

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA
PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE
RAFAEL ALMEIDA CAMARINHA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**APARECIDA HIROKO DAIKAWA CARDOSO
CRISTINA SOARES DE CARVALHO
LUCIA SILVA ANDRADE PIMENTA**

**ADIÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS COMERCIAIS COMO
CULTURAS INICIADORAS EM FERMENTAÇÕES
ANAERÓBICAS DE *Coffea arabica* L. NOS ESTÁDIOS
CEREJA OU PASSA**

**MARÍLIA/SP
2º SEMESTRE/2022**

**CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA
PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE MARÍLIA ESTUDANTE
RAFAEL ALMEIDA CAMARINHA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**APARECIDA HIROKO DAIKAWA CARDOSO
CRISTINA SOARES DE CARVALHO
LUCIA SILVA ANDRADE PIMENTA**

**ADIÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS COMERCIAIS COMO
CULTURAS INICIADORAS EM FERMENTAÇÕES
ANAERÓBICAS DE *Coffea arabica* L. NOS ESTÁDIOS
CEREJA OU PASSA**

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

Orientador: Prof^a. Dra. Claudia Dorta

**MARÍLIA/SP
2º SEMESTRE/2022**

AGRADECIMENTOS

Agradecemos em primeiro lugar a Deus, pois a sua mão e misericórdia nos tem sustentado até aqui .

À nossa orientadora Profa. Dra. Cláudia Dorta por nos ter guiado, orientado com seu conhecimento, paciência e amor, nossa eterna gratidão.

À nossa coorientadora Profa. Dra. Renata Bonini Pardo, sempre presente em cada etapa dessas pesquisas.

Às nossas famílias pelo incentivo, participação , amor e paciência de esperar a nossa atenção , quando não podíamos lhes dar .

Aos demais professores por todo conhecimento que conosco compartilharam brilhantemente.

Aos colegas pelo companheirismo e incentivo mútuo.

Às empresas por contribuírem em todas as etapas desse trabalho: Café Dona Santina e Sacco Brasil.

RESUMO

Os cafés especiais fermentados são caracterizados pela condução e controle do processo fermentativo, onde há ação dos micro-organismos específicos que agregam características sensoriais em sua semente, trazendo qualidade e novas nuances para a bebida. A fermentação de café controlada é uma ciência que está se aprimorando, e este presente trabalho visou contribuir nessa área de pesquisa, verificando a eficiência de adição de cultura láctica (BAL) comercial na fermentação anaeróbia de café arábica Catuaí Amarelo, estágio de maturação cereja ou passa, analisando a sucessão microbiológica no processo e sua influência na modulação de características sensoriais em suas bebidas. O experimento foi feito numa propriedade situada na Região de Marília/ SP, sendo delineado em três tratamentos: 1)FNC= fermentação natural do café cereja, ou seja, sem adição de cultura microbiana iniciadora, 2)FCBAL = com adição de BAL Sacco Lyofast SYAB1 em café cereja e 3)FPBAL= com adição de BAL Sacco Lyofast SYAB1 em café passa. As fermentações foram realizadas durante o inverno, em Bombonas (60 L) de polietileno de alta densidade, estas foram fechadas com tampa dotada de lacre e colocadas em área externa em condições de sombra. Após 48 horas de processo fermentativo, os frutos de café foram lavados e despulpados em máquina na propriedade e a secagem completou-se em terreiro suspenso até atingir a umidade de 12%. Nas amostras foram feitas análises de pH; sólidos solúveis; temperatura; microbiológicas e sensoriais por especialista, seguindo protocolo americano. O emprego de café passa na fermentação, tornou o processo mais lento em relação aos feitos com café cereja, resultando num menor consumo de sólidos solúveis e de velocidade de acidificação. As fermentações com ou sem adição de BAL resultaram na diminuição desejada da família Enterobacteriaceae e de bolores. A adição de BAL auxiliou na manutenção de números mais elevados desse grupo até o fim do processo e estimulou o crescimento de leveduras, as quais são responsáveis por inclusão dos principais aromas desejados no grão do café. As fermentações originaram em grãos com notas que os classificaram dentro da categoria especial (≥ 80 pontos), o café passa resultou na menor nota, entretanto, BAL elevou sua pontuação de 77 para 80 pontos. A cultura láctica também teve vantagem ao fermentar o café cereja, elevando 2 pontos na sua avaliação final. Nesse sentido a adição de BAL mostrou-se viável e vantajosa na fermentação anaeróbica de café cereja ou mesmo passa.

Palavras-chave: Fermento Lyofast SYAB1. Café Catuaí Amarelo. Bombonas.

ABSTRACT

Specialty fermented coffees are characterized by the conduction and control of the fermentation process, where there is the action of specific microorganisms that add sensory characteristics in its seed, bringing quality and new nuances to the drink. Controlled coffee fermentation is a science that is being improved, and this work aim to contribute in this research area, verifying the efficiency of the addition of commercial lactic culture (BAL) in the anaerobic fermentation of Yellow Catuai Arabica coffee, during ripe and over-ripe maturation stages, analyzing the microbiological succession in the process and its influence on the modulation of sensory characteristics in the beverages. The experiment was carried out on a property located in the region of Marilia/SP, and was designed in three treatments: 1) FNC= natural fermentation of ripe cherry coffee, i.e., with no addition of microbial starter culture, 2) FCBAL= with addition of BAL Sacco Lyofast SYAB1 in ripe cherry coffee and 3) FPBAL= with addition of BAL Sacco Lyofast SYAB1 in over-ripe cherry coffee. Fermentations were carried out during the winter, in high density polyethylene drums (60L), they were closed with a lid fitted with a seal and placed in an external area in shady conditions. After 48 hours of fermentation process, the coffee fruits were washed and pulped in a machine on the property and drying was completed in a suspended terrace when reaching 12% humidity. The samples were analyzed for pH; soluble solids; temperature; microbiological and sensory analyzes by a specialist, following the American protocol. The use of over-ripe cherry coffees in the fermentation made the process slower in relation to those made with ripe cherry coffee, resulting in a lower consumption of soluble solids and acidification speed. Fermentations with or without addition of BAL resulted in the desired decrease in the Enterobacteriaceae family and in the molds. The addition of BAL helped to maintain higher numbers of this group until the end of the process and stimulated the growth of yeasts, which are responsible for the inclusion of the main desired aromas in the coffee bean. Fermentations resulted in beans with scores that classified them within the special category (≥ 80 points), over-ripe coffee resulted in the lowest score, however, BAL raised its score from 77 to 80 points. The lactic culture also showed an advantage when fermenting ripe cherry coffee, raising 2 points in its final evaluation. In this sense, the addition of BAL proved to be viable and advantageous in the anaerobic fermentation of ripe cherry or even over-ripe cherry coffee.

Keywords: Lyofast SYAB1 yeast. Yellow Catuai coffee. Drums.

SUMÁRIO

1	Introdução.....	4
2	Material e métodos	6
2.1	Material	6
2.2	Métodos	6
2.2.1	Fermentações anaeróbicas dos cafés cereja e passa	6
2.2.2	Despolpa e secagem das amostras	9
2.2.3	Análises de pH, sólidos solúveis (Brix) e temperatura dos processos fermentativos.....	10
2.2.4	Contagem de leveduras e bactérias em Câmara de Neubauer	11
2.2.5	Contagem microbiana por cultivo	12
2.2.6	Análise sensorial	13
2.2.7	Análise estatística	14
3	Resultados e discussão	15
4	Conclusões	24
	Referências Bibliográficas	25

1 INTRODUÇÃO

A fermentação do café consiste na degradação natural da polpa e da mucilagem do fruto realizada por micro-organismos. Como resultado desta degradação, temos a produção de compostos que podem interferir no sabor e aroma da bebida final (PEREIRA et al., 2019).

O café em fruta possui naturalmente enzimas e micro-organismos que podem influenciar na qualidade da bebida final, particularmente em seu sabor e aroma, seja por síntese, degradação ou excreção de metabólitos (CHALFOUN ; FERNANDES, 2013). Nesse sentido, além de proporcionar um bom ambiente para uma fermentação, a microbiota colabora com a retirada da mucilagem que está acoplada ao grão, acelerando o processo de secagem (EVANGELISTA et al., 2014; HANDOUCHE et al., 2016).

O processo de fermentação controlada pode ser por via seca, semi-seca e úmida, facilitando a obtenção de grãos verdes de qualidade. Em todos esses processos há ação de micro-organismos presentes no próprio fruto, garantindo uma fermentação de forma natural. Entretanto, ainda podem ser empregadas culturas iniciadoras, sendo mais usuais as leveduras e bactérias lácticas (BRESSANI et al., 2018; CARVALHO-NETO et al., 2017; DORTA et al., 2021;).

Durante o processo de fermentação, as leveduras agregam características diferentes ao em resposta a cada processamento utilizado, pois um pode ser melhor para o seu desenvolvimento que o outro devido, principalmente, à variação de disponibilidade de oxigênio, temperatura e pH. Quanto mais esses fungos se desenvolvem, mais diferenças sensoriais existem nos grãos de café (GELVEZ, 2017).

As bactérias lácticas e leveduras fermentativas no fruto café podem também promover a segurança microbiológica, ao competirem com bolores produtores de Ocratoxina A, bactérias patogênicas, ou até mesmo a diminuírem micro-organismos que causam alterações sensoriais indesejadas (ARAÚJO, 2018).

Uma das razões pelas quais a fermentação pode ser tão desafiadora

é o fato de que ela é o resultado de reações químicas feitas por diferentes micro-organismos distribuídos basicamente em todos os lugares: solo, folhas, frutas, água e até em forma de esporos espalhados pela atmosfera (ZHANG et al., 2019). Dependendo das condições de clima, relevo, altitude, umidade, temperatura, cultivares, pré e pós-colheita, suas reações vão se alterando e modulando em diferentes formas de sabor e aroma nos grãos de café.

O fruto café passa por diferentes estádios de maturação na planta, transitando entre verde, verde cana, cereja, uva passa e seco (DURANTE et al., 2011). Na obtenção de cafés especiais existe o cuidado para que na colheita e seleção predominem suas cerejas, aonde normalmente ocorre o estágio máximo de equilíbrio nutricional entre planta, polpa e grão, garantindo bebidas de maior qualidade. Entretanto, por várias situações delineadas pelas condições edafoclimáticas, durante a colheita do café, esse pode-se apresentar predominantemente na forma passa (PIMENTA, VILELA, 2002). Nesse sentido, a fermentação com culturas microbianas iniciadoras nos estádios avançados de maturação poderia ser testada para verificação de inclusão de um perfil sensorial mais positivo ao grão.

A fermentação de café controlada é uma ciência que está se aprimorando, e nesse sentido este trabalho visou contribuir nessa área de pesquisa, verificando a eficiência de adição de cultura láctica comercial na fermentação anaeróbica de cafés cereja e passa, analisando a sucessão microbiológica no processo e a sua influência na modulação de características sensoriais em suas bebidas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Fruto café: *Coffea arabica* L. no estágio de maturação predominante cereja ou passa, cultivar Catuaí Amarelo, safra 2021, do Sítio Olho D'Água, Padre Nóbrega, estando localizado na Micro-região de Marília no estado do São Paulo (SP). As coordenadas de satélite são: altitude cerca de 630 m, latitude 22°9'45"S e longitude 50°0'30"W. A temperatura média anual na região é 22.6°C e a pluviosidade média anual de 1326 mm.

Micro-organismos: fermento lácteo Sacco Lyofast SYAB1 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*). Este fermento a princípio usado em laticínios, foi adaptado pela empresa Sacco para fermentação de extrato de soja e de leite de coco. Ele contém tanto espécies usadas para fermentar iogurte (*S. thermophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) e linhagens consideradas probióticas, *L. acidophilus* e *B. animalis* ssp. *lactis*, também usadas na fermentação de alimentos. A parceria com essa empresa italiana vem no sentido de testar o desempenho dessas linhagens lácticas num novo substrato, o fruto café.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Fermentações anaeróbias dos cafés cereja e passa

O experimento foi dividido em três tratamentos usando café natural (fruto inteiro): 1) FNC= fermentação natural do café estágio cereja, ou seja, sem adição de fermento no processo, 2) FCBAL = adição de BAL Sacco Lyofast SYAB1 em café estágio predominando cereja (Figura 1 e 3) FPBAL= adição do mesmo inóculo láctico em café predominando passa (Figura 2). As fermentações foram realizadas durante o inverno, em bombonas de polietileno de alta densidade. Essas receberam 60 L de fruto e o fermento BAL foi diluído em 6 L de água potável como mostra (a figura 4) 10% de umidade e inoculado ao café durante o enchimento das bombonas. As BAL foram adicionadas na ordem de $5,56 \times 10^6$ UFC/ g ou $2,44 \times 10^6$ / mL, ou seja, 10 UF para cada fermentação. Em seguida as bombonas foram fechadas com tampa dotada de lacre e colocadas

em área externa, em condições de sombra, num período de 48 horas (Figura 3).

Figura 1: Processo de adição do fermento Sacco Lyofast SYAB1 no café arábica cultivar Catuaí Amarelo, predominando em estágio cereja: FCBAL



Fonte: Autores

Figura 2- bombona com café predominante passa: FPBAL



Fonte : Autores

Figura 3- Fermentações em bombonas lacradas em ambiente externo na propriedade Sítio Olho D'Água



Fonte: Autores

Figura 4- Diluição do Fermento BAL Lyofast SYAB1



Fonte: Autores

2.2.2 Despolpa e Secagem das amostras

Encerrados os processos fermentativos após 48 horas de experimento, as bombonas foram esvaziadas, os cafés levados para máquina despolpadora onde foram lavados e despolpados (Figura 5). Os grãos foram depositados em terreiro suspenso para a secagem até atingir 12% de umidade (Figura 6).

Figura 5- Lavagem e despolpa do café fermentado



Fonte :Autores

Figura 6- Secagem das amostras de café fermentado



Fonte: Autores

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

As análises seguiram metodologias oficiais descritas pelo 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 polpa 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 (Figura 7), e a temperatura foi aferida no local da fermentação por termômetro digital.

Figura 7- Aferição de pH das amostras de fermentação



Fonte: Autores

2.2.4 Contagem de leveduras e bactérias em Câmara de Neubauer

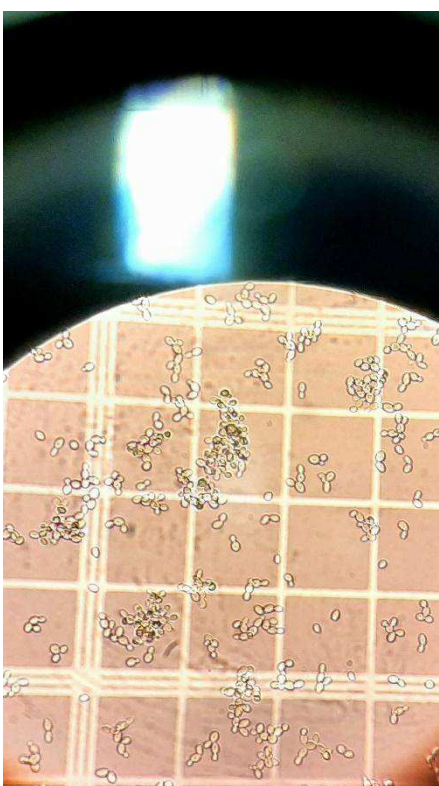
Foi aplicada a técnica de contagem do número total de células de leveduras e bactérias. mL⁻¹ em câmara de Neubauer, em Microscópio Óptico (Figuras 8 e 9), como análise microbiológica complementar às técnicas tradicionais de plaqueamento em meio Agar. O intuito da aplicação dessa análise foi trazê-la dos processos de fermentação alcoólica (etanol combustível, cerveja) adaptando-a à fermentação de café, chegando ao número de células no processo, ou mesmo do inóculo inicial, em apenas alguns minutos, enquanto que nas técnicas que envolvem o cultivo microbiano, os resultados levam em torno 48 horas para interpretação.

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 $5 \times 25 \times 10^4 \times F$,

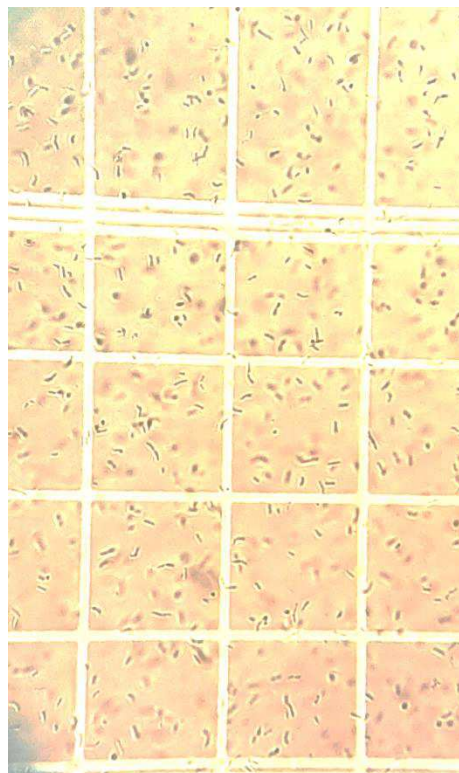
F = fator de diluição.

Figura 8- Fotomicroscopia de leveduras em Câmara de Neubauer, Objetiva 40X



Fonte: Autores

Figura 9- Fotomicroscopia de BAL em Câmara de Neubauer, Objetiva 40X



Fonte: Autores

2.2.5 Contagem microbiana por cultivo

Nas amostras foram realizadas as seguintes análises para bolores e leveduras foi feita semeadura em superfície no meio PDA acidificado; para enterobactérias no meio MacConkey Agar; e para bactérias lácticas feito 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 MacConkey Agar,

à 35°C por até 2 dias em Estufa Bacteriológica. A Figura 10 mostra placas e meios de cultura usados nessas análises.

Figura 10- Placas de Petri e meios de cultivo usados nos experimentos



Fonte: Autores

2.2.6 Análise Sensorial

Foram realizadas análises sensoriais nos cafés resultantes dos experimentos até o momento por 1 provador especialista (Figura 11) seguindo o protocolo do SCAA (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA, 2015). Utilizando-se 150g de café verde (sem pergaminho) de cada tratamento para a torra, os grãos torrados a 150°C por 8 a 12 minutos foram separados em 5 xícaras com 8g cada e foram moídos, então feita a prova sensorial do atributo. Adicionou-se água quente até a boca da xícara e feita à prova de aroma, uniformidade, ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio e final. Ainda este ano (2022), provavelmente, amostras desses cafés serão encaminhadas para a empresa de cafés especiais Capricórnio Coffees para serem avaliadas por mais provadores especialistas.

Figura 11 – Prova sensorial de café seguindo protocolo SCAA



Fonte: Autores

2.2.7 Análise estatística

As variáveis experimentais FCBAL e FPBAL foram conduzidas em triplicata e a FNC feita sem repetição.

Os dados em triplicata obtidos nas análises microbiológicas de café foram avaliados estatisticamente pela ANOVA e complementado com o Teste de Tukey, no nível de 5% de significância (BUSSAB; MORETTIN, 2017).

Os dados em triplicata, das análises físicas e químicas, foram submetidos ao Teste t de student no nível de 5% de significância (BUSSAB; MORETTIN, 2017).

O software estatístico utilizado foi BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2020).

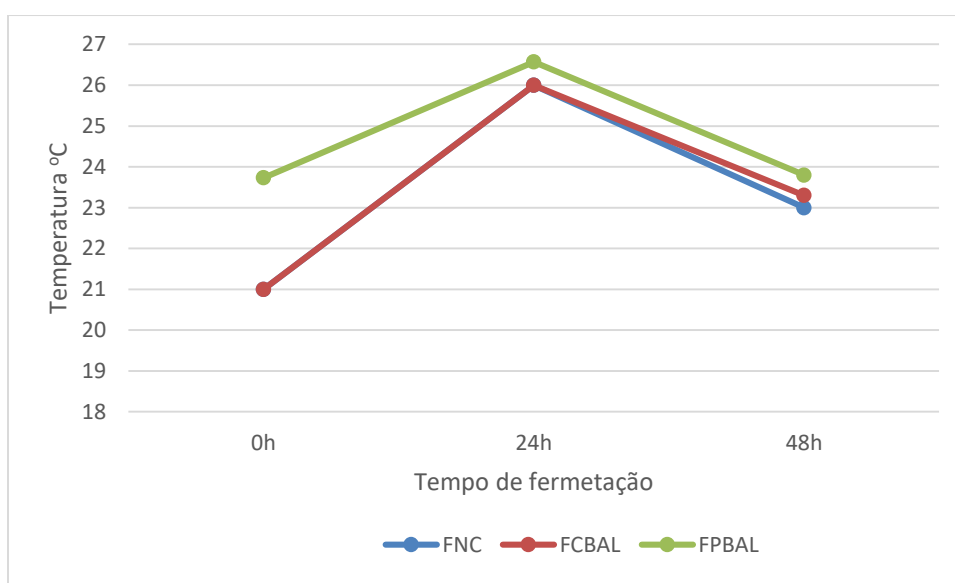
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 12 mostra a variação da temperatura de fermentação anaeróbia do café Catuaí Amarelo durante 48 horas. As temperaturas entre os tratamentos mostraram variação semelhante durante o experimento, oscilando entre 21 até 26,57°C, sendo que em FPBL ocorreu os maiores valores em relação as outras variáveis amostrais, havendo significância ($p < 0,05$) nessa diferença quando comparado à FCBAL, nos três tempos amostrados. Em 24 horas as temperaturas atingiram os maiores valores e em 48 h diminuíram.

Mota et al. (2020, 2022) obtiveram a variação de temperatura em processos fermentativos de café arábica natural e despulpado em bombonas, com resultados semelhantes ao do atual trabalho. Segundo esses autores, enquanto os sólidos solúveis vão sendo consumidos pelos micro-organismos a temperatura sobe e quando a intensidade da fermentação diminui, ela é reduzida, sendo esta sequência esperada para um processo bem conduzido.

Temperaturas abaixo de 30°C, favorecem as leveduras (FRANCO, LANDGRAF, 2008) e podem auxiliar numa fermentação positiva, no sentido de produzirem compostos aromáticos que migram para o grão do café.

Figura 12- Variação de Temperatura durante as fermentações anaeróbias de café Catuaí Amarelo



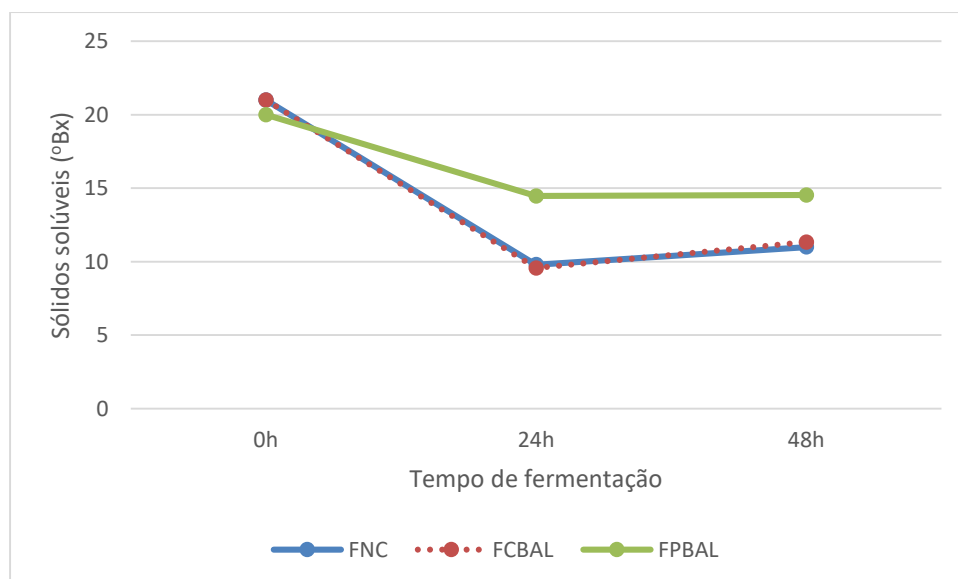
Fonte: Autores

Legenda: FNC= Fermentação em café cereja sem adição de inóculo, FCBAL= Fermentação em café cereja com adição de BAL Lyofast SYAB1 e FPBAL = Fermentação em café passa com adição de BAL Lyofast SYBA1

Os frutos colhidos no estágio de maturação cereja do café arábica apresentaram maior peso dos grãos e maiores teores de acidez titulável total, de açúcares redutores, não redutores e totais e sólidos solúveis totais, quando comparados com frutos imaturos, que apresentaram elevados teores de compostos fenólicos (NOBRE et al., 2011).

Os sólidos solúveis são representados principalmente pelos açúcares no fruto, são utilizados para o crescimento microbiano em forma de substrato, ou seja, com um Brix elevado, maior a possibilidade de fermentação e conseqüentemente a mudança sensorial na bebida (PEREIRA et al., 2015). Nesse sentido, o maior consumo dessas substâncias poderia indicar um melhor desempenho fermentativo, pois representam possíveis nutrientes para os micro-organismos, os quais serão catabolizados e convertidos em metabólitos, como etanol, ácidos orgânicos, ésteres, entre outros. Os metabólitos podem alterar percepções sensoriais nas provas de café, inclusive, melhorando notas dadas por provadores especialistas, e valorizando o produto para seu comércio (MENDONÇA, PEREIRA, MENDES, 2005; PEREIRA et al., 2019).

A Figura 13 mostra os sólidos solúveis das polpas do café durante a



Fonte: Autores

Legenda: FNC= Fermentação em café cereja sem adição de inóculo, FCBAL= Fermentação em café cereja com adição de BAL Lyofast SYAB1 e FPBAL = Fermentação em café passa com adição de BAL Lyofast SYBA1

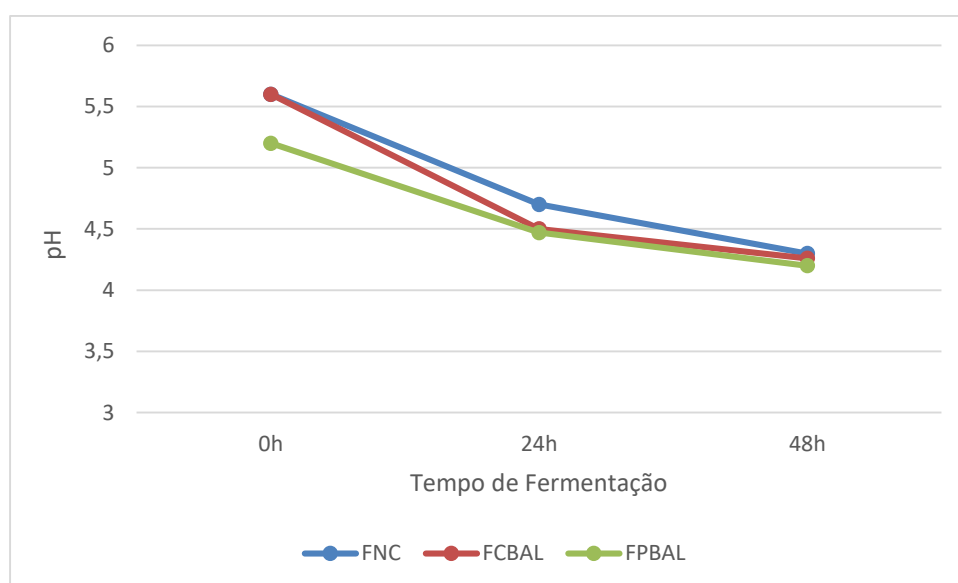
fermentação anaeróbia em 48 horas de processo. O Brix inicial foi apenas 5% maior no café cereja comparado ao passa e essa diferença foi considerada significativa (Teste t, $p < 0,05$). Nas variáveis FNC e FCBAL houve maior consumo do Brix em 24 h (=54%) e em 48 h (=46%) de fermentação anaeróbia do que em FPBAL (~ 27,35%), indicando melhor performance dos micro-organismos fermentadores no café cereja, sendo este resultado coerente com a literatura. Poderia influenciar esse resultado: maior competição entre os micro-organismos que aparecem em grande número no café passa, metabólitos liberados que podem agir antagonicamente, diferenças na composição nutricional e menor atividade de água.

Conforme a fermentação vai ocorrendo, o pH do meio vai diminuindo em função da liberação de ácidos orgânicos quando os micro-organismos catabolizam os açúcares presentes na polpa do café. Essa etapa é esperada, uma vez que alteram a composição da celulose e mucilagem e posteriormente auxiliam na etapa de secagem do grão (MARTINEZ et al., 2021; SILVA, 2015,). Quando na fermentação o pH atinge entre 4,5 e 4,0 é recomendado que haja o término do processo, podendo interferir na qualidade do grão. Valores menores que pH 4,0 sinalizam a produção de ácidos propiônicos, butíricos ou mesmo quantidade indesejadas (PEÑUELA-MARTÍNEZ, ZAPATA-ZAPATA, DURANGO-RESTREPO, 2018).

A Figura 14 mostra que as três variáveis amostrais apresentaram valores de pH desejados entre 24 e 48h de fermentação. O pH inicial do café passa (FPBAL) foi considerado significativamente menor (Teste t, $p < 0,05$) do que no café cereja (FCBAL), indicando que neste primeiro já existiu um certo grau de fermentação. A adição de BAL no café cereja resultou na maior diminuição do pH em 24 h (20%) e 48 h (24%) quando comparado à fermentação natural (16 e 23%, respectivamente), mostrando que a adição dessas culturas lácticas acelerou a produção de ácido láctico no meio, o qual é caracterizado por ter pKa 3,6, exercendo, assim, efeito na maior liberação de H^+ no meio, podendo mostrar proteção quanto às bactérias patogênicas que têm maior dificuldade de crescimento em pH mais ácidos. A variável FPBAL mostrou menor redução proporcional no pH do meio fermentativo, ou seja, em 24 h foi de 14% e em 48

h, 19%, complementando a ideia que nessa condição de café passa, mesmo adicionando BAL, possa haver competição com os micro-organismos naturais que já estão em maior número, metabólitos tóxicos, e menos nutrientes e umidade no processo, tornando o catabolismo mais lento.

Figura 14- Variação do pH durante as fermentações anaeróbias de café arábica Catuaí Amarelo



Fonte: Autores

Legenda: FNC= Fermentação em café cereja sem adição de inóculo, FCBAL= Fermentação em café cereja com adição de BAL Lyofast SYAB1 e FPBAL = Fermentação em café passa com adição de BAL Lyofast SYBA1

Os micro-organismos estão presentes naturalmente em todas as etapas de pré e pós-colheita e influenciam diretamente a qualidade do produto. Os grãos de café possuem naturalmente precursores necessários para gerar aromas e sabores típicos durante a torrefação e a microbiota natural presente durante a fermentação/secagem confere aromas especiais na bebida. O conhecimento das espécies microbianas dominantes no café e no processamento é extremamente relevante para obtenção de bebidas de qualidade (VILELA *et al.*, 2010). Ribeiro (2018) explica que a biodiversidade microbiana do café varia em número e espécie, depende da variedade de café, propriedades físicas e químicas do epicarpo, método de processamento e fatores ambientais da região em que são cultivadas.

Fermentações desejadas de cafés resultam da diminuição de enterobactérias, clostridium e bolores após a fermentação e aumento de bactérias láticas e leveduras (CARVALHO-NETO et al., 2017; DORTA et al., 2021; ZHANG et al., 2019).

O uso de culturas iniciadoras emergiu nos últimos anos como uma promissora alternativa para controlar o processo de fermentação e promover o desenvolvimento da qualidade de produtos de café (BRESSANI et al., 2018).

A Tabela 1 mostra o LogUFC dos micro-organismos analisados no café fruta sem fermentar e ao final de fermentação. Em 48h de processo houve a diminuição de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae nas três variáveis experimentais. Esse resultado positivo foi considerado significativo (Tukey, $p < 0,05$) nas variáveis FNC e FPBAL com redução de 2,5 e 2,75 ciclos logarítmicos de UFC, respectivamente, em relação ao fruto inicial. Na variável FCBAL houve redução dessas bactérias, entretanto, em 1 ciclo logarítmico.

Tabela 1- Perfil microbiológico das fermentações anaeróbias de café cereja e passa

LogUFC/g	T0-C	T0-P	FCBAL	FPBAL	FNC
Enterobacteriaceae	5,49 ± 1,01 bc ¹	6,90 ± 0,30 c	4,53 ± 0,49 b	4,15 ± 0,23 b	3 a
Bactérias láticas (BAL)	2,40 ± 0,10 a	2,88 ± 0,12 a	7,68 ± 0,08 c	8,51 ± 0,37 d	7,11 b
Leveduras	4,33 ± 0,15 a	4,60 ± 0,30 a	5,28 ± 0,13 b	7,06 ± 0,06 c	4,48 a
Bolores	4,49 ± 0,50 b	5,50 ± 0,50 c	<2 a	<2 a	<2 a

Fonte: Autores

(1) Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si na comparação das amostras dispostas em linha

Legenda: T0-C= café cereja sem fermentar, T0-P= café passa sem fermentar, FNC= Fermentação em café cereja sem adição de inóculo, FCBAL= Fermentação em café cereja com adição de BAL Lyofast SYAB1 e FPBAL = Fermentação em café passa com adição de BAL Lyofast SYBA1

Essa família de bactérias Gram-negativas ao fermentarem o café, inicialmente auxiliam na produção de enzimas que degradam a polpa, mas em maior intensidade podem liberar compostos que prejudicam o aspecto sensorial do grão, além de poder ter representantes que causam risco a saúde. Segundo Janda e Abbott (2021), a família Enterobacteriaceae se destaca atualmente, como nenhuma outra, gerando grande impacto médico, de saúde pública e veterinária na comunidade global. Essas são associadas a uma ampla gama de síndromes

clínicas, representantes de agentes causadores de enterite transmitida por alimentos e infecções zoonóticas, que incluem surtos esporádicos às pandemias de peste humana. Suas bactérias são amplamente difundidas na natureza, em muitos ecossistemas de ocorrência natural, membros da família estão cada vez mais sendo implicados como patógenos de espécies de piscinas (natural, aquicultura), bem como agente etiológico de uma variedade de doenças vegetais. Fazem parte dessa família patógenos humanos como cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, entre outras (SILVA et al., 2010).

Grande parte das bactérias lácticas precisa de concentrações baixas de oxigênio para se desenvolver mais rapidamente (MASSAGUER, 2005), o que pode-se justificar a baixa presença nesse grupo, no fruto de café recém colhido (amostras T0-C e T0-P). Entretanto, quando a fermentação ocorre em Bombonas lacradas o potencial de óxido-redução do processo diminui e favorece o crescimento deste grupo bacteriano (MOTA et al., 2022). Segundo Elferink et al. (2001), as condições anaeróbicas estabelecidas nos biorreatores forneceram um ambiente ideal para o desenvolvimento de bactérias ácidas, permitindo seu crescimento rápido e levando a uma acidificação do meio.

O número final de BAL nos tratamentos fermentativos foi superior em 4,71; 5,28 e 5,63 ciclos logarítmicos de UFC/ g de café para FNC, FCBAL e FPBAL, respectivamente, quando comparado aos frutos não fermentados. As fermentações com adição de BAL comercial resultaram nos maiores valores finais, mostrando que as culturas iniciadoras ajudaram a manter um padrão mais alto dessas culturas durante o processo fermentativo.

Além das BAL produzirem metabólitos como peptídeos antimicrobianos (como nisina, pediocina, diplococina e plantacina), ácidos orgânicos como o láctico, acético, propiônico e fórmico, peróxido de hidrogênio, pH baixo, baixo O₂ (DELBONI, YANG, 2017; MASSAGUER, 2005) e competirem com bactérias indesejadas ou mesmo bolores, essas podem produzir determinados compostos aromáticos como ácidos orgânicos e ésteres (PEREIRA et al., 2016), embora, segundo a literatura, as leveduras sejam mais eficientes nesse quesito de inclusão sensorial (PEREIRA et al., 2019).

Segundo Lu et al. (2022), dentre as BAL utilizadas para fermentar diferentes alimentos, inclusive vegetais, as cepas de lactobacilos produzem

grandes quantidades de ácido láctico, um composto não volátil e inodoro que contribui para o aroma do produto, além de componentes aromáticos que incluem aldeídos, ácidos orgânicos, álcoois superiores, ésteres, ácidos carboxílicos e cetonas.

Segundo Massawee e Lifa (2010), a ação das bactérias do ácido láctico permite que o pH ácido impeça a proliferação de outras bactérias e favoreçam o crescimento de leveduras, que são consideradas importantes para o desempenho da fermentação e para o desenvolvimento de sabores de café. Nesse sentido, a Tabela 1 mostra concordância com os autores, pois os tratamentos com a adição de bactérias lácticas da empresa Sacco Brasil, resultaram no maior estímulo de crescimento das leveduras. Nos tratamentos FPBAL e FCBAL houve aumento significativo (Tukey, $p < 0,05$) de 2,46 e 0,93 ciclos logarítmicos de leveduras, respectivamente. Em FNC, fermentação sem adição do fermento láctico, o aumento de 0,15 ciclo logarítmico em relação a carga inicial do fruto cereja não foi considerada relevante (Tukey, $p > 0,05$).

O método anaeróbico contribui para o crescimento da levedura e de BAL (MARTINEZ et al., 2017). A interação sinérgica entre bactéria láctica e levedura favorece sua predominância durante o processo fermentativo. Portanto, o crescimento da levedura em alimentos fermentados é favorecido pelo ambiente acidificador criado por BAL. A levedura pode fornecer fatores de crescimento, como vitaminas e compostos solúveis de nitrogênio que estimulam o crescimento de bactérias ácidas lácticas (ADESULU-DAHUNSI et al., 2020).

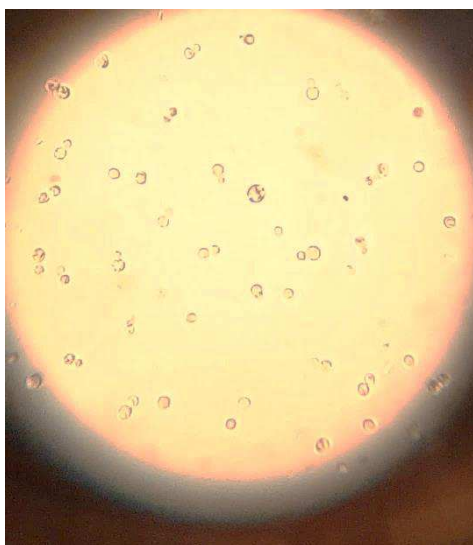
Em concordância com os resultados apresentados na Tabela 1, Dorta *et al.* (2021) ao adicionarem quatro tipos diferentes de fermentos BAL da empresa Sacco obtiveram maior número de leveduras autóctones no processo de fermentação úmida de café, ou seja acima de 1,5 ciclos logarítmicos, em comparação aos tratamentos sem adição, além de contribuírem para as maiores notas sensoriais dadas por provador especialista, seguindo o protocolo SCAA (2015).

As leveduras estão entre os micro-organismos mais frequentemente isolados na fermentação de grãos de café. Elas são consideradas importantes para o desempenho da fermentação e para o desenvolvimento de sabores de café. As espécies de ocorrência mais frequentes durante o processamento do café são *Pichia kluyveri*, *Pichia anomala*, *Hansenia sporauvarum*,

Saccharomyces cerevisiae, *Debaryomyces hansenii* e *Torulaspota delbrueckii*. *Pichia fermentans* (CARVALHO-NETO, 2017).

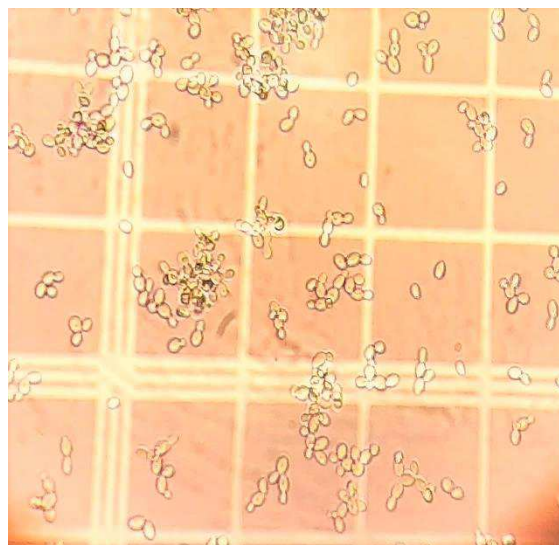
As figuras 14 e 15 mostram a fotomicroscopia de duas leveduras cultiváveis em meio PDA, predominantes após 48h de processo fermentativo da variável FCBAL. Essas foram isoladas e estocadas em meio YM glicerol 20% e armazenadas a -80°C em Ultra-freezer, no Laboratório de Microbiologia da Fatec Marília, com intuito de serem empregadas como culturas iniciadoras de fermentações na mesma propriedade, numa próxima safra. As leveduras selecionadas ainda não foram identificadas geneticamente, mas se assemelham metabolicamente, no formato e cor de colônia, liberação de aromas e morfologia celular, aos gêneros *Saccharomyces* (Figura 14) e *Pichia* (Figura 15).

Figura 14- Fotomicroscopia da levedura semelhante ao gênero *Saccharomyces*, isolada do processo fermentativo (FCBAL), Objetiva 40X



Fonte: Autores

Figura 15- Fotomicroscopia da levedura semelhante ao gênero *Pichia*, isolada do processo fermentativo (FCBAL), Objetiva 40X



Fonte: Autores

Os bolores ao crescerem no café podem tanto interferir na qualidade sensorial do grão ou até mesmo produzir micotoxinas (CHALFOUN, FERNANDES, 2013). A micotoxina mais estudada em café é a ocratoxina A, e sua presença tem sido atribuída principalmente ao fungo *Aspergillus ochraceus*

e espécies relacionadas, *Aspergillus carbonarius* e raramente por *Aspergillus niger*. Devido às suas propriedades hepatóxica, nefrotóxica, carcinogênica e imunossupressiva para animais, e possivelmente, para humanos, vários países têm elaborado legislações que permitem uma concentração máxima de ocratoxina A em produtos agrícolas e derivados (BATISTA; CHALFOUN, 2007).

A Tabela 1 mostra que os maiores números de micro-organismos iniciais foram encontrados no café passa (T0-P), entretanto, a diferença mais expressiva foi verificada quanto aos bolores. A presença desses fungos filamentosos nos frutos passa recém-colhidos foi 10 vezes maior em relação ao estágio cereja (T0-C), sendo esta diferença considerada significativa (Tukey, $p < 0,05$). Todos os processos fermentativos foram primordiais para a diminuição significativa desse grupo microbiano no café, reduzindo para ausência na contagem em placas de meio PDA acidificado. Entretanto, essa metodologia só detecta quantidades igual ou acima de 10^2 , por isso, os valores listados como $< 2 \text{ LogUFC/g}$ na tabela, e esse pode significar até ausência.

De acordo com a literatura as bactérias lácticas podem ser responsáveis pela redução na contagem dos bolores nesses experimentos. Segundo Pereira et al. (2016), bactérias ácido lácticas agiram contra cepas de fungos ocratoxigênicos, como *Aspergillus westerdijkiae* por cepas de *Lactobacillus brevis*. Essa inibição ocorre provavelmente tanto pela redução do potencial de óxido-redução no meio fermentativo, no sentido que os bolores fazem apenas metabolismo aeróbio, ou até mesmo por peptídeos antimicrobianos sintetizados por essas bactérias.

Segundo a SCAA (2015), as pontuações finais nas provas de xícaras quanto à escala de qualidade são: 90 a 100 = Exemplar, 85-89,99 = Excelente, 80- 84,99 = Muito bom, < 80 abaixo da qualidade especial.

Segundo Mota et al. (2022) o biorreator pode causar impacto positivo que se reflete nos atributos sensoriais percebidos, como doçura, acidez e corpo, principalmente associados à qualidade aperfeiçoada do café.

Após análise sensorial das amostras de café fermentado por especialista em provas comerciais na Região de Marília, todas as fermentações resultaram em cafés especiais, sendo as notas finais para FPBAL= 80, FCBAL= 85 e FNC = 85. O café cereja processado sem fermentar se enquadrou dentro da categoria especial, obtendo nota 83. Entretanto, o café Catuaí Amarelo estágio passa não

fermentado, da mesma safra deste experimento, obteve nota final 77, ou seja, abaixo da categoria para ser considerado especial. É notável que a fermentação controlada e a adição de BAL comercial elevaram a qualidade sensorial do café testado, inclusive no café cujo o estado de maturação predominava passa.

Segundo Mota et al. (2022), o método anaeróbio em bombonas resultou em maior quantidade de ácido láctico no café fermentado e elevou em até 2 pontos as notas pela pontuação SCA. Esses autores consideraram o processo de fermentação em condições anaeróbia em bombonas acessível aos produtores e que contribui para a obtenção de cafés com sensorial diferenciado perfis e aumento da qualidade da bebida.

Filete et al. (2020) em estudos de processos anaeróbicos em café, mostraram que com a inoculação de BAL fermento probiótico BioRich e *Saccharomyces cerevisiae* da Fleischmann[®], em fermentações de café cereja natural, houve melhora na qualidade sensorial do grão e a utilização de bactéria láctica em meio anaeróbico contribuiu para o acréscimo da qualidade global em função do tempo de fermentação. Zhang et al. (2019) observaram também que houve melhora na qualidade sensorial dos grãos após fermentações mais longas nos cafés, chamando atenção para a importâncias das bactérias lácticas.

4 CONCLUSÕES

A fermentação anaeróbia do café Catuaí Amarelo estágio passa tornou o consumo de nutrientes mais lento, resultando num menor catabolismo e menor velocidade na redução do pH durante o processo. Entretanto, a fermentação com adição de BAL da Sacco melhorou a qualidade sensorial desses grãos, passando-os inclusive para a categoria de café especial.

A adição de BAL Sacco no café cereja resultou no aumento da pontuação sensorial em relação ao café em que não foi feita a adição de culturas iniciadoras.

O fermento Lyofast SYAB1 Sacco, mostrou resultados positivos na elevação do número de leveduras autóctones, as quais produziram maior número de compostos aromáticos, resultando no incremento sensorial no final do processo.

Todos os processos de fermentação anaeróbia testados agiram antagonicamente à microbiota com potencial patogênico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESULU-DAHUNSI, A. T.; DAHUNSI, S. O.; OLAYANJU, A.. Synergistic microbial interactions between lactic acid bacteria and yeasts during production of Nigerian indigenous fermented foods and beverages. **Food Control**, 110, 106963, 2020.

ARAUJO, G. A. F. **Novos processos de fermentação para potencializar o perfil sensorial dos cafés obtidos no município de Coromandel**. Patrocinio- MG. UNICERP, 2018.

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.

BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M. Incidência de Ocratoxina A em diferentes frações de café (*Coffea arabica* L.): boia, mistura e varrição após secagem em terreiros de terra, asfalto e cimento. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 31, n. 3, p. 804-813, 2007.

BRESSANI, A. P. P; MARTINEZ, S. J.; EVANGELISTA, S. R.; DIASA, D. R.; SCHWAN, R. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 92, p. 212-219, 2018.

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

CARVALHO NETO, D.P, PEREIRA, G.V.M., TANOBE, V.O.A, SOCCOL, V.T, SILVA, B.J.G., RODRIGUES, C., SOCCOL, C. R. Yeast Diversity and Physicochemical Characteristics Associated with Coffee Bean Fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro Region. **Fermentation**, v. 3, n. 11, p.1-11, 2017.

CHALFOUN, S. M; FERNANDES, A. P. **Efeitos da fermentação do café na qualidade da bebida do café**. Visão Agrícola n^o12, jul., 2013

DRIEHUIS, F.; OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; Van WIKSELAAR, P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*, v.56, p.330-343, 2001.

DELBONI RR, YANG HM. Modelo matemático de interação entre bactérias de ácido láctico produtoras de bacteriocina e listeria. Parte 2: Bifurcations e Aplicações. **Bull Math Biol**, v 79, n.10, p.2273-2301, 2017.

DORTA, C. *et al.* Fermentação de café via úmida com adição de culturas iniciadoras e a inclusão de características sensoriais na bebida / Wet coffee fermentation with addition of starter cultures and the inclusion of sensory characteristics in the beverage. **Brazilian Journal Of Animal And Environmental Research**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 579-589, 2021. BJAER - Brazilian Journal of Animal and Environmental Research.

DURANTE et al.. Qualidade do café colhido em diferentes estádios de maturação. VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil 22 a 25 de Agosto de 2011, Araxá – MG.

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

FILETE, C.A. et al. Fermentação Anaeróbica no café arábica e seu impacto no perfil sensorial. *Ipes Ciência*. v. 6, n.3, p. 112-123, 2020.

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

GELVEZ, S. J. M. **Improvement characteristics of semi-dry coffee fermentation**. Dissertação de Mestrado defendida na Universidade Federal de Lavras, 2017.

HAMDOUCHE, Y.; MEILE, J.C; NGANOU, D.N.;DURAND, N.; TEYSSIER, C. Discrimination of post-harvest coffee processing methods by microbial ecology analyses, **Food Control**, v.65, p. 112-120, 2016.

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.

JANDA, J.M.; ABBOTT, S.L., The Changing Face of the Family Enterobacteriaceae (Order: “Enterobacterales”): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 34, n. 2, p.00174-20, 2021.

LU, Y.; XING, S; HE, L.; LI, C.; WANG, X.; ZENG, X.; DAI, Y. , Characterization, High-Density Fermentation, and the Production of a Directed Vat Set Starter of Lactobacilli Used in the Food Industry: A Review. **Foods**. v. 11, n.19m, p.3063, 2022.

MARTINEZ, S. J.; BRESSANI, A. P. P.; MIGUEL, M. G. C. P.; DIAS, D. R., SCHWAN, R. F. (2017). Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. **Food Research International**, v.102, p. 333–340., 2017.

MARTINEZ, S.J.;RABELO, M.H.S; BRESSANI, A.P.; MOTA, M.C.B; BORÉM, F.M; SCHWAN, R.F. Novos tanques de aço inoxidável aumentam a qualidade

da fermentação do café. *Food Research International*, V. 139,109921, 2021.

MASSAGUER, P. R. De. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Varela, 2005. 258 p. ISBN 85-85519-54-1.

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

MENDONÇA, L.M.V.L.; PEREIRA, R.G.F.A.; MENDES, A.N.G. **Parâmetros Bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.)**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.25, n.2, p. 239-243, 2005.

MOTA, M.C.B; BATISTA, N.N.; DIAS, D.R.; SCHWAN, R.F. Impact of microbial self-induced anaerobiosis fermentation (SIAF) on coffee quality. *Food Bioscience*, v.47, 101640, 2022.

MOTA, M.C.B; BATISTA, N.N.; RABELO, M.H.S; RIBEIRO, D.E., BORÉM, F.M., SCHWAN, R.F. Influência das condições de fermentação ;a qualidade sensorial do café inoculado com levedura, *Food Res Int.*, v.136, 109482, 2020.

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.

PEÑUELA-MARTÍNEZ, A.E.; ZAPATA-ZAPATA, A.E.; DURANGO-RESTREPO, 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.

PEREIRA, G. V. M.; CARVALHO NETO, D. P.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. I.; VÁSQUEZ, Z. S.; MEDEIROS, A. B. P.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R. Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans - **A review**. *Food Chem*, v. 272, p. 441-452, 2019.

PEREIRA, Gilberto Vinícius de Melo *et al.* Conducting starter culture-controlled 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.

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

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

RIBEIRO, L. S. **Application of microorganisms for coffee fermentation**. 2018. 162 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018. Disponível em: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/29343/2/TESE_Application%20of%20microorganisms%20for%20coffee%20fermentation.pdf. Acesso em: 17 jan. 2022.

SILVA, C.F.. **Atividade 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.

SPECIALITY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. SCAA Protocols. **Cupping Specialty Coffee**. Long Beach: SCAA, 2015.

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

VILELA, D. M.; PEREIRA, G. V. M.; SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; SCHWAN, R. F.. Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). **Food Microbiol.** 27, 1128–1135, 2010.

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.