



**MARCELA CAROLINE BATISTA DA MOTA**

**USO DE CULTURAS INICIADORAS NA FERMENTAÇÃO DO  
CAFÉ ARÁBICA (*COFFEA ARABICA*) EM BIORREATORES**

**LAVRAS – MG**

**2019**

**MARCELA CAROLINE BATISTA DA MOTA**

**USO DE CULTURAS INICIADORAS NA FERMENTAÇÃO DO CAFÉ ARÁBICA  
(*COFFEA ARABICA*) EM BIORREATORES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de Mestre.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosane Freitas Schwan

Orientadora

Dr.<sup>a</sup> Maria Gabriela da Cruz Pedrozo Miguel

Dr.<sup>a</sup> Nádia Nara Batista

Coorientadoras

**LAVRAS – MG**

**2019**

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

Mota, Marcela Caroline Batista da.

Uso de culturas iniciadoras na fermentação do café arábica  
(*Coffea arabica*) em biorreatores / Marcela Caroline Batista da  
Mota. - 2019.

77 p.

Orientador (a): Rosane Freitas Schwan.

Coorientador (a): Maria Gabriela da Cruz Pedrozo Miguel,  
Nádia Nara Batista.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Microbiologia. 2. Café fermentado. 3. Levedura. I. Schwan,  
Rosane Freitas. II. Miguel,

**MARCELA CAROLINE BATISTA DA MOTA**

**USO DE CULTURAS INICIADORAS NA FERMENTAÇÃO DO CAFÉ ARÁBICA  
(*COFFEA ARABICA*) EM BIORREATORES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 11 de fevereiro de 2019

Dr<sup>a</sup>. Rosane Freitas Schwan UFLA

Dr. Disney Ribeiro Dias UFLA

Dr<sup>a</sup> Cristina Ferreira Silva e Batista UFLA

Dr. Diego Egídio Ribeiro SYNGENTA

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosane Freitas Schwan

Orientadora

**LAVRAS-MG**

**2019**

## AGRADECIMENTOS

À Deus e Nossa Senhora Aparecida por me conceder a oportunidade de realizar esse trabalho, me dando força e sabedoria para concluí-lo.

À Universidade Federal de Lavras, principalmente o departamento de Microbiologia agrícola, que me concedeu a oportunidade de adquirir conhecimentos, disponibilizou equipe e estrutura para tornar esse sonho realidade.

À FAPEMIG, CNPq e CAPES pela bolsa de estudo e apoio financeiro.

À Syngenta (NUCOFFEE), por patrocinar este trabalho e ser solícita a todo o momento, aos cafeicultores por receber toda a equipe de braços abertos em suas propriedades e equipe de provadores que se dispuseram a participar das análises sensoriais.

À professora Dr<sup>a</sup>. Rosane Freitas Schwan pela orientação, ensinamentos, paciência, sempre disponível para ajudar na montagem dos experimentos, engajando inclusive sua família para este fim. Obrigada por acreditar no meu potencial.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Maria Gabriela que sempre esteve ao meu lado, dando apoio, motivação, força e ensinamentos para a conclusão deste trabalho.

À Dr<sup>a</sup>. Nádia por me acompanhar na maioria das viagens e ter a paciência para que tudo saísse da melhor forma possível. Aos meus colegas e amigos do laboratório que me acompanharam durante as viagens, no processo de secagem, seleção dos grãos de café e organização das amostras para análise sensorial. Em especial Maria Gabriela, Luciana, Angélica, Aline, professor Dr. Disney, Dayana, Sílvia, Ana Paula, Maysa, Paulo, Priscila, Pamela, Iara, Eduardo, Juliana, Thayanna, Dirceu, Fabiana, Diego Egídio, Naves, Douglas Correa e muitos outros que me ajudaram generosamente visando a boa condução das etapas do experimento, só tenho a agradecer a essa equipe.

Ao professor Dr. Flávio Meira Borém que cedeu espaço no laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas da UFLA para realizar o cupping, pela disposição em sempre querer ajudar e por fazer acreditar que tudo ia dar certo.

À Mariane Rabelo por torrar todas as amostras para análise sensorial e estar ao meu lado durante toda a degustação sendo o meu braço direito.

À Pamela, Maria Gabriela, Luciana, Suelen e Lílian pela amizade construída, carinho, convivência e momento de descontração.

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para que eu pudesse correr atrás dos meus sonhos e objetivos, sempre me apoiando com carinho, amor incondicional e oração. À minha irmã e toda minha família pelas palavras de incentivo, presença e oração.

Ao meu namorado Douglas Correa por estar sempre ao meu lado e por nunca medir esforços para me ajudar. Obrigada por me acompanhar nas viagens de realização do experimento e em todas as etapas para que esse trabalho se tornasse realidade, com você tive forças para não desanimar e seguir em frente. Em especial a minha sogra Rosemeire, meu sogro Donizetti e cunhado Diogo por me apoiarem nesse momento.

À todos, que de alguma forma, contribuiu para a conclusão dessa jornada.

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

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

Muito Obrigada!!

## RESUMO

O café chegou ao Brasil no ano de 1727 e atualmente o país é considerado o maior produtor. Essa cultura pertence à família Rubiaceae, ao gênero *Coffea*, sendo as mais cultivadas o *C. arabica* e *C. canefora*. Essa cultura tem despertado o interesse de consumidores que procuram bebidas classificadas como especiais considerados cafés com aromas e sabores únicos. A formação das características da bebida ocorre durante a formação do fruto e da planta como um todo. Por isso é importante realizar boas práticas agronômicas para garantir a qualidade do produto. Métodos de pré-processamentos como via natural, CD e via úmida podem ser utilizados, com posterior secagem dos grãos. Durante a fermentação do fruto podem ser encontrados microrganismos como bactérias, leveduras e fungos. As leveduras possuem grande importância e podem ser utilizadas como culturas iniciadoras, pois produzem enzimas pectinolíticas, álcoois, ácidos e liberam açúcares, melhorando o sabor da bebida. *Saccharomyces cerevisiae* e *Torulaspota delbrueckii*, ambas provenientes da fermentação natural do café, possuem elevada atividade pectinolítica, ótima capacidade fermentativa e liberam produtos metabólicos desejáveis na bebida final. Dependendo da forma como a fermentação é feita a característica da bebida também varia. Como exemplo, seria o uso de recipientes, como biorreatores para realizar o processo fermentativo. Esse estudo visou inocular *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) e *Torulaspota delbrueckii* (CCMA 0684), em cafés nas regiões do Sul de Minas Gerais, Zona da Mata e Cerrado, tanto processados pelo método cereja, quanto cereja despulpado com intuito de melhorar a qualidade da bebida final. A viabilidade dos inoculos foi avaliada por reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR) e os compostos voláteis e não voláteis foram avaliados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) respectivamente, a análise sensorial dos tratamentos também foi realizada. *S. cerevisiae* foi dominante durante fermentações espontâneas e inoculado para os dois tipos de processamento. *T. delbrueckii* mostrou população semelhante com e sem inoculação. Glicose e frutose foram consumidas rapidamente durante a fermentação. Os ácidos málico e succínico foram detectados no processo de fermentação do café e quando presentes contribuem na qualidade da bebida, pois intensificam a doçura. Os resultados da análise compostos voláteis mostraram que cada tratamento se correlacionou com diferentes grupos, o café cereja da localidade 1 inoculado com *S. cerevisiae* correlacionou com furano, pirrole e álcool. No entanto o café cereja da localidade 2 e inoculado com *T. delbrueckii* (CCMA0684) foram correlacionados com pirrole, furano, éster e ácidos. Os cafés inoculados com *T. delbrueckii* apresentaram maiores pontuações em relação ao controle. Na região 2, por exemplo, o café cereja aumentou em 5.75 pontos com o uso da inoculação comparado com o tratamento sem cultura iniciadora. O uso de *S. cerevisiae* influenciou principalmente os cafés processados pelo método cereja, na região 3 as notas chegaram até 83 pontos, quanto o controle foi de 79,75. Percebe-se que entre as regiões avaliadas o uso de culturas iniciadoras exibiu aumento da nota de acordo com os resultados da análise sensorial sendo uma prática recomendável.

**Palavras-chave:** Microrganismos. Leveduras. *Tolulaspota delbrueckii*. Compostos voláteis.

## ABSTRACT

Coffee arrived in Brazil in the year 1727 and currently the country is considered the largest producer. This crop belongs to the Rubiaceae family, the genus *Coffea*, being the most cultivated *C. arabica* and *C. canefora*. This culture has aroused the interest of consumers looking for special classified drinks considered coffees with unique flavors and aromas. The formation of the characteristics of the drink occurs during the formation of the fruit and the plant as a whole. Therefore it is important to perform good agronomic practices to ensure product quality. Preprocessing methods such as natural, CD and wet can be used, with subsequent drying of the grains. During the fermentation of the fruit can be found microorganisms such as bacteria, yeast and fungi. Yeasts are of great importance and can be used as starter cultures because they produce pectinolytic enzymes, alcohols, acids and release sugars, improving the taste of the drink. *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulasporea delbrueckii*, both derived from natural coffee fermentation, have high pectinolytic activity, excellent fermentative capacity and release desirable metabolic products in the final beverage. Depending on how the fermentation is done the characteristic of the drink also varies. As an example, would be the use of containers such as bioreactors to perform the fermentation process. This study aimed to inoculate *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) and *Torulasporea delbrueckii* (CCMA 0684) in coffees in the Sul de Minas Gerais, Zona da Mata and Cerrado regions, both processed by cherry and pulped cherry in order to improve the quality of final drink. Inoculum viability was assessed by real time polymerase chain reaction (qPCR) and volatile and nonvolatile compounds were evaluated by gas chromatography coupled to mass spectrometer (GC-MS) and high performance liquid chromatography (HPLC) respectively, the sensory analysis of the treatments was also performed. *S. cerevisiae* was dominant during spontaneous fermentations and inoculated for both types of processing. *T. delbrueckii* showed similar population with and without inoculation. Glucose and fructose were consumed rapidly during fermentation. Malic and succinic acids were detected in the coffee fermentation process and when present contribute to the quality of the beverage, as they intensify the sweetness. The results of volatile compound analysis showed that each treatment correlated with different groups, the cherry coffee from locality 1 inoculated with *S. cerevisiae* correlated with furan, pyrrole and alcohol. However, cherry coffee from locality 2 and inoculated with *T. delbrueckii* (CCMA0684) were correlated with pyrrole, furan, ester and acids. The coffees inoculated with *T. delbrueckii* presented higher scores in relation to the control. In region 2, for example, cherry coffee increased by 5.75 points with inoculation use compared to treatment without starter culture. The use of *S. cerevisiae* influenced mainly the coffees processed by the cherry method, in region 3 the scores reached 83 points, while the control was 79.75. Among the evaluated regions, the use of starter cultures showed an increase in grade according to the results of the sensory analysis, being a recommended practice.

**Keywords:** Microorganisms. Yeasts, *Tolulaspora delbrueckii*. Volatile compounds.



## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 História e evolução sobre os conceitos da qualidade .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Cafés especiais.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3 Processamento e qualidade do café .....</b>	<b>15</b>
<b>2.4 Microbiota e fermentação do café .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 Análise sensorial do café .....</b>	<b>19</b>
<b>2.6 Ambiente de produção x café x microbiota.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7 Biorreatores.....</b>	<b>22</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>24</b>
<b>SEGUNDA PARTE.....</b>	<b>30</b>
<b>ARTIGO 1 - Uso de culturas iniciadoras na fermentação do café arábica (<i>Coffea arabica</i>) em biorreatores .....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO C.....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO D.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO E.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO F .....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXO G .....</b>	<b>77</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de grãos de café do mundo (CONAB, 2015). A cafeicultura, bem como todo o cenário agrícola passou por inúmeras mudanças nas últimas quatro décadas, o que possibilitou que o país fosse inserido no mercado de exportação de café (PEREIRA et al., 2014). Com o objetivo de diminuir os custos e aumentar a produtividade, foram empregadas novas tecnologias, tais como uso de máquinas, equipamentos e agroquímicos para produzir em maior escala, visando o aumento da exportação (MOREIRA, 2000).

A produção de café cresce a cada ano juntamente com as exigências dos consumidores que tem se preocupado não só com a qualidade do produto, mas também com a forma de como esse café foi produzido, levando em consideração as questões ambientais e sociais. Com isso a indústria alimentícia vem aprimorando os processos produtivos para atender os padrões internacionais de cafés especiais dando maior importância às medidas qualitativas e quantitativas (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA - SCAA, 2017). O mercado de cafés especiais cresce em maiores proporções em relação aos cafés comuns (*commodity*) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CAFÉS ESPECIAIS – BSCA, 2017). Os cafés especiais remetem a aqueles de maior qualidade, onde o sabor e aromas distintos são formados durante a torra. Os cafés mais valorizados são aqueles que transmitem uma sensação ou percepção sensorial única. (FARAH et al., 2005; RIBEIRO et al., 2016).

As características da bebida mudam dependendo do tipo de processamento utilizado (KLEINWÄCHTER; SELMAR, 2010). Além disso, a composição química dos grãos, como açúcares, trigonelina, ácidos clorogênicos, cafeína, entre outros compostos, podem variar dependendo do tipo de processamento utilizado (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010; SMITH, 1985). O processamento pode ser feito por via seca, onde o fruto é seco na sua forma integral, mantendo o exocarpo, mesocarpo, endocarpo e semente do fruto. Ao atingir um teor de umidade de 11% é chamado de coco ou café natural. A etapa de secagem quando bem conduzida garante a qualidade da bebida final (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010). Esse tipo de processamento da

origem a cafés com bebidas com maior corpo e menor acidez (PUERTA-QUINTERO, 1999; VINCENT, 1987).

Outro processamento utilizado é por via úmida, onde a polpa e a mucilagem dos frutos são removidas mecanicamente e os grãos são destinados a tanques com grande volume de água, onde ocorre o processo fermentativo (VILELA et al., 2010). Uma variação desse tipo de processamento é o cereja descascado (CD), nele a casca e a mucilagem dos frutos também são retiradas mecanicamente, porém, após esse processo os grãos, contendo parte da mucilagem e pergaminho, são levados para secagem em terreiros (PIMENA, 2003)

Outros fatores que contribuem com a qualidade da bebida são os microrganismos e compostos químicos presentes no fruto do café que contribuem com o desenvolvimento do sabor e aroma da bebida durante o processo de torra (SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2013; VILELA et al., 2010; EVANGELISTA et al., 2014a; EVANGELISTA et al., 2014b). Segundo esses autores é importante conhecer a microbiota dominante no café para determinar quais microrganismos contribuem para melhorar a qualidade da bebida final. O fruto proporciona ambiente favorável para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos tais como, as leveduras que são capazes de produzir enzimas que contribuem com a redução do tempo de processamento do café e com o desenvolvimento do sabor e aroma da bebida (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2013; VILETA et al., 2010; EVANGELISTA et al., 2014a; EVANGELISTA et al., 2014b; EVANGELISTA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2017, MARTINEZ et al., 2017; BRESSANI et al., 2018).

A análise sensorial é uma ferramenta útil para se avaliar a qualidade do produto final. Dentre as metodologias existentes, a mais comumente empregadas para café é o teste de xícara proposto pela Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA). O teste de xícara avalia o café em duas categorias, a subjetiva, que representa fragrância/aroma, sabor, sabor residual, acidez, corpo, equilíbrio e impressão global da bebida, e a objetiva, representada pela uniformidade, doçura e xícara limpa (ausência de defeitos).

As características sensoriais do café são influenciadas pelas condições geográficas e variedade de café (CUPOLILLO et al., 2008). A diversidade climática do estado de Minas Gerais proporciona a obtenção de cafés com perfis sensoriais distintos

o que possibilita a sua inserção tanto no mercado nacional quanto internacional (CHAGAS; CARVALHO; COSTA, 1996)

Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi avaliar a fermentação conduzida de café através do uso de biorreatores e verificar o comportamento das leveduras *S. cerevisiae* (CCMA 0543) e *T. delbruekii* (CCMA 0684) durante a fermentação do fruto nesses recipientes. Além de avaliar o comportamento dessas estirpes em diferentes cidades do estado de Minas Gerais, utilizando dois métodos de processamento, natural e CD, no intuito de melhorar a qualidade da bebida e avaliar a viabilidade dos inóculos.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 História e evolução sobre os conceitos da qualidade

A cafeicultura passou a assumir um papel importante no desenvolvimento do Brasil a partir do século XX, desde então essa atividade agrícola passou a ocupar uma das mais importantes atribuições econômicas para o país e se tornou um dos maiores produtores e exportadores de café (PONCIANO et al., 2009). No ano de 2018, por exemplo, a produção de café foi de 61,7 milhões de sacas, sendo 47,5 milhões de sacas de café arábica e 14,2 milhões de sacas de café canéfora, um crescimento de 37% em relação ao ano anterior (CONAB, 2018). Sendo assim, é cada vez maior a importância de se fazer avaliações técnicas e científicas para classificar a qualidade da bebida.

No intuito de avaliar a qualidade dos cafés, começaram a ser estabelecidos padrões e normas para classificar o produto (CARVALHO,1997). Em 1949 foi aprovado um decreto, nº 27.173, que estabelecia especificações e tabelas para a classificação e fiscalização do café. Em 1978 a resolução nº 12.178 foi aprovada pela comissão de Normas e Padrões para Alimentos, onde fixava padrões de qualidade, identidade para alimentos e bebidas. Nessa resolução o café foi incluído e era classificado quanto ao tipo de bebida, peneira e cor (CARVALHO,1997).

Em 2003 foi criada uma instrução normativa, nº 8, em 11 de junho, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento que regulamenta as características de identidade e qualidade dos cafés beneficiados Grão Cru. Essa instrução normativa prevê a realização de uma avaliação física, onde são identificados os defeitos (grão preto, ardido, concha, verde, quebrado, brocado e mal granados); os atributos físicos de qualidade (categoria: *Coffea arabica* e *Coffea canefora*; subcategoria: formato e granulometria) (BRASIL, 2003).

No entanto, o procedimento de degustação para a negociação de *commodities* leva em consideração descrições feitas por provadores que usam opiniões pessoais e experiência de degustação acumulada ao longo dos anos (FERIA-MORALES, 2002). Porém a experiência não é o principal critério para que uma pessoa seja considerada um especialista. A norma ISO 856-2 determina a importância de um treinamento, além de alta sensibilidade sensorial (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR

STANDARDIZATION, 1994). O agente encarregado de realizar a avaliação sensorial deve ser treinado e o mesmo influencia nas avaliações, onde são capacitados em determinar a qualidade e podem interferir no preço final do produto (ALVARADO; LINNEMANN, 2010).

Não só no Brasil, mas no mundo os degustadores certificados fazem uso de metodologias sensoriais, sendo que a mais difundida é o protocolo da SCA (*Specialty Coffee Association*) fundada em 2017 através da fusão da SCAA (*Specialty Coffee Association of America*) e SCAE (*Specialty Coffee Association of Europe*) com o intuito de expandir o mercado de cafés especiais e inspirar outros consumidores através de eventos, educação e pesquisas (LAWLESS; HEYMANN, 2010).

Segundo estes autores, a SCA determina quais as condições de realização da análise sensorial, assim como o ambiente, para que ocorra da melhor forma, pois não deve haver interferências durante a avaliação. O protocolo também determina como as amostras devem ser torradas, parâmetros para a concentração de sólidos solúveis, temperatura da água, material a ser utilizado, degustação e a avaliação das amostras.

Porém, uma análise mais detalhada dos constituintes químicos do grão se faz necessária, como por exemplo, determinar os componentes aromáticos que compõem o grão e que são capazes de provocar nos degustadores experiências sensoriais ao provarem a bebida (BHUMIRATANA; ADHIKARI; CHAMBERS, 2011). Hoje em dia isso é possível através da determinação dos compostos químicos voláteis e não voláteis do café, determinados por técnicas como cromatografia líquida e gasosa. Senso assim é importante correlacionar análises químicas e sensoriais, pois dessa maneira é possível discriminar lotes com qualidades distintas e direcionar o produto de acordo com o mercado e preferência do consumidor.

## **2.2 Cafés especiais**

A atividade cafeeira no Brasil busca cada vez mais novas estratégias com o propósito de formar uma relação cada vez mais sólida entre o mercado consumidor nacional e internacional. Nas últimas décadas foi possível observar uma constante e

crescente demanda por cafés especiais, principalmente, no mercado mundial (SAES, 2006).

Os cafés especiais possuem uma qualidade superior às demais categorias das bebidas devido a alguns cuidados tomados durante sua produção como, cuidados na colheita, separação dos grãos, tipo de processamento, origem dos plantios, cultivares, entre outros (FIGUEIREDO, 2018). Além disso, é crescente a valorização do mercado para aqueles produtores que buscam atender os atributos higiênico-sanitários, proteção ambiental, valorização social e qualidade sensorial na produção de cafés especiais (BORÉM et al., 2008). Logo, os cuidados tomados com os métodos de produção atribuem à bebida melhor sabor, garantindo melhores preços atribuídos pelos torradores e consumidores (AVELINO et al., 2005).

A imagem do Brasil no mercado cafeeiro é de um país que fornece elevada quantidade de cafés comuns e de baixo valor (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ, 2014), mas isso vem mudando. O mercado consumidor está cada vez mais exigente e busca cada vez mais qualidades e informações sobre o produto que o valorizam ainda mais (ANDRADE, et. al., 2015), isso faz com que o país se adapte a essa nova demanda. Junto a isso, os torradores vêm investindo e educando o público a apreciarem o café como uma bebida especial através de treinamento de varejistas, organização de eventos, para que assim os cafés especiais possam ser inseridos no mercado. Semelhante ao que ocorre com o vinho e a cerveja, onde é possível encontrar uma variedade de sabores, aromas, categorias e diferentes modos de fabricação (THURSTON et al., 2013).

Dessa forma, os cafés especiais vêm assumindo uma identidade diferenciada, além de ser valorizado em função das características sensoriais que os difere dos cafés convencionais. Com isso, é possível observar uma queda no segmento de *commodity*, já que os produtores vêm sendo estimulados a desenvolver produtos diferenciados (ANDRADE, et al., 2015).

### **2.3 Processamento e qualidade do café**

Um das etapas mais importantes do processo de pós-colheita é o tipo de processamento utilizado, sendo que a escolha do método depende das condições financeiras do cafeicultor, da produtividade da lavoura e o tipo de qualidade almejada (WINTGENS, 2004).

Tradicionalmente, o processamento por via seca (café natural) consiste em secar o fruto na sua forma íntegra, ou seja, com o exocarpo, mucilagem, pergaminho e sementes. Existem também os cafés processados por via úmida, onde os frutos de café são despulpados e colocados em tanques com água por um período que pode variar de 6 a 72 horas. O tempo de fermentação pode variar de acordo com a temperatura ambiente, ao final da fermentação os grãos são removidos e direcionados para secagem (SILVA, 2015). Uma variação dos cafés processados por via úmida são aqueles denominados cereja descascado (CD), onde ocorre a remoção mecânica da casca do fruto e parte da mucilagem (BORÉM et al., 2008).

Através da remoção da casca e mucilagem é possível obter lotes mais homogêneos e maior garantia de qualidade do produto, pois essas camadas do fruto retardam a secagem e podem proporcionar fermentações indesejáveis (BORÉM, 2004). Os cafés processados por via seca geralmente são associados por possuírem menor qualidade, quando comparado aos cafés processados por via úmida, devido à falta de cuidados durante as etapas de colheita e secagem. Mas tais afirmações não são suficientes para explicar a diferença na qualidade dependendo da escolha do método de processamento (BORÉM 2014). Visto que, é possível produzir cafés processados por via seca de ótima qualidade quando é feita a seleção dos frutos maduros e a secagem é conduzida de forma correta (BORÉM, 2008).

Os cafés processados pelo método via seca (café natural) são capazes de atribuir a bebida maior corpo e menor acidez, quando comparado aos cafés processados pela via úmida. Já os cafés CD possuem uma leve e prazerosa acidez, e um aroma mais acentuado (PUERTA-QUINTERO, 1999; VINCENT, 1987).

Os diferentes métodos de processamento podem provocar na semente diferentes atividades metabólicas e isso pode ser comprovado por análises fisiológicas e bioquímicas. A técnica de expressão de enzimas específicas da germinação, assim como a reativação da divisão celular, para análise do acúmulo de  $\beta$ -tubulina é um exemplo (VÁZQUEZ-RAMOS; SANCHEZ, 2003). Quando encontrado um acúmulo de  $\beta$ -



tubulina nas sementes dos cafés em pergaminho, ao ser comparado aos cafés naturais, indicam maior atividade germinativa e fisiológica nas sementes despulpadas (SELMAR et al., 2006).

Outro exemplo seria a presença do ácido  $\gamma$ -amino butírico que é um aminoácido livre que pode acumular em maiores teores no grão durante o processamento por via seca quando comparado com a via úmida. Logo diferentes reações metabólicas podem ocorrer dependendo do tipo de processamento adotado (BYTOF et al., 2005). Senso assim fica cada vez mais evidente que a composição química do grão é alterada dependendo do tipo de processamento utilizado durante a pós-colheita.

## **2.4 Microbiota e fermentação do café**

Naturalmente, no fruto do café estão presentes microrganismos, sendo encontrados desde a colheita até o processo de secagem (SILVA et al., 2008; VILELA et al., 2010; EVANGELISTA et al., 2015). Esses microrganismos são responsáveis pela degradação da polpa e mucilagem dos frutos durante o processo de fermentação do café, produzindo compostos capazes de atribuir à bebida sabor e aroma que são gerados durante o processo de torra (VILELA et al., 2010; SILVA et al., 2013; SILVA, 2014; EVANGELISTA et al., 2014b; EVANGELISTA et al., 2015). Por isso, é importante conhecer a microbiota dominante no café para determinar qual microrganismo contribuir para melhorar a qualidade da bebida final (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2013; VILELA et al., 2010, EVANGELISTA et al., 2015).

Os microrganismos presentes no café podem ser incluídos as bactérias, leveduras e fungos (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; SAKIYAMA et al., 2001; MASOUD et al., 2004; MASOUD; JESPERSEN, 2006; De BRUYNE et al., 2007; VILELA et al., 2010, EVANGELISTA et al., 2015). Estudos anteriores mostram que o grupo de bactérias eram os mais abundantes em relação às espécies presentes (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; VILELA et al., 2010). Blandón-Castaño, Rodríguez-Valencia e Dávila-Arias (1998) verificaram que a população bacteriana pode chegar a 7,6 log UFC/g na polpa. Inicialmente a microbiota é composta por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, conforme os frutos vão diminuindo o teor de água, o ambiente se torna

mais susceptível para a multiplicação de leveduras e fungos filamentosos (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008).

As leveduras possuem grande importância, pois são capazes de produzir enzimas pectinolíticas, pois o fruto do café proporciona ambiente favorável para o seu crescimento e desenvolvimento, o que foi confirmado em estudos com a via seca e semi-seca (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2013; VILELA et al., 2010; EVANGELISTA et al., 2014a; EVANGELISTA et al., 2014b; EVANGELISTA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2017a; RIBEIRO et al., 2017b; MARTINEZ et al., 2017; BRESSANI et al., 2018). Na Tabela 1 estão descritos os microrganismos que podem ser encontrados no fruto do café.

Tabela 1 - Microrganismos presentes no fruto do café nos diferentes tipos de processamentos.

Microrganismos isolados do fruto do café		
Processamento seco	Processamento úmido	Processamento semi-seco
Gênero	Espécie	Espécie
<i>Pichia</i>	<i>Torulaspota delbrueckii</i>	<i>Torulaspota delbrueckii</i>
<i>Candida</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
<i>Arxula</i>	<i>Candida pseudonitermedia</i>	<i>Saccharomyces bayanus</i>
<i>Saccharomycopsis</i>	<i>Pichia ohmeri</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
	<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Kloeckera sp</i>

Fonte: SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; EVANGELISTA et al., 2014a; EVANGELISTA et al., 2015; VILELA et al., 2010.

A presença de fungos filamentosos no café geralmente chama a atenção para a produção de micotoxinas, em especial a ocratoxina A (OTA), produzida por esse grupo de microrganismos (BATISTA et al., 2009). Alguns fungos filamentosos como os do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* produzem micotoxinas provenientes de seus metabólitos secundários. A sua produção geralmente acontece no período que antecede a colheita, o isolamento dos fungos filamentosos ocorre durante o processamento do café na superfície do fruto (ROUSSOS et al, 1995; SILVA et al., 2000, BATISTA et al., 2009), e durante o armazenamento e transporte (SUÁREZ-QUIROZ et al., 2004). No entanto, existe um fungo filamentoso que está associado à qualidade do café e pertence ao gênero *Cladosporium* sp. Alves e Castro (1998) estudando a presença do fungo no fruto do café observou que nos frutos verde-cana, cereja, passa, seco no pé, grãos no

chão e no café beneficiado o fungo estava presente. Porém, houve uma incidência maior nos frutos cereja variando para a fase de passa e seco no pé. Além disso, o mesmo autor verificou uma associação positiva desse gênero de fungo filamentosos e a boa qualidade do café.

Microrganismos específicos podem produzir alimentos fermentados de boa qualidade, os mesmos conferem características organolépticas diferenciadas ao alimento através de produtos oriundos do seu metabolismo (HUTKINS, 2006). Uma maneira de se utilizar culturas iniciadoras é inoculando diretamente na matéria prima, para que assim possa predominar sobre a microbiota pré-existente e provocar alterações desejáveis no produto. Sendo que estas estirpes podem melhorar o valor nutricional do alimento, incrementar a qualidade sensorial e aumentar o seu valor econômico (CAPLICE; FTIZGERALD, 1999).

Para a fermentação conduzida do café as leveduras das espécies *Saccharomyces cerevisiae* UFLA CN727, *Pichia guilliermondii* UFLA CN731 e *Candida parapsilosis* UFLA CN448, isoladas do processamento natural e semi-seco do café durante estudos realizados por Vilela et al. (2010), Silva et al. (2013), exibiram potencial favorável para serem utilizadas como culturas iniciadoras (EVANGELISTA et al., 2014a; EVANGELISTA et al., 2014b; RIBEIRO et al., 2017a; RIBEIRO et al., 2017b). Esses microrganismos foram capazes de degradar a mucilagem com maior eficiência durante o processo fermentativo do café. Além de produzirem ácidos orgânicos e compostos voláteis que contribuem para qualidade final da bebida.

## 2.5 Análise sensorial do café

A ciência que objetiva estudar as percepções, as sensações e as diferentes reações do consumidor sobre a aceitação ou rejeição de um produto é denominada análise sensorial (DELLA-LUCIA; MININ; CARNEIRO, 2006).

Em Minas Gerais a qualidade dos cafés especiais é determinada pela prova de xícara (BRASIL, 2003; FERREIRA, 2010). Uma equipe de provadores treinados classifica o café sensorialmente utilizando a metodologia *Cup of Excellence* – CoE, adotada pela Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA, 2017). Os provadores observam atributos como acidez, bebida limpa, doçura, sabor, corpo, sabor

remanescente, balanço e nota geral. As notas para cada atributo variam de 0 a 8 dependendo da sua intensidade. Os cafés que obtiverem notas iguais ou superiores a 80 são classificados como cafés especiais (LINGLE, 2011). No entanto, a prova de xícara não segue um critério para a realização dos procedimentos de degustação, principalmente os padrões de torra do café (FERIA-MORALES, 2002).

A análise sensorial proposta por Lingle (2011) propõe que o método seja aplicado conforme orientações previstas nos protocolos, onde deve seguir as etapas do preparo à análise do café. Esse método é bastante aceito devido a todos os cuidados tomados durante o processo e realizado amplamente onde se comercializa e consome o café especial. Essa avaliação é realizada por uma equipe de provadores com a habilidade em reconhecer aromas, sabores e gostos distintos, logo os provadores devem ser treinados (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999).

Porém, a análise sensorial do café é classificada como subjetiva, logo se faz necessário realizar outros testes, como análises químicas e físico-químicas, para relacionar como os resultados obtidos através da análise sensorial para que se possam diminuir os erros de avaliação (LEHOTAY; HAJŠLOVA, 2002). Também é importante ressaltar que mesmo quando são atingidos bons resultados ao utilizar análises químicas não é dispensada a avaliação de provadores treinados (SCHMIDT; MIGLIORANZA, 2011).

## **2.6 Ambiente de produção x café x microbiota**

O estado de Minas Gerais está localizado na região sudeste do Brasil e se destaca por apresentar uma grande diversidade de climas e topografias (CUPOLILLO et al., 2008). Logo, cada região dentro do estado provoca variações na qualidade da bebida dependendo do local de cultivo. A região Sul de Minas está localizada a 21° 13' a 22° 10' de latitude e 44° 20' a 47° 20' de longitude e caracteriza-se por áreas elevadas, com altitude que variam de 700 a 1.080 m (MINAS GERAIS, 2008). A região dos Cerrados de Minas está localizada a 16° 37' a 20° 13' de latitude e 45° 20' a 49° 48' de longitude, e caracteriza-se por áreas de altiplano, com altitude de 820 a 1.100 m (MINAS GERAIS, 2008). Já a região Matas de Minas compreende as áreas geográficas delimitadas pelos paralelos 40° 50' a 43° 36' de latitude e 18° 35' a 21° 26' de longitude,

e caracteriza-se por áreas montanhosas, com altitude de 400 a 700 m (MINAS GERAIS, 2008).

Historicamente, no século XIX a cafeicultura avançou do estado de São Paulo para o Rio de Janeiro, dessa forma a cultura chegou à região da Zona da Mata Mineira (Mata de Minas) e onde foi considerada a principal região produtora do estado (MATIELLO, 2003). A região do Sul de Minas com o passar dos anos ultrapassou a produção de café da região de Mata de Minas e contribuiu para que o estado de Minas Gerais ganhasse posição de destaque na produção de café, ultrapassando os estados de São Paulo e Paraná (SOUSA, 2002). A produção de café iniciou na região do Cerrado Mineiro com a chegada de cafeicultores de outras regiões. O clima bem definido marcado por um verão quente e chuvoso, e inverso seco com temperaturas amenas permitiu o bom desenvolvimento dos frutos e boa condução no processo de secagem. Dessa maneira, originou a marca “Café do Cerrado” (NETO, 2002).

A composição química e a qualidade do café são diferentes dependendo da região cultivada, Chagas, Carvalho e Costa (1996) observaram essa diferença nas três principais regiões produtoras de café do país (Cerrado, Sul de Minas e Matas de Minas) e dentro da mesma região. Cafés processados pelo método cereja descascado, por exemplo, produzidos na região de Sul de Minas atingiram acidez titulável total e açúcares totais dentro da faixa de valores característicos na bebida. Além disso, observou que cafés produzidos na faixa de altitude que variaram de 920 a 1120 metros apresentaram menor corpo e acidez e maior doçura quando comparados aos cafés produzidos na faixa de 720 a 920 metros, onde produziu cafés de menor qualidade (SILVA; PEREIRA, 2004).

Evangelista et al. (2015) avaliou a microbiota presente na fermentação úmida do café em dois biomas de Minas Gerais, Sul de Minas, localizado no bioma Mata Atlântica e Cerrado, onde observou diferença na microbiota presentes nessas localidades. Além disso, resultados da análise sensorial mostraram que os cafés da região Sul de Minas predominaram o sabor cítrico e herbáceo, já no Cerrado, cítrico, herbáceo e nozes. Nas análises químicas também foram observados resultados diferente, o ácido málico, cítrico, succínico, furanos, cetonas, entre outros compostos, foram encontradas em diferentes concentrações dependendo da região avaliada.

Ribeiro et al. (2018) também observaram variações na concentração de compostos voláteis, na população de microrganismos existentes e no perfil sensorial quando avaliou a diversidade bacteriana durante a fermentação do café. Apesar da pesquisa acontecer na mesma região, as características foram distintas quando utilizou três variedades de café.

## **2.7 Biorreatores**

Biorreatores são recipientes onde ocorre uma série de reações químicas catalisadas por microrganismos, plantas, células animais, e enzimas e que tenham sua capacidade metabólica mantida (SCHMIDELL; FACCIOTTI, 2001).

Para que haja eficiência no processo é necessário que se faça uma escolha correta do modelo a ser empregado, pois o modo como os reatores biológicos funcionam para que o processo seja eficiente é uma importante etapa. Logo, deve-se levar em consideração o tamanho, a configuração, a condição de como o processo irá funcionar e o modo de operação, pois todas essas condições possuem impactos durante o processo (DORAN, 1997).

Para a produção de bebidas alcóolicas como vinhos e cerveja e na produção de etanol, por exemplo, são utilizados biorreatores imobilizados, com isso novos modelos de biorreatores estão sendo estudados em escala laboratorial. Esses modelos de biorreatores são empregados células imobilizadas em um processo em batelada ou contínuas (KUORKOUTAS et al., 2004). Já os biorreatores com agitação mecânica permitem uma mistura eficiente de substâncias, ruptura de bolhas de ar e dispersão de agregados celulares (SCHMIDELL; FACCIOTTI, 2001). Porém, tem resultado em um perfil de bebida menos balanceado ao final do processo (OKABE; NIELSEN; CHARACKLIS, 1992).

Ainda não existem estudos científicos que configure um modelo de biorreatores para fermentação do café e existem poucas configurações de biorreatores para serem operados em condições de fermentação em estado sólido. Devido principalmente as dificuldades encontradas para o controle do pH, temperatura, aeração, transferência de oxigênio e umidade do meio sólido (COUTO; SANROMÁN, 2006). Sendo assim, é necessário que se configure um modelo de biorreator que possa estabelecer o

crescimento de microrganismos e conseqüentemente produção de metabólitos secundários.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, E.; CASTRO, H. A. de. Fungos associados ao café (*Coffea arabica L.*) nas fases pré e pós-colheita em lavouras da região de Lavras. **Summa Phytopatologica**, Jaguariúna, v. 24, p. 4-7, 1998.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ. Programa de qualidade do café. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>> Acesso: 08/03/219
- ANDRADE, H. C. C. et al. Atribuição de sentidos e agregação de valor: insumos para o turismo rural em regiões cafeicultoras. **Revista Brasileira de Ecoturismo**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 333-346, 2015.
- ALVARADO, R. A.; LINNEMANN, A. R. The predictive value of a small consumer panel for coffee-cupper Judgment. **British Food Journal**, v. 112, n. 9, p. 1023-1032, 2010.
- BATISTA, L. R. et al. Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica L.*) processed by dry and wet methods. **Food Control**, v. 20, n. 9, p. 784-790, Sep. 2009.
- AVELINO, J. et al. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, n. 11, p. 1869-1876, May 2005.
- BLANDÓN-CASTAÑO, G., RODRÍGUEZ-VALENCIA, N., DA VILA-ARIAS, M.T. Caracterización microbiológica y físico-química de los subproductos del beneficio del café en proceso de compostaje. **Cenicafé** v. 49, p. 169-185, 1998.
- 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, 13 jun. 2003. Seção 1, p. 22-29.
- BRESSANI, A.P.P. et al. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **Food Science and Technology**, v. 92, n. 1, p.212-219, 2018.
- BRAZIL SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION - BSCA. **O que são cafés especiais?** Disponível em: <<http://bsca.com.br/cafes-especiais.php>>. Acesso em: 11/03/2019.
- BORÉM, F. M. **Cafeicultura empresarial: produtividade e qualidade: pós-colheita do café**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. p 103.
- BHUMIRATANA, N.; ADHIKARI, K.; CHAMBERS, E. Evolution of sensory aroma attributes from coffee beans to brewed coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2185-2192, 2011.



BORÉM, F. M. et al. Quality of natural and washed coffee after drying on ground and with high temperature. **Ciênc. agrotec.** Lavras, v. 32, n. 5, p. 1609- 1615, 2008.

\_\_\_\_\_. **Handbook of coffee post-harvest technology.** Norcross, Georgia: Gin Press, 2014. v. 1.

BYTOF, G. et al. Influence of processing on the generation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in green coffee beans. **European Food Research Technology**, Heidelberg, v. 220, n. 3, p. 245-250, Nov. 2005.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G.F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, p. 131-149, 1999.

CARVALHO, V.D. et al. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário.** v.18, n.5, p.20, 1997.

CHAGAS, S. J. de R.; CARVALHO, V.D.; COSTA. L. Caracterização química e qualitativa de cafés de alguns municípios de três regiões produtoras de Minas Gerais. II. Valores de acidez titulável e teores de açúcares (reduzidos, não reduzidos e totais). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 20, p. 224-231, 1996.

CONAB - Campanha Nacional de Abastecimento. Safra de café em 2018 é recorde e supera 61 milhões de sacas. Disponível em:<<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2626-producao-do-cafe-em-2018-e-recorde-e-supera-61-milhoes-de-sacas>>. Acesso: 30/01/2019.

\_\_\_\_\_. Acompanhamento da safra brasileira – café – quarta estimativa. Brasília, 2015.

Disponível em:  
[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/conab\\_safra2018\\_n4.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/conab_safra2018_n4.pdf)

Acesso em: 13/03/ 2019.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. Á. Application of solid-state fermentation to food industry—A review. **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 3, p. 291-302, 2006.

CUPOLILLO, F. et al. Climatologia da Bacia do Rio Doce e sua relação com a topografia local. **Geografias artigos científico**, Belo Horizonte, v. 4, n. 01, p. 45-60, julho-dezembro, 2008.

De BRUYNE, K. et al. *Leuconostoc holzappelii* sp. nov., isolated from Ethiopian coffee fermentation and assessment of sequence analysis of housekeeping genes for delineation of *Leuconostoc* species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 2952–2959, Dec. 2007.

DELLA-LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R. M.; CARNEIRO, J. D. S. Análise sensorial de alimentos. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores.** Viçosa, MG: UFV, 2006. 225 p.

DORAN, P. M. Bioprocess engineering principles. London: Ed Academic Press Ltda, 439 p., 1997.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet postharvesting methods. **Food Chemistry**, London, v. 118, n. 3, p. 851-855, 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**, v. 61, p. 183–195, 2014b.

\_\_\_\_\_. Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. **Food Microbiology**, v. 44, p. 87–95, 2014a.

\_\_\_\_\_. Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 210, p. 102-112, 2015.

FARAH, A. et al. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 5, p. 1105-1113, Feb. 2005.

FIGUEIREDO, L. P. et al. Sensory analysis and chemical composition of ‘bourbon’ coffees cultivated in different environments, **Coffee Science**, v. 13, n. 1, p. 122 - 131, jan./mar. 2018

FERIA-MORALES, A. M. Examining the case of green coffee to illustrate the limitations of grading systems/expert tasters in sensory evaluation for quality control. **Food Quality and Preference**, v. 13, p. 355-367, 2002.

HUTKINS, R. W. **Microbiology and technology of fermented foods**. Oxford: Blackwell, p 473, 2006.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO standards**. Disponível em: <<http://www.iso.org>>. Acesso em: 08/03/2019.

KLEINWÄCHTER, M.; SELMAR, D. Influence of drying on the content of sugars in wet processed green Arabica coffees. **Food Chemistry**, London, v. 119, p. 500-504, June 2010.

KOURKOUTAS, Y. et al. Immobilizations technologies and supports materials suitable in alcohol beverages production: review. **Food Microbiology**. V. 21, p. 377-397, 2004.

LAWLESS, H. T., HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. 2 ed. New York: Springer, 2010.

LEHOTAY, S.; HAJŠLOVA, J. Application of gás chromatography in food analysis. **Trend in Analytical Chemistry**, London, v. 21, n. 9/10, p.686-697, Oct. 2002

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor**. California: 4. ed., Long Beach: Specialty Coffee Association of America, p. 66, 2011.

MARTINEZ, S. J. et al. Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. **Food Research International**, v. 102, p. 333–340, 2017.

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**, v. 21, p. 549–556, 2004.

MASOUD, W.; JESPERSEN, L. Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 110, n. 3, p. 291-296, 2006.

MATIELLO, J. B., **Matas de Minas – Cafeicultura de montanhas, competitiva e socialmente correta**. Revista Cafeicultura – A Revista do Cafeicultor, ano 2, n. 7, ago. 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evolution techniques**. London: CRC, 1999. 390.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado da Agricultura. Mapas Geopolíticos de Minas Gerais-IGA/CETEC. Disponível em: <<http://www.geominas.mg.gov.br>> Acesso em: 13/03/2019.

MOREIRA, J. R. Críticas ambientalistas à Revolução Verde. **Estudos Sociedade e Agricultura**, Rio de Janeiro, v.15, p. 39-52, out. 2000.

NETO, E. U. **Café do Cerrado – Fronteira da Qualidade**. Revista Cafeicultura – A Revista do Cafeicultor, Três Pontas-MG, p. 11-13, ano 1, n. 3, set. 2002.

OKABE, S., NIELSEN, P.H., CHARACKLIS, W.G., Factors affecting microbial sulfate reduction by *Desulfovibrio desulfuricans* in continuous culture: limiting nutrients and sulfide concentration. **Biotechnol. Bioeng.** v. 40, p. 725-734, 1992.

PEREIRA, S. P. et al. Separação em clusters de propriedades rurais, em relação às boas práticas agrícolas no cultivo do cafeeiro. **Coffee Science**, v. 9, p. 216-225, 2014.

PIMENTA, C. J. **Qualidade do café**. Lavras: UFLA, 2013. p.297

PONCIANO, J. N.; SOUZA, M. P.; NEY, G. M. Ajustamentos na cadeia agroindustrial do café brasileiro após a desregulamentação. **Revista ID e AS**, v. 3, n. 2, p. 256-287, 2009.

PUERTA-QUINTERO, G. I. P. Influencia del proceso de beneficio en la calidad del café. **Cenicafé**, Caldas, v. 50, n. 1, p. 78-88, jan./mar. 1999.

RIBEIRO, D. E. et al. Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of Arabica coffee. **African Journal of Agricultural Research**, Ebene, v. 11, n. 27, p. 2412-2422, 2016.

\_\_\_\_\_. Controlled fermentation of semi-dry coffee (*Coffea arabica*) using starter cultures: A sensory perspective. **LWT Food Science and Technology**, v. 82, p. 32–38, 2017b.

\_\_\_\_\_. Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. **Food Research International**, v. 68, p. 705–716, 2018.

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

ROUSSOS, S. et al. Biotechnological management of coffee pulp-isolation, screening, characterization, selection of caffeine-degrading fungi and natural microflora present in coffee pulp and husk. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 42, n. 5, p. 756–762, 1995.

SCAA, PROTOCOLO PARA ANALISE SENSORIAL DE CAFÉ. **Metodologia SCAA** - Disponível em: [http://coffeetraveler.net/wp-content/files/901-SCAA\\_CuppingProtocols\\_TSC\\_DocV\\_RevDec08\\_Portuguese.pdf](http://coffeetraveler.net/wp-content/files/901-SCAA_CuppingProtocols_TSC_DocV_RevDec08_Portuguese.pdf) Acesso 21 de maio de 2019.

SAKIYAMA, C. C. et al. Characterization of pectin lyase produced by an endophytic strain isolated from coffee cherries. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 117-121, 2001.

SAES, A. M. Do Vinho ao Café: aspectos sobre a política de diferenciação. **Informações Econômicas**, v. 36, n. 2, p. 7–24, 2006.

SCHMIDT, C. A. P.; MIGLIORANZA, E. A análise sensorial e o café: uma revisão. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**, Medianeira, v. 1, n. 2, p. 16-24, jul. 2011.

SCHMIDELL, W.; FACCIOTTI, M.C.R. Biorreatores e processos fermentativos. In: Schmidell, W.; Lima, U.A.; Aquarone, E.; Borzani, W. (Coord.). **Biociencia: Engenharia bioquímica**. Vol. 2. São Paulo: Edgard Blücher. pp 179-192, 2001.

SELMAR, D. et al. Germination of coffee seeds and its significance for coffee quality. **Plant Biology**, New York, v. 8, n. 02, p. 260-264, Feb. 2006.

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.

\_\_\_\_\_. Microbial diversity during maturation and natural processing of *coffea cherries* of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 251-260, 2000.

\_\_\_\_\_. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. **Food Microbiology**, v. 25, n. 8, p. 951–957, 2008.

\_\_\_\_\_. Microbial activity during coffee fermentation. In: Schwan RF, Fleet GH (ed) **Cocoa and coffee fermentation**. CRC Press, Boca Raton (in press), 2015.

SILVA, R. F. da; PEREIRA, R. G. F. A. Qualidade do café cereja descascado produzido na região Sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrtecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1367-1375, nov./dez., 2004.

SMITH, A. W. Agricultural practices. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.). **Coffee chemistry**. Amsterdam: Elsevier Applied Science, p. 18-23, 1985.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA- SCAA. Disponível em: <<http://scaa.org/?page=resources&d=scaa-flavor-wheel>>. Acesso em: 13/03/2019.

SOUSA, M. da V. **Sul de Minas – O reino do café**. Revista Cafeicultura – A Revista do Cafeicultor, Três Pontas-MG, p. 15-16, ano 1, n. 2, jul. 2002.

SUÁREZ-QUIROZ, M. L. et al. Study of ochratoxin A producing strains in coffee processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 5, p. 501-507, May 2004.

THURSTON, Robert W.; MORRIS, Jonathan; STEIMAN, Shawn (Ed.). **Coffee: A comprehensive guide to the bean, the beverage, and the industry**. Rowman & Littlefield Publishers, 2013.

VÁZQUEZ-RAMOS, J. M.; DE LA PAZ SÁNCHEZ, M. The cell cycle and seed germination. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 13, n. 02, p. 113- 130, June 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, Dec. 2010.

VINCENT, J. C. Green coffee processing. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Ed.) **Technology**. New York: Elsevier, 1987. p. 1-33.

WINTGENS, J. N. **Coffee: growing, processing, sustainable production**. Weinheim: Gruyter, 2004. 711 p.

ZHANG, J. Z. et al. Two classes of isocitrate lyase genes are expressed during late embryogeny and postgermination in *Brassica napus* L. **Molecular and General Genetics**, New York, v. 238, n. 1-2, p. 177-184, Apr. 1993.

## SEGUNDA PARTE

**ARTIGO 1 - Uso de culturas iniciadoras na fermentação do café arábica (*Coffea arabica*) em biorreatores**

## RESUMO

A fermentação do café é uma das etapas da pós-colheita que altera a qualidade da bebida final. O café pode ser processado pelo método seco ou cereja, úmido e cereja despulpado (CD). O objetivo desse trabalho foi inocular *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) e *Torulaspota. delbrueckii* (CCMA 0684) em cafés processados pelos métodos cerejas e cerejas despulpado nas regiões do Sul de Minas, Zona da Mata e Cerrado. A viabilidade das leveduras inoculadas foi avaliada por reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR) e os compostos voláteis e não voláteis foram avaliados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) respectivamente. *S. cerevisiae* foi dominante durante fermentações espontâneas (média de 4 log células/g) e inoculadas (média de 7 log células/g) para ambos os processos, cereja natural e cereja despulpado. Enquanto a fermentação com e sem inoculação de *T. delbrueckii* mostrou população semelhante (3,79 log células/g). Glicose e frutose foram consumidas rapidamente durante a fermentação. Os ácidos málico e succínico foram detectados no processo de fermentação do café e quando presentes contribuem na qualidade da bebida, pois intensificam a doçura. Pela análise dos compostos voláteis percebeu-se que cada tratamento se correlacionou com diferentes grupos, o café cereja da localidade 1 inoculado com *S. cerevisiae* correlacionou com furano, pirrole e álcool. No entanto o café cereja da localidade 2 e inoculado com *T. delbrueckii* (CCMA0684) foram correlacionados com pirrole, furano, éster e ácidos. A inoculação com *T. delbrueckii* apresentou as maiores pontuações tanto no café cereja quanto no despulpado em relação ao controle. Na região 2, por exemplo, o café cereja aumentou em 5,75 pontos com o uso da inoculação comparado com o tratamento sem cultura iniciadora. A inoculação com *S. cerevisiae* influenciou positivamente os cafés processados pelo método cereja em comparação ao tratamento controle. A região 3, cafés cerejas sem inoculação receberam pontuação de 79,75 pontos, enquanto que os cerejas inoculados a nota da avaliação sensorial foi de 83. Em todas as regiões avaliadas, os cafés inoculados com culturas iniciadoras mostraram aumento da nota na análise sensorial e na descrição dos sabores.

**Palavras-chave:** Café fermentado. Microrganismos. qPCR. Levedura.

## ABSTRACT

Coffee fermentation is one of the postharvest stages that alters the quality of the final beverage. Coffee can be processed by the dry or cherry, moist and cherry-pulped (CD) method. The objective of this work was to inoculate *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) and *Torulaspota. delbrueckii* (CCMA 0684) in coffees processed by cherries and pulped cherries in the Sul de Minas Gerais, Zona da Mata and Cerrado regions. The viability of the inoculated yeasts was evaluated by real time polymerase chain reaction (qPCR) and volatile and nonvolatile compounds were evaluated by mass spectrometer-coupled gas chromatography (GC-MS) and high performance liquid chromatography (HPLC) respectively. *S. cerevisiae* was dominant during spontaneous (average 4 log cells / g) and inoculated (average 7 log cells / g) fermentations for both natural cherry and pulped cherry processes. While fermentation with and without *T. delbrueckii* inoculation showed a similar population (3.79 log cells / g). Glucose and fructose were consumed rapidly during fermentation. Malic and succinic acids were detected in the coffee fermentation process and when present contribute to the quality of the beverage, as they intensify the sweetness. By the analysis of volatile compounds it was noticed that each treatment correlated with different groups, the cherry coffee from locality 1 inoculated with *S. cerevisiae* correlated with furan, pyrrole and alcohol. However, cherry coffee from locality 2 and inoculated with *T. delbrueckii* (CCMA0684) were correlated with pyrrole, furan, ester and acids. Inoculation with *T. delbrueckii* showed the highest scores in both cherry and pulped coffee compared to control. In region 2, for example, cherry coffee increased by 5.75 points with inoculation use compared to treatment without starter culture. Inoculation with *S. cerevisiae* positively influenced the coffee processed by the cherry method compared to the control treatment. In region 3, coffee cherries without inoculation received a score of 79.75 points, while in inoculated cherries the score of the sensory evaluation was 83. In all the evaluated regions, the coffee inoculated with starter cultures showed a higher score in the sensory analysis in the description of the flavors.

**Keywords:** Fermented coffee. Microorganisms. qPCR. Yeast.



## 1. INTRODUÇÃO

O café é um importante produto comercial que possui forte influência econômica em diversos países como Brasil, Vietnã, Colômbia, Indonésia, Etiópia, Índia, entre outros (CONAB, 2019). A atividade cafeeira no Brasil no ano de 2018 representou um ganho comercial equivalente a 24,9 milhões de reais, com produção de 61,7 milhões de sacas. Com essa produção o país recebeu destaque como maior produtor de café do mundo (OIC, 2018; CONAB, 2019).

O consumo mundial de café evolui constantemente e nos últimos anos o aumento da demanda de café especial foi observado e um dos motivos é o perfil sensorial exótico da bebida. Além disso, a origem do café, a variedade da planta e o tipo de processamento são um dos parâmetros avaliados pelo consumidor (BORRELLA; MATAIX; CARRASCO-GALLEGO, 2015).

Após a colheita, os grãos de café são fermentados, secos e armazenados. O processo de fermentação pode ser feito por três métodos: seco ou natural, despulpado e úmido (BRANDO; BRANDO, 2015). i) No processamento seco ou natural, o fruto é colhido e transferido inteiro para secagem ao sol contendo exocarpo, mesocarpo, pergaminho e grão; ii) no processamento úmido, o exocarpo e o mesocarpo são removidos de forma mecânica, a polpa remanescente (mucilagem) é removida com o auxílio dos microrganismos em tanques de fermentação contendo água com posterior secagem ao sol e iii) o café despulpado consiste na remoção parcial da mucilagem, sendo fermentado a seco e em seguida é transferido para secagem ao sol. Durante todos os processos, os grãos são secos até atingir um teor de umidade de 11-12% (BRANDO; BRANDO, 2015).

A fermentação do café tem um impacto positivo na qualidade da bebida final, pois contribui para o desenvolvimento de precursores de aroma como proteínas, carboidratos e ácidos clorogênicos em grãos de café verdes, observados após a fermentação (EVANGELISTA et al., 2014a; RIBEIRO et al., 2017a; RIBEIRO et al., 2017b; LEE et al., 2015; MARTINEZ et al., 2017, BRESSANI et al., 2018). As melhores notas sensoriais foram obtidas a partir de trabalhos anteriores através da inoculação de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) e *Torulaspora delbrueckii* (CCMA 0684), ambas isoladas da fermentação natural do café (SILVA et

al., 2000; VILELA et al., 2010; EVANGELISTA et al., 2014b; EVANGELISTA et al., 2015).

Estudos mostraram que o uso dessas leveduras fornece notas de amêndoa com sabor de chocolate ao leite e uma bebida não adstringente (RIBEIRO et al., 2017). Além disso, essas cepas apresentam alta atividade pectinolítica, excelente capacidade fermentativa e liberação de produtos metabólicos desejáveis no produto final (EVANGELISTA et al., 2014a, EVANGELISTA et al., 2014b).

O processo fermentativo é influenciado pelas condições geográficas, variedade de café, processamento, microbiota e reator (SILVA et al., 2000; SILVA et al., 2008; EVANGELISTA et al., 2014a; EVANGELISTA et al., 2014b; EVANGELISTA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2017). Cada região produtora é capaz de produzir bebidas com características diversas dependendo do local ao qual está inserida Evangelista et al. (2015). Carmo de Minas e Três Pontas pertencem à região do Sul de Minas. A primeira localidade possui altitude média de 1.161 metros, temperatura média anual de 19,1°C, índice pluviométrico de 1.569 milímetros e está posicionado nas coordenadas geográficas 22°06' de latitude sul e 45° 08' de longitude oeste (BRASIL, 1992). Três Pontas possui altitude média de 885 metros, latitude de 21° 22' sul e longitude de 45° 30' oeste, temperatura média anual de 20,0 °C e pluviosidade de 1.440 milímetros (Brasil, 1992). A região do sul de Minas é de grande importância econômica para o país em produtividade de café, visto que em 2018 foi responsável pela produção de 17,28 milhões de sacas (CONAB, 2019).

Lajinha pertence à região da Zona da Mata e possui altitude em torno de 470 metros, temperatura média de 22 °C, latitude de 20° 09' sul e longitude de 41° 37' oeste (BRASIL, 1992). Essa região foi responsável por produzir 7,24 milhões de sacas em 2018 (CONAB, 2019). Outra localidade produtora de café é Araxá, possui altitude média de 997 metros, latitude 19° 35' sul, longitude 46° 56' oeste, temperatura média 20 °C (BRASIL, 1992); e Monte Carmelo, altitude média de 963,35 metros, latitude 18° 38' sul, longitude 47° 27' oeste e temperatura média de 21,2 °C (BRASIL, 1992), ambas localizadas na região do Cerrado. No ano de 2018 essa região produziu 6,37 milhões de sacas (CONAB, 2019).

Influenciados pelas distintas características geográfica, climática, microbiológica e diferentes tipos de processamentos, pesquisadores estimam com frequência os efeitos

causados na bebida do café. Evangelista et al. (2015) avaliaram a microbiota presente em cafés de dois biomas em Minas Gerais e foi observado grupos distintos de microrganismos em cada local.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento dinâmico de *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) e *Torulasporea delbrueckii* (CCMA 0684) inoculadas em cafés de diferentes origens geográficas e em diferentes métodos de processamento: natural e despulpado.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Experimentos de fermentação e amostragem

Os experimentos de fermentação foram conduzidos no Sul de Minas Gerais, Cerrado e Zona da Mata (Minas Gerais, Brasil), entre maio e agosto de 2018. Os frutos de café da variedade Bourbon Amarelo, Catucaí amarelo e Rubi foram utilizados nesse estudo (Tabela 1).

Tabela 1 - Características das regiões produtoras de café e variedades cultivadas.

	Sul de Minas		Cerrado	Zona da Mata	
	Carmo de Minas	Três Pontas	Araxá	Monte Carmelo	Lajinha
Variedade de café	Bourbon amarelo	Catucaí amarelo	Bourbon amarelo	Rubi	Catucaí amarelo
Localização	1	2	3	4	5
Latitude	22° 6'S	21° 22' S	19° 35' S	18° 38' S	20° 09' S
Longitude	45° 8'W	45° 30' W	46° 56' W	47° 27' W	41° 37' W
Altitude	1161 m	885 m	997 m	963,35 m	470 m
Temperatura anual média	19,1 °C	20,0 °C	20,2 °C	21,2 °C	22,0 °C
Pluviosidade	1.568 mm	1.440 mm	1.626 mm	1.444 mm	1.194 mm

Fonte: (Brasil, 1992).

O café foi colhido na fase madura (cerejas) e processado pelo método natural e despulpado. A fermentação foi realizada em biorreatores de polietileno (Picillo, modelo

cilíndrico) contendo aproximadamente 40 L de café. As fermentações foram realizadas com e sem inoculação (controle) de *S. cerevisiae* (CCMA 0543) e *T. delbrueckii* (CCMA 0684) no início do processo. As cepas foram crescidas separadamente em caldo YEPG (10 g/L de extrato de levedura (Merck); 20 g/L de peptídeo (Himedia); 20 g/L de dextrose (Merck) a 30 °C e 150 rpm e replicadas a cada 24 h. As células foram recuperadas por centrifugação (7000 rpm, 10 min) e ressuspensas em 1 L de água peptonada (1 g/L de Peptona (Himedia)). A solução foi espalhada sobre os grãos de café até atingir concentração de  $10^7$  células/g de café. Amostras de aproximadamente 100 g cada foram retiradas a 18 °, 22 ° e 30 °C do processo. Temperaturas que corresponderam ao início, meio e fim da fermentação, respectivamente. As amostras foram colocadas em sacos plásticos estéreis, transferidas para o laboratório e armazenadas a -20 ° C para posteriores análises químicas e microbiológicas. Todas as fermentações foram realizadas em triplicata.

## 2.2 Extração de DNA e reação de q PCR

Para extração de DNA, 3g de café foram pesados e diluídos com 5 mL de água Milli-Q, agitados no vórtex por 5 min, centrifugado (9000 rpm, 10 min, 4 ° C), separando o sobrenadante do precipitado. O DNA total foi extraído a partir de 50 mg de precipitado como descrito anteriormente por Cocolin; Bisson; Mills, (2000). O DNA foi armazenado a -20 ° C para posterior análise.

Primers específicos para *S. cerevisiae* (SC-5fw5'-AGGAGTGCGGTTCTTTCTAAAG-3' e SC-3bw5'-TGAAATGCGAGATTCCCCCA-3') e *T. delbrueckii* (L25'-CAAAGTCATCCAAGCCAGC e R25T-TACT ') foram utilizados neste estudo (DÍAZ et al., 2013). A PCR em tempo real foi realizada usando o sistema Rotor-Gene Q (Qiagen, Hombrechtikon, ZH, Suíça). Cada reação continha 10 µl do rotor-gene QuantiNova Sybr Green (Qiagen, Stockach Konstanz, Alemanha), 2 µl (12,5 µM) de cada primer (Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil) e 1 µl de DNA extraído do grãos de café totalizando volume de 20 µl. A mistura foi aquecida a 95 ° C por 2 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 95 ° C por 5 segundos e extensão a 60 ° C por 10 segundos. O ciclo de temperatura foi aumentada em 1 °C a cada 5 segundos, de 50 °C a 99 °C para obter a curva de melting. Todas as análises foram realizadas em

triplicata. Para curvas padrão, todas as espécies de leveduras foram cultivadas em ágar YEPG a 28 °C por 24 h. As células foram contadas utilizando câmara de Neubauer. O DNA foi extraído usando a metodologia descrita por Cocolin; Bisson; Mills, (2000) e diluições seriadas (1:10) de  $10^8$  a  $10^3$  células/ml foram realizadas (BATISTA et al., 2016). Cada ponto na curva de calibração foi mensurado em triplicata.

### **2.3 Análise de carboidratos, álcoois e ácidos orgânicos**

Carboidratos, álcoois e ácidos orgânicos dos grãos de café foram extraídos (RIBEIRO et al., 2017a) e analisados usando um sistema de cromatografia líquida (Shimadzu, modelo LC-10Ai, Shimadzu Corp., Japão) equipado com UV-Vis (SPD 10Ai) e sistema de índice de refração (RID-10Ai). A coluna de exclusão iônica Shim-pack SCR-101H (7,9 mm × 30 cm) foi usada para detectar ácidos a 50 °C com uma taxa de fluxo de 0,6 ml / min de ácido perclórico (100 mM). A detecção de carboidratos e álcool foi realizada usando a coluna Shim-pack SCR-101C a 80 °C com fluxo de 0,6 ml/min de água Milli-Q deionizada. Os ácidos foram detectados via absorvância UV (210 nm), enquanto carboidratos e álcoois foram detectados via RID. A identificação dos compostos foi baseada no tempo de retenção dos padrões injetados usando as mesmas condições. A concentração das amostras foi determinada usando uma calibração externa. As curvas de calibração foram obtidas através da injeção de diferentes concentrações dos padrões e as áreas obtidas foram usadas para traçar uma curva linear cuja equação foi usada para estimar a concentração dos compostos nas amostras (EVANGELISTA et al., 2014b). As amostras foram analisadas em triplicata.

### **2.4 Cromatografia gasosa (GC/ MS) para análise de compostos voláteis**

Os compostos voláteis foram extraídos a partir de 2g de café torrado utilizando a técnica de micro extração em fase sólida em *headspace* e fibra de 50 µm/30 µm de divinilbenzeno /carboxen/polidimetilsiloxano (Supelco Co., Bellefonte, PA, EUA). As amostras foram aquecidas por 10 min. a 60 °C. A fibra foi balanceada durante 15 min a 60 °C e então expostas por 30 min.

Os compostos voláteis foram analisados no cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa (GCMS-QP 2010, Shimadzu) equipado com coluna CarboWax, 30m x 0,25mm × 0,25 µm). As condições de análise utilizada estão de acordo com Visintin et al. (2017). O detector de massa utilizado foi quadrupolo, com sistema de ionização de 70 eV a 260 °C. Os compostos foram identificados por comparação dos seus espectros de massa através do uso da biblioteca NIST 11. O índice de retenção (IR) foi calculado utilizando uma série de alcanos C<sub>10</sub>-C<sub>40</sub>.

## 2.5 Análise sensorial

As amostras de café foram preparadas de acordo com a Specialty Coffee Association of America (SCAA, 2013). As amostras de café (100g) foram torradas em uma torrefadora Probat Leogap (modelo TP2) com capacidade de 150g e, em seguida, moídas em um moedor elétrico (Mahlkönig modelo Guatemala). A análise sensorial foi realizada por seis provadores especializados em café com o Certificado Q-Grader *Coffee*, realizada em cinco xícaras de cada amostra. Solicitou-se aos Q-Graders que selecionassem atributos sensoriais que considerassem adequados para descrever o café (ANEXO A). Além disso, uma escala não estruturada foi usada (CAMPO et al., 2010) para avaliar doçura, acidez, corpo e finalização. As análises foram realizadas em triplicata.

## 2.6 Análise estatística

O processo de fermentação foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), cada bloco representou uma região de Minas Gerais. Os tratamentos foram avaliados em arranjo fatorial 2 x 3 x 5, com dois processamentos (cerejas e cerejas despolpadas), três tratamentos (*S. cerevisiae* CCMA0543, *T. delbruckkii* CCMA 0684 e controle) e cinco regiões (Carmo de Minas, Três Pontas, Araxá, Monte Carmelo e Lajinha), foi realizado em triplicata. A análise de componentes principais (PCA) foi realizada usando o software XLSTAT 2019 2.1 para avaliar os compostos voláteis e análise sensorial.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fermentação espontânea e inoculada do café cerejas e das cerejas despolpadas foi avaliada neste estudo. O comportamento dinâmico de *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA0543) e *Torulaspora delbruekii* (CCMA0684) durante a fermentação do café nos dois ensaios (controle e inoculado) foi monitorado por qPCR (FIGURAS 1 e 2).

Figura 1- Dinâmica da população da *Torulaspora delbrueckii* durante a fermentação espontânea (linha pontilhada) e inoculada (linha contínua) dos cafês cereja (●) e cereja despolpado (▲) em Carmo de Minas (a), Três Pontas (b), Araxá (c), Monte Carmelo (d) e Lajinha (e), mensurados por qPCR. O desvio padrão da média variou de 0,007 a 0,02 log UFC/g.

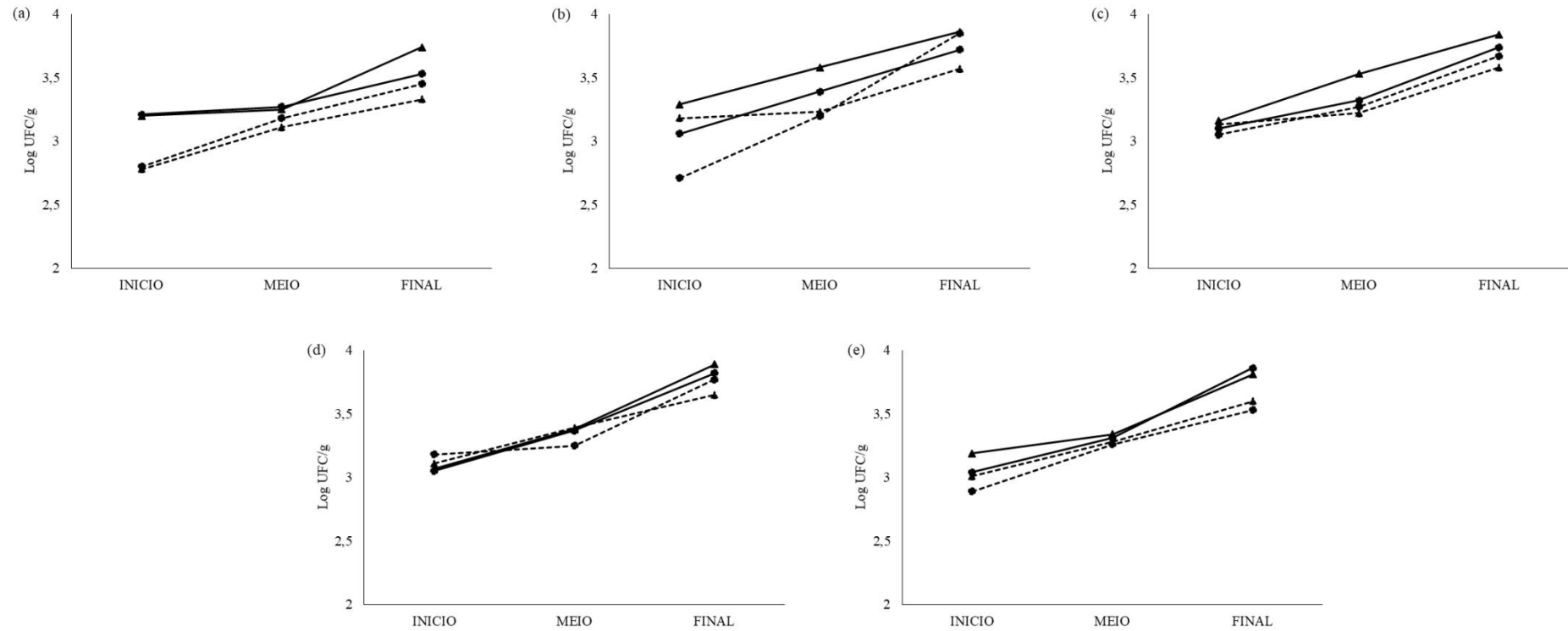
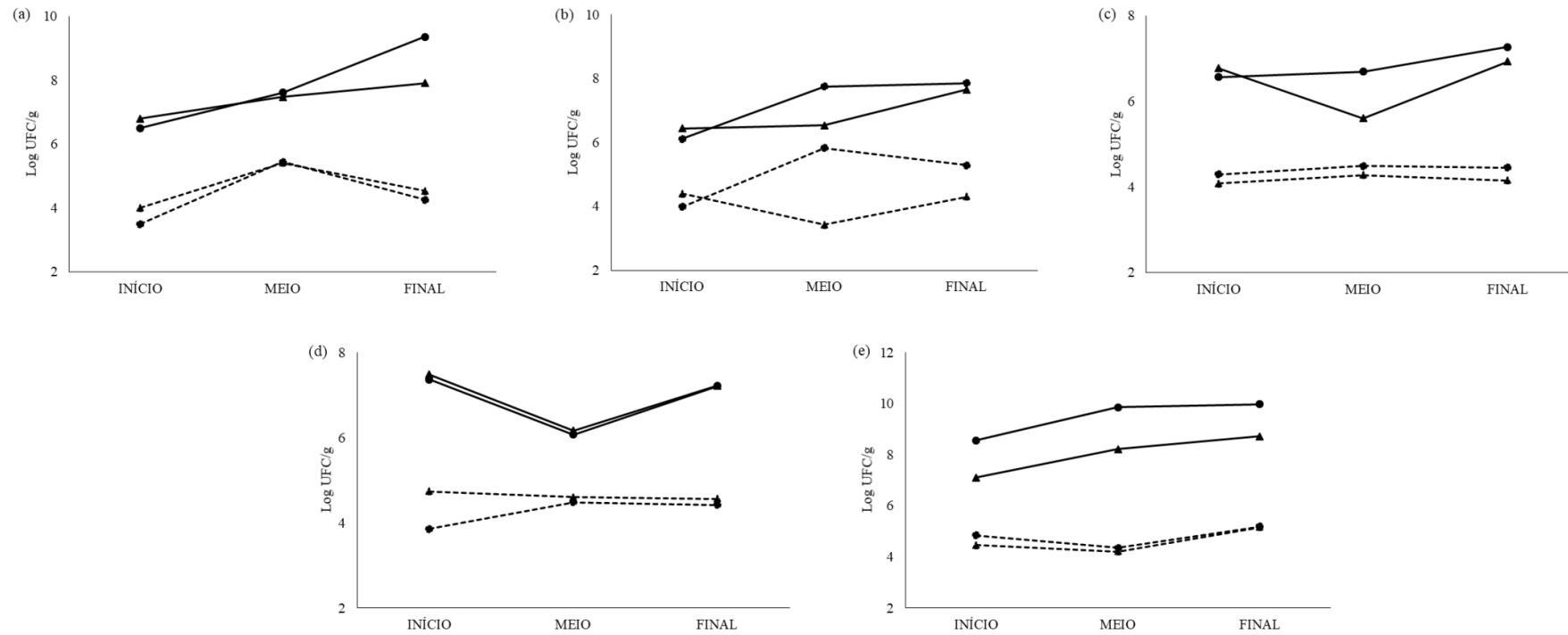




Figura 2- Dinâmica da população da *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação espontânea (linha pontilhada) e inoculada (linha contínua) dos cafês cereja (●) e cereja despulpado (▲) em Carmo de Minas (a), Três Pontas (b), Araxá (c), Monte Carmelo (d) e Lajinha (e), mensurados por qPCR. O desvio padrão da média variou de 0,007 a 0,04 log UFC/g.



*S. cerevisiae* e *T. delbrueckii* são encontrados naturalmente no café processado pelos métodos despulpado, seco e úmido (EVANGELISTA et al., 2014b; EVANGELISTA et al., 2015; VILELA et al., 2010). A fermentação inoculada apresentou população maior que a fermentação controle. Ambos os tratamentos inoculados com *S. cerevisiae* (CCMA 0543) atingiram população de 7,0 log UFC/g no final da fermentação, exceto para a região 1 (café cerejas) e 5 (cerejas despulpadas) que apresentaram população de 9,0 log UFC / g no final da fermentação.

No controle, *S. cerevisiae* apresentou maior população que *T. delbrueckii*, tanto o café cereja quanto no cereja despulpado. A contagem de *S. cerevisiae* chegou até 5,69 log UFC/g e de *T. delbrueckii* 3,85 log UFC/g. *S. cerevisiae* tem capacidade de se adaptar rapidamente a diferentes condições ambientais (ATTFIELD, 1997; SIDERIUS; MAGER, 1997). A capacidade em fermentar o café está associada á presença de enzimas tais como, pectina-liase e poligalacturonase, que contribuem com aumento da concentração de fontes de carbono (SILVA et al., 2008, SILVA et al., 2013, SILVA, 2014; RIBEIRO et al., 2018).

A fermentação com e sem inoculação de *Torulasporea delbrueckii* mostrou população semelhante (3,79 log células/g) ao final do processo de fermentação em todas as regiões. A baixa população de *T. delbrueckii* pode ser devida a condições anaeróbias estritas e atividade de baixa invertase (HANL, 2005; VISSER, 1990). No entanto, o processo de fermentação com *T. delbrueckii* está associado a metabólitos aromáticos, como ésteres frutados, lactonas, tióis, terpenos e quantidades reduzidas de compostos aromáticos desagradáveis (como álcoois superiores) (BENITO, 2018).

Compostos não voláteis e voláteis específicos nos grãos de café influenciam na qualidade da bebida. Os compostos não voláteis incluem carboidratos, ácidos orgânicos e álcoois (FIGURAS 3, 4 e 5).







Glicose e frutose foram os principais açúcares detectados no café. As leveduras possuem maior afinidade pela glicose do que pela frutose, contribuindo para seu rápido consumo durante a fermentação (D'AMORE; RUSSELL; STEWART, 1988). O etanol foi produzido em concentrações mais altas no final do processo fermentativo dos cafés cerejas despulpadas da região 1. Os cafés cerejas despulpadas inoculadas com *T. delbrueckii* produziram maior quantidade de glicerol no meio da fermentação na região 1 ( $\cong 75\%$ ) e no final da fermentação, aproximadamente, 10% foram detectados.

Em relação aos ácidos orgânicos, o ácido acético foi produzido durante todo o processo de fermentação em todos os tratamentos. A presença de pequenas quantidades desse ácido no final da fermentação contribui para a acidez da bebida (EVANGELISTA et al., 2014). O ácido cítrico, quando presente no final da fermentação, pode contribuir para o sabor ácido, frutado e frutos silvestres (VANDENBERGHE et al., 2018). O ácido cítrico foi detectado durante todo o processo de fermentação, exceto na região 2 para o café cereja inoculado com *S. cerevisiae*.

Ácido málico e succínico foram detectados no início da fermentação; no entanto, apenas o ácido succínico foi observado até ao final do processo em todos os tratamentos. O ácido succínico está presente naturalmente no café (EVANGELISTA et al., 2014b) e contribui com a acidez final da bebida (BUFFO; CARDELLIFREIRE, 2004). A translocação desse ácido ocorre da polpa para o grão com o auxílio da atividade microbiana podendo provocar mudanças no perfil sensorial da bebida (SILVA et al., 2013). Lingue (2011) afirma que a acidez contribui com o realce da doçura da bebida, sendo desejável a sua presença (EVANGELISTA et al., 2014a). A redução na concentração de ácido málico pode ter ocorrido através da conversão de ácido málico em ácido láctico por bactérias presentes naturalmente no café (AVALLONE et al., 2002; EVANGELISTA et al., 2015). A presença de ácido láctico altera a textura da bebida, tornando-a um pouco mais cremosa (LINGLE, 2011). Em todos os tratamentos foram detectados a presença de ácido láctico, sendo a maior concentração encontrada para os cafés cereja despulpado.

O perfil de compostos voláteis nos grãos de café depende da variabilidade genética, variações climáticas, origem geográfica e processamento pré e pós-colheita (SILVA et al., 2005; BERTRAND et al., 2012). Os principais grupos voláteis detectados foram amida, ácidos, álcool, aldeído, amina, éster, furano, hidrocarboneto,

cetona, lactona, fenol, pirano, pirazina, piridina, pirrolo, tiofeno e outros. Os compostos pertencentes aos grupos voláteis estão descritos nos ANEXOS (B à G).

Os compostos voláteis encontrados nos cafés cereja e cereja despolpado em cada região foram avaliados por análise de componentes principais (PCA). Os componentes representaram 54,04%; 57,12% e 61,69% da variação dos dados referentes ao controle e tratamento inoculado com *S. cerevisiae* (CCMA0543) e *T. delbrückii* (CCMA0684), respectivamente (FIGURA 6, 7 e 8).

A componente positiva do PC1 foi representada pelos cafés cereja de todas as regiões e o café cereja despolpado pertencente à localidade 1 dos tratamentos controle (FIGURA 6), correlacionaram com pirazina, ácidos, éster, álcool, tiofeno, aldeído, cetona, piridina, furanos, amida, pirano e outros. Os cafés cereja das regiões 2, 3, 4 e 5 e os cafés cereja despolpado inoculados com *S. cerevisiae* (CCMA0543) da região 4 foram correlacionados com pirano, pirazinas, amida, piridina, cetona, éster, hidrocarboneto, tiofeno, fenol, aldeído, amina, álcool, ácidos e lactona. Os cafés cereja e cereja despolpado pertencentes às regiões 3, 4 e 5 inoculadas com *T. delbrückii* (CCMA0684) foram correlacionados com pirano, piridina, fenol, pirazina, tiofeno, hidrocarboneto, álcool, amida, aldeído, amina e cetona.

A componente negativa do PC1 foi correlacionada aos cafés cereja despolpado oriundos das localidades 2, 3, 4 e 5 para o tratamento controle que foi caracterizado pela presença dos compostos amina, fenol, hidrocarboneto, pirrolo e lactona. O café cereja da localidade 1 e cereja descascados das localidades 1, 2, 4 e 5 para os tratamentos inoculados com *S. cerevisiae* (CCMA0543) foram correlacionado com furano, pirrolo e álcool (FIGURA 7) e os café cereja da localidade 2 e cereja despolpado das localidades 1 e 2 inoculados com *T. delbrückii* (CCMA0684) foram correlacionados com pirrolo, furanos, éster e ácidos (FIGURA 8). Os grupos voláteis detectados nos grãos de café torrados são influenciados pela atividade microbiana que contribui com a mudança no aroma e sabor do café da bebida final (BERTRAND et al., 2006; LEE et al., 2017).

Figura 6- Análise dos componentes principais dos grupos de compostos voláteis encontrados nos cafés cereja e cereja despolpado sem inoculação (controle) (a).

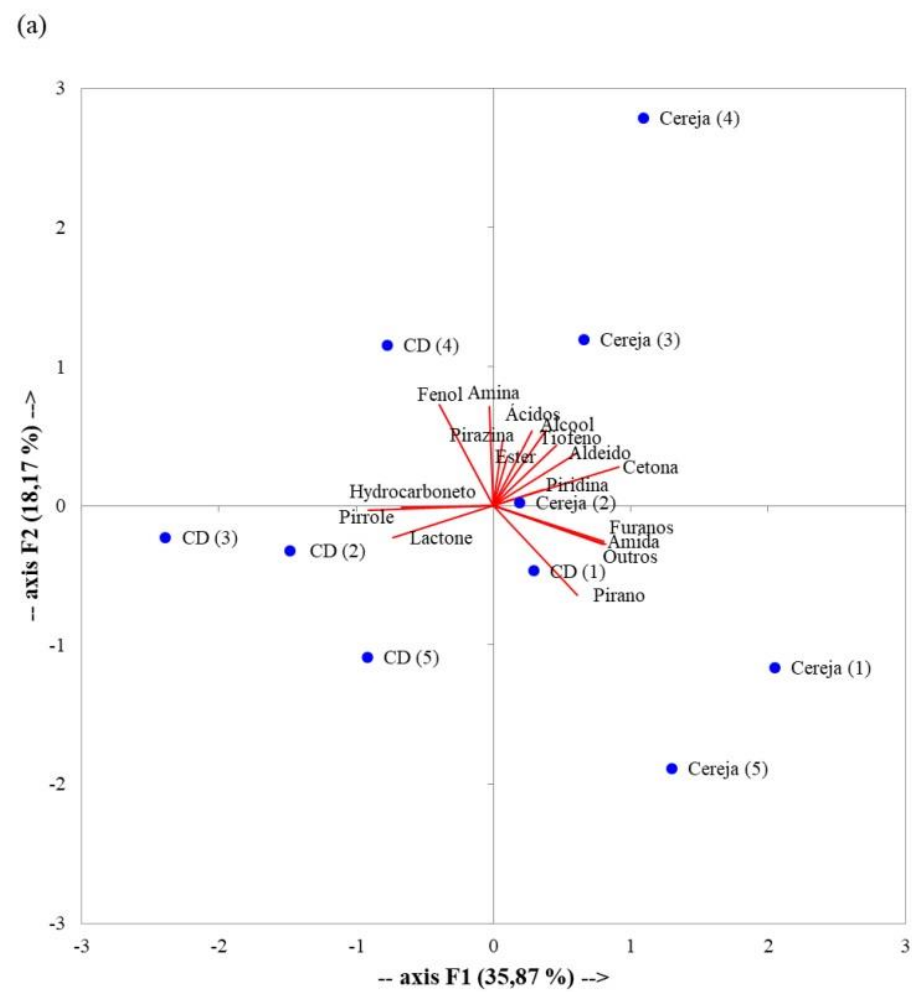




Figura 7- Análise dos componentes principais dos grupos de compostos voláteis encontrados nos cafés cereja e cereja despulpado e inoculado com *Saccharomyces cerevisiae* CCMA0543 (b).

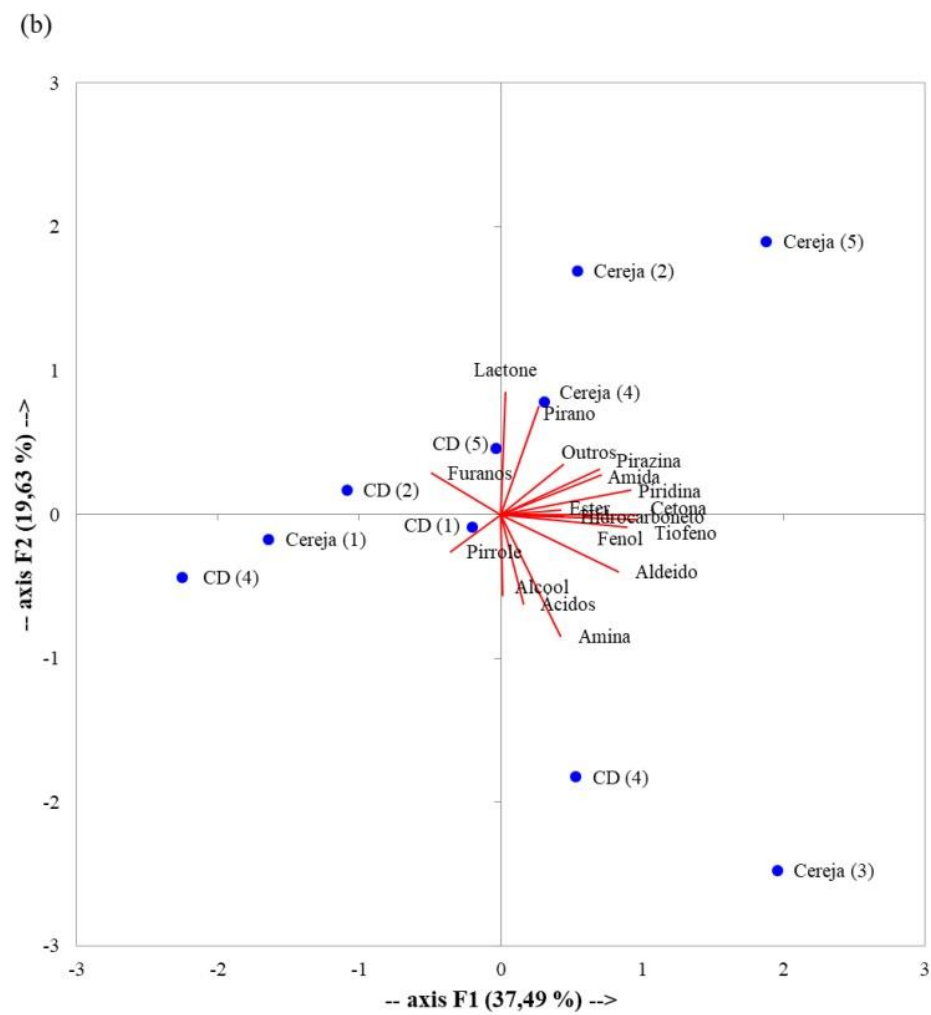
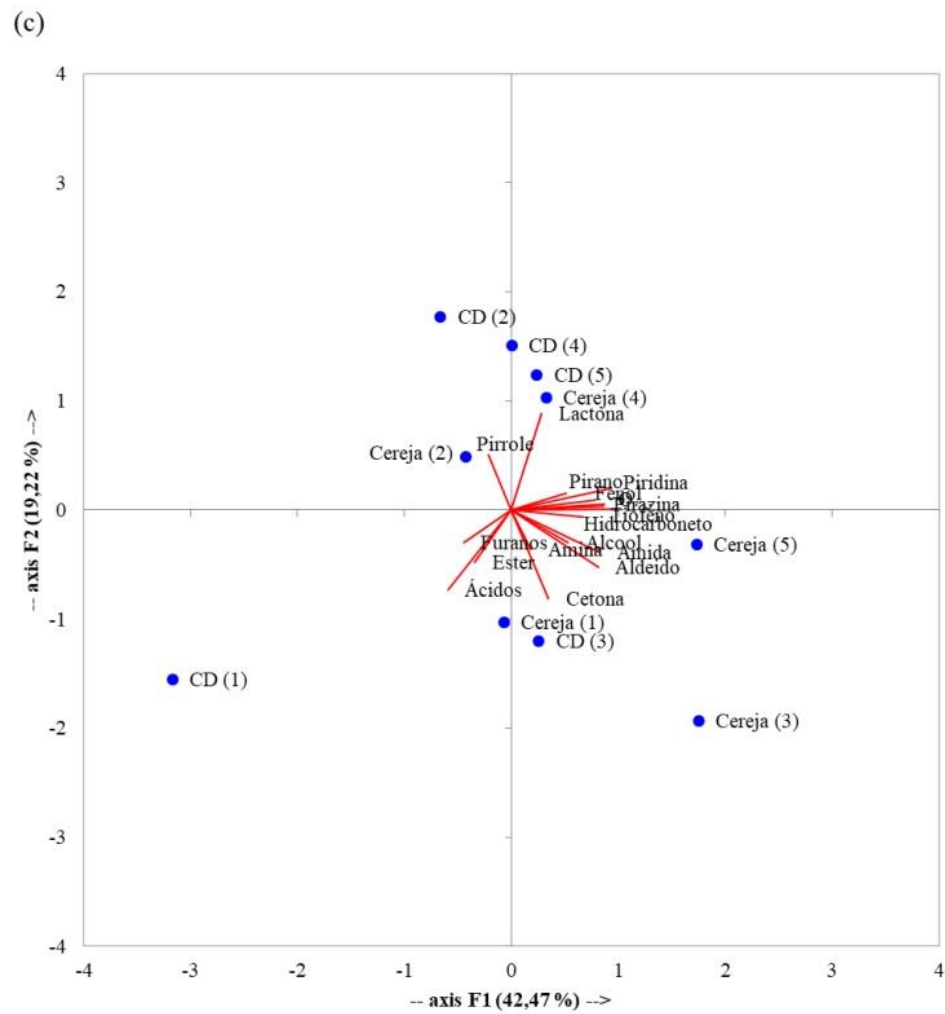


Figura 8- Análise dos componentes principais dos grupos de compostos voláteis encontrados nos cafés cereja e cereja despulpado com *Torulasporea delbrueckii* CCMA0684 (c).



4-metoxi-benzenamina; 2,6-dimetil-3-octanol acetato; 1,2-epóxi-3-propil acetato são compostos voláteis detectado na região 1 e é capaz de dar à bebida odor doce e agradável, aroma floral, herbáceo e frutado, além de um forte aroma de café (LEE et al., 1992; ARCTANDER, 1967). Ácido fórmico; 1- (2-hidroxi-5-metilfenil) - etanona; pantolactona, detectados na região 2, podem contribuir com sabor amargo, aroma doce, floral e herbáceo (ARCTANDER, 1967). O acetato de metila é responsável pelo odor adocicado e frutado presentes na região 5. O 3,4-dimetil- e 2,5-di-hidrofurano da região 3 provavelmente são compostos associados a casca do café pois não foram detectados nos cafés cereja despulpado.

O composto voláteis 1- (3-metilpirazina) etanona da região 2 pode contribuir com o sabor de avelã (SUNARHARUM et al., 2014). 3-metil-fenol; 2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-ona da região 3 podem contribuir com sabor nozes, aroma doce e torrado (BRESSANELLO et al., 2017). Di-hidro-3-metileno-2,5-furadione foi detectado na localidade 4. Esses voláteis citados foram detectados nos dois processamentos e provavelmente estão associados aos grãos de café.

Entre os voláteis detectados, o 2-furanmetanol foi o composto mais abundante detectado em todos os tratamentos. Além de contribuir com aroma queimado, doce, caramelo, café, amargo e adstringente, possui atividade antioxidante (OSADA; SHIBAMOTO, 2005).

Nos cafés cereja natural, ambas as inoculações, foram detectados o álcool benzílico; 2 - [(metilditio) metil] furano; 1-hidroxi-2-propanona. A inoculação com *T. dekbueckii* produziu 2-fenil-2-butenal; 5-amino-1-naftol; 3,4-dimetil-2-pentanona; 2-propanona, 1-hidroxi e *S. cerevisiae* produziram 2-Butanona.

Ácido dodecanóico; ácido hexadecanóico; álcool benzílico e 2-butanona foram detectados nos cafés cereja despulpado inoculado com as duas leveduras. Os compostos voláteis produzidos por *T. dekbueckii* foram 2-pentenal, 2-metil- e *S. cerevisiae* foi o ácido fórmico; 1,3-butadieno, 2-metil-; 3,4-dimetil-2-pentanona e pantolactona.

O álcool benzílico, 2-fenil-2-butenal, 2-pentenal e 2-metil-aldeídos foi detectado nos tratamentos inoculados. Esses compostos podem contribuir com aroma doce, chocolate, frutado e floral, além de contribuírem com atividade antioxidante do produto final (YANAGIMOTO et al., 2003).

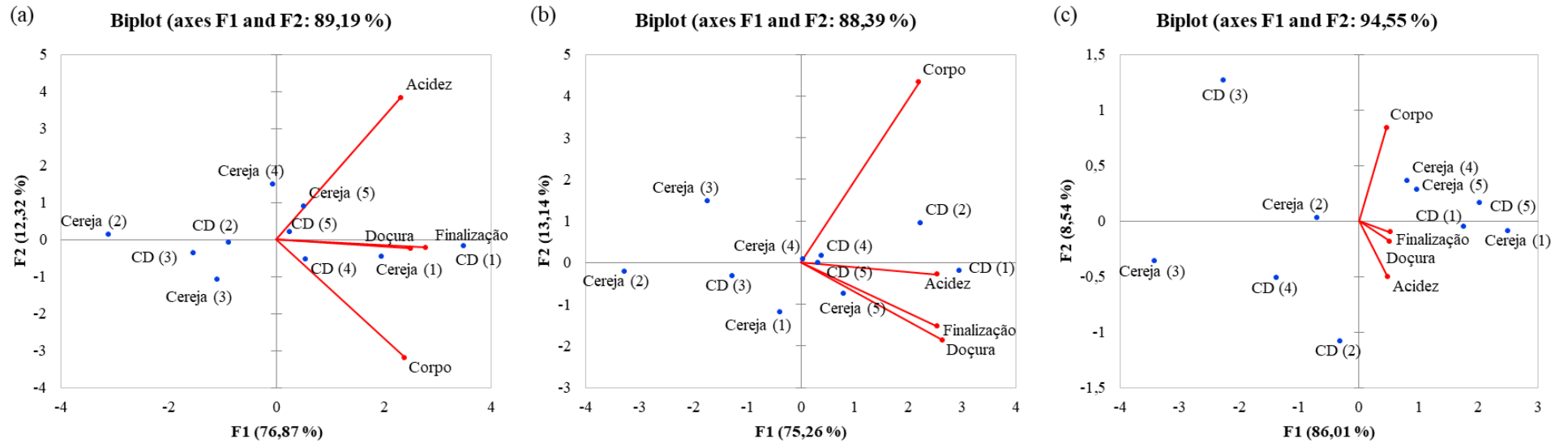
Além das análises químicas, as variedades Bourbon amarelo, Catucaí amarelo e Rubi, cultivadas em 1.161m e 997m; 885m e 470m; e 997m, respectivamente, foram avaliados sensorialmente em relação ao corpo, acidez, doçura e finalização. O preparo da bebida foi realizado de acordo com a metodologia proposta pelo SCA e os dados obtidos foram avaliados por análise de componentes principais. Os componentes PC1 e PC2 explicaram 89,19%, 88,39 e 94,55% dos dados para café cereja e cereja despulpado dos ensaios controle e inoculados com *S. cerevisiae* CCMA0543 e *T. delbrueckii* CCMA0684 (FIGURA 9).

A inoculação de leveduras proporcionou aumento na pontuação do café quando comparado ao controle. Das regiões avaliadas, o tratamento controle do café cereja das regiões 2 e 3 foram os únicos classificados como *commodity* (79,25 e 79,75 pontos respectivamente). Entretanto, a inoculação com *S. cerevisiae* e *T. delbrueckii* contribuíram para aumentar a nota em 3,75 e 5,75 pontos para a localidade 2, respectivamente, e 3,25 pontos na região 3 para ambas as inoculações.

As maiores variações no escore foram obtidas para cafés cereja da região 1 e 2 e cereja despulpado na região 5, inoculadas com *T. delbrueckii* (4; 5,75 e 3,5, respectivamente). A inoculação com *S. cerevisiae* influenciou principalmente os cafés cereja despulpado pertencentes à região 3 com aumento de 2 pontos em relação ao controle (82 pontos).

Os cafés cereja inoculados pertencentes às regiões 3 apresentaram a mesma diferença no escore (3,25) em relação ao controle. A inoculação melhorou a qualidade sensorial dos cafés produzidos nessa região, diferindo em relação aos atributos sensoriais da bebida. Os cafés cereja inoculados com *S. cerevisiae* foram correlacionados com o corpo e os cafés inoculados com *T. delbrueckii* foram correlacionados com finalização, doçura e acidez.

Figura 9- Análise de componentes principais dos atributos sensoriais avaliados nos cafés cereja e cereja despulpado sem inoculação (controle) (a) e inoculado com *Saccharomyces cerevisiae* CCMA0543 (b) e *Torulaspora delbrueckii* CCMA0684 (c).



A inoculação com *T. delbrueckii* exibiu maior impacto na qualidade sensorial dos cafés em relação ao controle para a maioria das localidades avaliadas, exceto para o café cereja despolpado das localidades 3 e 4 e café cereja da localidade 5. As regiões avaliadas apresentam como observado altitudes distintas, assim como o tipo de cultivar utilizada durante o experimento e o modo de processamento do fruto. Nota-se com essa pesquisa que independente do local, da cultivar e o método de processamento empregado, a *T. delbrueckii* e *S. cerevisiae* influenciaram positivamente na nota final da bebida. Trabalhos como de Evangelista et al. (2014a), Evangelista et al. (2014b), Ribeiro et al. (2017a), Ribeiro et al. (2017b), Martinez et al. (2017), Bressani et al. (2018) e Martins et al. (2019) elucidaram a eficácia do uso de culturas iniciadoras e sua influencia nos atributos sensoriais da bebida.

#### **4. CONCLUSÕES**

As diferenças geográficas de cada região interferiram no processo de fermentação inoculado com *S. cerevisiae* e *T. delbrueckii*. A inoculação de leveduras alterou a concentração de compostos voláteis e não voláteis presentes nos grãos de café e, conseqüentemente, o perfil sensorial da bebida. Ambas as leveduras proporcionaram aumento na pontuação da bebida, no entanto, a inoculação com *T. delbrueckii* foi a que apresentou a maiores pontuações quando comparada ao controle. Porém, o café cereja proveniente da localidade 5 e o cereja descascado das localidades 3 e 4 foram positivamente influenciados pela inoculação com *S. cerevisiae*.

## REFERÊNCIAS

- ATTFIELD, P. V. Stress tolerance: the key to effective strains of industrial baker's yeast. **Nature biotechnology** v.15, n.1, p. 1351–1357, 1997.
- SIDERIUS, M.; MAGER, W. General stress response: in search of a common denominator. **Yeast stress responses**, v. 1, 1997.
- ANTUNES, D.A.; CUPOLILLO, F. Análise do balanço hídrico climatológico decenal do parque estadual do rio doce perd e entorno: climatologia de 2005-2015 comparada com o ano anômalo 2013-2014. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 14, p. 342-356, 2018.
- ARCTANDER, S. **Perfume and flavor chemicals**. Stephen Arctander, 1967.
- ARRUDA, N. P. et al. Correlation between precursors and volatiles in Brazilian arabica coffee processed by the dry, semi-wet and wet routes and discrimination through principal components analysis. **Química Nova**, v. 35, p. 2044-2051, 2012.
- AVALLONE, S. et al. Involvement of pectinolytic microorganisms in coffee fermentation. **Int. J. Food Sci. Technol.** v. 37, p. 191-198, 2002.
- BATISTA, L. R. et al. Coffee: types and production. In B. Caballero, P. Finglas, & F. Toldrá (Eds.). **The encyclopedia of Food and Health** (pp. 244). Oxford: Academic Press, 2016.
- BERTRAND, B. et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food Chemistry**, London, v. 135, p. 2575-2583, Dec. 2012.
- \_\_\_\_\_. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. **Tree Physiology**, v. 26, p. 1239-1248, 2006.
- BORRELLA, I.; MATAIX, C.; CARRASCO-GALLEGO, R. Smallholder farmers in the speciality coffee industry: opportunities, constraints and the businesses that are making it possible. **IDS Bulletin**, Brighton, v. 46, n. 3, p. 29-44, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais climatológicas: 1961-1990**. Brasília, DF, p. 84, 1992.
- 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**, 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**, v. 92, n. 1, p.212–219, 2018.

BUFFO, R. A., & CARDELLI-FREIRE, C. **Coffee flavour**: An overview. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 19, n. 2, p. 99–104, 2004.

CAMPO, E.; BALLESTER, J.; LANGLOIS, J.; DACREMONT, C.; VALENTIN, D. Comparison of conventional descriptive analysis and a citation frequency-based. **Food Quality and Preference**, v. 1, p. 44-55, 2010.

CONAB – Campanha Nacional de Abastecimento. Disponível em: [file:///C:/Users/mmmot/Downloads/CafZZAnliseZMensalZZJaneiroZ2019\\_1%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/mmmot/Downloads/CafZZAnliseZMensalZZJaneiroZ2019_1%20(1).pdf). Acesso: 13/09/2019.

\_\_\_\_\_. Disponível em: [file:///C:/Users/mmmot/Downloads/BoletimZCafeZjaneiroZ2019\\_1.pdf](file:///C:/Users/mmmot/Downloads/BoletimZCafeZjaneiroZ2019_1.pdf). Acesso: 13/09/2019.

\_\_\_\_\_. Disponível em: [file:///C:/Users/mmmot/Downloads/BoletimZCafZmaioZ2019\\_1%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/mmmot/Downloads/BoletimZCafZmaioZ2019_1%20(1).pdf). Acesso: 13/09/2019.

COCOLIN, L; BISSON, L. F.; MILLS, D. A. Direct profiling of the yeast dynamics in wine fermentations. **FEMS Microbiology Letters**. v. 1, n. 189, p. 81-87, 2000.

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

\_\_\_\_\_. Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. **Food Microbiology**, v. 44, p. 87–95, 2014a.

\_\_\_\_\_. Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. **International of Journal. Food Microbiology**, v. 210, p. 102-112, 2015.

FOLMER, B. How can Science help to create new value in Coffee? **Food Research International**. v. 63, part C, p. 477- 482, 2014.

GANCEDO, J.M. **Yeast carbon catabolite repression**. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* v. 62, p. 334–361, 1998.

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

\_\_\_\_\_. Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica*: II. Roasted coffee. *LWT - Food Science and Technology*, v. 80, p. 32–42, 2017.

LEE, T. A.; KEMPTHONE, R.; HARDY, J. K. Compositional changes in brewed coffee as a function of brewing time. **Journal Food Sci**, v. 57, p. 1417-19, 1992.

LINGLE, T. R. **The coffee cupper's handbook: systematic guide to the sensory evaluation of coffee's flavor**. California: 4. ed., Long Beach: Specialty Coffee Association of America, p. 66, 2011.



MARTINEZ, S. J. et al. Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. **Food Research International**, v. 102, p. 333–340, 2017.

MARTINS, P. M. M. et al. Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. **Journal Sci Food Agriculture**. v. 99, p. 5638-5645. 2019.

MULDERS, E. J.; KLEIPOOL, R.; NOEVER DE BRAUW, M. C. 2-((Methylthio)methyl furan a characteristic aroma compound of White bread. **Chem. Ind.** (Lindon), p. 613-14, 1976.

OIC – Organização Mundial do café. **Segundo ano de excedentes previsto para 2018/19**. Disponível em: [http://consorcioquesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/publicacoes\\_tecnicas/relatorio\\_oic\\_dezembro\\_2018.pdf](http://consorcioquesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/publicacoes_tecnicas/relatorio_oic_dezembro_2018.pdf). Acesso: 13/09/2019.

OSADA, Y.; SHIBAMOTO, T. Antioxidative activity of volatile extracts from Maillard model systems. **Food Chemistry**. 2006, v. 98, p. 522-528, 2006.

POLTRONIERI, P. & ROSSI, F. Challenges in Specialty Coffee Processing and Quality Assurance. **Challenges**, v. 7, n. 19, p. 2-22, 2016.

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

SCAA, PROTOCOLO PARA ANALISE SENSORIAL DE CAFÉ. - **Metodologia SCAA** - Disponível em: [http://coffeetraveler.net/wp-content/files/901-SCAA\\_CuppingProtocols\\_TSC\\_DocV\\_RevDec08\\_Portuguese.pdf](http://coffeetraveler.net/wp-content/files/901-SCAA_CuppingProtocols_TSC_DocV_RevDec08_Portuguese.pdf) Acesso 21 de maio de 2019.

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.

\_\_\_\_\_. Microbial diversity during maturation and natural processing of *Coffea cherries* of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 251-260, 2000.

\_\_\_\_\_. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. **Food Microbiology**, v. 25, n. 8, p. 951–957, 2008.

\_\_\_\_\_. **Microbial activity during coffee fermentation**, in Cocoa and coffee fermentations, ed. by Schwan, R.F. and Fleet, G.H. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 368–423, 2014.

SILVA, E.A. et al. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, p.229-238, 2005.

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

TOLEDO, P. R. A. B.; PEZZA, L.; PEZZA, H. R. & TOCI, A. T. Relationship between the different aspects related to coffee quality and their volatile compounds. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 00, p, 1–15, 2016.

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, Dec. 2010.

VISINTIN, Simonetta et al. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii* starter cultures on cocoa beans fermentation. **International journal of food microbiology**, v. 257, p. 31-40, 2017.

YANAGIMOTO, K. et al. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 3, p. 592-596, 2004.

WESOLOWSKI-LOUVEL, M.; GOFFRINI, P.; FERRERO, I.; FUKUHARA, H. **Rag-mutations involved in glucose metabolism in yeast: isolation and genetic characterization**. *Yeast*, v. 8, p. 711-719, 1992.



**ANEXO B- Compostos voláteis presentes no café cereja (controle), percepção sensorial das amostras de café e índice de refração linear (ILR) presentes em Carmo de Minas (1), Três Pontas (2) Araxá (3), Monte Carmelo (4) e Lajinha (5).**

Grupo funcional	Compostos	Percepção sensorial	Cereja				
			Controle (ILR)				
			1	2	3	4	5
Amida	Benzenamine, 4-methoxy-	Aroma doce, floral	26,9	-	-	-	-
	Formic acid	Aroma desagradável	-	330,4	-	-	-
Ácidos	Propanoic acid	Ácido	464,3	462,9	989,0	666,5	732,7
	Butanoic acid, 4-hidroxy	---	1022,4	-	2876,0	2370,3	-
	Butanoic acid, 3-methyl-	Sabor frutado (maçã e cereja)	1839,3	2002,7	926,2	1814,1	958,0
	Dodecanoic acid	Odor rançoso	-	-	116,1	-	43,5
	Pentanoic acid, 4-oxo-	Doce, caramelo e ácido	124,9	-	-	514,8	-
	N-Hexadecanoic acid	Odor rançoso e ácido	-	56,0	-	-	51,3
Álcool	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	Floral	43,7	41,9	232,4	653,3	246,3
	2,3-Butanediol	---	-	-	1191,3	808,2	927,7
Aldeído	Pentanal	---	153,4	131,3	342,6	188,2	156,8
Amina	3-Mercapto-3-methylbutanol	---	8,4	13,5	-	145,5	8,2
Ester	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	Aroma de café	948,6	1415,2	1369,7	1297,0	-
	Methyl Acetate	Doce e frutado	-	-	-	-	231,2
Furano	2-Furanone, 2,5-dihydro-3,5-dimethyl	---	121,4	201,8	309,2	265,8	197,7
	furan, 2,5 - dihydro - 3,4 - Dimethyl	---	-	-	65,3	-	-
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	675,2	721,4	226,9	-	695,1
	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	---	598,3	341,7	193,2	400,3	452,6
	2-Furanmethanol, acetate	Odor suave e Floral	1854,8	1706,1	2477,8	1444,0	2286

	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Odor picante e levemente caramelizado	7444,2	9223,0	5798,3	6103,9	6221
	2-Furanmethanol	Odor suave e levemente caramelizado	13336,4	17870,9	25222,6	17099,8	20614
	2-Furanmethanol, 5-methyl-	---	115,7	192,3	116,1	304,4	101,7
	4-Methyl-5H-furan-2-one	Pungente, caramelo e sabor doce	91,9	66,0	54,2	113,7	-
	Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	---	133,7	114,7	151,0	292,3	52,6
	Furan, 3,3'-methylenebis-	---	-	99,9	530,8	-	-
	Benzofuran, 2,3-dihydro-	---	45,6	50,3	47,9	45,5	57,1
	Maltol	Frutado e caramelo	1172,2	1134,7	1703,2	1544,4	1566
	2,5-Furandione, 3 methyl	---	55,1	54,5	97,1	-	69,4
Hidrocarboneto	Tetramethylbenzene	---	80,5	161,8	271,3	280,0	223,8
	3,4-dimethyl-2-pentanone	---	-	320,1	243,3	-	-
	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	Caramelo	810,8	1040,0	971,2	1008,8	834,4
	Furfural acetone	Odor suave, amadeirado e especiarias como canela	123,5	114,4	130,9	197,0	106,0
	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	Sabor nozes, floral e frutado	782,5	967,1	1201,5	1128,9	976,7
Cetona	Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-	---	-	42,9	-	-	-
	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	---	57,6	-	107,2	95,3	83,4
	2-Pyrrolidinone	---	0,0	286,5	865,1	552,3	264,9
	2,3-hexonedione	Acidez média	178,6	150,9	-	215,6	-
	2-hepten-4-one, 5 methyl	---	450,9	217,7	144,0	-	407,4
Lactona	Butyrolactone	Aroma e odor doce	-	2132,7	-	-	1676
	2(5H)-Furanone, 3-methyl-	---	-	101,7	-	-	-
	ethanone,1-(3-methylpyraziny)	---	-	592,9	-	-	-

	2(5H)-Furanone	---	296,5	565,5	310,7	644,4	378,9
	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro-	---	284,5	292,4	-	-	-
	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	---	-	103,6	119,9	120,3	134,1
Fenol	Phenol, 3-methyl-	odor e sabor desagradável	-	-	193,5	-	-
	Phenol, 2-methoxy-	---	-	539,4	586,4	641,1	-
Pirano	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	---	495,9	303,4	56,2	272,0	550,5
	Pyrazine, 2-methyl-6-(1-propenyl)-, (E)-	---	-	-	176,3	-	-
	2-Acetyl-3-methylpyrazine	---	697,3	1049,1	693,4	1175,9	531,7
Pirazina	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	Aroma de pipoca	412,9	690,3	530,2	981,8	559,5
	Pyrazine, 2-methyl-5-(1-propenyl)-, (E)-	---	89,4	123,7	139,8	244,5	118,9
	1,4-Diazine	Odor doce	128,2	179,2	134,9	231,3	109,7
	Pyrazine	Odor doce e floral	430,9	526,8	-	-	-
Piridina	Pyridine	---	97,5	87,1	115,2	113,3	126,0
	2(1H)-Quinalinone, 3 methyl)	---	63,3	44,7	-	-	72,6
	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	---	517,1	794,5	586,6	816,1	432,9
Pirrolo	Pyrrole	Odor torrado	63,0	-	142,4	-	-
	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl-	Aroma de café	0,0	148,2	-	151,8	96,8
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	Sabor suave	431,8	933,5	1200,1	1114,3	35,9
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	Odor pungente	431,8	933,5	1200,1	1114,3	35,9
Tiofene	2-Thiophenecarboxaldehyde	---	-	-	-	-	57,2
	2-Thiophenemethanol	---	107,8	146,1	135,8	218,7	111,5
Outros	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-	odor caramelo e sabor de baunilha	-	-	169,6	-	-
	Furfuryl disulfide	---	95,8	107,7	-	-	-
	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy-	Odor doce	-	-	522,9	609,4	446,8
	Quinoxaline	---	-	-	-	92,6	25,5

Pantolactone	Sabor amargo	-	27,1	-	-	-
2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	675,2	721,4	226,9	-	695,1
Chromone	---	-	-	-	380,1	370,7
Diacetyl Sulphyde	---	-	100,8	-	131,0	-
Furfuryl methyl disulfide	---	-	11,6	-	-	-
Tetradecan acid	Oleoso, quase inodoro	-	-	21,3	-	13,6
Caffeine	---	156,4	55,8	158,3	132,7	178,8

**ANEXO C - Compostos voláteis presentes no café cereja (CCMA0543), percepção sensorial das amostras de café e índice de refração linear (IRL) presentes em Carmo de Minas (1), Três Pontas (2) Araxá (3), Monte Carmelo (4) e Lajinha (5).**

Grupo funcional	Compostos	Percepção sensorial	Cereja				
			CCMA 0543 (IRL)				
			1	2	3	4	5
Ácidos	Formic acid	Aroma desagradável	-	346,6	-	-	-
	Propanoic acid	Ácido	892,4	424,7	1090,8	964,0	924,7
	Butanoic acid, 4-hidroxy	---	1438,1	-	3259,4	-	-
	Butanoic acid, 3-methyl-	Sabor frutado (maçã e cereja)	2102,0	2062,5	2014,0	2151,7	1819
	Dodecanoic acid	Odor rançoso	-	-	-	-	96,9
	Pentanoic acid, 4-oxo-	Doce, caramelo e ácido	25,9	46,0	-	-	-
Álcool	N-Hexadecanoic acid	Odor rançoso e ácido	60,8	79,4	-	-	-
	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	Floral	309,6	32,7	245,3	408,1	333,5
	2,3-Butanediol	---	-	-	1846,5	1201,4	-
	Benzyl alcohol	Aroma doce, chocolate, frutado e floral	-	111,9	221,9	237,5	-

Aldeído	Pentanal	---	51,5	129,1	405,1	125,6	247,4
Amina	3-Mercapto-3-methylbutanol	---	7,8	19,5	297,7	4,5	21,1
Ester	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	Aroma de café	1073,4	1329,5	1617,8	1089,2	1456
	2-Furanone, 2,5-dihydro-3,5-dimethyl	---	209,9	171,1	370,8	275,6	283,7
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	518,3	775,5	337,9	-	760,8
	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	---	577,1	954,7	623,4	569,5	686,2
	2-Furanmethanol, acetate	Odor suave e Floral	2239,5	1213,7	2422,1	3922,0	3358
	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Odor picante e levemente caramelizado	8273,7	9020,5	6426,4	6663,1	7409
	2-Furanmethanol	Odor suave e levemente caramelizado	14654,7	17935,4	4	7	5,0
Furano	2-Furanmethanol, 5-methyl-	---	177,2	202,8	333,9	351,0	303,9
	Furan, 2-[(methylthio)methyl]-	---	97,0	-	-	-	-
	4-Methyl-5H-furan-2-one	Pungente, caramelo e sabor doce	58,0	59,4	137,9	-	130,5
	Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	---	31,1	112,2	404,8	132,1	227,5
	Furan, 3,3'-methylenebis-	---	-	-	721,8	-	-
	Benzofuran, 2,3-dihydro-	---	11,0	35,8	40,6	39,6	64,1
	Maltol	Frutado e caramelo	416,7	951,4	1742,6	1260,3	2056
	2,5-Furandione, 3 methyl	---	-	48,5	81,9	-	-
Hidrocarboneto	Tetramethylbenzene	---	130,0	179,6	330,6	286,0	286,6
	3,4-dimethyl-2-pentanone	---	-	318,6	362,7	-	-
	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	Caramelo	573,9	1040,6	1334,1	976,9	1201
Cetona	Furfural acetone	Odor suave, amadeirado e especiarias como canela	59,1	112,5	250,9	137,4	231,1
	Ethanone, 1-(2-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	Sabor nozes, floral e frutado	394,0	964,0	1274,9	1031,5	1209



	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	---	10,4	41,3	-	42,5	-
	2-Pyrrolidinone	---	64,9	0,0	496,6	329,3	410,9
	2,3-hexanedione	Acidez média	50,2	153,3	-	140,9	275,2
		Pungente, caramelo e sabor					
	2-Propanone, 1-hydroxy-	doce	-	-	-	-	152,8
	2-Butanone	Amanteigado	-	-	136,9	-	-
	2-hepten-4-one, 5 methyl	---	88,9	223,0	91,2	-	346,4
	Butyrolactone	Aroma e odor doce	-	1907,5	-	2608,6	2296
Lactona	2(5H)-Furanone, 3-methyl- ethanone, 1-(3-methylpyraziny)	---	-	103,2	-	-	-
	2(5H)-Furanone	---	-	608,9	-	-	-
	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro-	---	499,8	568,9	418,4	403,5	720,4
	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	---	83,5	304,0	-	-	-
			60,2	105,6	103,8	94,9	154,3
Fenol	Phenol, 3-methyl-	odor e sabor desagradável	16,1	-	182,1	-	-
	Phenol, 2-methoxy-	---	-	531,1	766,1	595,5	726,7
Pirano	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy- 6-methyl-	---	133,5	261,1	42,1	181,9	381,7
	Pyrazine, 2-methyl-6-(1-propenyl)-, (E)-	---	-	-	243,9	202,1	220,0
							1240,
Pirazina	2-Acetyl-3-methylpyrazine	---		1058,8	913,8	1206,3	4
	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	Aroma de pipoca	328,7	697,9	867,1	938,1	873,6
	Pyrazine, 2-methyl-5-(1-propenyl)-, (E)-	---	78,0	129,1	301,0	223,7	255,9
	1,4-Diazine	Odor doce	128,0	180,0	240,4	211,4	239,7
	Pyrazine	Odor doce e floral	228,6	543,5	-	-	-
Piridina	Pyridine	---	-	76,7	115,2	75,7	175,7
	2(1H)-Quinalinone, 3 methyl)	---	-	-	85,5	-	89,7
	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	---	536,3	791,0	1005,4	877,4	829,7

Pirrole	Pyrrole	Odor torrado	-	-	409,4	276,9	-
	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl-	Aroma de café	-	147,6	-	-	251,3
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	Sabor suave	958,4	869,2	1470,7	1208,9	1195
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	Odor pulgente	958,4	869,2	1470,7	1208,9	1195
Tiofene	2-Thiophenemethanol	---	68,4	146,6	277,3	180,5	244,6
Outros	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-	odor caramelo e sabor de baunilha	-	-	198,1	-	-
	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy-	Odor doce	-	-	728,5	537,1	690,2
	Quinoxaline	---	-	-	-	-	89,7
	Pantolactone	Sabor amargo	-	29,7	-	-	-
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	518,3	775,5	337,9	-	760,8
	Chromone	---	-	-	-	-	349,5
	Diacetyl Sulphyde	---	0,0	97,4	-	94,1	-
	Furfuryl methyl disulfide	---	10,2	-	12,1	-	-
Caffeine	---	-	46,5	107,4	92,8	233,3	

**ANEXO D- Compostos voláteis presentes no café cereja (CCMA0684), percepção sensorial das amostras de café e índice de refração linear (ILR) presentes em Carmo de Minas (1), Três Pontas (2) Araxá (3), Monte Carmelo (4) e Lajinha (5).**

Grupo funcional	Compostos	Percepção sensorial	Cereja				
			CCMA 0684 (IRL)				
			1	2	3	4	5
Ácidos	Formic acid	Aroma desagradável	-	159,3	-	-	-
	Propanoic acid	Ácido	832,6	450,4	1066,7	1110,0	1021,7
	Butanoic acid, 4-hidroxy	---	1484,7	-	1072,5	-	-

	Butanoic acid, 3-methyl-	Sabor frutado (maçã e cereja)	2129,4	2018,5	2026,9	2499,2	1836,4
	Dodecanoic acid	Odor rançoso	-	-	33,4	-	27,0
	Pentanoic acid, 4-oxo-	Doce, caramelo e ácido	47,8	-	-	-	-
	N-Hexadecanoic acid	Odor rançoso e ácido	-	30,8	-	-	28,9
Álcool	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-						
	dimethyl-	Floral	217,9	58,3	242,8	452,3	358,9
	2,3-Butanediol	---	-	-	2001,8	1208,1	-
	Benzyl alcohol	Aroma doce, chocolate, frutado e floral	-	148,3	280,3	268,8	-
Aldeído	2-Phenyl-2-butenal	Odor doce, sabor doce e chocolate	86,9	-	-	-	-
	Pentanal	---	109,8	97,6	438,7	133,9	295,3
Amina	3-Mercapto-3-methylbutanol	---	7,8	18,4	56,9	6,2	20,4
Ester	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	Aroma de café	1125,6	1352,3	1508,4	-	1405,2
Furano	2-Furanone, 2,5-dihydro-3,5-						
	dimethyl	---	234,1	187,8	333,5	314,0	269,6
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-						
	3(2H)-furanone	---	627,8	521,6	401,0	-	813,7
	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	---	596,3	806,7	566,2	602,8	654,3
	2-Furanmethanol, acetate	Odor suave e Floral	2908,5	3036,8	2307,9	2456,9	3582,7
	2-Furancarboxaldehyde, 5-						
	methyl-	Odor picante e levemente caramelizado	8994,5	7422,9	6597,2	7050,7	7105,9
	2-Furanmethanol	Odor suave e levemente caramelizado	14099,8	16796,6	19719,8	21880,	0
2-Furanmethanol, 5-methyl-	---	201,0	205,6	351,1	400,4	330,4	
Furan, 2-							
[(methylthio)methyl]-	---	141,6	-	-	182,9	-	
4-Methyl-5H-furan-2-one	Pungente, caramelo e sabor doce	77,6	48,0	122,7	80,6	152,5	
Furan, 2,2'-							
[oxybis(methylene)]bis-	---	129,5	86,7	287,2	119,0	248,9	

	Furan, 3,3'-methylenebis-	---	-	292,9	700,8	-	-
	Benzofuran, 2,3-dihydro-	---	29,4	35,8	64,1	32,6	71,0
	Maltol	Frutado e caramelo	944,5	897,1	1922,2	1088,9	2213,5
	2,5-Furandione, 3 methyl	---	46,2	41,0	133,6	-	161,4
Hidrocarboneto	Tetramethylbenzene	---	185,3	191,4	350,7	-	293,7
	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	Caramelo	803,8	800,3	1401,6	1011,4	1355,0
		Odor suave, amadeirado e especiarias como canela	142,8	84,0	284,4	146,6	273,4
Cetona	Furfural acetone	Sabor nozes, floral e frutado	723,9	779,1	1312,9	1040,6	1344,8
	Ethanone, 1-(2-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	---	44,0	27,4	123,7	40,4	131,8
	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	---	151,6	250,2	999,9	259,2	596,6
	2-Pyrrolidinone	Acidez média	140,0	102,5	-	130,5	331,9
	2,3-hexonedione	Pungente, caramelo e sabor doce	-	75,3	-	-	-
	2-Propanone, 1-hydroxy-	---	302,9	137,1	153,1	142,3	368,7
	2-hepten-4-one, 5 methyl						
	Butyrolactone	Aroma e odor doce	-	2117,1	-	2910,6	2439,3
	2(5H)-Furanone, 3-methyl-	---	-	86,4	-	173,2	-
Lactona	2(5H)-Furanone	---	332,4	294,8	451,7	499,4	768,6
	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro-	---	226,6	-	-	-	-
	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	---	-	79,5	170,0	-	210,5
Fenol	Phenol, 3-methyl-	Odor e sabor desagradável	-	-	253,5	-	-
	Phenol, 2-methoxy-	---	-	459,9	757,4	626,7	741,7
Pirano	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-	---	339,4	147,8	104,9	208,6	430,0

	3,5-dihydroxy-6-methyl-						
	Pyrazine, 2-methyl-6-(1-propenyl)-, (E)-	---	152,4	-	214,1	214,6	210,7
	2-Acetyl-3-methylpyrazine	---	896,9	960,5	1333,4	1257,0	1276,1
Pirazina	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	Aroma de pipoca	489,2	652,3	911,6	929,5	949,2
	Pyrazine, 2-methyl-5-(1-propenyl)-, (E)-	---	154,8	113,5	313,8	222,5	271,6
	1,4-Diazine	Odor doce	164,7	163,3	259,3	224,0	257,8
	Pyrazine	Odor doce e floral	429,1	423,6	-	-	-
	Pyridine	---	69,2	61,3	131,5	53,1	174,5
Piridina	2(1H)-Quinalinone, 3 methyl)	---	-	-	113,5	-	107,7
	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	---	639,4	751,1	977,5	967,8	843,0
	Pyrrole	Odor torrado	57,9	-	367,5	347,3	-
	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl-	Aroma de café	-	186,6	-	-	258,6
Pirrolo	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	Sabor suave	1055,2	967,5	1442,7	1304,0	1213,6
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	Odor pulgente	1055,2	967,5	1442,7	1304,0	1213,6
Tiofeno	2-Thiophenemethanol	---	128,5	122,5	299,9	195,2	287,0
	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-	odor caramelo e sabor de baunilha	-	-	191,2	-	-
	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy-	Odor doce	-	-	790,9	539,2	775,9
Outros	Quinoxaline	---	-	-	-	-	120,6
	Pantolactone	Sabor amargo	-	19,0	-	-	-
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	627,8	521,6	401,0	-	813,7

Diacetyl Sulphyde	---	-	-	-	96,4	214,7
Furfuryl methyl disulfide	---	11,7	10,3	-	19,4	-
Caffeine	---	75,7	-	150,4	88,7	210,6

**ANEXO E - Compostos voláteis presentes no café cereja despulpado (controle), percepção sensorial das amostras de café e índice de refração linear (ILR) presentes em Carmo de Minas (1), Três Pontas (2) Araxá (3), Monte Carmelo (4) e Lajinha (5).**

Compostos	Percepção sensorial	Cereja Despulpado					
		Controle (IRL)					
		1	2	3	4	5	
Ácidos	Propanoic acid	Ácido	580,4	1045,5	1009,7	1069,5	935,5
	Butanoic acid, 4-hidroxy	---	1161,4	-	2779,6	-	-
	Butanoic acid, 3-methyl-	Sabor frutado (maçã e cereja)	2123,6	2207,2	2175,0	2379,6	1990,4
	Dodecanoic acid	Odor rançoso	-	-	-	-	23,6
	Pentanoic acid, 4-oxo-	Doce, caramelo e ácido	49,6	-	-	-	-
Álcool	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	Floral	223,6	168,3	229,9	337,6	213,5
	2,3-Butanediol	---	-	-	-	1068,7	-
Aldeído	Pentanal	---	106,0	82,5	158,5	223,6	153,0
Amina	3-Mercapto-3-methylbutanol	---	9,9	16,9	33,4	215,5	36,9
Ester	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	Aroma de café	1198,9	1373,6	1128,9	1456,8	1451,5
	Methyl Acetate	Doce e frutado	437,4	-	-	-	-
Furano	2-Furanone, 2,5-dihydro-3,5-dimethyl	---	189,6	269,5	253,2	333,7	250,6
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	528,5	617,5	611,9	-	926,7
	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	---	577,8	532,6	642,7	585,5	875,0

	2-Furanmethanol, acetate	Odor suave e Floral	-	3793,6	2210,3	4739,7	3358,9
	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Odor picante e levemente caramelizado	8205,8	9588,2	6778,0	7151,7	10153,3
	2-Furanmethanol	Odor suave e levemente caramelizado	12867,4	18844,6	18567,4	1	20319,9
	2-Furanmethanol, 5-methyl-	---	182,1	287,8	300,5	348,0	315,0
	Furan, 2-[(methylthio)methyl]-	---	115,9	-	162,5	-	-
	4-Methyl-5H-furan-2-one	Pungente, caramelo e sabor doce	114,0	131,9	-	106,3	169,8
	Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	---	109,5	92,5	138,8	168,1	154,1
	Benzofuran, 2,3-dihydro-	---	26,4	27,0	48,8	37,6	-
	Maltol	Frutado e caramelo	977,9	922,0	1356,7	1665,5	1601,6
	2,5-Furandione, 3 methyl	---	42,2	40,2	60,5	-	-
Hidrocarboneto	Tetramethylbenzene	---	162,1	249,0	269,9	287,2	293,1
	1,3-Pentadiene	---	-	-	-	-	231,7
	1,4 - Pentadiene	---	-	-	915,8	-	-
	3,4-dimethyl-2-pentanone	---	-	328,4	-	-	391,6
	2,4-Pentanedione, 3-methyl-	---	259,7	-	-	-	-
	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	Caramelo	710,9	886,0	-	1213,3	1180,7
	Furfural acetone	Odor suave, amadeirado e especiarias como canela	116,6	120,2	151,9	175,4	163,3
Cetona	Ethanone, 1-(2-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	Sabor nozes, floral e frutado	629,0	760,0	983,7	1219,2	1045,8
	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	---	40,4	34,0	49,5	51,9	-
	2-Pyrrolidinone	---	-	196,6	726,4	421,3	145,2
	2,3-hexonedione	Acidez média	134,9	108,9	139,5	164,3	183,2
	2-hepten-4-one, 5 methyl	---	277,8	154,6	182,1	-	26,8

	2(3H)-Furanone, dihydro-3-methyl Butyrolactone	---	-	-	6778,0	-	-
		Aroma e odor doce	-	2184,0	-	3189,5	2164,8
Lactona	2(5H)-Furanone, 3-methyl- ethanone,1-(3-methylpyraziny)	---	-	173,8	-	204,7	-
	2(5H)-Furanone	---	304,3	407,3	472,4	-	483,4
	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro- 2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	---	198,1	208,1	0,0	-	-
		---	101,8	79,0	98,1	116,7	128,4
Fenol	Phenol, 3-methyl- Phenol, 2-methoxy-	odor e sabor desagradável	-	-	128,8	-	-
		---	-	495,8	581,9	660,1	631,5
Pirano	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5- dihydroxy-6-methyl-	---	286,7	207,9	265,8	166,9	481,2
	Pyrazine, 2-methyl-6-(1-propenyl)-, (E)-	---	92,6	182,6	196,1	184,9	261,1
	2-Acetyl-3-methylpyrazine	---	782,4	1078,3	1181,0	1346,3	1246,9
Pirazina	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	Aroma de pipoca	420,5	608,7	840,5	1000,2	854,2
	Pyrazine, 2-methyl-5-(1-propenyl)-, (E)-	---	123,6	163,1	214,0	238,3	243,7
	1,4-Diazine	Odor doce	150,3	202,2	203,8	237,0	224,1
	Pyrazine	Odor doce e floral	-	409,5	-	-	-
	Pyridine	---	71,1	62,5	88,7	104,3	101,3
Piridina	2(1H)-Quinalinone, 3 methyl	---	27,1	0,0	41,1	-	32,6
	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	---	541,5	811,2	817,4	965,1	871,7
	Pyrrole	Odor torrado	101,7	115,7	283,9	335,2	-
Pirrolo	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl- 1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1- methyl-	Aroma de café	-	-	-	-	266,7
		Sabor suave	843,4	1113,2	1222,1	1356,1	1129,3
	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	Odor pungente	863,4	1123,2	1375,1	1367,1	11345,3



Tiofene	2-Thiophenemethanol	---	107,7	156,3	166,4	205,1	-
	Tetrahydroquinoxaline	---	-	-	135,5	-	-
	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-	odor caramelo e sabor de	-	-	154,8	147,6	-
	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-	baunilha	-	-	154,8	147,6	-
	hydroxy-	Odor doce	355,5	-	520,0	616,0	557,4
Outros	Quinoxaline	---	-	-	-	67,2	-
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-	---	528,5	617,5	611,9	-	926,7
	furanone	---	-	66,7	91,1	99,7	106,2
	Diacetyl Sulphyde	---	12,0	-	13,7	-	-
	Furfuryl methyl disulfide	---	117,9	41,9	113,0	86,4	179,0
	Caffeine	---					

**ANEXO F - Compostos voláteis presentes no café cereja despulpado (CCMA 0543), percepção sensorial das amostras de café e índice de refração linear (ILR) presentes em Carmo de Minas (1), Três Pontas (2) Araxá (3), Monte Carmelo (4) e Lajinha (5).**

Compostos	Percepção sensorial	Cereja Despulpado				
		CCMA 0543				
		1	2	3	4	5
Formic acid	Aroma desagradável	-	548,8	-	-	-
Propanoic acid	Ácido	1041,7	611,7	1207,8	1288,2	1059,9
Butanoic acid, 4-hidroxy	---	1719,5	-	2938,5	-	-
Ácidos	Butanoic acid, 3-methyl-	2487,3	1982,5	2201,0	2407,0	2026,4
	Dodecanoic acid	-	-	13,5	-	34,6
	Pentanoic acid, 4-oxo-	52,7	-	-	-	71,1
	N-Hexadecanoic acid	21,9	-	-	-	-

Álcool	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-2,3-Butanediol	Floral	222,2	42,9	261,5	415,4	218,0
		---	-	-	1148,7	3794,9	861,6
	Benzyl alcohol	Aroma doce, chocolate, frutado e floral	-	-	181,2	-	251,7
	2-Phenyl-2-butenal	Odor doce, sabor doce e chocolate	93,1	-	-	-	-
Aldeído	Pentanal	---	116,4	91,6	209,7	138,3	150,8
Amina	3-Mercapto-3-methylbutanol	---	8,7	33,7	277,6	112,2	44,8
Ester	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	Aroma de café	691,4	1551,3	1431,7	1367,7	1336,5
Furano	2-Furanone, 2,5-dihydro-3,5-dimethyl-2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	---	255,0	203,8	300,5	328,0	285,8
	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	---	635,9	602,5	530,2	-	784,9
	2-Furanmethanol, acetate	Odor suave e Floral	608,6	1005,4	577,4	590,6	778,3
		Odor picante e levemente caramelizado				30948,	
	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Odor suave e levemente caramelizado	1628,1	3873,7	2695,8	3	1118,0
	2-Furanmethanol	Odor suave e levemente caramelizado	9626,6	9760,3	6980,7	7635,5	8261,3
	2-Furanmethanol, 5-methyl-	---	15166,8	18628,3	19203,8	9	21026,5
	Furan, 2-[(methylthio)methyl]-	---	230,4	200,2	302,5	336,8	327,5
	4-Methyl-5H-furan-2-one	---	148,8	-	-	-	-
	Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	Pungente, caramelo e sabor doce	136,0	82,2	98,2	94,9	100,0
Benzofuran, 2,3-dihydro-	---	118,9	85,6	145,5	162,8	129,0	
Maltol	---	29,1	22,6	40,4	32,8	33,4	
2,5-Furandione, 3 methyl	Frutado e caramelo	948,3	867,0	1609,0	1385,1	1500,7	
Hidrocarboneto	Tetramethylbenzene	---	-	37,2	63,6	-	-
	1,3-Pentadiene	---	187,6	165,5	277,9	32,8	306,1
			-	193,1	-	-	-

	1,3-Butadiene, 2-methyl-	---	278,8	-	-	-	-
	3,4-dimethyl-2-pentanone	---	-	292,6	383,6	-	-
	4-methyl-2-pentanone	odor e sabor frutado	369,1	-	-	-	352,0
	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	Caramelo	856,0	893,1	1135,7	1112,9	1126,3
	Furfural acetone	Odor suave, amadeirado e especiarias como canela	138,8	81,0	160,2	142,7	149,7
	Ethanone, 1-(2-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	Sabor nozes, floral e frutado	725,5	741,9	1004,5	1024,5	985,2
	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	---	47,0	29,4	45,0	50,4	49,6
Cetona	2-Pyrrolidinone	---	185,5	202,0	757,1	328,7	81,6
	2,3-hexonedione	Acidez média	131,4	100,6	-	138,6	169,3
	2-Butanone	Amanteigado	-	-	147,6	-	-
	2-hepten-4-one, 5 methyl	---	259,6	93,4	165,1	-	238,4
	Butyrolactone	Aroma e odor doce	-	2444,3	-	3218,2	2472,4
	2(5H)-Furanone, 3-methyl-	---	-	110,4	-	-	184,6
	2(5H)-Furanone	---	393,7	397,2	427,2	512,3	490,5
	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro-	---	237,4	203,7	-	-	-
	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	---	110,6	69,3	108,4	13,4	113,6
Fenol	Phenol, 3-methyl-	Odor e sabor desagradável	102,8	-	133,1	-	-
	Phenol, 2-methoxy-	---	-	448,1	628,2	57,4	599,8
Pirano	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	---	300,1	118,1	190,4	189,8	306,6
	Pyrazine, 2-methyl-6-(1-propenyl)-, (E)-	---	158,9	-	181,6	240,8	237,8
Pirazina	2-Acetyl-3-methylpyrazine	---	966,4	1010,4	1190,4	1446,0	1273,7
	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)-1-ethanone	Aroma de pipoca	484,3	623,1	780,6	1522,1	867,7
	Pyrazine, 2-methyl-5-(1-propenyl)-,	---	137,3	88,0	215,2	239,8	229,1

	(E)- 1,4-Diazine	Odor doce	181,8	163,6	209,1	238,9	224,3
	Pyrazine	Odor doce e floral	431,6	389,7	-	-	-
Piridina	Pyridine	---	59,5	-	104,3	12,0	90,7
	2(1H)-Quinalinone, 3 methyl)	---	27,4	-	42,6	-	25,5
	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	---	679,5	790,1	818,8	843,0	917,6
Pirrolo	Pyrrole	Odor torrado	69,9	-	267,8	301,7	-
	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl- 1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1- methyl-	Aroma de café	-	184,9	-	-	320,0
Tiofene	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	Sabor suave	1034,0	1048,0	1356,7	128,9	1295,3
	2-Thiophenemethanol	Odor pulgente	1034,0	1048,0	1356,7	128,9	1295,3
Outros	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl- Furfuryl disulfide	---	131,2	124,2	171,7	171,5	191,7
	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2- hydroxy-	odor caramelo e sabor de baunilha	-	-	164,9	-	-
	Pantolactone	---	119,2	-	-	-	-
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)- furanone	Odor doce	-	-	567,9	58,8	520,0
	Diacetyl Sulphyde	Sabor amargo	0,0	22,2	-	-	-
	Caffeine	---	635,9	602,5	530,2	-	784,9
		---	-	62,6	-	119,3	95,7
	---	---	100,8	-	83,5	12,0	132,4

**ANEXO G - Compostos voláteis presentes no café cereja despulpado (CCMA 0684), percepção sensorial das amostras de café e índice de refração linear (ILR) presentes em Carmo de Minas (1), Três Pontas (2) Araxá (3), Monte Carmelo (4) e Lajinha (5).**

Compostos	Percepção sensorial	Cereja Despulpado CCMA 0684 (ILR)					
		1	2	3	4	5	
Ácido	Propanoic acid	Ácido	0,05	1045,4	1305,3	902,8	871,8
	Butanoic acid, 4-hidroxy	---	-	-	2980,5	-	-
	Butanoic acid, 3-methyl-	Sabor frutado (maçã e cereja)	-	2207,2	2428,8	2043,7	1878,3
	Dodecanoic acid	Odor rançoso	-	-	-	15,741	268
	Pentanoic acid, 4-oxo-	Doce, caramelo e ácido	-	-	-	-	66,7
	N-Hexadecanoic acid	Odor rançoso e ácido	-	-	-	-	583,6
Álcool	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	Floral	-	168,3	259,3	292,4	243,6
	2,3-Butanediol	---	-	-	1249,7	460,2	-
	Benzyl alcohol	Aroma doce, chocolate, frutado e floral	-	-	190,2	-	-
Aldeído	2-Pentenal, 2-methyl-	aroma doce, chocolate, frutado e floral	-	-	197,8	-	-
	Pentanal	---	-	82,4	168,3	138,6	182,8
Amina	3-Mercapto-3-methylbutanol	---	-	16,8	316,6	3,03	28,4
Ester	2-Butanone, 1-(acetyloxy)-	Aroma de café	-	1373,6	1264,3	1071,1	1345,2
Furano	2-Furanone, 2,5-dihydro-3,5-dimethyl	---	-	269,4	292,6	287,1	246,5
	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-	---	-	617,4	598,8	-	773,4

	furanone						
	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	---	-	532,5	668,4	579,0	680,5
	2-Furanmethanol, acetate	Odor suave e Floral	-	3793,5	2170,0	2093,6	1754,7
	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Odor picante e levemente caramelizado	-	9588,2	7419,3	6446,8	9159,8
	2-Furanmethanol	Odor suave e levemente caramelizado	-	18844,6	19619,5	0	18899,8
	2-Furanmethanol, 5-methyl-	---	-	287,8	338,5	302,9	313,8
	Furan, 2-[(methylthio)methyl]-	---	-	-	173,2	-	166,9
	4-Methyl-5H-furan-2-one	Pungente, caramelo e sabor doce	-	131,8	89,8	75,5	114,9
	Furan, 2,2'-[oxybis(methylene)]bis-	---	-	92,4	137,8	152,6	169,3
	Benzofuran, 2,3-dihydro-	---	-	26,9	42,0	28,3	46,7
	Maltol	Frutado e caramelo	-	921,9	1287,3	1297,5	1556,9
	2,5-Furandione, 3 methyl	---	-	40,2	60,5	-	-
Hidrocarboneto	Tetramethylbenzene	---	-	248,9	298,0	273,3	290,2
	3,4-dimethyl-2-pentanone	---	-	328,3	347,4	-	-
	2,4-Pentanedione, 3-methyl-	---	-	-	-	-	-
	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	Caramelo	-	886,0	1224,4	997,4	1113,6
	Furfural acetone	Odor suave, amadeirado e especiarias como canela	-	120,1	164,8	140,6	200,2
Cetona	Ethanone, 1-(2-methyl-1H-pyrrol-2-yl)-	Sabor nozes, floral e frutado	-	759,9	1015,5	993,3	1092,1
	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	---	-	34,0	48,6	39,4	85,1
	2-Pyrrolidinone	---	-	196,6	472,9	310,6	338,8
	2,3-hexonedione	Acidez média	-	108,9	133,3	128,4	202,6
	2-Butanone	Amanteigado	-	0	104,3	-	-

	2-hepten-4-one, 5 methyl	---	-	154,6	148,0	-	232,3
						2712,3	
	Butyrolactone	Aroma e odor doce	-	2184,0	-	177	2377,5
Furano	2(5H)-Furanone, 3-methyl-ethanone,1-(3-methylpyraziny)	---	-	173,8	-	-	197,5
	2(5H)-Furanone	---	-	632,7	-	-	-
	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro-	---	-	407,3	451,8	414,6	692,7
	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	---	-	208,1	-	-	-
				78,9	107,3	82,5	124,3
Fenol	Phenol, 3-methyl-	Odor e sabor desagradável	-	-	135,2	-	-
	Phenol, 2-methoxy-	---	-	495,8	615,5	562,9	686,9
Pirano	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	---	-	207,8	182,3	136,2	338,5
	Pyrazine, 2-methyl-6-(1-propenyl)-, (E)-	---	-	182,6	190,8	171,6	194,7
	2-Acetyl-3-methylpyrazine	---	-	1078,2	1255,3	1186,3	1233,1
Pirazina	1-(6-Methyl-2-pyraziny)-1-ethanone	Aroma de pipoca	-	608,6	853,0	876,3	867,0
	Pyrazine, 2-methyl-5-(1-propenyl)-, (E)-	---	-	163,0	230,9	204,5	237,1
	1,4-Diazine	Odor doce	-	202,1	218,7	216,2	234,3
	Pyrazine	Odor doce e floral	-	409,4	-	-	-
	Pyridine	---	-	62,4	66,8	104,8	77,9
Piridina	2(1H)-Quinalinone, 3 methyl)	---	-	-	38,3	-	53,1
	4(H)-Pyridine, N-acetyl-	---	-	811,1	913,1	849,2	832,4
	Pyrrole	Odor torrado	-	115,7	340,5	294,7	-
Pirrolo	Pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl-1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-	Aroma de café	-	-	-	-	259,5
		Sabor suave	-	1113,1	1338,4	1171,0	1152,6

	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	Odor pulgente	-	1114,5	1340,3	1180,1	1154,8
Tiofene	2-Thiophenemethanol	---	-	156,3	178,7	162,6	233,4
	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-	odor caramelo e sabor de baunilha	-	-	-	161,2	-
	Furfuryl disulfide	---	-	-	132,5	-	-
	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-						
	hydroxy-	Odor doce	-	-	590,1	468,3	616,2
	Quinoxaline	---	-	-	-	-	89,3
Outros	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-						
	furanone	---	-	617,4	598,8	-	773,4
	Diacetyl Sulphyde	---	-	66,7	-	77,2	133,2
	Furfuryl methyl disulfide	---	-	-	14,8	-	-
	Caffeine	---	-	41,8	86,3	88,4	125,8