

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

MARILIA GABRIELA FERREIRA BARBIERI

**“DESEMPENHO FERMENTATIVO DA LEVEDURA *Pichia kluyveri*
R8 E DO FERMENTO LÁTICO COMERCIAL ADICIONADOS EM
CEREJAS DE *Coffea arábica* DURANTE PROCESSO PÓS-
COLHEITA”**

**MARÍLIA/SP
2º SEMESTRE/2023**

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

MARILIA GABRIELA FERREIRA BARBIERI

**“DESEMPENHO FERMENTATIVO DA LEVEDURA *Pichia kluyveri*
R8 E DE FERMENTO LÁTICO COMERCIAL ADICIONADOS EM
CEREJAS DE *Coffea arábica* DURANTE PROCESSO PÓS-
COLHEITA”**

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

Orientador: Profa. Dra. Claudia Dorta

**MARÍLIA/SP
2º SEMESTRE/2023**

RESUMO

Nos últimos anos, o mercado de café tem evoluído para atender à crescente demanda por cafés especiais. As fermentações de café espontâneas ou com adição de culturas microbianas, são opções para que essas influenciem positivamente nas características sensoriais dos grãos e resulte em bebidas especiais. A adição de culturas em fermentações tem se mostrado promissora na produção de grãos com nuances sensoriais apreciados, entretanto, muito ainda deve ser pesquisado sobre a interação desses micro-organismos com diversas variações de processo, para que estes sejam otimizados. Neste contexto, este trabalho investigará a capacidade fermentativa e de modulação microbiana pela levedura autóctone *Pichia kluyveri* R8 e por bactérias lácticas comerciais durante o processamento anaeróbico em café cereja Catuaí Amarelo. Foram feitos testes fermentativos distribuídos em 4 tratamentos: Fe = fermentação espontânea (controle), F1= fermentação com adição do fermento lácteo M036L-SACCO, F2= com adição de M036L-SACCO e a levedura indígena (*Pichia kluyveri* R8) e F3= com adição de levedura *P. kluyveri* R8. Nas amostras foram feitas análises de pH, sólidos solúveis, temperatura e microbiológicas. A levedura *Pichia Kluyveri* R8 teve um melhor resultado no desempenho fermentativo quando comparada com a bactéria láctica M036L-SACCO, apresentando um consumo do brix significativo, produzindo aromas e sabor e acidificando, resultando em uma bebida especial. O interessante na utilização da levedura *P. Kluyveri* R8 para fermentação em café cereja é obter o resultado esperado em até 24h, podendo concluir o experimento com rapidez e com bons resultados em relação aos outros experimentos.

Palavras-chave: Culturas iniciadoras. Fermentação controlada. Fermentação anaeróbia. Catuaí Amarelo.

ABSTRACT

In recent years, the coffee market has evolved to meet the growing demand for specialty coffees. Spontaneous coffee fermentations or those with the addition of microbial cultures are options to positively influence the sensory characteristics of the beans and result in special beverages. The addition of cultures in fermentations has shown promise in producing beans with appreciated sensory nuances; however, much research is still needed on the interaction of these microorganisms with various process variations for optimization. In this context, this study will investigate the fermentative and microbial modulation capacity of the indigenous yeast *Pichia kluyveri* R8 and commercial lactic acid bacteria during the anaerobic processing of Catuaí Amarelo coffee cherries. Fermentation tests were conducted with four treatments: Fe = spontaneous fermentation (control), F1 = fermentation with the addition of the M036L-SACCO lactic acid yeast, F2 = with the addition of M036L-SACCO and the indigenous yeast (*Pichia kluyveri* R8), and F3 = with the addition of *P. kluyveri* R8 yeast. Samples underwent analyses for pH, soluble solids, temperature, and microbiology. The yeast *Pichia Kluyveri* R8 showed better fermentative performance compared to the lactic acid bacteria M036L-SACCO, exhibiting significant brix consumption, producing aromas and flavors, and acidifying, resulting in a special beverage. The interesting aspect of using *P. Kluyveri* R8 yeast for coffee cherry fermentation is achieving the expected result within 24 hours, allowing for a quick experiment conclusion with good results compared to other experiments.

Keywords: Starter cultures. Controlled fermentation. Anaerobic fermentation. Catuaí Amarelo.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
2	MATERIAIS 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
2.2.1	Preparo de inóculo de levedura para as fermentações.....	8
2.2.2	Fermentações anaeróbicas.....	9
2.2.3	Secagem do café fermentado.....	11
2.2.4	Análise de pH, temperatura e sólidos solúveis durante o processo de fermentação.....	11
2.2.5	Análise microbiológicas por plaqueamento.....	12
2.2.6	Análise microbiológica em microscópio óptico	12
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	10
3.1	Resultados físico-químico.....	14
3.2	Resultados microbiológicos.....	16
4	CONCLUSÃO	18

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das principais *commodities* agrícolas produzidas no Brasil e tem uma grande importância na economia do país, pois esse é o maior produtor e exportador de café do mundo, se tornando responsável por mais ou menos um terço da produção global (Degreenia, 2023).

O setor cafeeiro é importante para a economia local de diversas regiões do país, principalmente nas regiões Sudeste e Sul (Minas Gerais, São Paulo e Paraná), gerando empregos em diversas etapas do processo produtivo, desde a colheita até a comercialização do produto (Lópes Netto *et al.*, 2015).

O café se tornou uma das bebidas mais apreciadas em todo mundo, e ao longo dos anos, tem havido notáveis mudanças em sua produção, processamento, comercialização e cultura de consumo (Guimarães *et al.*, 2019). Com o aumento da demanda por cafés especiais e de alta qualidade, o mercado tem expandido para atender às necessidades dos consumidores (Giacalone *et al.*, 2019). O consumo global de cafés especiais está crescendo, com um aumento de 1,5% ao ano na última década, impulsionado pelo lançamento de novos produtos, pesquisas e o surgimento de cafeterias especializadas. Por essa razão, é importante examinar o comportamento e os desejos dos consumidores (Wang; Yu, 2016) para identificar muitas oportunidades de mercado que podem ser exploradas com precisão e qualidade.

A qualidade do café, que é determinada pelo sabor, aroma e além do mais formação de preço é afetada por diversos fatores antes e depois da colheita, que influenciam o produto. Entre os fatores antes da colheita, destacam-se a espécie e variedade do café, local de cultivo, maturação dos grãos, incidência de micro-organismos e adubação (Chalfoun; Fernandes, 2013).

Em relação aos fatores pós-colheita, destacam-se as fermentações enzimáticas e microbianas, a secagem, o armazenamento do café beneficiado, a mistura de grãos arábica e robusta e a torrefação dos grãos (Chalfoun; Fernandes, 2013).

O café começou a ser fermentado para remover a camada de mucilagem que envolve o grão, facilitando a secagem, entretanto, sem um controle minucioso desse

processo, pode acabar prejudicando as características sensoriais do produto (Sarrazin, 2000).

Há diferenças entre os cafés processados por fermentação úmida e seca, que produzem bebidas com diferentes características, mas ambos podem ter qualidade superior (Medeiros; Niro, 2022).

A fermentação malconduzida sob condições desfavoráveis pode resultar em perdas de qualidade. O produto descascado produzido sem remover a mucilagem pode proporcionar um café de alta qualidade, mas isso exige condições específicas de manejo do café durante a secagem. A aderência da mucilagem aos grãos pode representar um risco de desenvolvimento de micro-organismos que afetam a qualidade do produto (Pereira *et al.*, 2019).

A fermentação controlada em cafés tem melhorado suas qualidades sensoriais, resultando em um aumento significativo de suas pontuações dadas por especialistas de prova, conhecidos como *Q-grader*, seguindo a metodologia SCAA (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA) (Silva, 2021).

As fermentações podem ser feitas de forma aeróbica (em terreiros), anaeróbica (em recipientes fechados, como Bombonas) e microaerófila (em tanques de água abertos), utilizando processamentos via seca, semi seca e via úmida (Muinhos, 2019; Pavesi, 2021). As fermentações feitas em anaerobiose em Bombonas constituídas de material de polietileno resistente atóxico de alta qualidade, tem resultado em lotes mais homogêneos, garantindo uma melhoria da qualidade (Kim, 2021), sendo acessível ao pequeno produtor, ou para pré-testes pelos médios e grandes produtores.

Esses processos podem ser feitos estimulando a microbiota natural do café, entretanto, as pesquisas têm mostrado que a adição de culturas microbianas iniciadoras tem resultado em bebidas de maior qualidade sensorial (Dorta *et al.*, 2021, Pereira *et al.*, 2019).

Micro-organismos desejados para uma fermentação bem conduzida são: leveduras como *Shaccharomyces cerevisiae*, *Pichia* spp e bactérias lácteas como *Lactobacillus plantarum* (Bressani *et al.*, 2018; Carvalho-Neto *et al.*, 2017).

No Brasil, o investimento em tecnologias fermentativas de café ainda é considerado recentes, pois os produtores ainda seguem métodos tradicionais de processo, os quais eram passados de geração em geração. Entretanto, para atender as novas vertentes comerciais no mundo de tornar a bebida café com alta qualidade e com grande diversificação de atributos sensoriais, e então, elevando seu preço de forma significativa, esses produtores têm começado a investir em ciência e tecnologia para otimização desses processos (Bortolin, 2005).

Em todo o mundo, muito ainda deve ser experimentado para se atingir técnicas fermentativas otimizadas em cada propriedade, ou região, sendo imprescindível entender sobre o desempenho fermentativo de culturas microbianas indígenas ou comerciais em cada cultivar de café, em diferentes processos, a fim de que se obtenha lotes reprodutíveis ano a ano, com alta qualidade sensorial e microbiológica.

Nesse sentido, esse trabalho verificou a ação da levedura autóctone *Pichia kluyveri* R8 e do fermento láctico comercial Sacco no desempenho fermentativo e na modulação microbiana durante as fermentações anaeróbias de café Catuaí Amarelo, em uma propriedade da região de Marília-SP.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Café

O Café arábica (*Coffea arábica L.*), safra 2022, cultivar Catuaí Amarelo, coletado com Boas Práticas Agrícolas (planejamento e execução da colheita, mão de obra qualificada para o serviço, arruação, terreiros adequados, varrição, entre outros) no Sítio Olho D'Água, localizado em Padre Nobrega, distrito de Marília-SP, seguindo as boas práticas agrícolas relacionadas à colheita. O estágio de maturação predominante de seus frutos nos experimentos foi cereja à passa.

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

Bactérias: Em função da colaboração existente entre Fatec Marília-SP e a empresa Sacco Brasil, que objetiva testar suas bactérias lácticas (BAL), produzidas na Itália, em um novo segmento para esta multinacional, ou seja, na fermentação de cafés, assim, nesse trabalho a cultura comercial: M036L (*Lactococcus lactis* e *Leuconostoc mesenteroides*) foi utilizada em nossos experimentos. Essa estava armazenada em embalagens comerciais e mantidas sob refrigeração.

Levedura: A linhagem *Pichia kluyveri* R8 isolada durante a fermentação espontânea feita no Sítio Olho D'Água, safra 2021. Essa cepa foi selecionada entre outras quatro leveduras por ter mostrado maior potencial fermentativo em testes *in vitro* (Figura 1), sendo mantida em cultura estoque em ultra freezer à -80°C, no Laboratório de Microbiologia da Fatec Marília.

Figura 1 - Testes feitos *in vitro* para a seleção da levedura *P. kluyveri* R8

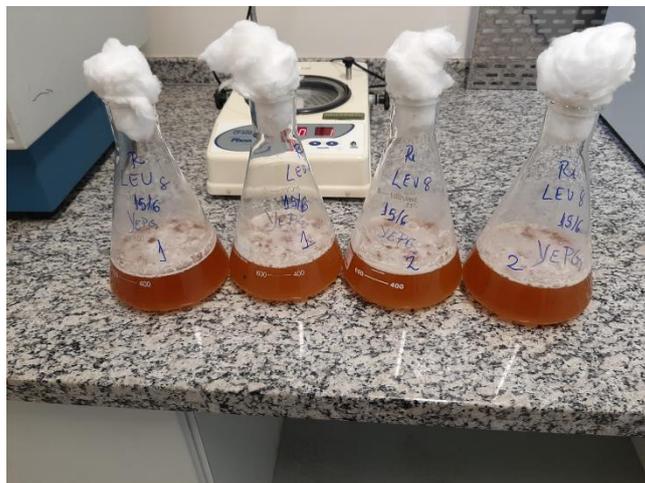


Fonte: Autores

2.2.1 Preparo do inóculo de levedura para as fermentações

A levedura *P. kluyveri* R8 armazenada em meio YM com 10% de glicerol, freezer a -80°C , foi descongelada lentamente e 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 inicial foi inoculado em dois repiques sucessivos de 5mL de meio por 48h, seguido por repasse de 5mL de inóculo em 50mL (por 24h), e finalmente em 500mL do meio (por 24h); a incubação foi à 25°C em estufa bacteriológica (Figura 2). Os repiques foram feitos em duplicata e sob condições assépticas no Laboratório de Microbiologia da Fatec Marília - SP. Foram usados 555mL do inóculo em YEPG para cada fermentação.

Figura 2 - Inóculos de *P. kluyveri* R8 feitos para a adição nas fermentações de café no Sítio Olho D'Água



Fonte: Autores

2.2.2 Fermentações anaeróbicas

Em 21 de junho de 2022, o café arábica cultivar Catuaí Amarelo foi coletado manualmente por colaboradores na propriedade utilizando-se boas práticas agrícolas e seus frutos predominantes no estágio cereja à passa, foram adicionadas em Bombonas até atingirem 60L.

A fermentação usada nesse trabalho foi a semi-carbônica, pois para gerar anaerobiose no sistema, houve a necessidade dos micro-organismos em seu interior catabolizarem os açúcares da polpa de café e liberarem CO₂, gás que acaba exercendo pressão sobre o O₂ presente, fazendo com que esse último seja conduzido para fora do recipiente através de um Airlock tipo S, que se localiza na tampa com lacre do recipiente, e o processo passa a ser estritamente anaeróbico. Os recipientes bastante usados para essa metodologia nas propriedades são as Bombonas de polietileno de alta densidade, sendo aprovadas pela ONU para fermentação de alimentos e bebidas (Muinhos, 2019; Palermo et al., 2023).

O experimento foi dividido em 4 tratamentos, sendo o controle feito em única amostragem e as fermentações testes em duplicata: 1) Fe = fermentação espontânea, ou seja, sem adição de culturas iniciadoras, 2) F1= fermentação com adição do fermento láctico M036L-Sacco, 3) F2 = com adição de M036L-SACCO e a levedura *Pichia kluyveri* R8 e 4) F3= com adição de levedura *P. kluyveri* R8. O fermento da

Sacco foi diluído em 6L de água potável e adicionado aos poucos ao café durante o enchimento das Bombonas (Figura 3) As bactérias lácticas foram inoculadas na ordem de $2,8 \times 10^6$ células/g e a levedura 1×10^6 células/g de café. As bombonas foram mantidas lacradas em um Galpão sob temperaturas amenas (inferiores a 25°C) por 40h de fermentação. Encerradas as fermentações, os recipientes foram esvaziados, os cafés levados para as despulpadoras onde foram lavados e despulpados (Figura 4).

Figura 3 - Enchimento das Bombonas com fruto café e adição do inóculo microbiano visando a fermentação, no Sítio Olho D'Água



Fonte: Autores

Figura 4 - Bombonas lacradas contendo fruto café com adição de água (10%) e culturas microbianas iniciadoras



Fonte: Autores

2.2.3 Secagem do café fermentado

Após a fermentação, os frutos de cafés foram lavados, despulpados e levados para a secagem em terreiro suspenso até atingirem umidade 12% (Figura 5).

Figura 5 - Secagem do café em terreiro suspenso



Fonte: Autores

2.2.4 Análises de pH, temperatura e sólidos solúveis durante o processo de fermentação

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 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 digital de bancada, e a temperatura foi aferida no local da fermentação por termômetro digital.

2.2.5 Análises microbiológicas por plaqueamento

Para as análises microbiológicas das amostras de café, primeiramente fez-se a diluição seriada até 10^{-6} em água peptonada 0,1%, partindo de 25g dos grãos recém-colhidos e dos fermentados (Figuras 6 e 7). Nas diluições foram realizadas as seguintes análises oficiais: para fungos usada a semeadura em superfície no meio YEGC Ágar com 150ppm de antibiótico; para enterobactérias, o cultivo em superfície em meio VRBG Ágar; e para as bactérias lácticas, o plaqueamento em profundidade no meio MRS Ágar com Cisteína 0,05%. As Placas com meio YEGC 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 (Silva *et al.* 2010).

Figura 6 - Pesagem asséptica de café fermentado



Fonte: Autores

Figura7 - Diluição seriada da amostra de café em Capela de fluxo laminar



Fonte: Autores

2.2.6 Análises microbiológicas em microscópio óptico

Como análises microbiológicas complementares às técnicas de cultivo, a contagem de células totais das amostras foi feita através do microscópio óptico em câmara de Neubauer (Figuras 8 e 9). A equação 1 representa o cálculo para obtenção do número de células por ml (Dorta *et al.*, 2006).

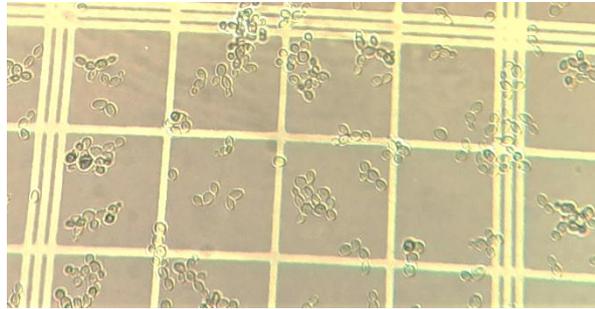
Equação 1: Número de células = Média de $5 \times 25 \times 10^4 \times F$,
 F = fator de diluição.

Figura 8 - Câmara de Neubauer



Fonte: Autores

Figura 9 - Fotomicroscopia de *Pichia kluyveri* em Câmara de Neubauer



Fonte: Autores

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Resultados físico – químico

No processo do café, a temperatura é um fator físico fundamental na modulação metabólica e fisiológica dos micro-organismos e suas enzimas durante as fermentações, contribuindo para a formação de um buquê de sabores e aromas únicos de cada grão (Lacerda, *et al* 2020).

Enquanto as cerejas de café passam pela fermentação, são monitoradas as temperaturas. À medida que essas atingem entre 18°C e 30°C, os micro-organismos entram em ação, contribuindo para a complexidade dos sabores. Os açúcares se transformam em sabores frutados, florais e até mesmo em notas achocolatadas (Pereira et al., 2019).

A Tabela 1 mostra que as fermentações em bombonas permitiram um maior controle da variação da temperatura quando comparada com a ambiente, e ainda proporcionou valores abaixo de 25°C, e segundo Kim (2021) isso favorece obtenção de produtos mais estáveis sensorialmente. Entre as variáveis experimentais a oscilação de temperatura em função do tempo de fermentação foi quase nula.

Mota et al. (2020, 2022) obtiveram a variação de temperatura em processos fermentativos de café arábica natural e despulpado em Bombonas, com resultados bastante próximos ao do atual trabalho.

Tabela 1 - Temperaturas mensuradas durante a fermentação do café Catuaí Amarelo

ToC interna	T0	T18h	T24h	T40h
Fe	24,8	21,8	23,5	21,8
F1	24,8	21,7	23,5	21,15
F2	24,8	21,7	23,2	21,15
F3	24,9	22,1	23,55	21,25
ToC externa	25,2	21,9	24,00	23,00

Fonte: Dos autores

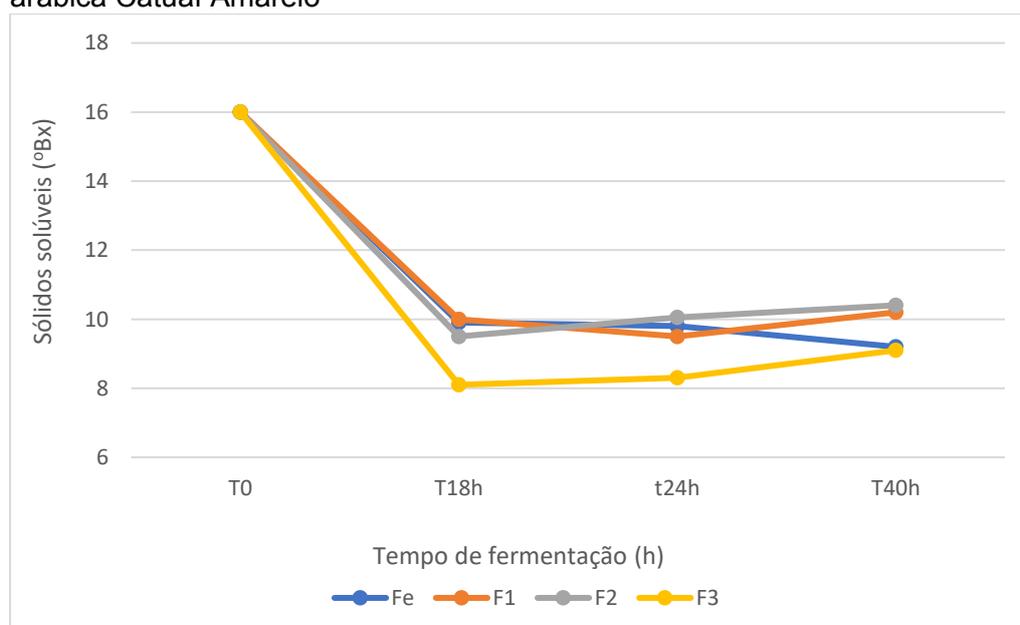
Legenda: Fe= fermentação espontânea, F1= com adição de BAL M036, F2= com adição de *P. kluyveri* R8 e BAL M036, F3= com adição de *P. kluyveri* R8.

O Brix representava a concentração de sólidos solúveis na seiva das cerejas de café, especialmente açúcares como glicose e frutose (Alves 2020; Chitarra, 2005). A composição molecular das cerejas é complexa, com os açúcares sendo protagonistas, acompanhada por outros compostos como ácidos orgânicos e polissacarídeos (LIMA et al., 2011). Segundo Alves (2020) o Brix, como uma medida quantitativa, proporcionou uma visão precisa da quantidade de sólidos solúveis presentes, refletindo diretamente na doçura potencial do café.

Cafés com maiores níveis de Brix foram cultivados e colhidos com precisão, e os métodos de processamento foram ajustados para preservar e aprimorar essa riqueza de sólidos solúveis. Assim, a jornada do Brix, desde a planta até a xícara, tornava-se uma narrativa de ciência aplicada e prática agrônômica, culminando em experiências sensoriais diferenciadas para odores apreciados de café (Alves 2020).

A Figura 10 mostra que em F3 houve o maior consumo de sólidos solúveis chegando a 49% em 18h de fermentação, enquanto em F1 teve o menor desempenho nesse tempo (37,5%), podendo indicar que a levedura indígena *P. kluyveri* R8 mostrou maior adaptação ao processo quando comparado com a adição da bactéria láctica comercial (F1). Ao analisar F2, pode-se sugerir que a adição de BAL comercial induziu, provavelmente por competição, a desaceleração do metabolismo da levedura.

Figura 10 - Variação de sólidos solúveis durante as fermentações anaeróbias de café arábica Catuaí Amarelo



Fonte: Autores

Legenda: Fe= fermentação espontânea, F1= com adição de BAL M036, F2= com adição de *P. kluyveri* R8 e BAL M036, F3= com adição de *P. kluyveri* R8.

O objetivo é entender como as variações no pH tem impacto no desempenho fermentativo e, portanto, as características sensoriais do café (Chalfoun; Fernandes, 2013). O pH final desejado é entre 4,0 e 4,5, a amostra F3, em particular, mostrou um desempenho fermentativo notável, atingindo um pH final de 3,6, no entanto, esse resultado mostra que esta fermentação teria que ser interrompida com 24h.

As amostras Fe, F1 e F2, apesar de atingirem pHs finais superiores, oscilaram menos ao longo do tempo. Ainda dentro da faixa desejada de pH, sugerindo uma fermentação mais equilibrada e controlada.

Foi percebido que o tempo de fermentação também desempenha um papel crucial, influenciando não apenas o pH final, mas as características sensoriais do café.

Tabela 2 - Variação do pH com interação do tempo no desempenho fermentativo

pH	T0	T18h	T24h	T40h
Fe	5,1	4,5	4,4	4,1
F1	5,1	4,45	4,25	4,2
F2	5,1	4,4	4,4	4,1
F3	5,1	4,3	4,1	3,6

Fonte: Autores

Legenda: Fe= fermentação espontânea, F1= com adição de BAL M036, F2= com adição de *P. kluyveri* R8 e BAL M036, F3= com adição de *P. kluyveri* R8.

3.2 Resultados microbiológicos

Fermentações desejadas de cafés resultam da diminuição de enterobactérias, clostridium e bolores após a fermentação e aumento de bactérias lácticas e leveduras (Carvalho-Neto et al., 2017; Dorta et al., 2021; Zhang et al., 2019;).

Os microrganismos envolvidos no processo de fermentação, incluindo leveduras e bactérias lácticas, têm diversas funções, tais como a manipulação da mucilagem por meio da atividade pectinolítica, o inibidor do crescimento de fungos produtores de micotoxinas e a produção de componentes que são ativos para o sabor (De Melo Pereira et al., 2015). O uso de culturas iniciadas surgiu nos últimos anos como uma alternativa promissora para regular o processo de interferência e

contribuição para o aprimoramento da qualidade dos produtos de café (Bressani et al., 2018).

A Tabela 3 mostra os resultados do perfil microbiológico antes e após a fermentação do café cereja Catuaí Amarelo. É observado que o F3, apenas com adição de *P. Kluyveri* R8, obteve uma fermentação bastante intensa e desenvolveu uma menor quantidade de bactérias e leveduras no final devido ao estresse pela rápida fermentação (aumento do pH). A *P. Kluyveri* R8 é interessante pois deixa o processo mais rápido, onde a fermentação poderia ter se encerrado em 24h em relação aos outros experimentos.

Após uma inoculação com bom desempenho de micro-organismos durante o processo de fermentação dos grãos de café, a habilidade das leveduras em se ajustar e responder ao ambiente desafiador e às condições estressantes no meio de fermentação é crucial para melhorar o desempenho da seleção. Isso é especialmente significativo considerando a contribuição desse grupo microbiano para aprimorar as características do café. (Pereira et al., 2014). Nesse sentido, o desempenho fermentativo teve um resultado, tendo consumo de brix, desenvolvimento de aromas e sabores, dando uma qualidade sensorial no café.

Tabela 3 - Perfil micro-organismos analisados dos experimentos das fermentações de café cereja Catuaí Amarelo

Micro-organismo (UFC/mL de meio fermentativo)	F0	F1	F2	F3	Fe
Enterobacteriaceae	$4,3 \times 10^6$	$1,2 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$
Leveduras	$3,1 \times 10^7$	$3,6 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5$	$3,8 \times 10^5$
Bactérias láticas	$7,0 \times 10^6$	$1,75 \times 10^6$	$6,8 \times 10^7$	$3,0 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$

Fonte: Autores

Legenda: F0= antes da fermentação, Fe= fermentação espontânea, F1= com adição de BAL M036, F2= com adição de *P. kluyveri* R8 e BAL M036, F3= com adição de *P. kluyveri* R8.

4 CONCLUSÃO

Considerando a relevância das culturas iniciadoras no processo de fermentação controlada do café cereja, este estudo avalia a eficácia de sua aplicação. Os processos fermentativos resultam em um aumento na contagem microbiológica em relação ao café antes da fermentação, proporcionando a presença de bactérias específicas ao processo, conseqüentemente resultando numa classificação final superior para café após a fermentação, assim elevando seu status para a categoria de cafés especiais.

A levedura autóctone *Pichia Kluyveri* R8 e a bactéria láctica M036L foram aplicadas como culturas iniciadoras e mostraram um desempenho fermentativo positivo. Porém o experimento F3, com adição apenas da cultura *P. Kluyveri* R8, destacou-se por sua velocidade fermentativa com bons desempenhos, podendo terminar o experimento com 24h, resultando numa produção de aromas e sabor, número final de micro-organismos positivo, mostrando um número relevante de leveduras e bactérias.

A bactéria láctica M036L, do experimento F1 não teve tanta relevância quando comparada com F3, tendo seus resultados maiores que antes da fermentação, mas menores comparados com os resultados do desempenho da *P. Kluyveri* R8. Assim, fica sugestivo para estudo futuros, avaliar o experimento F3 em uma próxima safra seu potencial em 24h.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de reservar este espaço para expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas que desempenharam papéis fundamentais na realização deste Trabalho de Graduação.

Primeiramente, quero agradecer a minha orientada, Profa. Dra. Claudia Dorta, pela orientação dedicada e pelas orientações tempo dedicado a orientar e apoiar meu projeto. Seu conhecimento e insights foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha família, que foi meu pilar em todas as etapas desta jornada acadêmica, expressa minha profunda gratidão. Seu amor, encorajamento e compreensão foram a força motriz por trás de cada conquista.

Aos amigos e colegas que compartilham conhecimentos, experiências e momentos solicitados, agradeço a colaboração valiosa. Cada troca de ideias contribuiu para o enriquecimento deste trabalho.

Também agradeço aos professores e profissionais cujas aulas melhoraram significativamente para minha formação acadêmica e para a qualidade deste trabalho. Agradeço em especial a Profa. Dra. Renata Bonini Pardo, por ceder seu sítio para fazer grande parte do meu trabalho.

À Fatec-Marília que forneceu recursos e suporte logístico, meu reconhecimento. Suas contribuições foram cruciais para a concretização deste projeto.

Por último, mas não menos importante, a todos que, de alguma forma, fizeram parte desta jornada, meus agradecimentos. Cada palavra de encorajamento, cada desafio superado, e cada momento compartilhado foram peças essenciais na construção deste trabalho.

Este trabalho é o resultado de esforços coletivos e dedicado a todos aqueles que acreditaram em mim.

5 REFERÊNCIAS

ALVES, E. O ponto ideal de colheita do café vai além da cor. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/52134769/artigo---o-ponto-ideal-de-colheita-do-cafe-vai-alem-da-cor>. Acesso em: 19 nov. 2023.

BORTOLIN, Bárbara. Café: a questão do blend. **Inovação Uniemp**, Campinas, v. 1, n. 3, dez. 2005. Disponível em http://inovacao.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-23942005000300025&lng=pt&nrm=iso. Acessos em 29 nov. 2023.

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.

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 na qualidade da bebida do café, visão agrícola**, nº12, JAN | JUL, 2013. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va12-qualidade-da-bebida01.pdf>. Acesso em: 08 junho 2023.

CHITARRA, M.I.F; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2Ed., Lavras: UFLA, 2005. 783p.

DE MELO PEREIRA, G. V.; 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.

DEGREENIA, Joseph. **Coffee Annual 2023**. USDA – U.S. Department of Agriculture. [s.d.]. Disponível em: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Coffee%20Annual_Brasilia_Brazil_BR2023-0011 Acesso em: 08 out. 2023.

DORTA, C. *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.**, v. 22, n. 2,p.177-182, 2006.

DORTA, C. et al. Fermentação de café via úmida com adição de culturas iniciadoras e a inclusão de características sensoriais na bebida. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 579-589, 2021.

Giacalone, D.; Degn, T. K.; Yang, N.; Liu, C.; Fisk, I. & Münchow, M. (2019). Common roasting defects in coffee: aroma composition, sensory characterization and consumer perception. *Food Quality and Preference*, 71, 463-474. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.009>. Acesso em: 11 agosto 2023.

Guimarães, E. R.; Leme, P. H. M. V.; Rezende, D. C.; Pereira, S. P.; & Santos, A. C. (2019). The brand-new Brazilian specialty coffee market. *Journal of Food Products Marketing*, 25(1), 49-71. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10454446.2018.1478757>. Acesso em: 16 fev. 2023.

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 nov. 2023.

KIM, M. Primeiro Seminário Online de Fermentação de café. Disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=YbMH_9AP_KE>. Acesso em: 09 de setembro de 2023.

LACERDA, J. M. B. de; BORGES, W. L.; PELUZIO, J. B. E.; PELUZIO, T. M. O. de; PAVESI, J. B. S.; SOUZA, S. S. de. EFEITO DA FERMENTAÇÃO NATURAL EM CAFÉ ARÁBICA. *Revista Ifes Ciência*, v. 6, n. 4, p. 99-111, 2020.

Lima, A. de J. B.; Corrêa, A. D.; Dantas-Barros, A. M.; Nelson, D. L.; & Amorim, A. C. L. (2011). Sugars, organic acids, minerals and lipids in jabuticaba. *Revista Brasileira De Fruticultura*, 33(2), 540–550. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000200026>. Acesso em: 19 nov. 2023

LÓPEZ NETTO, A.; ASSIS, R. L.; GUEDES, C. A. M.; AQUINO, A. M. Denominações territoriais agroalimentares: experiências da União Europeia e do Mercosul para o desenvolvimento territorial dos ambientes de montanha. *Estudos Sociedade e Agricultura*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 298-93, 2015

MEDEIROS, J. A. de.; NIRO, C. M. PESQUISAS E ATUALIZAÇÕES EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS. ed. São Paulo: Agron Food Academy, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.53934/9786599539657>. Acesso em: 14 maio 2023.

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.

MUINHOS, R. **Fermentação De Café**. 2019. Disponível em: https://buenavistacafe.com.br/blog/author/buena_blog_user/. Acesso em: 21 maio 2023.

PALERMO G. P.; MELO, B. M. R.; CARVALHO, H. P.; FERREIRA, S., SILVA, T.R; BRAVO, S. M. C. Analysis of quality of coffee subjected to semi-carbonic fermentation. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 46, n. 4, pp. 338-346, 2023.

PAVESI, J.B..**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.

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, G. V. M.; SOCCOL, V. T.; PANDEY, A.; MEDEIROS, A. B. P.; ANDRADE, J. M. R. L.; GOLLO, A. L.; SOCCOL, C. R. Isolation, selection and evaluation yeasts for use in fermentation of coffeebeans by the wet process. **International Journal of Food Microbiology**, 188(64), 60-66, 2014.

SARRAZIN, C. et al. Representativeness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction methods. In: *Food Chemistry*, v. 70, p. 99-106, 2000. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/248509918_Representativeness_of_coffee_aroma_extracts. Acesso em: 06 abril 2023

SILVA, I. S. **Obtenção de cafés especiais pela fermentação**. 2021.f.47. TCC (graduação) – Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Uberlândia, Pato de Minas, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/32488> Acesso em: 01 de junho de 2023.

Vilela, D. M. (2011) Seleção in vitro de culturas iniciadoras para fermentação de frutos de café (*Coffea arábica* L.) processados via seca e semi-seca. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Larvas – MG - Universidade Federal de Lavras, 82p

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.

Wang, E. S. T.; & Yu, J. R. (2016). Effect of product attribute beliefs of ready-to-drink coffee beverages on consumer-perceived value and repurchase intention. *British Food Journal*, 118(12), 2963-2980. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1108/BFJ-03-2016-0128>. Acesso em: 14 abril 2023

