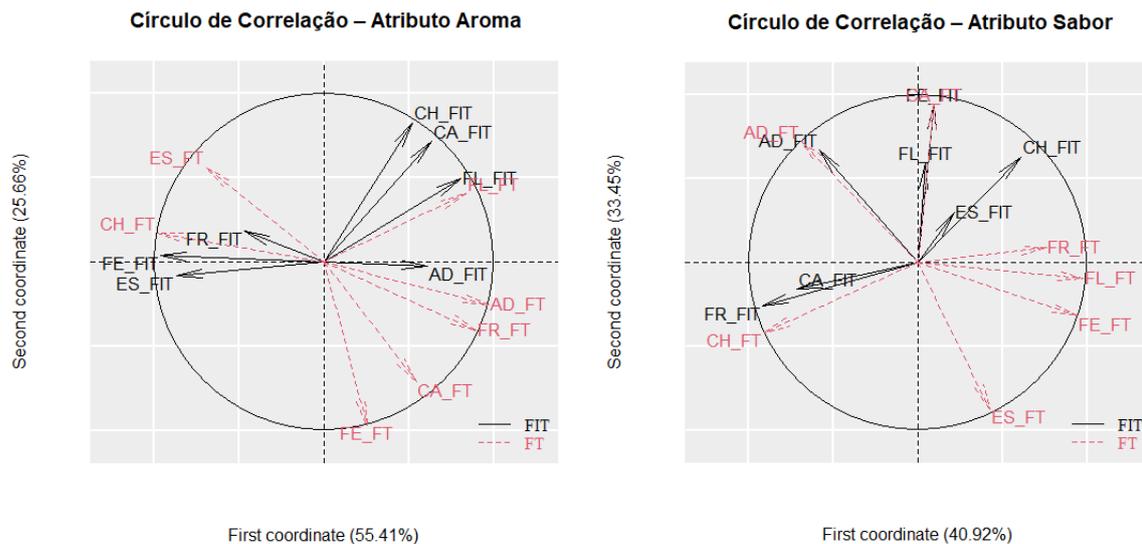
Legenda: FIT – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii*; FT: Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*; 0h – Inoculação após 0 horas de secagem; 24h - Inoculação após 24 horas de secagem; 48h - Inoculação após 48 horas de secagem; 72h - Inoculação após 72 horas de secagem.

Fonte: Da autora (2022).

Nos gráficos de correspondência (Figura 4), observa-se o distanciamento claro dos tempos que representam o momento da inoculação após o início da secagem (0h, 24h, 48h e 72h) tanto para o aroma quanto para o sabor, e ainda que os vetores originados em cada amostra, marca a diferenciação dos tratamentos (FT e FIT) em cada tempo.

Para os descritores do atributo aroma, é possível observar proximidade das amostras inoculadas em 24h e 72h após o início da secagem e diferenciação destas com as demais. Para os descritores do atributo sabor, a separação aparece de modo mais coerente, uma vez que os tratamentos com inoculação da levedura em 0h e 24h ficaram próximos no primeiro quadrante, enquanto o tratamento com inoculação em 48h após o início da secagem surge no segundo quadrante e o tratamento com inoculação da levedura 72h após o início da secagem no terceiro. Mostrando a interferência do tempo no processo.

Figura 5 – Círculo de correlação da análise de múltiplos fatores (MFA) dos descritores do aroma e sabor (respectivamente) da análise sensorial dos lotes FT (Fermentação com *Torulaspora*) e FIT (Fermentação Indígena seguida com *Torulaspora*), em diferentes momentos de inoculação (0h, 24h, 48h e 72h) após início da secagem.



Legenda: FIT – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii*; FT: Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*; FL – floral, AD – adocicado, ES – especiarias, CH – chocolate, CA – castanhas e FE – fermentado.

Fonte: Da autora (2022).

No gráfico de correspondência dos descritores de aroma, é possível observar no primeiro quadrante, as amostras com inoculação da levedura no tempo 0h de secagem, no segundo quadrante os dos tratamentos inoculados em 24h e 72h após o início da secagem e no quarto quadrante o tratamento com inoculação da levedura 48h após o início da secagem. Isso significa, para o aroma, uma semelhança das amostras inoculadas em 24h e 72h após o início da secagem e diferenciação destas com as demais.

Por meio do círculo de correlação (Figura 5), obtêm-se os principais descritores para cada tratamento nos dois tratamentos estudados. Para isso, relaciona-se a posição dos centroides de cada tratamento, do gráfico de correspondência, com os respectivos vetores, do círculo de correlação, dos momentos da inoculação, após início da secagem, com os vetores referentes aos descritores de aroma e sabor para cada momento da inoculação após início da secagem.

Os aromas predominantes na bebida do café no lote FT - Fermentação com *Torulaspora* 0h e 24h após o início da secagem foram descritos como chocolate e especiarias. Nos demais tratamentos FT48 e FT72 (nos quais os frutos foram inoculados com um teor de água mais baixo, depois de 48h e 72h, após o início da secagem), apresentaram maior diversidade de descritores, como adocicado, frutado, castanha e fermentado.

No lote dos cafés fermentados inicialmente por fermentação indígena (FIT), nos tratamentos FIT0 e FIT48 os descritores foram: fermentado e especiarias. Diferindo dos

descritores de chocolate, castanhas e floral para os tratamentos FIT24 e FIT72. Observa-se que os descritores que mais foram mencionados para o atributo aroma são pertencentes às classes de chocolate, castanhas e especiarias.

Também é possível observar que apenas no lote denominado FT (Fermentação com *Torulaspora*) o descritor frutado foi mencionado para ambos os atributos, aroma (FT48 e FT72) e sabor (FT48). Essa característica pode estar relacionada à cultura iniciadora *Torulaspora delbrueckii* de forma isolada (considerando que nesse lote não houve a fermentação indígena, inicialmente); ao desenvolvimento desses microrganismos em teores mais baixos de água, próximos a 53% b.u (momento de inoculação 48 e 72 horas após o início da secagem).

Os aromas frutados presentes no café e na sua bebida são, na maioria das vezes, oriundos da ação de microrganismos, ou seja, de processos fermentativos que utilizam a mucilagem do café como substrato para produção de compostos voláteis relacionados e esses aromas (ZHANG *et al.*, 2019a, 2019b). Bressani *et al.* (2018) observaram notas de sabor frutados e florais em estudo usando o mesmo microrganismo e a variedade de café (Acaíá) do presente trabalho, indicando a capacidade do uso de culturas iniciadoras na diferenciação da qualidade da bebida.

Para o atributo sabor, os tratamentos iniciais (0h e 24h) de ambos os lotes (FT e FIT) foram descritos como adocicado. O tratamento FT48 descrito como frutado e castanha e o tratamento FT72 fermentado, floral e especiarias. O tratamento FIT48 apresentou os descritores chocolate, floral e especiarias.

A localização do centroide do tratamento FIT72 está na origem das coordenadas, região que exprime uma neutralidade dos descritores de sabor. Nesse ponto, no qual está localizado tratamento FIT72 não há descritores de sabor associado. Podendo sugerir que o lote de amostras que inicialmente passou pelo processo de fermentação indígena (FIT), não deve, nessas condições, ultrapassar a 48 horas para a realização na inoculação da cultura iniciadora. Pode ser que, nesse momento, as condições não eram ideais para o desenvolvimento da levedura.

A acidez e o corpo da bebida também foram analisados pelo método de múltiplos fatores. Para o atributo acidez, os descritores percebidos na foram:

- Lote – Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*
 - FT0 – Nenhum descritor associado
 - FT24 – Acidez málica
 - FT48 – Nenhum descritor associado

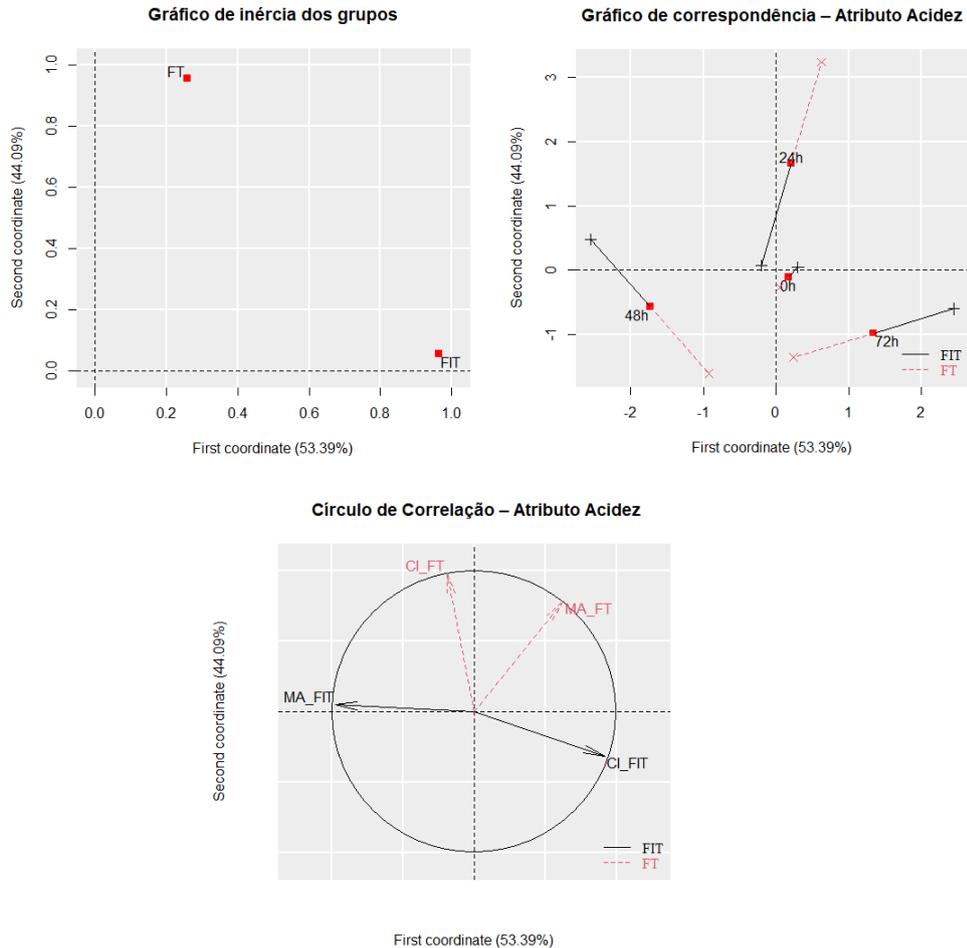
- FT72 – Nenhum descritor associado
- Lote – Fermentação Indígena com *Torulaspora delbrueckii*
 - FIT0 – Nenhum descritor associado
 - FIT24 – Acidez málica
 - FIT48 – Acidez málica
 - FIT72 – Acidez cítrica

Para o atributo sabor, os descritores percebidos na análise de múltiplos fatores foram:

- Lote – Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*
 - FT0 – Vinhoso e sedoso
 - FT24 – Cremoso
 - FT48 – Vinhoso e sedoso
 - FT72 – Licoroso
- Lote – Fermentação Indígena com *Torulaspora delbrueckii*
 - FIT0 – Vinhoso e sedoso
 - FIT24 – Cremoso
 - FIT48 – Chocolate, floral, especiarias
 - FIT72 – Licoroso

Na Figura 6, estão apresentados os resultados obtidos pela análise múltipla de fatores (MFA) dos descritores de acidez, para os dois lotes: FT (Fermentação com *Torulaspora* e FIT Fermentação Indígena seguida de *Torulaspora*).

Figura 6 - Análise de múltiplos fatores para os descritores de acidez da bebida dos cafés dos lotes FT (Fermentação com *Torulaspora*) e FIT (Fermentação Indígena com *Torulaspora*), em diferentes momentos de inoculação (0h, 24h, 48h e 72h) após início da secagem.

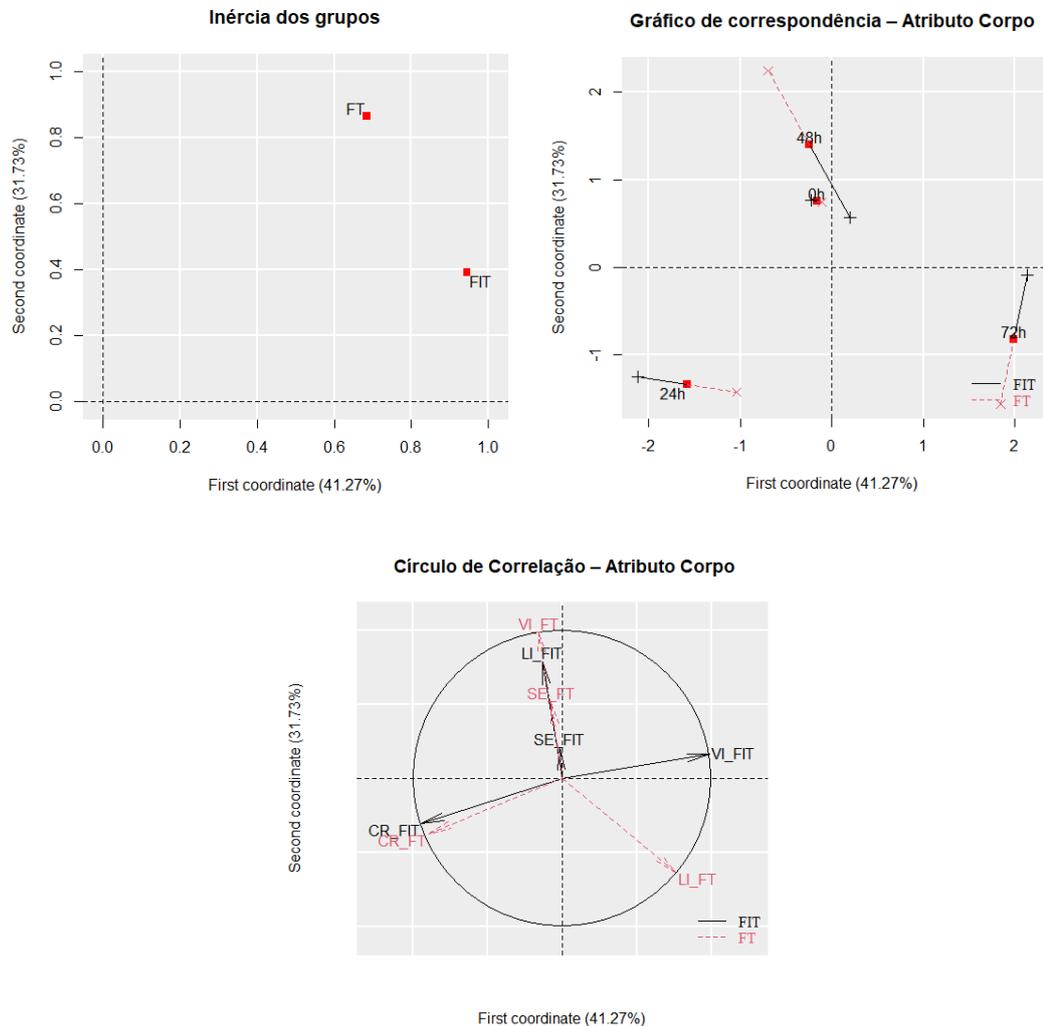


Legenda: FIT – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii*; FT: Fermentação com *Torulaspora delbrueckii*; 0h – Inoculação após 0 horas de secagem; 24h - Inoculação após 24 horas de secagem; 48h - Inoculação após 48 horas de secagem; 72h - Inoculação após 72 horas de secagem; Legenda para a acidez: CI – cítrica e MA – málica.

Fonte: Da autora (2022).

Na Figura 7, estão apresentados os resultados obtidos pela análise múltipla de fatores (MFA) dos descritores de corpo, para os dois lotes: FT (Fermentação com *Torulaspora* e FIT Fermentação Indígena seguida de *Torulaspora*).

Figura 7 - Análise de múltiplos fatores para os descritores de corpo da bebida dos cafés dos lotes FT (Fermentação com *Torulaspóra*) e FIT (Fermentação Indígena com *Torulaspóra*), em diferentes momentos de inoculação (0h, 24h, 48h e 72h) após início da secagem.



Legenda: FIT – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspóra delbrueckii*; FT: Fermentação com *Torulaspóra delbrueckii*; 0h – Inoculação após 0 hora de secagem; 24h - Inoculação após 24 horas de secagem; 48h - Inoculação após 48 horas de secagem; 72h - Inoculação após 72 horas de secagem; Legenda para o corpo: CR – cremoso, VI – viscoso, SE – sedoso e LI – licoroso.

Fonte: Da autora (2022).

A análise múltipla de fatores explicou 97,48% da variabilidade dos descritores de acidez (Figura 6) e 73% da variabilidade dos descritores de corpo (Figura 7). No gráfico de inércia dos grupos para acidez, é clara a diferenciação das amostras entre os tratamentos FT (Fermentação com *Torulaspóra delbrueckii*) e FIT (Fermentação com microrganismos indígenas, seguidos de *Torulaspóra delbrueckii*), devido ao distanciamento dos centroides, o que significa que há diferença quanto aos tratamentos; para o corpo é verificado um afastamento um pouco menor, mas também pode-se dizer que existe diferenciação entre os tratamentos.

Nos gráficos de correspondência, apesar da neutralidade representada pelas amostras com inoculação as 0h de secagem, são visíveis a diferença entre as amostras, tanto para a acidez quanto para o corpo, representadas pela distância entre os centroides dos tempos de inoculação após os determinados tempos de secagem (0h, 24h, 48h e 72h), principalmente para o atributo acidez.

No gráfico de correspondência dos descritores de acidez (Figura 4B), se observa, no segundo quadrante, as amostras com inoculação da levedura em 24h de secagem, no terceiro quadrante tratamento inoculado em 48h após o início da secagem e no quarto quadrante os tratamentos com inoculação da levedura 0h e 72h após o início da secagem. Isso significa, para acidez, semelhança das amostras inoculadas em 0h e 72h após o início da secagem e diferenciação destas com as demais.

Em um estudo realizado por Bressani *et al.* (2018), porém com outras variedades de café, observou-se diferenças significativas com o uso da cultura iniciadora *Torulaspota delbrueckii* pela alta acidez e presença de ácido málico e láctico, com um corpo denso e cremoso, mostrando que uma das características dessa levedura é o aumento da cremosidade e finalização do café, além da produção de diferentes ácidos. Porém essas características se tornam mais evidentes quando combinadas a fermentação indígena antes do início da secagem.

No gráfico de correspondência dos descritores de corpo (Figura 4E), os tratamentos com inoculação da levedura em 0h e 48h ficaram próximos no primeiro quadrante, enquanto o tratamento com inoculação em 24h após o início da secagem surge no terceiro quadrante e o tratamento com inoculação da levedura 72h após o início da secagem no quarto quadrante.

No círculo de correlação, podem-se inferir as descrições de acidez e corpo apresentadas na Tabela 3.

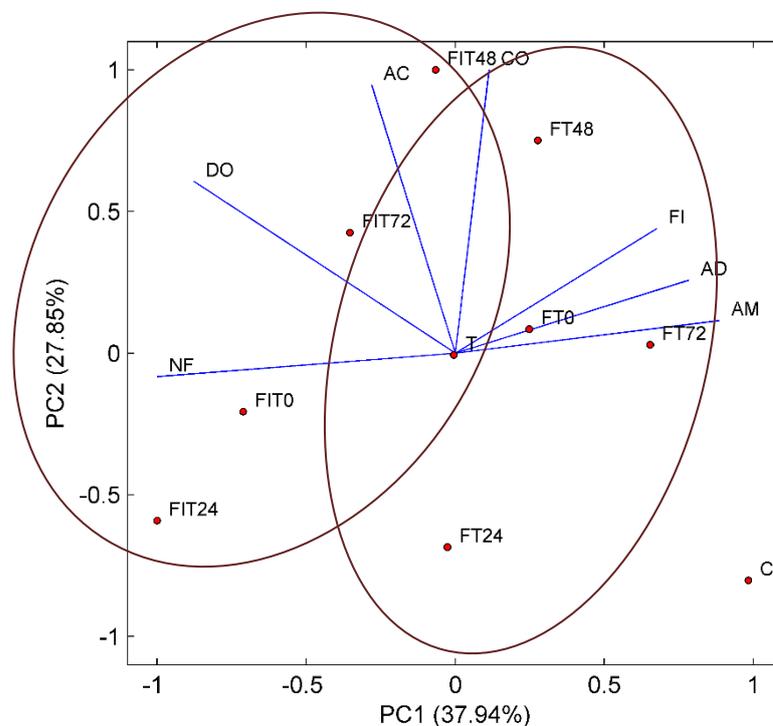
Para os tratamentos FT0, FT48 e FT72, não houve nenhum descritor associado ao atributo acidez, pois não há descrições de atributos em que os vetores correspondentes estão localizados, diferindo do tratamento FT24 que apresentou a descrição de acidez málica. Nos tratamentos do lote FIT, apenas o FIT0 não foi associado a nenhum descritor do atributo acidez. Os tratamentos FIT24 e FIT48 apresentaram descritores para acidez málica e o tratamento FIT72 descritor para acidez cítrica. Esse comportamento sugere que o tratamento FIT promove maior acidez ao café.

Para o atributo corpo, os tratamentos FT0, FIT0 e FT48 obtiveram os descritores de vinoso e sedoso, os tratamentos FT24 e FIT24 o descritor cremoso e os tratamentos FT72 e FIT72 o descritor licoroso.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para avaliar a inter-relação dos resultados obtidos para a nota final e intensidade dos atributos sensoriais de doçura, acidez, corpo, adstringência, amargor e finalização apresentados na Figura 5. Os resultados especificaram que os dois componentes principais podem explicar 65,79% da variabilidade total.

É possível verificar a formação de dois grupos distintos, a esquerda as amostras que passaram pela fermentação indígena (FIT) e são representadas por maior doçura (DO), nota final (NF) e acidez (AC) e do lado direito as amostras que não passaram pela fermentação indígena representadas por características que penalizam de alguma forma a bebida, amargor (AM) e adstringência (AD).

Figura 8 - Análise de componentes principais (PCA) da Escala de Intensidade presente na bebida dos tratamentos: T- testemunha, FIO – Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* 0h, FI24 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* 24h, FI48 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* 48h, FI72 - Fermentação com *Torulaspora delbrueckii* 72h, FIT0 - Fermentação Indígena com *Torulaspora delbrueckii* 0h, FIT24 - Fermentação Indígena com *Torulaspora delbrueckii* 24h, FIT48 - Fermentação Indígena com *Torulaspora delbrueckii* 48h, FIT72 - Fermentação Indígena com *Torulaspora delbrueckii* 72h e C – controle.



Legenda: T – Testemunha: Fermentação Indígena; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 0 horas de secagem; FIT24 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FIT48 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem; C – Controle; FT0 – Inoculação após 0 horas; FT24 – Inoculação após 24 horas; FT48 – Inoculação

após 48 horas; FT72 – Inoculação após 72 horas; DO – doçura; NF – Nota final; AC – acidez; CO – corpo; FI – finalização; AD – adstringência; AM – amargor.

Fonte: Da autora (2022).

4.2 Perfil dos compostos voláteis

Foram identificados vinte e cinco compostos neste trabalho (compostos que apresentaram área relativa maior que 1%). Dentre esses, três aldeídos: 3 – Butanal, 2-Metilbutanal, 3-Metilbutanal; um ácido: Ácido acético; oito furanos: 2 - Metilfurano, 2-Furanometanol; três cetonas: 1 -Hidroxi-Butanona, 1 -Hidroxi-2-Butanona, 1-(2-furanil) -Ethanona; cinco pirazinas: Pirazina, Etilpirazina, 2,6 Dimetilpirazina, 2,5 Dimetilpirazina; uma piridina: piradina, um pirrol: 1 – Metilpirrol; duas aminas: 5-Nonilamina, e uma amida.

Compostos voláteis encontrados: Metil-ureia; Furfural; 4 – Etilamino-n-butilamina; Furfuryl formate; 1-Pentyne, 4-methyl-; Acetato -2 – furanometanol; 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-

Para explicar de uma forma mais clara as características químicas e o agrupamento das amostras, a análise de componentes principais (PCA) foi realizada (Figura 6). Percebe-se também a formação de dois grupos distintos com ajuda dos compostos voláteis, o grupo que passou pela fermentação indígena seguida da inoculação com *Torulaspora delbrueckii* (FIT) e o grupo que passou apenas pela fermentação com leveduras (FT) (Figura 6).

Os compostos identificados, (1) 2 – Metilfurano, da classe dos furanos; (2) – Hidroxi -butanona e (16) 1 -Hidroxi-2-Butanona, da classe das cetonas, proporciona o sabor amanteigado (BRESSANELLO *et al.*, 2017).

Dentro desses grupos, não é possível verificar a influência dos tempos de fermentação, o grupo de amostras que passou pela fermentação indígena seguida da inoculação (FIT) são representados por duas cetonas (2) - Hidroxi butanona e (7) - 2,3 Pentanodiona, associados ao odor amanteigado (BRESSANELLO *et al.*, 2017); por um aldeído (4) - 2-Metilbutanal e um ácido carboxílico (19) - Ácido Acético, que proporciona o sabor de vinagre.

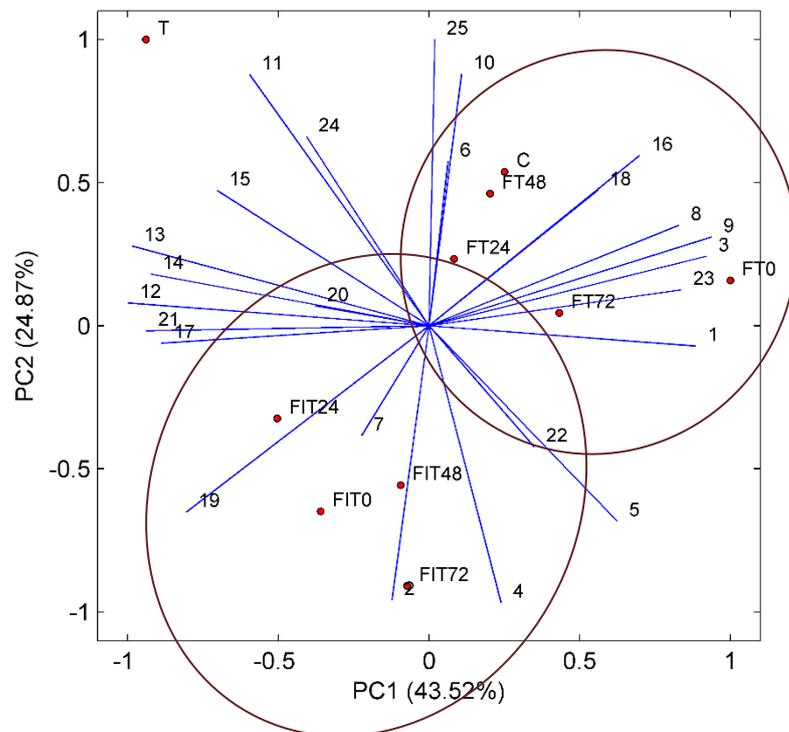
O grupo de amostras FT (Fermentação com *Torulaspora*) estão correlacionados com furanos (1) – 2 – Metilfurano, (23) – acetato -2-Furanometanol; aldeídos (3) – Butanal; um pirrol (8) - 1 – Metilpirrol; uma piridina (9) – Piridina; cetonas (16) - 1 -Hidroxi-2-Butanona e amina (18) - 4 – Etilamino-n-butilamina.

As piridinas são fortemente influenciadas pelo grau de torra do café, e são encontradas em maiores quantidades em cafés submetidos à torra intensa (SIVETZ; DESROSIER, 1979).

Podem ser geradas pela degradação térmica da trigonelina, por pirólise de aminoácidos, degradação de Strecker ou reação de Maillard (MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999).

Existem dois fatores que contribuem para a formação de compostos voláteis nos grãos de café: compostos inerentes do próprio grão e metabólitos microbianos resultantes de processos de fermentação (YERETZIAN *et al.*, 2002). As leveduras produzem muitos compostos voláteis de baixo peso molecular durante o processo de fermentação da mucilagem, como ésteres, álcoois superiores, aldeídos, cetona e terpenoides.

Figura 9 - Análise de componentes principais (PCA) de compostos voláteis presentes em grãos café torrados, dos tratamentos T - testemunha, lote FIT (Fermentação Indígena seguida de *Torulaspora*), lote FT (Fermentação com *Torulaspora*) em diferentes momentos (0h, 24h, 48h e 72h) e C - controle.



Legenda: T – Testemunha: Fermentação Indígena; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 0 horas de secagem; FIT24 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FIT48 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem; FIT72 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem; C – Controle; FT0 – Inoculação após 0 horas; FT24 – Inoculação após 24 horas; FT48 – Inoculação após 48 horas; FT72 – Inoculação após 72 horas 1 - 2 - Metilfurano; 2 - $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$; 3 - Butanal; 4 - 2 - Metilbutanal; 5 - 3 - Metilbutanal; 6 - 5-Nonilamina; 7 - 2,3-pentanodiona; 8 - 1-Metilpirrol; 9 - Piridina; 10 - Pirazina; 11 -Metilpirazina; 12 - Metil-ureia; 13 - 2,5-Dimetilpirazina; 14- 2,6-Dimetilpirazina; 15 - Etilpirazina; 16 -1-Hidroxi-2-butanona; 17 – Furfural; 18 - 4-Etilamino-n-butilamina; 19 - Ácido Acético; 20 - Furfuryl formate; 21 - 1-(2-furanil)-Ethanona; 22 - 1-Pentyne, 4-methyl-; 23 - 2-Furanmethanol, acetate; 24 - 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl- 25 - 2-Furanometanol.

Fonte: Da autora (2022).

4.3 Perfil de ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos identificados neste trabalho foram os ácidos oxálico, cítrico, málico, quínico, succínico, láctico e acético. Para explicar de uma forma mais clara as características químicas e o agrupamento das amostras, a análise de componentes principais (PCA) foi realizada (Figura 10).

Os dois componentes principais (PC1 e PC2) do biplot referente ao perfil de ácidos orgânicos explicaram 83,63% da variabilidade total dos dados. A componente principal 1, explicou 50,41% da variabilidade dos dados.

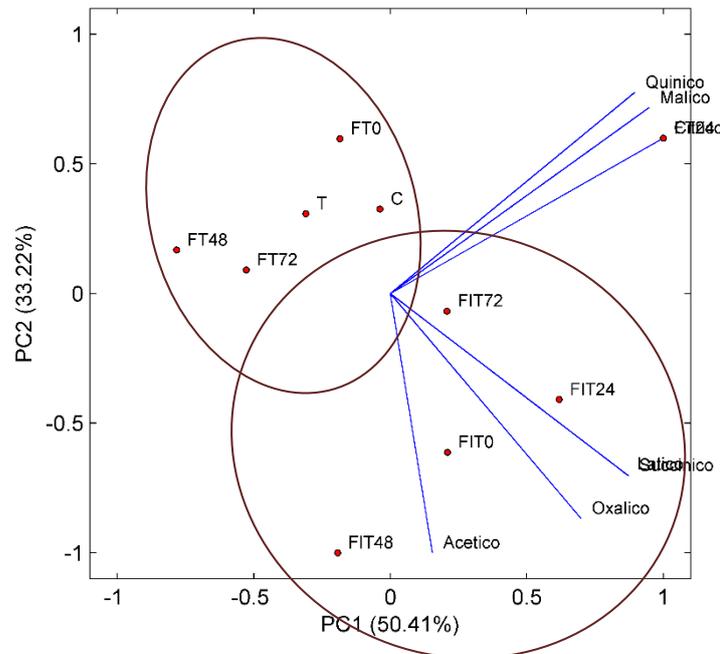
Também é possível observar com clareza a formação de dois grupos, do lado direito e abaixo, no primeiro círculo – superior à esquerda - o grupo FT – Fermentação com *Torulaspota*, nos momentos 0h, 48h e 72h da inoculação após o início da secagem, juntamente com o Controle e Testemunha, os quais possuem concentrações menores de todos os ácidos orgânicos. Dentro do grupo FT não é possível verificar a influência dos tempos de fermentação.

No círculo inferior à direita, o lote que FIT - Fermentação Indígena seguida com *Torulaspota* e são representados pelos ácidos, oxálico, acético, succínico e láctico.

Os ácidos, cítrico, quínico e málico estão correlacionados com o tratamento FT24.

A maior concentração desses ácidos, principalmente no lote FIT, pode ser relacionada à ação das leveduras, tendo em vista que o ácido succínico é originado no ciclo redutor do ácido cítrico e também da degradação do ácido málico (KITZBERGER; SCHOLZ; BENASSI, 2014), e a produção do ácido acético pode ocorrer a partir de fermentação de açúcares disponíveis ou utilizando o ácido cítrico como fonte (HO; FLEET; ZHAO, 2018; JAYARAM *et al.*, 2014).

Figura 10 - Análise de componentes principais (PCA) de ácidos orgânicos presentes em grãos de café crus, dos tratamentos T (Testemunha), lote FIT (Fermentação Indígena seguida *Torulaspora*), lote FT (Fermentação com *Torulaspora*) em diferentes momentos (0h, 24h, 48h e 72h) de inoculação C (Controle).



Legenda: T – Testemunha: Fermentação Indígena; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 0 hora de secagem; FIT24 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FIT48 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem; C – Controle; FT0 – Inoculação após 0 horas; FT24 – Inoculação após 24 horas; FT48 – Inoculação após 48 horas; FT72 – Inoculação após 72 horas.

Fonte: Da autora (2022).

4.4 Compostos Bioativos

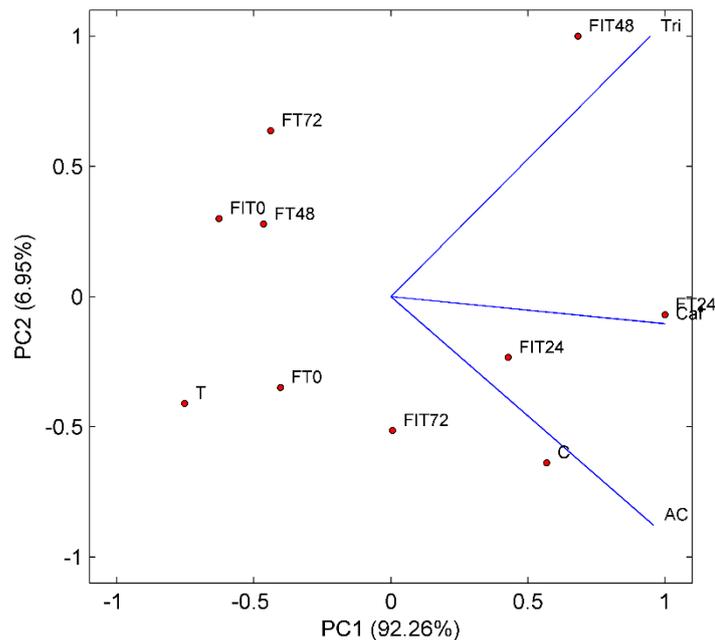
Na análise estatística dos dados, não houve diferença significativa para nenhum dos compostos bioativos avaliados (Tabela 7), assim, valiam-se os dados de modo multifatorial para que se pudesse extrair o máximo de informação possível do material analisado.

Os resultados das análises de componentes principais (PCA) para os compostos bioativos especificaram que os dois componentes principais podem explicar 99,21% da variabilidade total.

Para os compostos bioativos, é possível verificar que não há uma tendência clara na formação de grupos. Porém, observando individualmente os tratamentos, a amostra FIT48

possui maior concentração de trigonelina (Tri), os tratamentos FT24 e FIT24 maior teor de cafeína (Caf) e o Controle (C) maior teor de ácidos clorogênicos (AC). O ácido clorogênico contribui para a acidez final conferindo adstringência e amargor a bebida de café (VARIYAR *et al.*, 2003).

Figura 11 - Análise de componentes principais (PCA) de compostos bioativos presentes em grãos de café crus, dos tratamentos T, lote FIT, lote FT em diferentes momentos (0h, 24h, 48h e 72h) de inoculação de *Torulaspora delbrueckii* e C.



Legenda: T – Testemunha: Fermentação Indígena; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 0 horas de secagem; FIT24 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FIT48 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem; C – Controle; FT0 – Inoculação após 0 horas; FT24 – Inoculação após 24 horas; FT48 – Inoculação após 48 horas; FT72 – Inoculação após 72 horas; Tri – Trigonelina; AC – ácidos clorogênicos; Caf – Cafeína.

Fonte: Da autora (2022).

4.5 Perfil de Ácidos Graxos

O conhecimento do tipo de ácidos graxos dos grãos crus nos permite ter uma ideia da qualidade do café, os ácidos graxos são determinantes para a geração de produtos de oxidação termicamente induzidos, que reagem durante a reação de Maillard durante a torração, gerando compostos relacionados às características sensoriais do café (FLAMENT; BESSIÈRE-THOMAS, 2002).

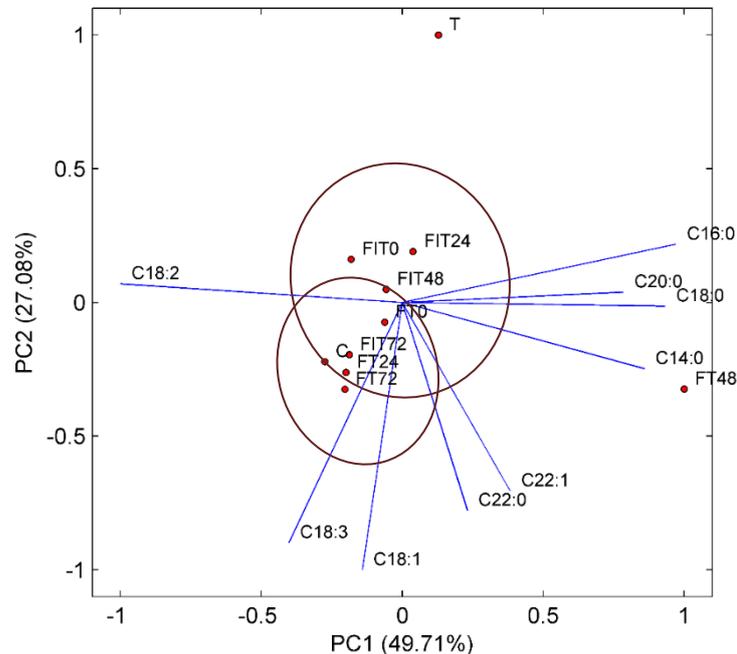
Foram identificados nove ácidos graxos presentes em todas as amostras analisadas. Na análise estatística dos dados, não houve diferença significativa para o perfil de ácidos graxos avaliados (Tabela 8). Assim, avaliaram-se os dados de modo multifatorial para que se pudesse extrair o máximo de informação possível do material analisado.

Os resultados das análises de componentes principais (PCA) para o perfil de ácidos graxos (Figura 9) especificaram que os dois componentes principais podem explicar 76,79% da variabilidade total. A principal variação foi contribuída pelo primeiro componente principal (PC1) que explicou 49,71%, enquanto o segundo (PC2) descreveu 27,08% da variabilidade total.

Os ácidos graxos encontrados foram os ácidos graxos saturados C14:0 - Ácido mirístico; C16:0 - Ácido Palmítico; C18:0 - Ácido Esteárico; C20:0 - Ácido Araquídico; C22:0 - Ácido Behenico; os monoinsaturado C18:1 - Ácido Oleico e C22:1 - Ácido erúcico e os poli-insaturados C18:2 - Ácido Linoleico e C18:3 - Ácido Linolênico.

O ácido graxo palmítico (C16:0) tem uma relação positiva com a qualidade e pode ser considerado como marcador da qualidade do café e o ácido graxo linoleico (C18:2) pode estar relacionado com uma acidez, aroma, corpo e sabor menos intenso. Os ácidos graxos linolênico, behenico, esteárico e araquídico esses estão relacionados ao corpo da bebida (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

Figura 12 - Análise de componentes principais (PCA) para perfil de ácidos graxos presentes em grãos de café, dos tratamentos T, lote FIT, lote FT em diferentes momentos (0h, 24h, 48h e 72h) de inoculação de *Torulaspora delbrueckii* e C.



Legenda: T – Testemunha: Fermentação Indígena; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 0 horas de secagem; FIT24 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 24 horas de secagem; FIT48 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 48 horas de secagem; FIT0 – Fermentação indígena seguida de inoculação com *Torulaspora delbrueckii* após 72 horas de secagem; C – Controle; FT0 – Inoculação após 0 horas; FT24 – Inoculação após 24 horas; FT48 – Inoculação após 48 horas; FT72 – Inoculação após 72 horas; C14:0 - Ácido mirístico; C16:0 - Ácido Palmítico; C18:0 - Ácido Esteárico; C18:1 - Ácido Oleico; C18:2 - Ácido Linoleico; C20:0 - Ácido Araquídico; C18:3 - Ácido Linolênico; C22:0 - Ácido Behênico; C22:1 - Ácido erúcido.

Fonte: Da autora (2022).

Para o perfil de ácidos graxos, mesmo com o tratamento FIT72 mais próximo aos tratamentos do lote FT, há uma tendência de agrupamento. Um grupo é formado pelos tratamentos que passaram pela fermentação indígena seguida da inoculação com leveduras (FIT0, FIT24 e FIT48), e o outro grupo formado pelos tratamentos que não passaram pela fermentação indígena, com exceção do tratamento FT48 que está correlacionado com o ácido C14:0 – ácido mirístico.

Os tratamentos FIT0, FIT24 e FIT48 possuem menor concentração dos ácidos graxos C18:1 (ácido oleico) e C18:3 (ácido linolênico) quando comparados aos tratamentos FIT72, C, FT24 e FT72. O tratamento FT0 se encontra muito próximo à origem dos vetores, não sofrendo nenhuma influência sobre os ácidos graxos.

5 CONCLUSÃO

O sabor e aroma frutado foram percebidos apenas após 48 horas do início de secagem, para ambos os lotes. Porém, para o atributo sabor, com 72 horas após o início da secagem já não havia descritores associados a esse tempo, para o lote Fermentação Indígena seguida com *Torulaspora*.

O aroma da bebida do café apresentou maior diversificação de atributos quando combinado a fermentação indígena seguida com *Torulaspora*, nos tempos de 48h e 72h após o início da secagem. Para o atributo sabor, houve predominância de adocicado (caramelo, mel), no tempo 0h e 24h, dos dois lotes (FT e FIT).

A combinação da fermentação indígena com a cultura iniciadora proporciona maior acidez à bebida do café, assim como maior doçura e nota final.

Os conteúdos de ácidos graxos e de compostos bioativos apresentaram pouca variação entre os tratamentos.

Por meio das análises de compostos voláteis e ácidos orgânicos foi possível a separação dos cafés. Consequentemente, houve a fermentação indígena com posterior inoculação da cultura iniciadora dos cafés e houve apenas a aplicação da cultura iniciadora antes da secagem.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, J. *et al.* Advantages and uses of check all-that-apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks. *In: PANGBORN SENSORY SCIENCE SYMPOSIUM, 7.*, 2007, Minneapolis. **Proceedings** [...]. Minneapolis: Biosystemes, 2007.
- AGATE, A. D.; BHAT, J. V. Role of pectinolytic yeasts in the degradation of mucilage layer of *Coffea robusta* cherries. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 14, n. 2, p. 256-260, 1966.
- ALCANTARA, M.; FREITAS-SÁ, D. G. C. Rapid and versatile sensory descriptive methods: an updating of sensory science. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, p. 1-12, 2018.
- ALPIZAR, E.; BERTRAND, B. Incidence of temperature elevation on chemical composition and beverage quality of coffee in Central America. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 2004*, Bangalore. **Resumes** [...]. Bangalore: ASIC, 2004.
- ALVES, G. E. *et al.* Physiological and sensorial quality of Arabica coffee subjected to different 23 temperatures and drying airflows. **Acta Scientiarum: agronomy**, Maringá, v. 39, n. 2, p. 225-233, 2017.
- ARAÚJO, W. D. *et al.* Physical properties of peanut kernels during drying. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 3, p. 279-286, 2014.
- ARES, G. *et al.* Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate Milk desserts. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 25, n. 1, p. 67-86, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia**. Rio de Janeiro: ABNT, 1993. 8 p.
- AVALLONE, S. *et al.* Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. **Strain**, London, v. 42, n. 4, p. 252-256, Apr. 2001.
- BAMFORTH, C. W.; COOK, D. J. **Food, fermentation, and micro-organisms**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2019.
- BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. (ed.). **Yeasts: characteristics and identification**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 1139 p.
- BATISTA, N. N. *et al.* Dynamic behavior of *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri* and *Hanseniaspora uvarum* during spontaneous and inoculated cocoa fermentations and their effect on sensory characteristics of chocolate. **Food Science and Technology**, London, v. 63, p. 221-227, 2015.
- BORÉM, F. M. **A água nos frutos e nos grãos de café: pós-colheita do café**. Lavras: Editora UFLA, 2008.

BORÉM, F. M. *et al.* Qualidade do café submetido a diferentes temperaturas, fluxos de ar e períodos de pré secagem. **Coffee Science**, Lavras, v. 1, n. 1, p. 55-63, 2006.

BRAZIL SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION. **A BSCA**. Varginha: BSCA, 1991. Disponível em: <https://bsca.com.br/a-bsca>. Acesso em: 12 jun. 2022.

BRAZIL SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION. **Certificação de qualidade do café**. Varginha: BSCA, 2017. Disponível em: <http://brazilcoffeenation.com.br/certificacao>. Acesso em: 24 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 13 jun. 2003. Seção 1, p. 22-29.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

BRESSANELLO, D. *et al.* Coffee aroma: chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC-MS to describe the sensory properties in cup. **Food Chemistry**, London, v. 214, p. 218-226, 2017.

BRESSANI, A. P. P. *et al.* Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **Food Science and Technology**, London, v. 92, p. 212-219, 2018.

BRO, R.; SMILDE, A. K. Principal component analysis. **Analytical Methods**, London, v. 6, n. 9, p. 2812-2831, 2014.

BRUYN, F. *et al.* Exploring the impacts of postharvest processing on the microbiota and metabolite profiles during green coffee bean production. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 83, n. 1, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02398-16>.

BRUZZONE, F.; ARES, G.; GIMÉNEZ, A. Consumers' texture perception of milk desserts: II., comparison with trained assessors' data. **Journal of Texture Studies**, Westport, v. 43, n. 3, p. 214-226, 2012.

BYTOF, G. *et al.* Influence of processing on the generation of aminobutyric acid in green coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 220, n. 3/4, p. 245-250, 2005.

CARVALHO, V. D. de *et al.* Potencial da região sul de minas gerais para a produção de cafés especiais: I., atividade da polifenoloxidase, condutividade elétrica e lixiviação de potássio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 590-597, maio/jun. 2005.

CHRISTIE, W. W. **Gas chromatography and lipids**. Ayr: Oily Press, 1989. 307 p.

CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL. **Relatório mensal de exportações**. São Paulo: CECAFE, 2021. Disponível em: <https://www.cecafe.com.br/publicacoes/relatorio-de-exportacoes>. Acesso em: 2 ago. 2022.

DAIROU, V.; SIEFFERMANN, J. M. A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the Flash Profile. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 2, p. 826-834, 2002.

DOOLEY, L.; LEE, Y. S.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 21, n. 4, p. 394-401, 2010.

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

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

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

FARAH, A. Coffee production, quality and chemistry. *In*: FARAH, A. **Coffee**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2019. p. 1-4.

FARAH, A. *et al.* Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, Oxford, v. 98, n. 2, p. 373-380, 2006.

FIGUEIREDO, L. P. F. *et al.* Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 10, n. 35, p. 3484-3493, 2015.

FLAMENT, I. **Coffee flavour chemistry**. England: J. Wiley, 2001. 424 p.

FLAMENT, I.; BESSIERE-THOMAS, Y. **Coffee flavor chemistry**. New York: John Wiley, 2002.

FRANCISCO, J. S.; SANTOS, A. C. F.; BENASSI, M. T. Efeito das informações e características da embalagem na expectativa e aceitação de café solúvel adicionado de café torrado micronizado. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 243-251, 2014.

FRANK, H. A.; LUM, N. A.; CRUZ, A. S. D. Bacteria responsible for mucilage-layer decomposition in kona coffee cherries. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 13, n. 2, p. 201-207, 1965.

GIOMO, G. S. *et al.* Análise sensorial aplicada à avaliação da qualidade de bebida de café submetido a diferentes métodos de processamento. *In*: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS

CAFÉS DO BRASIL, 6., 2009, Vitória. **Resumos** [...]. Vitória: CBP&D/Café; Embrapa Café, 2009.

GIOMO, G. S. *et al.* Qualidade física e sensorial de cultivares de *coffea arabica* para produção de cafés especiais no estado de São Paulo. *In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7.*, 2011, Araxá. **Resumos** [...]. Araxá: CBP&D/Café; Embrapa Café, 2011.

GUIMARÃES, E. R. *et al.* The brand new Brazilian specialty coffee market. **Journal of Food Products Marketing**, Binghamton, v. 25, n. 1, p. 49-71, 2019.

HO, V. T. T.; FLEET, G.; ZHAO, J. Unravelling the contribution of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria to cocoa fermentation using inoculated organisms. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 279, p. 43-56, Aug. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.040>.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 5492**: sensory analysis: vocabulary. 2nd ed. [Genève]: ISO, 2008. Disponível em: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5492:ed-2:v1:en>. Acesso em: 10 out. 2022.

ISQUIERDO, E. P. *et al.* Quality of natural coffee subjected to different rest periods during the drying process. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 439-445, jul./ago. 2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JAYARAM, V. B. *et al.* Succinic acid in levels produced by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) during fermentation strongly impacts wheat bread dough properties. **Food Chemistry**, London, v. 151, p. 421-428, May 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.025>.

JHAM, G. N. *et al.* Comparison of GC and HPLC for the quantification of organic acids in coffee. **Phytochemical Analysis**, Sussex, v. 13, n. 2, p. 99-104, 2002.

JOËT, T. *et al.* Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 118, n. 3, p. 693-701, 2010.

JOLLIFFE, I. T.; CADIMA, J. Principal component analysis: a review and recent developments. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: mathematical, physical and engineering sciences**, London, v. 374, n. 2065, p. 16, 2016.

JUNG, J. *et al.* Multifunctional properties of *Lactobacillus plantarum* strains WiKim83 and WiKim87 as a starter culture for fermented food. **Food Science & Nutrition**, Gwangju, v. 7, n. 7, p. 2505-2516, 2019.

KITZBERGER, C. S. G.; SCHOLZ, M. B. dos S.; BENASSI, M. de T. Bioactive compounds content in roasted coffee from traditional and modern *Coffea arabica* cultivars grown under the same edapho-climatic conditions. **Food Research International**, Barking, v. 61, p. 61-66, 2014.

- KNOPP, S. E.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Influence of processing on the cont of sugars in green arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 223, n. 2, p. 195-201, 2006.
- LAWLESS, H. T.; SHENG, N.; KNOOPS, S. S. C. P. Multidimensional scaling of sorting data applied to cheese perception. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 6, n. 2, p. 91-98, 1995.
- LELOUP, V. *et al.* Impact of wet and dry process on green coffee composition and sensory characteristics. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE*, 20., 2004, Bangalore. **Resumes** [...]. Bangalore: ASIC, 2004.
- LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook**: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor. 4th ed. Long Beach: Specialty Coffee Association of America, 2011. 66 p.
- LOPEZ, C. I. *et al.* Factors related to the formation of "overfermented coffee beans" during the wet processing method and storage of coffee. *In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE*, 13., 1989, Paipa. **Resumes** [...]. Paris: ASIC, 1989.
- LÓPEZ-GARCÍA, F. J. *et al.* Producción y calidad en variedades de café (*Coffea arabica* L.) en Veracruz, México. **Revista Fitotecnia Mexicana**, Ciudad del México, v. 39, n. 3, p. 297-304, 2016.
- MAGAN, N.; LACEY, J. Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 82, n. 1, p. 83-93, 1984.
- MARIA, C. A. B. de; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Componentes voláteis do café torrado: parte I, compostos heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, p. 209-217, 1999.
- MARQUES, E. R. *et al.* Eficácia do teste de acidez graxa na avaliação da qualidade do café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes períodos de temperatura e pré- secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1557-1562, set./out. 2008.
- MARTINEZ, S. J. *et al.* Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. **Food Research International**, Barking, v. 102, p. 333-340, 2017.
- MARTINS, P. M. M. *et al.* Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 99, n. 13, p. 5638-5645, 2019.
- MASOUD, W. *et al.* Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. **Yeast**, Chichester, v. 21, n. 7, p. 549-556, May 2004.
- MASSAWE, G. A.; LIFA, S. J. Yeasts and lactic acid bacteria coffee fermentation starter cultures. **International Journal of Postharvest Technology and Innovation**, Genève, v. 2, n. 1, p. 41-82, 2010.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of detective coffee beans. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 4, p. 547-554, 1999.

MODESTA, R. C. Della *et al.* **Desenvolvimento e validação do perfil sensorial para bebida de café brasileiro**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 1999. 33 p. (Boletim de pesquisa, 22).

MONTEIRO, M. A. M. **Caracterização da bebida de café (*Coffea arabica* L.): análise descritiva quantitativa, análise tempo-intensidade e testes afetivos**. 2002. 158 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.

MONTEIRO, M. A. M.; MINIM, V. P. R.; SILVA, A. F. Bebida café (*Coffea arabica* L.): atributos sensoriais. *In*: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 2005, Londrina. **Anais [...]**. Londrina: SPCB, 2005.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Single cell protein: Mycelial Fungi. *In*: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. (ed.). **Encyclopedia of food microbiology**. London: Elsevier, 2014. v. 3, p. 2034-2044.

NUNES, C. A. *et al.* Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

OSSANI, P. C. *et al.* Qualidade de cafés especiais: uma avaliação sensorial feita com consumidores utilizando a técnica MFACT. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 92-100, 2017.

PEE, W. V.; CASTELEIN, J. M. The yeasts flora of fermenting robusta coffee. **East African Agricultural and Forestry Journal**, Nairobi, v. 26, n. 3, p. 308-310, 1971.

PEREIRA, G. V. M. Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. **International Journal of Food Science Technology**, Oxford, v. 51, n. 7, p. 1689-1695, 2016.

PEREIRA, R. G. F. A.; VILELA, T. C.; ANDRADE, E. T. Composição química de grãos de cafés (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tipos de pré-processamento. *In*: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2002, Vitória. **Anais [...]**. Vitória: SPCB, 2002.

PIMENTA, C. J.; COSTA, L.; CHAGAS, S. J. R. Peso, acidez, sólidos solúveis, açúcares e polifenóis em café (*Coffea arabica* L.), colhidos em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 25, p. 23-30, 2000.

PINO, F. A.; VEGRO, C. L. R.; ASSUMPÇÃO, R. Sensory quality of out-of-home coffees in Sao Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 20, p. 1-4, 2017.

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

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2017. Disponível em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 15 mar. 2021.

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

SANTOS, E. S. *et al.* Efeito de grãos conilon no perfil sensorial e aceitação de bebidas de café. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 2297-2306, 2013.

SCHWAN, R. F.; FLEET, G. H. (org.). **Cocoa and coffee fermentations**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2014.

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

SILVA, A. F. **Perfil sensorial da bebida de café (*Coffea arabica* L.) orgânico**. 2003. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

SILVA, C. F. *et al.* Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 235-47, 2013.

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

SILVA, C. F. *et al.* Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 8, p. 951-957, Dec. 2008.

SILVA, S. A. *et al.* Characterization and delimitation of the terroir coffee in plantations in the municipal district of Araponga, Minas Gerais, Brazil. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 45, n. 1, p. 18-26, 2014.

SILVEIRA, A. S. *et al.* Sensory analysis of specialty coffee from different environmental conditions in the region of Matas de Minas, Minas Gerais, Brazil. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 63, n. 4, p. 436-443, 2016.

SIVETZ, M.; DESROSIER, N. W. Physical and chemical aspects of coffee. **Coffee Technology**, Westpor, p. 527-575, 1979.

SONG, Y.; JEONG, D.; BAIK, S. Monitoring of yeast communities and volatile flavor changes during traditional Korean soy sauce fermentation. **Journal of Food Science**, Jeonju, v. 80, n. 9, p. 2005-2014, 2015.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION. **The 2017 western European coffee market size report**. Irvine: SCAA, 2017. Disponível em: <https://scanews.coffee/2017/11/28/2017-western-european-coffee-market-size-report/>. Acesso em: 23 fev. 2022.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION. **SCA protocols cupping specialty coffee**. Irvine: SCAA, 2015. Disponível em: <http://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2021.

SPENCER, M. *et al.* Using single free sorting and multivariate exploratory methods to design a new coffee taster's flavor wheel. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 81, n. 12, p. S2997-S3005, 2016.

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

TEILLET, E. *et al.* Sensory methodologies and the taste of water. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 21, n. 8, p. 967-976, 2010.

VARIYAR, P. S. *et al.* Flavoring components of raw monsooned arabica coffee and their changes during radiation processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 27, p. 7945-7950, 2003.

VILELA, D. M. *et al.* Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica L.*). **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 8, p. 128-135, 2010.

VITORINO, M. D. *et al.* Metodologias de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 26, n. 3, p. 17-24, 2001.

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

ZHANG, S. J. *et al.* Influence of various processing parameters on the microbial community dynamics, metabolomic profiles, and cup quality during wet coffee processing. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 10, p. 2621, 2019a.

ZHANG, S. J. *et al.* Following coffee production from cherries to cup: microbiological and metabolomic analysis of wet processing of *Coffea arabica*. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 85, n. 6, p. 1-22, 2019b.