

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA
PAULA SOUZA**

**FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE RAFAEL ALMEIDA
CAMARINHA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

JESSICA APARECIDA DA SILVA BARBOSA

**UTILIZAÇÃO DE CULTURAS MICROBIANAS EM PROCESSOS
FERMENTATIVOS DE CAFÉ ARÁBICA ESPECIAL:
CONTRIBUIÇÕES TECNOLÓGICAS PARA FORTALECER A
COMERCIALIZAÇÃO DE CAFÉS ESPECIAIS NA REGIÃO DE
GARÇA-SP**

**MARÍLIA/SP
IIº SEMESTRE/2023**

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA
PAULA SOUZA**

**FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE RAFAEL ALMEIDA
CAMARINHA**

CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

JESSICA APARECIDA DA SILVA BARBOSA

**UTILIZAÇÃO DE CULTURAS MICROBIANAS EM PROCESSOS
FERMENTATIVOS DE CAFÉ ARÁBICA ESPECIAL: CONTRIBUIÇÕES
TECNOLÓGICAS PARA FORTALECER A COMERCIALIZAÇÃO DE CAFÉS
ESPECIAIS NA REGIÃO DE GARÇA-SP**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Tecnologia
de Marília para obtenção do Título de
Tecnólogo(a) em Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Cláudia Dorta

**MARÍLIA/SP
IIº SEMESTRE/2023**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus que me deu forças para chegar até aqui, apesar de todos os obstáculos ao longo do curso.

Ao meu filho João Miguel, que compreendeu minha ausência nessa etapa.

As professoras Cláudia Dorta e Renata Bonini Pardo pelas correções, pesquisas que me permitiram ensinamentos para um melhor desempenho no processo de formação.

Ao proprietário e colaboradores da fazenda Água da Mata Garça-sp, pelas amostras, dedicação e parceria nessa pesquisa de melhoria café.

À empresa Sacco pela colaboração e parceria

À empresa capricórnio Coffes de Ourinhos – SP provas sensoriais das amostras.

RESUMO

O café é uma das bebidas mais consumidas do mundo, podendo inclusive resultar em benefícios à saúde quando ingerido com moderação. A produção de cafés especiais, incluindo os de fermentação controlada, vem crescendo de acordo com a exigência do paladar e dos benefícios da qualidade da bebida pelo mercado consumidor. Nesse sentido, é preciso investir em muita pesquisa tecnológica para aprimorar seus processos. No atual trabalho foram feitas fermentações semi-carbônicas de café arábica especial, utilizando culturas microbianas iniciadoras em Silos, em uma fazenda localizada no Centro-Oeste Paulista, com objetivo de aumentar a segurança microbiológica do produto e incluir nuances sensoriais que agreguem valor ao produto acabado, contribuindo para o Agronegócio regional. Os processos foram feitos por sistema de fermentação do fruto de café no estagio cereja a passa durante 64 horas e foram divididos em três variáveis amostrais: F1= inclusão da levedura CIMA (Lalcafé) (9×10^7 cél./g) em 2000 L de fruto café, F2= adição de bactérias láticas SYAB1 Sacco ($6,6 \times 10^5$ cél/ g) e levedura regional (*Pichia kluyveri* FA) ($1,7 \times 10^5$ cél/ g) em 2000L, e F3= fermentação espontânea do café em 60 L. F1 e F2 foram feitos em Silos metálicos com capacidade de 2000 L e F3 em bombona fermentativa de polietileno de alta densidade (60L). O café fermentado foi lavado e levado para a secagem em terrenos concretados. As amostras coletadas foram submetidas às análises físicas, químicas, microbiológicas, sensoriais e estatísticas. Todas as fermentações resultaram em cafés especiais, e em cada variável mostrou desempenho fermentativo e nuances sensoriais diferenciados. A adição de um elevado inóculo da levedura comercial CIMA (F1) repercutiu num maior desempenho fermentativo, resultando em mais consumo de sólidos solúveis e menor pH. Seus grãos resultaram numa melhor impressão sensorial, elevando a qualidade da bebida e dando origem aos nuances frutados que são muito apreciados, atingindo nota 86,42 considerada relevante para altas transações econômicas no Brasil e no mundo. A adição de um baixo inóculo da levedura indígena associada à bactéria lática comercial resultou na menor nota sensorial, entretanto, mostrou melhor ação antimicrobiana no processo. A fermentação semi-carbônica normalmente tem sido feita em bombonas com capacidade de 60 a 250 L, entretanto, nesse trabalho, o processo em Silos de 2000 L mostrou-se viável, sendo uma maneira de aumentar o volume de café a ser fermentado, facilitando o controle do processo e necessitando de menos colaboradores para auxiliar, deixando-o mais mecanizado. Esses experimentos resultaram em cafés especiais aliando monitoramento e tecnologias de processo, contribuindo com a região de Garça-SP para fortalecer sua Identidade Geográfica e dar mais visibilidade comercial.

Palavras-chave: Café. Especial. Fermentação. Bactérias e leveduras.

ABSTRACT

Coffee is one of the most consumed drinks in the world, and can even result in health benefits when consumed in moderation. The production of specialty coffees, including those with controlled fermentation, has been growing in accordance with the demand for taste and the benefits of the drink's quality by the consumer market. In this sense, it is necessary to invest in a lot of technological research to improve its processes. In the current work, semi-carbonic fermentations of special Arabica coffee were carried out, using microbial starter cultures in Silos, on a farm located in the Center-West of São Paulo, with the aim of increasing the microbiological safety of the product and including sensory nuances that add value to the finished product, contributing to regional Agribusiness. The processes were carried out in a coffee fruit fermentation system at the cherry to raisin stage for 64 hours and were divided into three sample variables: F1= inclusion of CIMA yeast (Lalcafé) (9×10^7 cells/g) in 2000 L of fruit coffee, F2= addition of SYAB1 Sacco lactic acid bacteria (6.6×10^5 cells/g) and regional yeast (*Pichia kluyveri* FA) (1.7×10^5 cells/g) in 2000L, and F3= spontaneous fermentation of coffee in 60 L. F1 and F2 were made in metal silos with a capacity of 2000 L and F3 in a high-density polyethylene fermentation drum (60L). The fermented coffee was washed and taken to dry on concreted grounds. The collected samples were subjected to physical, chemical, microbiological, sensory and statistical analyses. All fermentations resulted in specialty coffees, and each variable showed different fermentative performance and sensorial nuances. The addition of a high inoculum of commercial CIMA yeast (F1) resulted in greater fermentative performance, resulting in more consumption of soluble solids and lower pH. Its grains result in a better sensorial impression, increasing the quality of the drink and giving rise to fruity nuances that are highly appreciated, reaching a score of 86.42, considered relevant for high economic transactions in Brazil and the world. The addition of a low inoculum of indigenous yeast associated with commercial lactic acid bacteria resulted in the lowest sensory score, however, it showed better antimicrobial action in the process. Semi-carbonic fermentation has normally been carried out in Bombonas with a capacity of 60 to 250 L, however, in this work, the process in 2000 L Silos proved to be viable, being a way of increasing the volume of coffee to be fermented, facilitating control of the process and requiring fewer employees to assist, making it more mechanized. These experiments resulted in specialty coffees combining monitoring and process technologies, helping the Garça-SP region to strengthen its Geographic Identity and provide more commercial visibility.

Keywords: Coffee. Special. Fermentation. Bacteria and yeast

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	Error! Bookmark not defined.
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
2.1 MATERIAL.....	7
2.1.1 Café.....	7
2.1.2 Micro-organismos usados como culturas iniciadoras nos processos fermentativos.....	7
2.2.2 Preparo do inóculo para a fermentação.....	7
2.2.3 Fermentação semi-carbônica	8
2.2.4 Colheita do fruto café e preparo para a fermentação.....	9
2.2.5 Fermentação semi-carbônica do café	10
2.2.6 Secagem e Maturação.....	11
2.2.7 Análises de pH, sólidos solúveis (Brix) e temperatura dos processos fermentativos	13
2.2.8 Contagem de leveduras e bactérias em Câmara de Neuauer	13
2.2.9 Contagem de micro-organismos por plaqueamento	14
2.2.10 Análises Sensoriais.....	14
2.2.10.1 Análises estatística.....	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	Error! Bookmark not defined.5
4 CONCLUSÃO	24

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador de café no mundo é o segundo entre os países consumidores da bebida, e corresponde por um terço da produção mundial de café, o que o deixa como o maior produtor mundial (ABIC, 2021). Com avanço da tecnologia e pesquisa produtores de café situados em 33 regiões produzem café especial reconhecidas pela Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA, 2022).

A economia gerada pela produção de café representa um papel de extrema relevância para o desenvolvimento econômico do Brasil (ABIC, 2020). A produção de café arábica no Brasil foi recorde em 2020, tornando-se a maior produção colhida no país, de acordo com Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021).

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, virando um hábito coletivo, presente em quase todos os lares e instituições, apresentado em diversas ocasiões. Porém tomar um “cafezinho” pode oferecer mais benefícios à saúde, como o simples prazer de saborear a tradicional bebida (EMBRAPA, 2018).

O café é formado por mais de 800 compostos voláteis, na cafeína e os ácidos clorogênicos são os compostos mais comuns. Cada vez mais, o café tem progressivamente passado a ocupar uma posição menos negativa em relação à saúde devido à sua farmacologia mais conhecida (Nieber, 2017).

O consumo em quantias limitadas, de em média até quatro xícaras por dia, transforma o cérebro mais concentrado para realizar suas atividades intelectuais, reduz o episódio de apatia e depressão, aumenta atenção e concentração e, consequentemente, imulsiona atividade intelectual (ALVES, 2009).

A ingestão periódica e equilibrado de um v café, evita sonolência, combate o estresse, é rico em antioxidantes, ajuda na digestão, diminui doenças hepáticas, melhora o humor e estimulador da inteligência (EMBRAPA, 2011).

Estudos epidemiológicos associam o maior consumo de café à diminuição das taxas de mortalidade e diminuição das taxas de doenças neurológicas e metabólicas, incluindo doença de Parkinson e diabetes tipo 2. Existem evidências de que o maior consumo de café está associado a menores taxas de câncer de cólon e reto, bem

como câncer de mama, endométrio e outros, embora para alguns desses cânceres, os resultados sejam conflitantes (Safe *et al.*, 2023).

Pesquisas tem mostrado que o café tem potencial para modulação positiva da microbiota intestinal, tanto por presença de carboidratos não digeríveis como a de compostos fenólicos (ácidos clorogênicos) em sua bebida (Jaquet M. *et al* 2009. Vitaglione; Fogliano; Pellegrini, 2012). Dorta *et al.* (2023a), em experimentos *in vitro* com bebidas de café (expresso, torrado e moído, solúvel orgânico e solúvel tradicional) mostraram que em 50 e 62,5 % dos tratamentos houve tendência de estímulo de crescimento das bactérias probióticas *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus aci- dophilus*, respectivamente, em apenas 1 hora de cultivo. A bebida do café solúvel orgânico foi a que mais estimulou o crescimento de *L. acidophilus* e para *B. bifidum* foi o café expresso.

Ao decorrer dos anos, os consumidores de café tornaram-se cada vez mais rigorosos no que se refere à qualidade da bebida estando mais atentos e cautelosos no momento de escolher os produtos que pretende apreciar (Solomon, 2016).

A principal razão para este exposto, do conhecimento prévio e técnico é a possibilidade de se obter cafés com experiências sensoriais marcantes e de destaque, colocando o Brasil em posições comercialmente mais favoráveis em nível mundial (Alpizar *et al.*, 2004; Farah *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2016).

A grande demanda por novas experiências consideradas ‘diferenciadas’, ‘memoráveis’ e ‘autênticas’ é motivada pela elaboração de novas alternativas. Com a difusão de novas técnicas produtivas há a melhora sensorial da bebida, aliando à novas experiências de consumo (Guimarães; de Castro Junior; Andrade, 2016). Aproxima os consumidores dos produtores e completando a experiência do consumo de cafés de alta qualidade sensorial, ou seja, os especiais (Andrade *et al.*, 2015).

O termo atualmente que atrai produtores de café de todo o mundo - café especial- resulta de uma bebida que possui qualidade superior às disponíveis para preços de *commodities*, além de sabor e características únicas (Quintão; Brito; Belk, 2017).

Os complexos que conferem sabor e aroma da bebida café são provenientes da presença de vários constituintes químicos voláteis e não voláteis, responsáveis pela qualidade do grão (Lee, 2016, Rodrigues *et al.*, 2020). Inúmeros fatores pré e pós-colheita influenciam na produção destes componentes, dentre esses está a fermentação.

A fermentação controlada de cafés especiais pode ser espontânea, quando os próprios micro-organismos do fruto conduzem a metabolização da casca e mucilagem/polpa do fruto do café, contanto que colhido com Boas Práticas Agrícolas e predominando seu estágio cereja. Entretanto, a qualidade do café pode ser aperfeiçoada através do uso de culturas microbianas iniciadoras que atuam durante a fermentação, influenciando diretamente as características sensoriais da bebida. Estudos demonstraram que a fermentação é influenciada pelo micro-organismo utilizado, pela variedade do café, pelo processamento e pela forma de condução da fermentação (Rodrigues, Cunha, Almeida, 2020).

As culturas iniciadoras mais utilizadas são constituídas por leveduras e bactérias lácticas. Esses micro-organismos atuam na qualidade da bebida, seja pela degradação de compostos presentes nos frutos e sua secagem mais rápida, ou pela excreção de metabólitos que difundem para o interior da semente e mesmo com a torra inclui aromas e sabores apreciados (Esquivel; Jimenez, 2012, Zhang *et al.*, 2019).

A fermentação à princípio era utilizada para remover a camada de mucilagem aderida ao pergaminho do grão, com o potencial de melhoria da qualidade do café por tornar sua secagem mais rápida, entretanto, a fermentação mais prolongada e controlada passou a ser vista como um potencial regulador de inclusão de novos e desejados nuances sensoriais no grão de café (Chafoun, 2013; Carvalho, 2004; Rodrigues, Cunha, Almeida, 2020).

As fermentações podem ser aeróbicas (normalmente em terreiros) microaerófilas (feitas com água em tanques abertos) e anaeróbicas (em recipientes lacrados).

As anaeróbicas (carbônica e semi-carbônica) têm mostrado maior facilidade no monitoramento, como nas medições de Temperatura, de sólidos solúveis e de pH, e maior estabilidade do processo, resultando em lotes mais homogêneos entre diferentes safras (Kim, 2021). Os processos semi-carbônicos são mais acessíveis aos pequenos produtores em relação ao carbônico, pois esse último tem a necessidade de injeção mecânica de CO₂. No método semi-carbônico, o CO₂ vai se elevando à medida que ocorre a fermentação microbiana no fruto e este gás vai empurrando o O₂ para fora do recipiente fermentativo através do *Airlock* tipo S, que se localiza na tampa com lacre do recipiente, e o processo passa a ser estritamente anaeróbico. Os recipientes bastante usados tem sido Bombonas de polietileno de

alta densidade, sendo aprovadas pela ONU para fermentação de alimentos e bebidas (Muinhos, 2019, Palermo *et al.*, 2023).

Nesse trabalho foram feitas fermentações semi-carbônicas de café especial em Silos metálicos (com capacidade para 2000 L), utilizando culturas microbianas autóctones e alóctones como iniciadoras em uma Fazenda localizada no Centro-oeste Paulista, com o objetivo de aumentar a segurança microbiológica do processo e fazer a inclusão de diferentes nuances sensoriais em suas bebidas, contribuindo para o desenvolvimento econômico e tecnológico regional.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Café

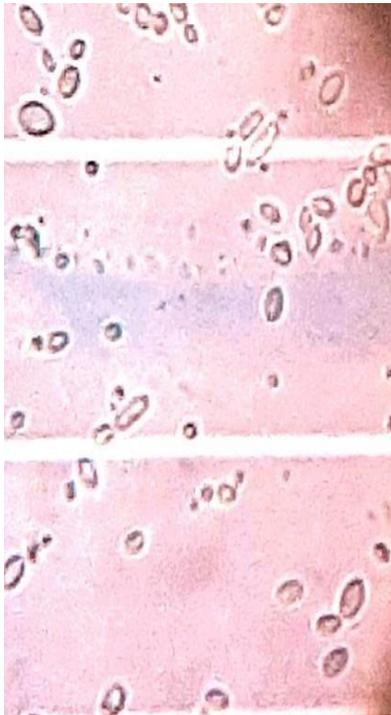
Coffea arabica cultivar Mundo Novo, obtido da Fazenda Água da Mata, Garça-SP, safra 2022. Garça é caracterizada pelas coordenadas geográficas: Latitude: 22° 12' 38'' S, Longitude: 49° 39' 22" W, Altitude: 683 m e Área: 557,2 Km²

2.1.2 Micro-organismos usados como culturas iniciadoras nos processos fermentativos do café

Leveduras: *Pichia kluyveri* FA (Figura 1) isolada e selecionada de fermentações naturais na região de Garça em 2019, mantida em cultura estoque à -78°C no laboratório de Microbiologia da Fatec de Marília, e a liofilizada comercial *Saccharomyces cerevisiae* CIMA pertencente à linha Laucafé - Lallemand (Figura 2).

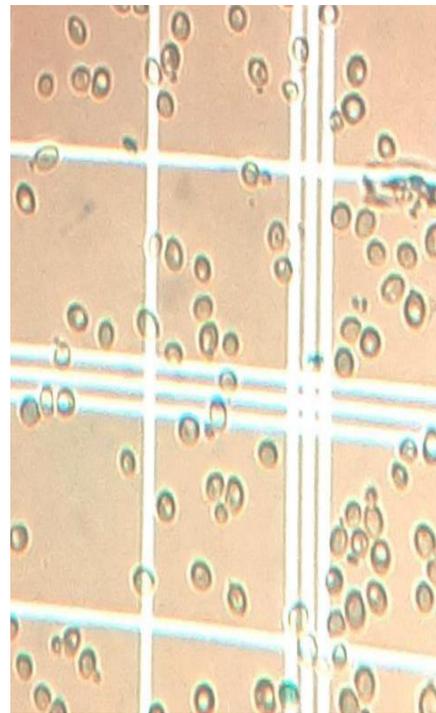
Bactérias lácticas (BAL): cultura comercial liofilizada Sacco SYAB1, composta pelas espécies: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*.

Figura 1 - Fotomicroscopia de
P. kluyveri FA



Fonte: Autores

Figura 2 - Fotomicroscopia da
levedura *S. cerevisiae* CIMA



Fonte: Autores

2.2.3 Preparo do inóculo para a fermentação

A cultura regional (*P. kluyveri* FA) foi submetida aos sucessivos repiques em meio líquido YEPG modificado (extrato de levedura 1%, peptona 1% e glicose 2,5%). Para tanto, 0,1mL da cultura foi inoculado em dois repiques sucessivos em 5mL por 48h, seguido por repasse de 5mL de inóculo em 50mL (por 24h), e finalmente esses 50mL em 500mL do meio (por 24h). Esses repiques foram feitos em quadruplicata e sob condições assépticas no Laboratório de Microbiologia da Fatec Marília-SP e as incubações à 25°C. Finalmente, 2000 mL do inóculo foi adicionado em 20.000 mL de meio YEPG, em uma Bombona de fermentação para cerveja artesanal (Figura 3).

Figura 3 - Inóculo de *P. kluyveri* FA produzido em Bombona de 20 L



Fonte: Autores

2.2.4 Colheita do fruto café e preparo para a fermentação

O café, com seus frutos predominando estágio cereja a passa, foi colhido mecanicamente por uma colhedeira.

Posteriormente, este foi lavado por um processo mecânico onde o mesmo os separa em grãos maduros/passas entre grãos verdes, para assim resultar e m fermentação mais uniforme (Figura 4).

Figura 4 - Lavagem mecânica do café na Fazenda Água da Mata, Garça -SP



Fonte: Autores

2.2.5 Fermentação semi-carbônica do café

Os experimentos fermentativos foram distribuídos em três variáveis amostrais: 1) F1= 2000 L do fruto com casca foi escoado em um Silo Metálico e adicionada a levedura CIMA (Lallemand) ($9 \cdot 10^7$ células/ g), diluída previamente em 20 L de água (Figura 5); F2= em 2000 L foram introduzidos a levedura *Pichia kluyveri* FA ($1,7 \times 10^5$ cél/ g) (20 Litros de cultivo) e bactérias lácticas SYAB1 ($6,6 \times 10^5$ cél/ g), e F3= Em uma Bombona (F3) de polietileno de alta densidade capacidade 60 L, foi preenchida com o café 6 L de água, sendo fechada com tampa dotada de lacre, para gerar a fermentação espontânea, visando entender o potencial de sua microbiota nativa na produção de nuances sensoriais nos grãos e somando à intenção de isolamento. Tanto nos Silos, como na Bombona, existiu sistema de saída de gases (à princípio o O_2 e depois o excesso de CO_2) como o *Airlock* tipo S. As figuras 5 e 6 mostram os recipientes fermentativos testados.

Figura 5 - Fermentação espontânea: em Bombona



Fonte: Autores

Figura 6 - Silos de fermentação do café na Fazenda Água da Mata, Garça-SP



Fonte: Autores

2.2.6 Secagem e Maturação

Após 64 horas de processo fermentativo os cafés foram lavados e espalhados com ajuda de um trator em terreiro de concreto até atingirem 16% de umidade, em seguida, estocados em sacos apropriados e armazenados em Galpão por 30 dias para haver um “descanso”, e novamente levados para o terreiro de secagem até 12% (Figuras 7-9). Seguindo então, para um período maior de armazenamento (maturação, por alguns meses), antes de serem comercializados.

Figura 7 - Distribuição dos cafés com casca fermentados para a Secagem em terreiro tradicional



Fonte: Autores

Figura 8 - Secagem dos cafés fermentados em terreiro na propriedade em Garça-SP



Fonte: Autores

Figura 9 - Amostra de café fermentado seco



Fonte: Autores

2.2.7 Análises de pH, sólidos solúveis (Brix) e temperatura dos processos fermentativos.

As análises seguiram metodologias oficiais do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para a medição de sólidos solúveis iniciais, pesou-se 5g de cada amostra (em triplicata), as quais foram individualmente maceradas em cadinhos para obtenção da casca e mucilagem do grão e semente; em seguida adicionou-se sobre cada amostra 50mL de água destilada, agitando-se as misturas por 30 minutos. A partir das amostras prontas, foram feitas individualmente as determinações de teor de sólidos solúveis por refratômetro de bancada.

No meio fermentativo os sólidos solúveis foram medidos por refratômetro portátil. O pH foi medido em triplicata por pHmetro portátil AK90, e a temperatura foi aferida no local da fermentação por termômetro digital.

2.2.8 Contagem de leveduras e bactérias em Câmara de Neubauer

Foi aplicada a técnica de contagem do número total de células de leveduras e bactérias. mL⁻¹ em câmara de Neubauer, em Microscópio Óptico (Figura 8 e 9), como análise microbiológica complementar às técnicas tradicionais de plaqueamento

em meio Agar. O intuito da aplicação dessa análise foi para contagem inicial do inóculos, sendo possível ser feita em alguns minutos. A equação 1* representa o cálculo para obtenção do número de células por mL (Dorta *et al.*, 2006)

(* *Equação 1*: Número de células = Média de 5 x 25 x 10⁴ x F,
F = fator de diluição.

2.2.9 Contagem de micro-organismos por plaqueamento

Nas amostras diluídas em água peptonada 0,1%, foram realizadas as análises: para fungos usada a semeadura em superfície no meio YEGC com 150 ppm de antibiótico; para enterobactérias, o cultivo em superfície em meio VRBG; e para as bactérias lácticas, o plaqueamento em profundidade no meio MRS Agar com Cisteína 0,05% (Silva *et al.* 2010, com modificações). As Placas com meio PDA foram incubadas em BOD à 25°C até 5 dias e amostras semeadas em MRS Agar e VRBG Agar, à 35°C por até 2 dias em Estufa Bacteriológica.

2.2.10 Análise Sensorial

Foram realizadas análises sensoriais nos cafés resultantes dos experimentos por três provadores especialistas da empresa Capricórnio *Coffees* (Ourinhos-SP) seguindo o protocolo do SCAA (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2015). Utilizou-se 150g de café verde (sem pergaminho) peneira 16 de cada tratamento para a torra, os grãos foram torrados a 150°C por 8 a 12 minutos, em seguida separados em 5 xícaras com 8g cada e então moídos então para a prova sensorial de fragrância. Adicionou-se água quente até a borda da xícara e feita à prova de aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e final.

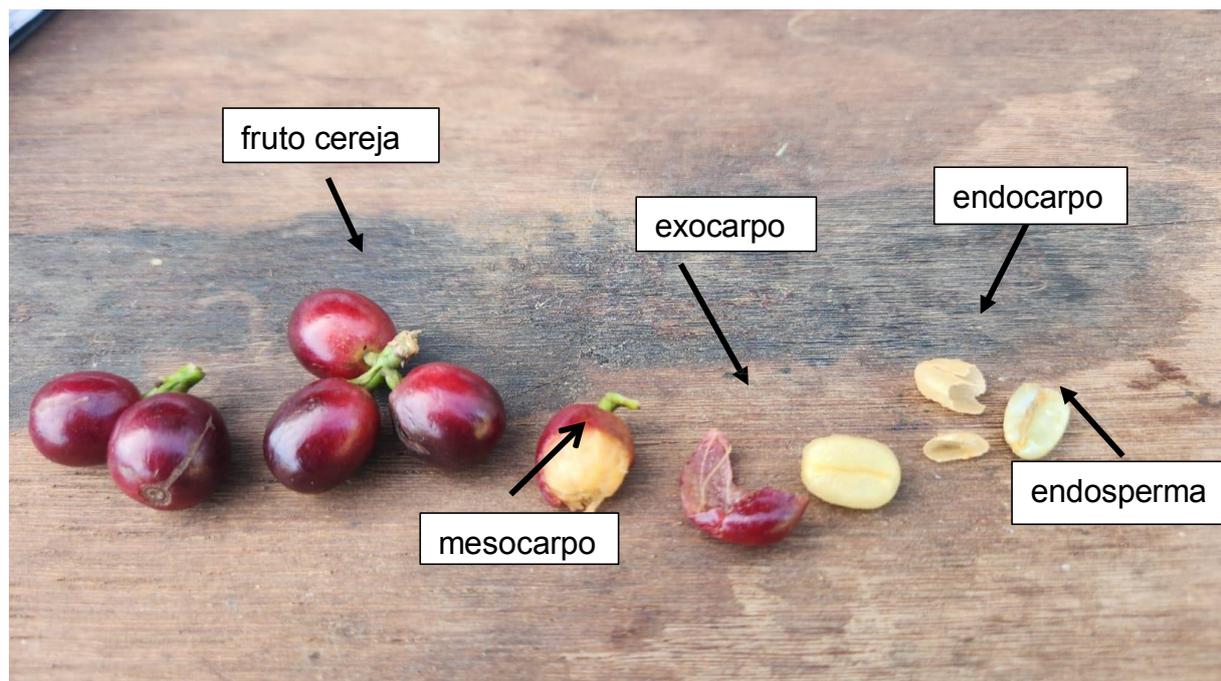
2.2.10.1 Análise estatística

A análise sensorial foi feita por 3 provadores especialistas, ou seja, em triplicata. Os dados obtidos após a avaliação sensorial foram analisados pelos testes ANOVA, complementado com o Teste de Tukey, no nível de 5% de significância. (Bussab; Morettin, 2017). O software estatístico utilizado foi BioEstat 5.3 (Ayres *et al.*, 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cada fruto do café é composto por várias camadas, sendo divididas em (Figura 10): 1- exocarpo (pele/casca), 2-mesocarpo (polpa/mucilagem), 3-endocarpo (pergaminho) aonde estão os principais açúcares fermentescíveis e 4-endosperma (grão) (Dúran *et al.*, 2017).

Figura 10 - O fruto café estágio cereja e seus tecidos constituintes



Fonte: Autores

São muitos fatores que influenciam a boa condução de um processo fermentativo, sendo a temperatura um parâmetro de controle primordial, no sentido de que os micro-organismos que agem sobre a polpa do café têm seu metabolismo e mesmo fisiologia estimulados ou inibidos de acordo com sua variação.

As leveduras que são importantes agentes fermentadores do café, normalmente têm sua fisiologia e metabolismo afetados em condições de temperaturas acima de 35° C, sendo favorecidas em temperaturas inferiores a 30°C (Franco; Landgraf, 2008). Já as bactérias lácticas, também essenciais na fermentação do café, como as pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, possuem sua faixa ótima de temperatura

entre 30-40°C, podendo crescer acima de 15°C e a espécie *Streptococcus thermophilus* possui o ótimo a 37°C, porém a grande maioria de suas cepas se multiplica a 50°C, com mínima entre 19-20°C (Silva et al., 2010).

A Temperatura externa na Fazenda Água da Mata, durante as fermentações semi-carbônicas, variou de 18°C (manhã) a 22,5°C (tarde).

A Tabela 1 mostra as temperaturas durante as fermentações das três variáveis amostrais.

Tabela 1 - Variação de Temperatura (°C) nos meios de fermentação do café Mundo Novo

Variáveis	15h	20h	28 h	40h	48h	64h
F1*	26,0	26,0	26,0	26,0	26,0	26,0
F2	26,0	26,0	26,0	25,0	26,0	26,0
F3	22,6	23,9	22,9	20,4	21,1	20,6

Fonte: Autores

*F1= fermentação CIMA em Silo, F2= fermentação Levedura regional E

+ Bactérias láticas SYAB1 (Sacco) em Silo, F3= fermentação espontânea em Bombona

A fermentação em Bombona de 60 litros (F3) manteve as temperaturas internas próximas às ambientais, enquanto que as feitas em Silos, seus valores foram superiores. Em 64h de fermentação, nas variáveis F1 e F2, houve aumento considerável de temperatura (+ 6°C) quando comparadas com F3. Durante o catabolismo microbiano moléculas da polpa são degradadas e há a liberação de calor, assim, como nos Silos a quantidade de massa utilizada foi 33,33 vezes maior do que em F3, justifica-se a maior liberação de energia e calor. Ainda, vale ressaltar que um recipiente de grande volume, fica mais lenta a liberação do calor produzido para que se atinja um equilíbrio com a temperatura externa. Entretanto, 26°C é considerada uma temperatura adequada ao crescimento das leveduras, ou mesmo às bactérias láticas.

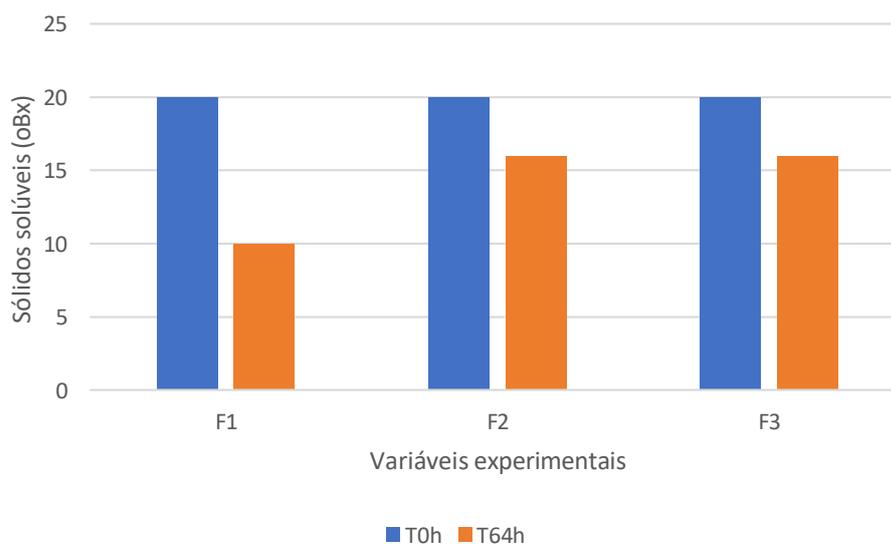
Martinez *et al.* (2021) ao fermentarem 300 L de café natural (com casca) em Biorreator de aço inoxidável também chegaram às temperaturas de 26 a 27°C durante o processo.

Kim (2021) obteve resultados promissores no aspecto sensorial do café em fermentações dentro de Bombonas e temperatura interna entre 18 e 22°C. Mota et al. (2020, 2022), em experimentos de fermentações de café também em Bombonas, obtiveram resultados próximos à F3 em termos de temperatura de processo.

O fruto café arábica, no estágio de maturação cereja, apresenta maior peso dos grãos e maiores teores de acidez titulável total, de açúcares redutores, não redutores e totais e sólidos solúveis totais (Nobre *et al.*, 2011). Os sólidos solúveis são representados principalmente pelos açúcares no fruto, e são utilizados para o crescimento de leveduras e bactérias de forma de substrato, nesse sentido, com um Brix elevado, maior a possibilidade de fermentação e conseqüentemente a mudança sensorial na bebida (Pereira *et al.*, 2015).

Dessa forma, o açúcar será consumido pelo micro-organismo durante a fermentação e convertido em substâncias que podem incrementar o sabor e aroma do grão do café, justificando que em F1 haverá a inclusão de maiores atributos sensoriais no café, devido o maior consumo de sólidos solúveis (50%), quando comparado aos F2 e F3 (20%) (Figura 11).

Figura 11 - Sólidos solúveis (°Bx) nos cafés antes e após fermentações



Fonte: Autores

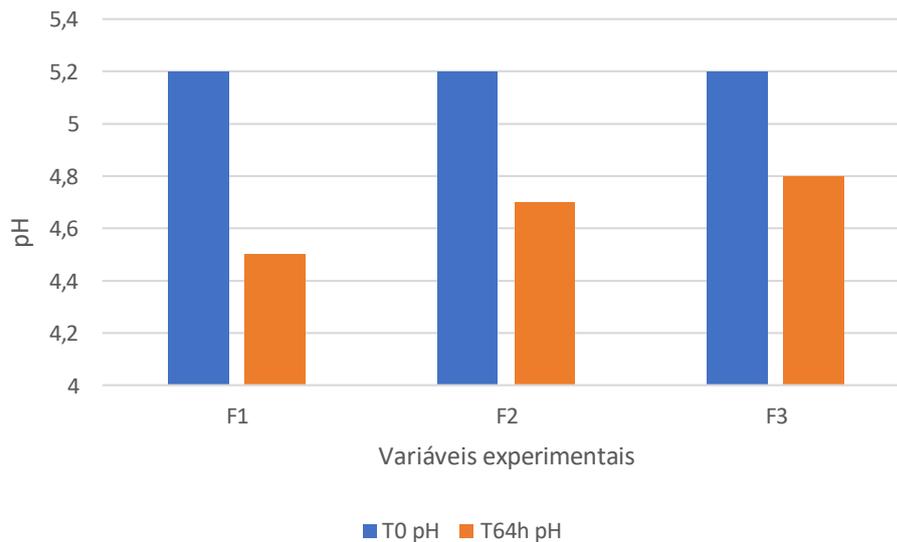
Legenda: F1= fermentação CIMA em Silo, F2= fermentação Levedura *Pichia kluyveri* FA+ Bactérias lácticas SYAB1 (Sacco) em Silo, F3= fermentação espontânea em Bombona

A fermentação vai ocorrendo, e o pH do meio vai diminuindo com liberação de ácidos orgânicos quando os micro-organismos catabolizam os açúcares presentes na polpa do café (Martinez *et al.*, 2021; Silva, 2015). O ideal é a hora que o pH atingir entre 4,5 e 4,0 haja a finalização do processo de fermentação. Valores menores que

pH 4,0 sinalizam a produção de ácidos propiônicos, butíricos ou mesmo quantidade indesejadas (Penuela-Martínez; Zapatazapata; Durango-Restrepo, 2018).

A figura 12 mostra o pH do café antes e após as fermentações testadas nos experimentos.

Figura 12 - pH no café antes e após as fermentações



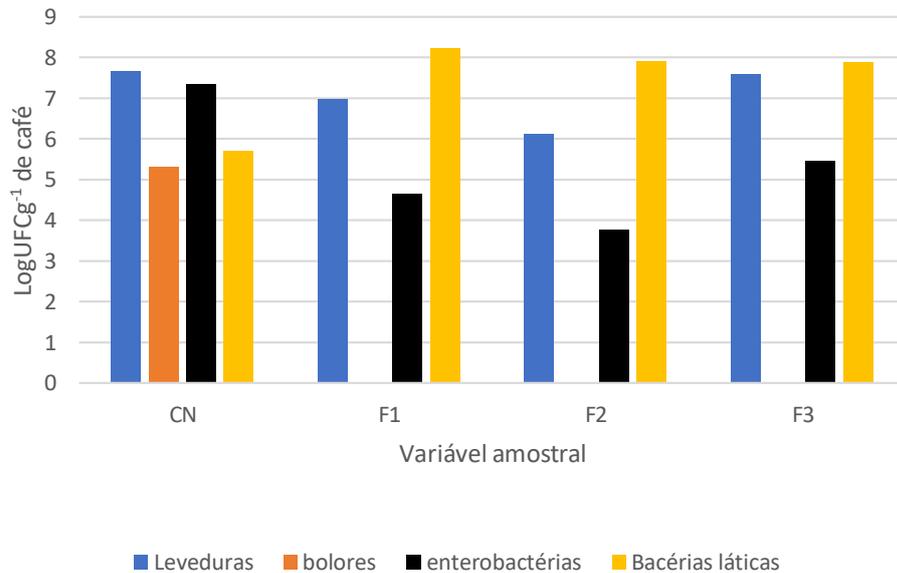
Fonte: Autores

Legenda: F1= fermentação CIMA em Silo, F2= fermentação Levedura regional E + Bactérias láticas SYAB1 (Sacco) em Silo, F3= fermentação espontânea em Bombona

Em F1 houve a maior redução do pH e consumo de sólidos solúveis, indicando que a alta quantidade de inóculo da levedura CIMA, ou mesmo seu metabolismo, acelerou a fermentação, a qual liberou entre outros metabólitos, ácidos orgânicos que aumentam a acidez do meio.

A Figura 13 mostra a variação do LogUFC da população microbiana em função das fermentações.

Figura 13 - Número de micro-organismos viáveis antes e após as fermentações do café Mundo Novo



Fonte: Autores

Legenda: CN = café cereja tempo 0, F1= fermentação CIMA em Silo, F2= fermentação Levedura regional E + Bactérias láticas SYAB1 (Sacco) em Silo, F3= fermentação espontânea em Bombona

Normalmente as fermentações bem-sucedidas resultam do aumento de bactérias láticas e leveduras e da diminuição de enterobactérias e bolores. As bactérias láticas atuam principalmente na modulação positiva da microbiota do processo fermentativo, as leveduras na produção de aromas, enquanto que as enterobactérias e muitos bolores podem liberar aromas indesejados, além de interferirem na segurança do produto (Zhang *et al.*, 2019).

A família Enterobacteriaceae é representada por bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos, fermentadores de glicose, e é composta por mais de 170 espécies, e tem alguns representantes patogênicos como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica* (Silva *et al.*, 2010). Bactérias dessa família, a princípio, podem auxiliar na degradação da mucilagem da fruta, entretanto, em excesso produzem substâncias que interferem no perfil sensorial do grão (Zhang *et al.*, 2019). A Figura 13 mostra que as fermentações, independentes da variável amostral, diminuíram as enterobactérias e os bolores no café.

Entretanto, F2 proporcionou a maior diminuição, chegando a 3,6 ciclos logarítmicos. A adição de bactérias lácticas- Sacco, ou mesmo a atuação sinérgica com a *P. kluyveri* FA, pode ter interferido positivamente nesse processo de assepsia. F3 (fermentação espontânea) foi menos eficiente, reduzindo em 1,88 ciclos logarítmicos.

Dorta et al. (2023b) obteve resultados semelhantes à atual pesquisa, aonde a mesma *P. kluyveri* FA foi testada na fermentação de café cultivar Topázio Amarelo MG1190, em processo em baldes com água (abertos). A inibição das enterobactérias foi similar tanto na associação dessa levedura ou não com a bactéria láctica Lyofast SY1 (Sacco), superando a fermentação espontânea.

Bactérias lácticas têm sido utilizadas para aumentar a vida-de-prateleira dos produtos lácteos e não lácteos, devido à formação de componentes metabólicos como ácido láctico, ácido propiônico, diacetil e substâncias antagonistas que exercem efeito inibitório sobre as bactérias Gram-negativas, leveduras e fungos responsáveis pela deterioração de produtos alimentícios e muitas vezes causadores de toxinfecções (Danilova et al, 2022; George- Okafor et al., 2020).

A *Pichia kluyveri* é conhecida por produzir toxinas ou fatores *Killer*, que agem antagonicamente aos micro-organismos indesejados em fermentações, como bolores e leveduras oxidativas (Vicente et al., 2021). Espécies do gênero *Pichia* tem mostrado produção de toxinas que agem contra diversas bactérias com potencial patogênico como *Escherichia coli* (pertencente à família Enterobacteriaceae), *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas alcaligenes* (Bajaj; Raina; Singh, 2013).

Os bolores se encontravam na ordem de 5 LogUFC.g-1 no início das fermentações (F1, F2 e F3), e ao final desses processos este grupo não foi mais detectado no café. Bolores podem produzir Micotoxinas no café, sendo a mais comum a Ocratoxina A, que tem potencial carcinogênico para animais e humanos (Franco e Landgraf, 2008).

O café testado estava no grau mais para passa, o que justifica uma entrada alta de micro-organismos como leveduras, bolores e enterobactérias. As leveduras usadas como culturas iniciais foram introduzidas em menor número do que no café natural, principalmente a regional, entrando em 2,43 ciclos logarítmicos a menos, e a Levedura Cima apenas em 0,66 ciclo.

A fermentação espontânea (F3) resultou no maior número destes fungos unicelulares, sendo importante ressaltar que houve uma tendência de inversão da população fúngica unicelular, ou seja, no início predominou micro-organismos que apresentavam colônias no meio de cultivo YEGC do tipo *Saccharomyces*, e no final predominaram do tipo *Pichia kluyveri* (Figuras 14 e 15). Essa inversão foi tendência também para F1 e F2 e pode ser justificada pelo fato já discutido dessa espécie de levedura produzir fatores *killer*.

As leveduras adicionadas como iniciadoras, de alguma forma competiram com as autóctones, resultando num menor número de células viáveis, principalmente em F2.

Figura 14 - Colônias de *P. kluyveri*



Fonte: Autores

Figura 15 - Colônias de *S. cerevisiae*



Fonte: Autores

O maior crescimento de BAL foi em F1 (3 ciclos logarítmicos), seguido por F2 e F3 (ambos com 2,7 ciclos).

Após as análises sensoriais, seguindo o protocolo americano SCAA (2015), por especialistas da empresa Capricórnio Coffees, todas as variáveis experimentais resultaram em cafés especiais, sendo a maior nota obtida com a inoculação da levedura comercial CIMA (86,4) (F1) (Tabela 2), resultado já esperado em função de seu melhor desempenho fermentativo já relatado anteriormente.

A baixa taxa de inóculo da levedura indígena *Pichia kluyveri* FA ($1,7 \times 10^5$ células/ g) e bactérias lácticas SYAB1 ($6,6 \times 10^5$ células/ g) utilizadas em um grande volume de café no silo, podem ter contribuído para um menor desempenho da avaliação sensorial (83,5). No entanto, após análise estatística dos dados, as três variáveis amostrais testadas não mostraram diferenças significativas entre as suas notas (ANOVA, $p = 0,053$).

A fermentação espontânea feita em menor volume na bombona, trouxe provavelmente maior equilíbrio ao processo e repercutiu em características sensoriais interessantes e a nota final 84 pontos.

Esses resultados sugerem que a levedura regional e a bactéria láctica comercial sejam introduzidas em maior quantidade em uma próxima fermentação em silo, para que realmente se tenha resultados mais positivos.

Tabela 2- Notas finais e termos descritivos sensoriais dados por três provadores especialistas após análise das amostras obtida nos experimentos fermentativos

Amostra	Nota final	Características sensoriais
F1	86,42 ^a ± 0,14	Frutado intenso, morango, cereja, trufa de frutas vermelhas, amora silvestre, refrescante
F2	83,50 ^a ± 1,98	Mel, sementes de coentro, rapadura, doce de leite, chocolate amargo, cacau
F3	84,00 ^a ± 0,66	Fruta seca, maçã verde, leve fruta madura, mel, caramelo, láctico, cítrico, vanila

Fonte: Autores

Legenda: F1= F1= fermentação CIMA, F2= fermentação Levedura regional E + Bactérias lácticas SYAB1 (Sacco), F3= fermentação espontânea
(1) Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si

As três variáveis experimentais resultaram ainda em impressões sensoriais únicas o que é interessante para aumentar a gama de possibilidade através das diferentes preferências dos consumidores. F1 mostrou características sensoriais descritas como: frutado intenso, morango, amora silvestre, trufa de frutas vermelhas, caramelo, refrescante; F2 descrita como: doce de leite, herbal, cacau, chocolate amargo e amendoim e F3: fruta seca, maçã verde, caramelo e toffee.

Experimentos anteriores a esses (Dorta et al. 2023b, 2023c), têm mostrado que algumas impressões sensoriais são reportadas de forma similar de acordo com a cultura iniciadora empregada, mesmo sendo em diferentes processos fermentativos e cultivares, mostrando também, serem importantes influenciadores no aroma e sabor final do café. Pode-se ressaltar que a inoculação da levedura CIMA tem resultado em nuances frutado intenso e frutas vermelhas, e a *P. kluyveri* FA em cacau, chocolate amar

4 CONCLUSÃO

As fermentações dos frutos cafés resultaram em grãos de cafés especiais e seguros microbiologicamente, por inibirem enterobactérias e bolores, sendo *que Pichia kluyveri* FA e bactérias lácticas Sacco exerceram maior influência nessa assepsia.

A adição da levedura comercial CIMA resultou numa melhor impressão sensorial por provadores especialistas atingindo nota considerada relevante para altas transações econômicas no Brasil e no mundo.

A fermentação semi-carbônica dentro de Silos metálicos mostrou-se viável para inclusão de cepas iniciadoras, e trouxe a vantagem de se trabalhar com maior volume de matéria-prima por unidade fermentativa, quando comparado com a utilização de Bombonas (60 a 250 L), ou seja, atendendo à necessidade requerida pelo proprietário da Fazenda.

O processo em Bombona, por outro lado, proporcionou menor liberação de calor no processo fermentativo trazendo vantagens para se obter um produto final com nuances mais equilibrados.

REFERÊNCIAS:

ANDRADE, H.C.C.; MOSS, M.C.B. A cafeicultura familiar e um possível modelo para o desenvolvimento do turismo do café em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ecoturismo**, n.5, v.3, p.512-529, 2015.

ALPIZAR, E.; BERTRAND, B.. Incidência de elevação na composição química e qualidade da bebida do café na América Central. In: **20ª Conferência Internacional sobre a Ciência do Café** . 2004. p. 11-15.

ALVES, R. C.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B. Benefícios do café na saúde: mito ou realidade **Quim. Nova**, v. 32, n. 8, p.2169-2180, 2009

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ (ABIC). Indicadores da indústria de café: 2020. Disponível em: <http://abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe2020/> ABIC, Acesso em: 10 maio 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ (**ABIC**). Disponível em: em: 22de agosto.2022.

Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA) 2022. **Regiões**. Disponível em <https://brazilcoffeenation.com.br/região/lista>.

AYRES, M.; AYRES Jr., M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. dos S. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém; Sociedade Civil Mamirauá: MCT-CNPq, 2020.

BAJAJ, B. K.; RAINA S.; SINGH, S..Killer toxin from a novel killer yeast *Pichia kudriavzevii* RY55 with idiosyncratic antibacterial activity. *Journal of Basic Microbiology*. V. 53, n.8, p. 645-656, 2013

BUSSAB W.O. MORETTIN P.A., **Estatística Básica**. Saraiva, São Paulo, 9 ed, 2017.

CHALFOUN, S. M.; FERNANDES, A. P. Efeitos da fermentação na qualidade da bebida do café. **Visão Agrícola**, USP, p. 105-108, 2013.

CARVALHO, L. G. de et al. Modelo de regressão para a previsão de produtividade de cafeeiros no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.8, n.2/3, p.204-211, 2004.

DANILOVA, T. A.; DANILINA, G. A.; ADZHIEVA, A. A.; POLYAKOV, N. B.;ZHUKHOVITSKII, V. G. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* supernatant on non- fermenting Gram-negativa bacteria. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 173, p. 59-62, 2022.

DORTA, C., OLIVA-NETO, P., de -Abreu-Neto, M. et al. Synergism among lactic acid, sulfite, pH and ethanol in alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (PE-2 and M-26). **World J Microbiol Biotechnol** 22, 177 (2006).

DORTA, C.; RIBEIRO, M. A. C.; PARDO, R. B., GIANNONI, J. A.; SHIGEMATSU, E.; FARINAZZI-MACHADO, F. M. V., TANAKA, A. Y.; BRUNATTI, A. C. Café como promotor de crescimento para bactérias probióticas. **Revista Foco**, Curitiba (PR), v.16.n.5, e2081, p.01-18, 2023^a.

DORTA, C.; PARDO, R. B., MARTINS, A. N.; GOMES, S. C. V.; OLIVEIRA, C. E. D.; SOUZA, L. B.; SILVA JUNIOR, L. C. L.. Inclusion of autochthonous and allochthonous microbial starters in wet fermentation processes of *Coffea arabica* L. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, Portugal, v.15, n.11, p. 13109-13123, 2023b.

DORTA, C.; FRANCHESCHI, R.; PARDO, R. B.; MARTINS, A. N.; *et al.* Leveduras autóctones e alóctones usadas como culturas iniciadoras na fermentação de café cereja (*Coffea arabica*) por processamento via seca. **Revista Foco**, Curitiba (PR). V. 16, n. 4, e1672/ p. 01-17, 2023c.

DURÁN, C. A. A.; TSUKUI, A.; SANTOS, F. K. F; MARTINEZ, S. T.; BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida, **Rev. Virtual Quim.**, v., n.1, p.107-134, 2017.

EMBRAPA. **Café e saúde humana** (2011). Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/92424/1/cafe-doc-01.pdf>>.Acesso em maio de 2018.

ESQUIVEL, Patricia; JIMÉNEZ, Víctor M. Functional properties of coffee and coffee byproducts. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488-495, 2012.

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.

FRANCO, B.D.G.M. E LANDGRAF, M. (2008) **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo: Atheneu, 2008. 196 p.

GEORGE-OKAFOR, U.; OZOANI, U.; TASIE, F.; MBA-OMEJE, K. The efficacy of cell-free supernatans from *Lactobacillus plantarum* Cs and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 for the preservation of home-processed tomato-paste. **Scientific African**, v. 8, e.00395, p.1-9, 2020.

GUIMARÃES, E. R.; DE CASTRO JÚNIOR, L. G.; ANDRADE, H. C. C. A terceira onda do café em Minas Gerais. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 18, n. 3, p. 214-227, 2016.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE prevê safra recorde de 260,5 milhões de toneladas para 2021. **Agência IBGE Notícias**, 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/>. Acesso em: 13 fev. 2021.

JAQUET, M. *et al.* Impact of coffee consumption on the gut microbiota: a human volunteer study. **International Journal of Food Microbiology**, v. 130, n. 2, p. 117- 121, 2009.

KIM, M. **Primeiro Seminário Online de Fermentação de café**. Disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=YbMH_9AP_KE>. Acesso em: 29 de dezembro de 2021.

MARTINEZ, S.J.; RABELO, M. H. S; BRESSANI, A. P.; MOTA, M. C. B; BORÉM, F. M; SCHWAN, R. F. Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. **Food Research International**, v. 139, 109921, 2021.

MUINHOS, R. Buena Vista Café. **Fermentação de café**. 2019. Disponível em: https://buenavistacafe.com.br/blog/author/buena_blog_user/. Acesso em: 31 maio 2023.

NIEBER, K. The Impact of Coffee on Health. **Planta Med.**, v.83 n.16, p. 1256-1263, 2017. doi: 10.1055/s-0043-115007.

NOBRE, G.W; BORÉM, F.M.; ISQUIERDO, E.P.; GALBERTO, R.F.A; OLIVEIRA, PD. Composição química de frutos imaturos de café arábica processados por via seca e via úmida. **Coffee Science**, v. 6, n. 2, p. 107- 113, 2011.

PEREIRA, Gilberto Vinícius de Melo et al. Conducting starter culturecontrolled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: growth, metabolic analyses and sensorial effects. **Food Research International**, [S.L.], v. 75, p. 348- 356, 2015.

PEÑUELA-MARTÍNEZ, A.E.; ZAPATA-ZAPATA, A.E.; DURANGORESTREPO, D.L. Desempenho de diferentes métodos de fermentação e o efeito na qualidade do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência do Café**, v.13, n. 4, 2018, p.465-476.

QUINTÃO, R.T.; BRITO, E.P.Z., BELK, R.W.. O ritual de transformação do sabor no mercado de cafés especiais. **RAE-Revista de Administração de Empresas**, v.57, n.5, pg. 483-494, 2017.

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, July 2016.

RODRIGUES, G. Z.; DA CUNHA, L. T.; ALMEIDA, G. R. R. Desenvolvimento e validação da fermentação controlada de frutos do café no pós-colheita em diferentes tempos. **Revista Agro veterinária do Sul de Minas**, v. 2, n. 1, p. 45-52, 2020

SAFE, S.; KOTHARI, J.,; HAILEMARIAM, A.; UPADHYAY, S.; DAVIDSON, L.A.; CHAPKIN, R.S. Health Benefits of Coffee Consumption for Cancer and Other Diseases and Mechanisms of Action. **Int J Mol Sci.**, V31;24(3):2706, 2023 doi: 10.3390/ijms24032706.

SILVA, C.F.. modificações microbiana durante a fermentação do café R.F.Schwan,G.H.Fleet (Eds.), Fermentações de cacau e café,CRC **Press, Nova York**, NY(2015), pp.398-423

SILVA, N.; FERRAZ, V. C. N.; HIROMI, M.; FRANCISCO, R.; ABELIAR, R. **Manual de Análise Microbiológica de Alimentos e Água-** ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos- DPTO. 4ª Edição,2010.

SOLOMON, M. R. O **COMPORTAMENTO DO CONSUMIDOR** – Comprando, possuindo e sendo. 11ª Edição. Porto Alegre: Bookman Editora LTDA. 2016. 608p. p.8-10.

COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. SCAA Protocols. **Cupping Specialty Coffee**. LongBeach: SCAA, 2015.

VICENTE, J.; CALDERÓN, F. ; SANTOS, A.; MARQUINA, D.; BENITO, S. High Potential of *Pichia kluyveri* and Other *Pichia* Species in Wine Technology. **Int. J. Mol. Sci.** v. 22, 1196, 2021.

VITAGLIONE, P.; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N. Coffee, colon function and colorectal cancer. **Food & Function**, v. 3, n. 9, p. 916-922, 2012.

ZHANG, S. J.; BRUYN, F.; POTHAKOS, V.; TORRES, J.; FALCONI, C.; MOCCAND, C.; WECKX, S.; VUYST, L.. Following coffee production from cherries to cup: microbiological and metabolomic analysis of wet processing of *Coffea arabica*. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 85, n. 6, p. 1-22, 2019.