



**CARLOS ROBERTO LUIZ MAIA JÚNIOR**

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE BIORREACTORES DE DIFERENTES  
ESCALAS NA FERMENTAÇÃO DE CAFÉ**

**LAVRAS – MG  
2023**

**CARLOS ROBERTO LUIZ MAIA JÚNIOR**

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE BIORREATORES DE DIFERENTES ESCALAS NA  
FERMENTAÇÃO DE CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

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

Prof. Dr. Disney Ribeiro Dias  
Dr.<sup>a</sup> Nádia Nara Batista  
Coorientadores

**LAVRAS – MG  
2023**

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

Maia Júnior, Carlos Roberto Luiz.

Efeitos da utilização de biorreatores de diferentes escalas na  
fermentação de café / Carlos Roberto Luiz Maia Júnior. - 2023.  
53 p. : il.

Orientador(a): Rosane Freitas Schwan.

Coorientador(a): Disney Ribeiro Dias, Nádia Nara Batista.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Escalonamento fermentação de café. 2. Fermentação sólida.  
3. Culturas iniciadoras. I. Schwan, Rosane Freitas. II. Dias, Disney  
Ribeiro. III. Batista, Nádia Nara. IV. Título.

**CARLOS ROBERTO LUIZ MAIA JÚNIOR**

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE BIORREATORES DE DIFERENTES ESCALAS NA  
FERMENTAÇÃO DE CAFÉ**

**EFFECTS OF USING BIORACTORS OF DIFFERENT SCALES ON COFFEE  
FERMENTATION**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 03 de Fevereiro de 2023

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

Dr. Disbey Ribeiro Dias UFLA

Dr.<sup>a</sup>. Beatriz Ferreira Carvalho UFLA

Dr.<sup>a</sup>. Jussara Moreira Coelho UFES

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

**LAVRAS – MG  
2023**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por me dar saúde e oportunidade de conhecimento.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos pela oportunidade de desenvolver este projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro.

À minha orientadora, Prof. Dr<sup>a</sup>. Rosane Freitas Schwan, por acreditar e me dar a oportunidade de adquirir conhecimento ao longo desta etapa, sempre atenciosa, compreensiva e dedicada aos projetos.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Disney Dias e à Dr<sup>a</sup>. Nádia Batista pela paciência, direcionamentos e ensinamentos.

Aos técnicos de laboratório Ivani, Maria Aparecida e Dirceu por estarem sempre a disposição.

Ao Núcleo de Estudos em Fermentações (NEFER) pelo aprendizado e amizades adquiridas.

Aos meus pais, Carlos Maia e Valéria Maia, pelos ensinamentos, educação e incentivo.

Aos meus irmãos Fernanda Maia e Felipe Maia pelo amor e carinho.

À minha esposa Luana Maia pelo companherismo, compreensão e apoio.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

A utilização de biorreatores na fermentação de café se torna parte fundamental para o controle do processo, possibilitando aumento da qualidade do produto final e do volume. Diante da crescente demanda por cafés de qualidade, o desenvolvimento de biorreatores de grande escala desperta o interesse do setor produtivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade dos cafés fermentados sob anaeróbiose induzida (SIAF) em biorreatores de 50L, 1400 L e 7000L utilizando a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 como cultura iniciadora. A população de *S. cerevisiae* foi mensurada durante a fermentação e secagem através da técnica de qPCR. O perfil de compostos voláteis e não voláteis foi avaliado no processo fermentativo e secagem por de GC-MS (Gas chromatography coupled to mass spectrometry) HPLC (High-performance liquid chromatography), respectivamente. A qualidade sensorial foi avaliada pelo método SCA (Specialty Coffee Association). Os cafés fermentados da variedade Acaia foram selecionados da região sul do estado de Minas Gerais em altitudes de 900 m. A maior população microbiana foi encontrada no biorreator de 7000 L ( $6.47 \text{ Log cell.g}^{-1}$ ), seguido pelo biorreator de 1400 L ( $6.06 \text{ Log cell.g}^{-1}$ ) e 50L ( $5.83 \text{ Log cell.g}^{-1}$ ). Os aldeídos foram encontrados em maiores concentrações nos biorreatores de 50 L ( $5.08 \text{ mg/g}$ ) e 1400 L ( $4.43 \text{ mg/g}$ ), responsáveis por notas sensoriais frutadas e chocolate. No biorreator de 7000 L se destacaram os éteres, remetendo a notas florais e doces. Ácido láctico foi detectado em maior abundância ( $11.59 \text{ g/kg}$ ), contribuindo com a acidez da bebida. A trigonelina foi o composto bioativo encontrado em maior concentração nos três biorreatores avaliados e é responsável pelo amargor. O resultado da avaliação sensorial indica que o processo fermentativo quando bem conduzido, gera compostos de interesse para classificação da bebida, influenciando nas notas sensoriais e conseqüentemente na pontuação atribuída pelos provadores. Todos tratamentos apresentaram notas acima de 80 pontos, classificando os cafés como especiais de acordo com a SCA. O escalonamento de biorreatores na fermentação de café utilizando cultura iniciadora se torna promissor, e pode aumentar a qualidade da bebida, desde que se monitore todas as etapas do processo.

**PALAVRAS-CHAVES:** Fermentação de café. Escalonamento. Fermentação sólida. Culturas iniciadoras. Cafés especiais.

## ABSTRACT

The use of bioreactors in the fermentation of coffee becomes a fundamental part for the control of the process, making it possible to increase the quality of the final product and the volume. The objective of this work was to evaluate the quality of coffees fermented under induced anaerobiosis (SIAF) in 50 L, 1400 L and 7000 L bioreactors using the *Saccharomyces cerevisiae* strain CCMA 0543 as starter culture. The population of *S. cerevisiae* was measured during fermentation and drying using qPCR technique. The profile of volatile and non-volatile compounds was evaluated during fermentation and drying by GC-MS (gas chromatography coupled to mass spectrometry) and HPLC (high-performance liquid chromatography), respectively. The sensorial quality was evaluated by the SCA (Specialty Coffee Association) method. Fermented coffees of the Acaia variety were selected from the southern region of the state of Minas Gerais at altitudes of 900 m. The highest microbial population was found in the 7000 L bioreactor (6.47 Log cell.g<sup>-1</sup>), followed by the 1400 L (6.06 Log cell.g<sup>-1</sup>) and 50 L (5.83 Log cell.g<sup>-1</sup>) bioreactor. Aldehydes were found in higher concentrations in the 50 L (5.08 mg/g) and 1400 L (4.43 mg/g) bioreactors, responsible for fruity and chocolate sensory notes. In the 7000 L bioreactor the ethers stood out, reminding floral and sweet notes. Lactic acid was detected in greater abundance (11.59 g/kg), contributing to the acidity of the beverage. Trigonelline was the bioactive compound found in higher concentration in the three bioreactors evaluated and is responsible for the bitterness. The result of the sensory evaluation indicates that the fermentative process when well conducted, generates compounds of interest for the classification of the beverage, influencing the sensory notes and consequently the score given by the tasters. All treatments presented scores above 80 points, classifying the coffees as special coffees according to the SCA. The staggering of bioreactors in coffee fermentation using starter cultures is promising, and can increase the quality of the beverage, as long as all the stages of the process are monitored.

**KEYWORDS:** Coffee fermentation. Scaling. Solid fermentation. Starter cultures. Specialty coffees.

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE – REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>8</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Mercado cafeeiro .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Cafés especiais .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Processamento do café .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4 Fermentação de café.....</b>	<b>13</b>
<b>2.5 Culturas iniciadoras .....</b>	<b>14</b>
<b>2.6 Biorreatores na fermentação de cafés .....</b>	<b>15</b>
<b>3 CONSIDERAÇÕESGERAIS.....</b>	<b>17</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>18</b>
<b>SEGUNDA PARTE –ARTIGO.....</b>	<b>22</b>

## PRIMEIRA PARTE – REFERENCIAL TEÓRICO

### 1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais tradicionais e consumidas globalmente, os sabores e aromas característicos agradam à uma diversidade de público (KIM et al., 2022). Dentre as variedades deste produto, destacam-se os cafés especiais, devido à riqueza de atributos sensoriais (BARRERA-LÓPEZ et al., 2022).

Alguns compostos químicos como carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos orgânicos encontrados no grão cru do café são precursores para o desenvolvimento de compostos aromáticos e são afetados diretamente pelas práticas adotadas na pós-colheita (BORÉM, 2008).

A fermentação é uma técnica antiga, que influencia nos sabores e aromas do café (FORSYTHE, 2013). Os microrganismos naturalmente presentes nos frutos, bactérias e leveduras, podem variar em número e espécie em função de alguns fatores como umidade e composição química do fruto (SILVA et al., 2008). Durante o processo fermentativo do café as leveduras desempenham uma função fundamental na produção de álcoois, ácidos orgânicos, ésteres, aldeídos e glicerol, evidenciando os atributos sensoriais de sabor e aroma da bebida (ELHALIS et al., 2020). Alguns destes compostos podem ser absorvidos pela semente do café durante a fermentação (SILVA et al., 2008). Além disso, alterações na estrutura molecular dos composto voláteis se intensificam durante o processo de torra, impactando no resultado da bebida (RIBEIRO et al., 2018).

O conhecimento composição química do fruto auxilia na escolha da variedade de café que será utilizada na fermentação (RIBEIRO et al., 2018). Entretanto, fatores como a escolha do processamento pós-colheita e definição do inóculo, influenciam o processo fermentativo do café (BRESSANI et al., 2020a). A utilização de culturas iniciadoras combinada com uma metodologia de inoculação pode melhorar a qualidade da bebida (MARTINEZ et al., 2017). Estudos apontam que a inoculação de *Saccharomyces cerevisiae* altera o perfil sensorial da bebida e aumenta a pontuação atribuída pelos provadores quando comparada a amostra controle sem cultura iniciadora (DA MOTA et al., 2020).

Os produtores de cafés especiais necessitam de investimento financeiro para implantação de um moderno sistema de fermentação como aquisição de biorreatores

eficientes e de capacidades adequadas à produção. Entretanto, estes custos podem ser compensados devido ao controle de processo e melhoria na qualidade final do produto, agregando valor aos cafés especiais no ato da venda quando comparados aos cafés commodity (MAGALHÃES JÚNIOR et al., 2021).

A utilização de biorreatores para fermentação em estado sólido (SSF) pode oferecer vantagens pois minimiza a utilização de água, trazendo economia e otimizando o processo, tornando-se assim uma tecnologia potencial para ser utilizada em grande escala (WEBB, 2017). As potencialidades deste método devem ser avaliadas de acordo com cada processo a ser empregado, com a determinação do microrganismo, substrato e produto final de desejo (SOCCOL et al., 2017). Experimentos utilizando biorreatores de aço inoxidável foram realizados e aprovados para fermentação de cafés especiais (MARTINEZ et al., 2021). Diante disso, alguns parâmetros relacionados às condições de operação precisam ser observadas para a escolha de um biorreator, deve-se verificar se o processo de fermentação será estático ou agitado, nível de assepsia adequado, facilidade no carregamento e descarregamento do inóculo e substrato, recuperação do produto e a presença ou ausência de oxigênio (MITCHELL; BEROVIČ; KRIEGER, 2006).

Diversos fatores como determinação do método de pós colheita, higiene no processamento, escolha da cultura iniciadora de acordo com a altitude da lavoura e definição do modelo de biorreator adequado ao volume de produção, podem influenciar na qualidade sensorial da bebida. A utilização de leveduras como inóculo tem um papel fundamental no controle da microbiota e desenvolvimento de compostos que evidenciam atributos sensoriais desejáveis em cafés especiais. Diante disso, o mercado cafeeiro busca através de estudos e testes, o escalonamento de biorreatores para suprir esta demanda produtiva. Este trabalho teve como objetivo, avaliar a qualidade dos cafés fermentados sob anaeróbiose induzida (SIAF) em biorreatores de 50L, 1400 L e 7000L utilizando a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 como cultura iniciadora.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Mercado cafeeiro**

O Brasil é o maior exportador de café do mundo com 29,6% de participação no mercado na safra 2020/2021, seguido por Vietnã com 19,3% e Colômbia com 9,8% das exportações (CONAB, 2021). O mercado cafeeiro enxerga o Brasil como um grande

produtor de cafés commodity, deixando em aberto a oportunidade de agregar valor ao produto (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ-ABIC, 2014). A demanda global no ciclo 2021/22 está estimada em cerca de 165,0 milhões de sacas de 60 kg, o que corresponde a um crescimento de 1,1% em relação à safra anterior (USDA, 2021).

Para a safra 2021/22 existe a expectativa de redução de 22,6% do café a ser colhido quando comparado a safra passada. Efeitos fisiológicos negativos da bienalidade de algumas regiões produtoras em paralelo com condições climáticas adversas influenciam diretamente na diminuição da área de produção e também no rendimento médio da colheita (CONAB, 2021).

As condições tropicais das lavouras brasileiras de incidência direta do sol influenciam em um ciclo bienal de produção acentuada, alternando um ano com grande florada nos pés de cafés e no ano seguinte floradas menos intensas, uma característica natural de culturas perenes (CONAB, 2018.) O café da variedade arábica corresponde a 68% da produção total de café no Brasil em 2021, esta previsão indica uma redução de 31,5%, quando comparada à temporada anterior (CONAB, 2021).

A mudanças de bienalidade impactam nos atributos sensoriais da bebida. Na busca por produtos de qualidade os brasileiros desenvolveram novos hábitos de alimentação, este comportamento também se aplica ao setor cafeeiro, o café pode ser considerado especial quando os grãos são isentos de impurezas e defeitos e ainda são providos de atributos sensoriais diferenciados como corpo, acidez, equilíbrio, bebida limpa e doce, além disso devem seguir exigências relacionadas à sustentabilidade ambiental, social e econômica, e ser provido de plano de rastreabilidade certificada (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CAFÉS ESPECIAIS – BSCA, 2017).

## **2.2 Cafés especiais**

Segundo Borém (2008) a qualidade sensorial do café pode ser definida de acordo com equilíbrio e intensidade de alguns atributos sensoriais como o sabor, aroma, corpo, acidez, amargor e impressão global da bebida. O método mais utilizado em todo mundo para determinar a qualidade sensorial do café foi desenvolvido pela Specialty Coffee Association (SCA). O protocolo de degustação é baseado em 10 critérios com notas de 6 a 10 pontos para cada critério, sendo considerados especiais os cafés que atingirem notas

superiores a 80 pontos na escala que pode chegar até 100 (SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION, 2015).

A cadeia produtiva de cafés especiais encontra-se em constante mudança em função das propostas de mercado e tendências de comportamento dos consumidores. Novas experiências de consumo aproximam cada vez mais os clientes dos produtores rurais que tem a oportunidade de mostrar a origem e história dos cafés (BOAVENTURA et al., 2018). Desta forma, fazendas e empresas produtoras de cafés especiais tem dado atenção não apenas às características sensoriais da bebida, mas também a todo serviço que pode ser ofertado aos clientes (CARVALHO; MOKSUNOVA; SPENCE, 2020). Esta conexão entre produtores e consumidores é fundamental para o entendimento do mercado de cafés especiais, pois auxilia os produtores sobre as preferências e comportamento dos consumidores, que por sua vez passam a conhecer todo processo de produção do café, aumentando seu interesse sobre o produto (GUIMARÃES et al., 2019).

Responsabilidade social, saudabilidade e qualidade são características que precisam ser exploradas como forma de publicidade pelos produtores de cafés especiais. O emprego de novos métodos de manejo como a fermentação controlada e uma gestão sustentável da cadeia de suprimentos agregam valor ao produto acabado e são alternativas para gerar maior renda às propriedades rurais (RAMÍREZ-CORREA et al., 2020). Sendo assim, a melhor compreensão dos consumidores brasileiros sobre os cafés especiais permite que o mercado adote estratégias para estimular o engajamento da classe, permitindo a expansão deste mercado e valorização interna do produto, diminuindo a necessidade de exportação e consequentemente o aumento do preço praticado no mercado nacional, gerando maior rentabilidade aos cafeicultores (SANTOS; CIRILLO; GUIMARÃES, 2020).

### **2.3 Processamento do café**

Das principais etapas no cultivo do café é a colheita que tem por objetivo retirar os frutos da lavoura em condições adequadas de sanidade e o pré-processamento que influencia diretamente o aspecto e a qualidade do produto acabado (REIS, 2010). O café proveniente da lavoura pode ser constituído de frutos verdes, maduros ou “cereja”, super-maduros, ou “passa”, frutos secos, folhas, ramos, terra, paus e pedra. Após a colheita o café pode ser processado pelo método natural (seco) que consiste em processar

os frutos na sua forma integral (com casca), produzindo frutos secos, também denominados de café natural ou “coco”. Os frutos podem sair da lavoura diretamente para os terreiros ou passar pelo processo de lavagem para separar por densidade os grãos maduros, verdes e “bóias”. O método natural é o mais simples e antigo de processar cafés (BOREM, 2008). Conforme Simões (2009), lotes de cafés processados pelo método natural (seco) com maiores porcentagens de frutos “cerejas” apresentam melhores resultados relacionados aos atributos sensoriais da bebida.

O método de processamento semi-seco é intermediário entre os métodos a seco e úmido, também conhecido como “cereja descascado” (CD) ou “despolpado natural”, onde os grãos são descascados mas não é retirada a mucilagem do grão e depois destinados a secagem (SCHWAN, 2015), promovendo características físico-químicas e sensoriais diferenciadas dos demais métodos de processamento (REINATO et al., 2012).

O café também pode ser processado através do método úmido que tem a característica de remover a casca, polpa e a mucilagem do fruto maduro através de processo fermentativo, para posterior secagem. Método muito utilizado em regiões onde o clima não favorece a secagem pois diminui o tempo de secagem e também o volume dos cafés nos terreiros (SCHWAN, 2015). Nesta forma origina-se os cafés despolpados, descascados e desmucilados (REIS, 2010).

Um bom manejo dos grãos conciliado com boas práticas de higiene no processamento do café “cereja” podem minimizar a colonização de microrganismos indesejáveis em diferentes etapas do processo como colheita, pós-colheita e armazenamento (SILVA; BATISTA; SCHWAN, 2008). Estas etapas apresentam riscos de contaminação por fungos toxigênicos e outros microrganismos (BATISTA et al., 2009). Porém, o uso de cepas de leveduras como agente de biocontrole em grãos de café é uma alternativa para inibição do crescimento de esporos e produção de Ocratoxinas (DE SOUZA et al., 2017). Estudos apontam que a população microbiana no processo fermentativo do café é caracterizada por uma diversidade de bactérias e leveduras (EVANGELISTA et al., 2015). O conhecimento da microbiota do café processado pelo método natural (seco), auxilia entender o papel destes microrganismos nas características sensoriais da bebida, caracterizando a qualidade do produto final (SILVA et al., 2008).

### **2.3.1 Qualidade do café no processamento**

A qualidade da bebida está relacionada aos compostos voláteis e não voláteis encontrados nos grãos de café que são responsáveis pelo sabor e aroma (DA MOTA et al., 2020), os ácidos, álcoois e aldeídos podem afetar diretamente na qualidade final do produto (BRESSANI et al., 2020a).

Desta forma uma alternativa para melhorar o perfil sensorial da bebida e consequentemente o valor agregado ao produto acabado é a utilização de culturas iniciadoras na fermentação do café. Estudos utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) apresentaram resultados promissores com relação à melhoria da qualidade sensorial (BRESSANI et al., 2018). Pois alteraram a composição química e o comportamento microbiano durante a fermentação do café Catuaí Amarelo em baldes. Este ambiente favoreceu a permanência das bactérias e leveduras durante o processo. A utilização de culturas iniciadoras combinada com uma metodologia de inoculação pode melhorar os atributos sensoriais da bebida (MARTINEZ et al., 2017).

#### **2.4 Microbiota e Fermentação de café**

Estudos identificaram por técnicas dependentes de cultivo microrganismos presentes na fermentação de café processado pelo método semi-seco, um total de 728 isolados. O grupo encontrado em maior abundância foi o de leveduras com 382 isolados, seguido pelo grupo de bactérias com 286 isolados, destes, 214 eram Gram-positivos, 72 Gram-negativos. Os fungos filamentosos foram minoria, 60 isolados. (VILELA et al., 2010).

Experimentos conduzidos por Silva et al. (2000) em diferentes fazendas no Sul de Minas Gerais através do método de processamento natural (via seca), identificaram uma diversidade de espécies de microrganismos no café. Foram isoladas 32 espécies de bactérias, 24 espécies de leveduras e 8 espécies de fungos filamentosos. Alguns microrganismos produzem enzimas que auxiliam na degradação da polpa e da mucilagem do grão de café durante a fermentação, sendo dessa forma interessantes para serem inoculados e induzirem a fermentação em café. Os grupos de microrganismos mais relevantes para fermentação induzida são os grupos de bactérias *Bacillus*, capazes de secretar enzimas degradativas como celulases, amilases e proteases e os grupos de leveduras, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Arxula* e *Saccharomycopsis*, capazes de produzir pectinases, celobiase e proteases.

Durante o processo de fermentação encontra-se uma diversidade de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos (SILVA et al., 2013). Alguns destes fungos podem causar perdas na qualidade do café por produzirem sabores e odores desagradáveis nos frutos e nos grãos, podendo produzir metabólitos tóxicos (BORÉM, 2008). Cafés induzidos à fermentação na região de Alto Caparaó-ES apresentaram níveis de Ocratoxinas abaixo dos limites estabelecidos por legislação, o que possivelmente pode ser estendido às demais regiões do país (COSTA DA SILVA et al., 2021). A produção de metabólitos indesejáveis como toxinas resultante do metabolismo de fungos filamentosos, ácido acético e butanoico produzidos por bactérias, podem ser minimizados com a utilização de leveduras como biocontrole durante o processo de fermentação (ELHALIS et al., 2020).

Os ácidos orgânicos, aldeídos, álcoois, fenóis e lactonas são os principais grupos de compostos encontrados ao final da fermentação (BRESSANI et al., 2020a). A utilização de leveduras como culturas iniciadoras é uma boa alternativa uma vez que estes microrganismos continuam presentes durante todo processo de fermentativo, esta técnica não isenta o desenvolvimento de outras espécies de leveduras provenientes do campo (EVANGELISTA et al., 2014a). Portanto, a utilização de leveduras como inóculo tende a aumentar a pontuação da bebida quando comparada com fermentação espontânea (DA MOTA et al., 2020).

## **2.5 Culturas iniciadoras**

Uma alternativa para auxiliar na produção de cafés especiais é a utilização de culturas iniciadoras para controlar o processo fermentativo, possibilitando assim a formação de aromas e sabores desejáveis no café (RIBEIRO et al., 2017). Sendo assim, o uso de bactérias e leveduras selecionadas podem alterar as características da bebida devido à produção de alguns percussores de sabor. Os starters bacterianos produzem mais ácidos quando comparados com os starters de leveduras que demonstraram maior produção de álcoois voláteis (MARTINEZ et al., 2019).

As cepas inoculadas como culturas iniciadoras persistem durante o processo fermentativo, utilizam a polpa do fruto como substrato e competem com os microrganismos presentes nos grãos de café (SILVA et al., 2013). O comportamento dos microrganismos, como por exemplo as leveduras, pode ser influenciado em função da

variedade de café e processamento aplicado no pós-colheita (BRESSANI et al., 2020a). Existe uma correlação entre o perfil proteico do café, métodos de inoculação e tipo de levedura utilizada como culturas iniciadoras (BRESSANI et al., 2020b). Experimento realizado com a variedade de café Ouro Amarelo apresentou atributos sensoriais superiores quando comparado à variedade Mundo Novo utilizando cultura iniciadoras e processados pelo método via semi-seco (RIBEIRO et al., 2017). Martins et al. (2019) menciona que a levedura *Torulospora delbrueckii* (CCMA 0684) utilizada como cultura starter na fermentação da variedade de café Catuaí vermelho processado por via úmida apresenta aumento de intensidade das notas sensoriais. A inoculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) como cultura iniciadora melhora as características sensoriais em comparação à *Torulospora delbrueckii* (CCMA 0684). Entretanto as duas produziram cafés cuja bebida possui baixa adstringência (RIBEIRO et al., 2017).

Atributos sensoriais de nozes, amêndoas, torrado e doce foram observados em cafés fermentados utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) em cafés da variedade Catuaí vermelho (BRESSANI et al., 2021). Mota (2020), conduziu testes com *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) que levaram à produção de compostos voláteis como ácido fórmico, 2- metil-1,3-butadieno, 3,4-dimetil-2-pentanona e pantolactona, influenciando o corpo, acidez, doçura e finalização da bebida.

Cultura iniciadora *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) fermentou cafés que apresentaram notas de chocolate, ameixa, pêssego e atributos florais (MARTINEZ et al., 2021). Desta forma, conduzir a fermentação de café com culturas iniciadoras se torna uma alternativa economicamente viável pois agrega valor ao produto e padroniza o processo fermentativo e de secagem (EVANGELISTA et al., 2014a).

## **2.6 Biorreatores na fermentação de cafés**

A utilização de diferentes técnicas de fermentação pode melhorar as características sensoriais e reduzir perdas de produtividade. Estas técnicas podem ser aplicadas na agricultura, trazendo vantagens econômicas e ambientais ao processo (PRADO BARRAGÁN et al., 2016). Um exemplo seria a fermentação em estado sólido (solid state fermentation)SSF, que é definida como a multiplicação de microrganismos em um substrato sólido na ausência ou quase ausência de água livre (PANDEY, 1992).

Conforme a demanda do mercado por produtos benéficos resultantes de biotransformações, o tipo de material e parâmetros de processos devem ser controlados para favorecer o desenvolvimento dos microrganismos em biorreatores, que são definidos como recipientes onde o ambiente interno favorece as necessidades do sistema de reação biológica, aumentando assim o rendimento do bioprocessamento (WANG; ZHONG, 2007). A maioria dos biorreatores para SSF foram desenvolvidos para crescimento de fungos filamentosos, mas nos últimos anos a utilização de bactérias e leveduras como inóculo vem sendo praticadas em processos fermentativos com intuito de atender a demanda do mercado por novos produtos. Existe uma constante busca por melhorias em biorreatores para padronização do processo fermentativo, e algumas dificuldades como controle das condições de fermentação, indisponibilidade de procedimentos analíticos e principalmente aumento de escala de produção, interferem diretamente no desenvolvimento de novas tecnologias (KRISHNA, 2005).

Devido ao aumento na demanda por cafés especiais, se torna imprescindível o desenvolvimento de biorreatores em grandes escalas para auxiliar os produtores a suprir o mercado. Os maiores desafios para a implantação de um sistema moderno de fermentação é o alto custo de investimento e a falta de projetos de engenharia específicos para o processo fermentativo de café (MAGALHÃES JÚNIOR et al., 2021). Alguns produtores já utilizam biorreatores de escala de 300 litros de café por batelada. Trata-se de fermentadores projetados em formato cilíndrico e fundo cônico, providos de agitadores mecânicos para homogeneização do café e válvulas borboleta para o escoamento do produto (MARTINEZ et al., 2021).

Alguns testes foram conduzidos em biorreatores cilíndricos de aço inoxidável sem agitação com volume de 20 litros e apresentaram resultados satisfatórios, pois favorecem o crescimento dos microrganismos por se tratar de um ambiente controlado e permitir o monitoramento do processo, além disso, este material tem como vantagem a facilidade de higienização do biorreator entre as bateladas na fermentação de café (BRESSANI et al., 2020a). Outro material muito utilizado no processo fermentativo de café são os biorreatores cilíndricos de polietileno de alta densidade sem agitação mecânica, com capacidades variando de 50 a 200 litros de café por batelada (DA MOTA et al., 2020).

Durante processo fermentativo do café ocorre um aumento da temperatura no interior dos biorreatores decorrente do metabolismo das células viáveis (MARTINS et al., 2020). Portanto, a utilização de biorreatores para fermentação anaeróbica induzida de cafés melhora o desempenho das culturas microbianas (DA MOTA et al., 2020). O

mercado cafeicultor necessita de mais informações sobre a fermentação de café utilizando SSF para realizar um levantamento de dados e desenvolver biorreatores para produção em alta escala (MARTINEZ et al., 2021). Estudos apontam a necessidade de desenvolver novas configurações de biorreatores para SSF capazes de operar por períodos prolongados de tempo sem problemas operacionais e com alta produtividade para atender a demanda existente no mercado cafeicultor (COUTO; SANROMÁN, 2006).

### 3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A busca por melhorias no processo fermentativo de café, têm se tornado alvo de pesquisas e testes, e a utilização de culturas iniciadoras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, mostra resultados promissores, pois as mesmas inibem o crescimento de microrganismos indesejáveis e são responsáveis pela produção de compostos de interesse para qualidade sensorial da bebida. Entretanto, as condições ambientais para o desenvolvimento dos inóculos são fundamentais para o sucesso na fermentação, fatores como taxa do inóculo, homogeneização eficiente do inóculo nos cafés, qualidade dos frutos, escolha do biorreator adequado e higiene no processo, são primordiais. Devido ao crescimento do consumo de cafés especiais, os produtores buscam novas tecnologias para aumentar a produção, a utilização de biorreatores de escalas maiores se torna uma alternativa promissora, mas faltam projetos de engenharia para suprir esta demanda e parâmetros de produção bem definidos, monitorados e de fácil controle.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ. Programa de qualidade do café. Disponível em: <<https://www.abic.com.br/certificacoes/qualidade/>>.
- BARRERA-LÓPEZ, J. et al. Evaluation of roasting and storage conditions as a strategy to improve the sensory characteristics and shelf life of coffee. **Food Science and Technology International**, p. 1–11, 2022.
- BATISTA, L. R. et al. Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. **Food Control**, v. 20, n. 9, p. 784–790, 2009.
- BOAVENTURA, P. S. M. et al. Value co-creation in the specialty coffee value chain: The third-wave coffee movement. **RAE Revista de Administracao de Empresas**, v. 58, n. 3, p. 254–266, 2018.
- BORÉM, F. M. (Ed). Pós-colheita do café. Lavras: **UFLA**, p. 631. 2008.
- BRAZIL SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION - BSCA. **O que são cafés especiais?** Disponível em: <<http://bsca.com.br/cafes-especiais.php>>.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 92, n. October 2017, p. 212–219, 2018.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Organic acids produced during fermentation and sensory perception in specialty coffee using yeast starter culture. **Food Research International**, v. 128, n. October 2019, p. 108773, 2020a.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Coffee protein profiles during fermentation using different yeast inoculation methods. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, 2020b.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee. **Food Chemistry**, v. 361, n. January, 2021.
- CARVALHO, F. M.; MOKSUNOVA, V.; SPENCE, C. Cup texture influences taste and tactile judgments in the evaluation of specialty coffee. **Food Quality and Preference**, v. 81, n. August 2019, 2020.
- CONAB - Campanha Nacional de Abastecimento. Safra brasileira de café. Disponível em:< <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafes>>.
- CONAB - Campanha Nacional de Abastecimento. Histórico de conjunturas de café. Disponível em:< <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-de-conjunturas-de-cafes>>.
- COSTA DA SILVA, M. et al. Ochratoxin a levels in fermented specialty coffees from Caparaó, **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 00, n. 00, p. 1–10, 2021.

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

DA MOTA, M. C. B. et al. Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. **Food Research International**, v. 136, n. June, 2020.

DE SOUZA, M. L. et al. Use of wild yeasts as a biocontrol agent against toxigenic fungi and OTA production. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 39, n. 3, p. 349–358, 2017.

ELHALIS, H. et al. The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, n. July, p. 108796, 2020.

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, 2014a.

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

FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da Segurança do Alimentos*. 2<sup>o</sup>ed. Porto Alegre: **Artmed**, p. 607. 2013.

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

KIM, J. S. et al. Investigation of metabolite differences in green coffee beans fermented with various microbes. **LWT**, v. 172, n. August, p. 114202, 2022.

KRISHNA, C. Solid-state fermentation systems - An overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 1–2, p. 1–30, 2005.

MAGALHÃES JÚNIOR, A. I. et al. A critical techno-economic analysis of coffee processing utilizing a modern fermentation system: Implications for specialty coffee production. **Food and Bioproducts Processing**, v. 125, p. 14–21, 2021.

MALTA, M. R.; CHAGAS, S. J. R.; OLIVEIRA, W. M. Composição físico-química e qualidade do café submetido a diferentes formas de pré-processamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 6, p. 37-41, 2003.

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

MARTINEZ, S. J. et al. Effect of bacterial and yeast starters on the formation of volatile and organic acid compounds in coffee beans and selection of flavors markers precursors during wet fermentation. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. JUN, 2019.

MARTINEZ, S. J. et al. Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. **Food Research International**, v. 139, n. November 2020, 2021.

MARTINS, P. M. M. et al. Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 13, p. 5638–5645, 2019.

MARTINS, P. M. M. et al. Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. **Food Research International**, v. 129, n. November 2019, p. 108872, 2020.

MITCHELL, D. A.; BEROVIČ, M.; KRIEGER, N. Introduction to solid-state fermentation bioreactors. **Solid-State Fermentation Bioreactors: Fundamentals of Design and Operation**, p. 33–44, 2006.

PANDEY, A. Recent process developments in solid-state fermentation. **Process Biochem**, v. 27, n. 2, p. 109-117, 1992.

PRADO BARRAGÁN, L. A. et al. Fermentative Production Methods. **Biotransformation of Agricultural Waste and By-Products: The Food, Feed, Fibre, Fuel (4F) Economy**, p. 189–217, 2016.

RAMÍREZ-CORREA, P. et al. Purchase intention of specialty coffee. **Sustainability (Switzerland)**, v. 12, n. 4, p. 1–13, 2020.

REINATO, C. H. R. et al. Different Surfaces and Thickness Layers. **Coffee Science**, v. 7, n. 3, p. 223–237, 2012.

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

RIBEIRO, L. S. et al. Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. **Annals of Microbiology**, v. 68, n. 10, p. 705–716, 2018.

REIS, P.R. Café Arábica do plantio à colheita. Lavras: **EPAMIG**, p. 896. 2010.

SANTOS, P. M. DOS; CIRILLO, M. Â.; GUIMARÃES, E. R. Specialty coffee in Brazil: transition among consumers' constructs using structural equation modeling. **British Food Journal**, v. 123, n. 5, p. 1913–1930, 2020.

SCAA - Specialty Coffee Association. SCAA Protocols | Cupping Specialty Coffee. Disponível em: <<https://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>>.

SCHWAN, R.F., FLEET, G.H. (Eds.). Cocoa and Coffee Fermentation. **CRC Taylor & Francis**, Boca Raton, FL, p. 612, 2015.

SILVA, C. F. et al. Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2–3, p. 251–260, 2000.

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

SILVA, C. F. et al. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 235–247, 2013.

SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; SCHWAN, R. F. Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*Coffea arabica* L.) beans. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 521–526, 2008.

SIMÕES, R. O. Qualidade de café ( *Coffea arabica* L .) pré-processado por via seca. **Dissertação**, p. 139, 2009.

SOCCOL, C. R. et al. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 52–71, 2017.

USDA - United State Department Of Agriculture. Brazil: Cotton and Products Update. Disponível em:<<https://www.fas.usda.gov/data/brazil-cotton-and-products-update-5>>.

VILELA, D. M. et al. Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). **Food Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 1128–1135, 2010.

WANG, S. J.; ZHONG, J. J. Bioreactor Engineering. **Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources**, p. 131–161, 2007.

WEBB, C. Design Aspects of Solid State Fermentation as Applied to Microbial Bioprocessing. **Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering**, v. 4, n. 1, p. 511–532, 2017.

**SEGUNDA PARTE–ARTIGO****EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE BIORREATORES DE DIFERENTES  
ESCALAS NA FERMENTAÇÃO DE CAFÉ**

Carlos Roberto Luiz Maia Júnior<sup>a</sup>, Nádia Nara Batista<sup>b</sup>, Ana Paula Pereira  
Bressani<sup>b</sup>, Disney Ribeiro Dias<sup>a</sup>, Rosane Freitas Schwan<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

<sup>b</sup>Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil

\*Autor correspondente:

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Campus Universitário, 3037, 37203-202, Lavras, MG, Brasil. Endereço de e-mail: rschwan@ufla.br

## RESUMO

A utilização de biorreatores na fermentação de café se torna parte fundamental para o controle do processo, possibilitando aumento da qualidade do produto final e do volume. Diante da crescente demanda por cafés de qualidade, o desenvolvimento de biorreatores de grande escala desperta o interesse do setor produtivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade dos cafés fermentados sob anaeróbiose induzida (SIAF) em biorreatores de 50L, 1400 L e 7000L utilizando a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 como cultura iniciadora. A população de *S. cerevisiae* foi mensurada durante a fermentação e secagem através da técnica de qPCR. O perfil de compostos voláteis e não voláteis foi avaliado no processo fermentativo e secagem por de GC-MS (Gas chromatography coupled to mass spectrometry) HPLC (High-performance liquid chromatography), respectivamente. A qualidade sensorial foi avaliada pelo método SCA (Specialty Coffee Association). Os cafés fermentados da variedade Acaia foram selecionados da região sul do estado de Minas Gerais em altitudes de 900 m. A maior população microbiana foi encontrada no biorreator de 7000 L ( $6.47 \text{ Log cell.g}^{-1}$ ), seguido pelo biorreator de 1400 L ( $6.06 \text{ Log cell.g}^{-1}$ ) e 50 L ( $5.83 \text{ Log cell.g}^{-1}$ ). Os aldeídos foram encontrados em maiores concentrações nos biorreatores de 50 L ( $5.08 \text{ mg/g}$ ) e 1400 L ( $4.43 \text{ mg/g}$ ), responsáveis por notas sensoriais frutadas e chocolate. No biorreator de 7000 L se destacaram os éteres, remetendo a notas florais e doces. Ácido láctico foi detectado em maior abundância ( $11.59 \text{ g/kg}$ ), contribuindo com a acidez da bebida. A trigonelina foi o composto bioativo encontrado em maior concentração nos três biorreatores avaliados e é responsável pelo amargor. O resultado da avaliação sensorial indica que o processo fermentativo quando bem conduzido, gera compostos de interesse para classificação da bebida, influenciando nas notas sensoriais e consequentemente na pontuação atribuída pelos provadores. Todos os tratamentos apresentaram notas acima de 80 pontos, classificando os cafés como especiais de acordo com a SCA. O escalonamento de biorreatores na fermentação de café utilizando cultura iniciadora se torna promissor, e pode aumentar a qualidade da bebida, desde que se monitore todas as etapas do processo.

**PALAVRAS-CHAVES:** Fermentação de café. Escalonamento. Fermentação sólida. Culturas iniciadoras. Cafés especiais.

## 1. INTRODUÇÃO

O monitoramento da etapa de fermentação é fundamental para o sucesso do processo fermentativo do café, a utilização de biorreatores fechados para auto indução de um sistema anaeróbico (SIAF), favorece o crescimento das leveduras e a produção dos metabólitos desejáveis. Biorreatores são definidos como um recipiente onde o ambiente interno favorece as necessidades do sistema de reação biológica (WANG; ZHONG, 2007).

A dificuldade no aumento do volume de produção interfere diretamente no desenvolvimento de novas tecnologias, além da falta de projetos de engenharia específicos para o processo fermentativo de café (KRISHNA, 2005; MAGALHÃES JÚNIOR et al., 2021). A fermentação em estado sólido (SSF) é uma alternativa para aplicar em cafés, pois é resultante da multiplicação de microrganismos em um substrato sólido na ausência ou quase ausência de água livre (PANDEY, 1992), otimizando o processo e tornando-se assim, uma tecnologia potencial para ser utilizada em grandes escalas (WEBB, 2017).

Os principais grupos de compostos produzidos após a fermentação de café em estado sólido são os ácidos, álcoois, ésteres e aldeídos (BRESSANI et al., 2020a) que são responsáveis por atributos sensoriais de sabor e aroma da bebida, como acidez, frutado, floral, caramelo, castanha, entre outros (WANG et al., 2019). A seleção de uma cultura iniciadora com características para gerar esses compostos é importante para condução do processo fermentativo (EVANGELISTA et al., 2014a). Leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (CCMA 0543) tendem a aumentar a pontuação da bebida (DA MOTA et al., 2020), pois são potenciais produtoras de álcool fenilético, benzílico, ácido málico e salicilato de metila. Estes compostos são responsáveis por notas levemente ácidas, florais, mentoladas, doces e frutadas (KALAIVANI et al., 2016; MARTINEZ et al., 2019).

Com intuito de suprir a demanda produtiva e monitorar a etapa de fermentação o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade dos cafés fermentados sob anaeróbiose induzida (SIAF) em biorreatores de 50L, 1400 L e 7000L utilizando a cepa *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 como cultura iniciadora.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

## 2.1 Processamento e fermentação do café

Os cafés da espécie Arábica, variedade Acaiá, foram coletados de forma mecanizada em duas fazendas localizadas na região sul do estado de Minas Gerais, Brasil, no processamento pós-colheita foi empregado o método natural (via seca). Os cafés foram fermentados em biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L de capacidade e de características físicas distintas (Fig. 1). O biorreator de 50 L é de formato cilíndrico com tampa na parte superior para entrada e saída do café e inóculo, constituído de material de polietileno de alta densidade. O biorreator de 1400 L é de material de polietileno de alta densidade, formado de corpo cilíndrico e parte superior e inferior de formato cônico, com tampas. A entrada do café e inóculo é realizada na parte superior e retirado na parte inferior. O biorreator de 7000 L é projetado de material de aço inoxidável, constituído de corpo cilíndrico com fundo cônico, provido de tampa superior para entrada do café e inóculo e tampa na parte inferior para retirada do café fermentado.

O inóculo no estado líquido foi mantido sob refrigeração até o momento da aplicação por aspersão, na proporção de 1 % do volume de café utilizado, com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543) como cultura iniciadora, logo após a colheita. A contagem populacional dos inóculos foram de 8.33 Log cell.g<sup>-1</sup> no biorreator de 50 L, 8.21 Log cell.g<sup>-1</sup> no biorreator de 1400 L e 8.44 Log cell.g<sup>-1</sup> no biorreator de 7000 L. Durante o processo de fermentação anaeróbica auto induzida (SIAF) foram coletadas amostras de 100 g no início, meio e final de fermentação. Posteriormente os cafés foram secos em terreiros suspensos até atingir 11-12 % de umidade b.u., e coletadas amostras de 100 g ao final da secagem.



Fig. 1. Escalonamento dos biorreatores utilizados para fermentação de café.

## 2.2 Contagem populacional por PCR em tempo real (qPCR)

A contagem microbiológica foi analisada nos tempos início, meio e final de fermentação, e final de seca. O DNA foi extraído através do protocolo DNA Purification from Tissues QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante. Para o monitoramento foi utilizado primer específico para espécie inoculada, *Saccharomyces cerevisiae* (SC-5fw5'-AGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAG-3'e SC-3bw 5'-TGAAATGCGAATTCCCCT-3') (DÍAZ et al., 2013), com auxílio do Rotor-Gene Q System (Qiagen, Hombrechtikon, ZH, Suíça). Os parâmetros utilizados foram aquecimento a 95 °C por 2 minutos, seguido por 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 5 segundos e anelamento/extensão a 60 °C por 10 segundos. A temperatura de ciclagem foi aumentada em 1 °C a cada 5 segundos de 50 °C para 99 °C para obter a curva de fusão (DA MOTA et al., 2020). O DNA extraído foi diluído em série de (1:10) de  $10^8$  para  $10^3$  células/mL, analisados em triplicata para determinação da curva padrão.

## 2.3 Análises físico-químicas

### 2.3.1 Análise dos ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

As amostras de café foram analisadas nos tempos, início, meio, final de fermentação e final de seca, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Shimadzu, modelo LC-10Ai, Shimadzu Corp., Japão) provido de um sistema de detecção UV-VIS (SPD-10Ai) em uma coluna cromatográfica (Shim-pack SCR 101-H, 7.9 mm × 30 cm). Foram extraídos 3.0 g de café e homogeneizado em 20 mL de água Milli-Q em vórtex por 10 minutos à temperatura ambiente. A fase líquida foi transferida para outro tubo falcon (50 mL) e centrifugada (12.745 RCF, 10 minutos, 4 °C). O pH das amostras foi ajustado para o valor de 2.11 com utilização de uma solução de ácido perclórico (16 mM), e em seguida, submetidas à centrifugação (12.745 RFC, 10 minutos, 4 °C) nas mesmas condições citadas anteriormente. O sobrenadante foi filtrado utilizando uma membrana de acetato de celulose de 0.22 µm (EVANGELISTA et al., 2014b). A condição de análise para ácidos orgânicos foi: 50 °C, água ultrapura e ácido perclórico (pH 2.1) como fase móvel, a uma taxa de fluxo de 0.6 mL/min, e detectado por absorvância de UV (210 nm). As curvas de calibração foram construídas com padrões em diferentes concentrações, ácido málico e cítrico foram adquiridos da Merck (Alemanha), lático foi adquirido da Acros Organic (Bélgica), os ácidos acético e succínico foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Alemanha), o ácido propiônico foi adquirido da Riedel-de Haen (Alemanha).

### **2.3.2 Análise dos compostos bioativos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**

Os compostos bioativos, trigonelina e cafeína foram analisados no início do processo fermentativo e final de seca. As amostras de café foram analisadas utilizando HPLC cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu, modelo LC-10Ai, Shimadzu Corp., Japão) provido de um sistema de detecção UV-VIS (SPD-10Ai) e uma coluna cromatográfica Shimadzu C18 (AG 120, 150 × 4.6 mm, 5 µm). Para extração, amostra de 0.5 g de café foi macerada com nitrogênio líquido, homogeneizada com 50 mL de água Milli-Q e fervida por 3 minutos para extrair os compostos totais. A solução foi centrifugada (12.745 RCF, por 10 minutos, 4 °C), e a suspensão foi filtrada através de uma membrana de acetato de celulose de 0.22 µm. As concentrações das amostras foram determinadas usando um método de calibração externa, e as curvas de calibração foram construídas por meio da injeção de diferentes padrões nas mesmas condições das

amostras (BRESSANI et al., 2021b). A fase móvel consistia em metanol: água: ácido acético (20: 79: 1) a 0.6 mL/min, 30 °C. Todos os produtos químicos foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri).

### **2.3.3 Compostos voláteis por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC / MS)**

As amostras de café foram analisadas nos tempos início de fermentação e final de secagem por cromatografia gasosa utilizando o equipamento Shimadzu QP2010 com uma coluna capilar de sílica Carbo-Wax 20 M (30 m × 0.25 mm × 0.25 mm), equipado com detector de espectrometria de massa (MS). Dois gramas de café foram macerados em nitrogênio líquido e a extração dos compostos aconteceu por microextração em fase sólida e headspace (HS-SPME) (DA MOTA et al., 2022). As amostras foram adicionadas em recipiente de vidro e expostas durante 15 minutos a 60 °C para equilíbrio dos compostos no headspace do frasco de vidro. Os compostos voláteis foram extraídos por exposição da fibra por 30 minutos a 60 °C e a temperatura do forno foi mantida a 50 °C por 5 minutos, sendo posteriormente elevada para 200 °C em uma taxa de 8 °C a cada minuto, permanecendo por 15 minutos a 200°C. O injetor e o detector foram mantidos a 230 e 200 °C, respectivamente, e o gás de arraste hélio foi mantido a uma taxa de fluxo de 1.9 mL/min. Os compostos voláteis foram identificados comparando seus espectros de massa com os disponíveis na biblioteca NIST11. O índice de retenção (IR) para cada composto foi calculado usando uma série de alcanos (C10–C40) comparado com os encontrados na literatura. As porcentagens relativas de compostos individuais foram calculadas a partir da área total de voláteis nos cromatogramas (EVANGELISTA et al., 2014b; BRESSANI et al., 2018).

### **2.4 Análise sensorial**

As amostras foram preparadas de acordo com a Specialty Coffee Association (SCA). Os grãos de café foram torrados em uma torrefadora de laboratório (Probatino, modelo Leogap, Brasil) com capacidade de 150 g a 180–200 °C por aproximadamente 10 minutos, para uma torrefação leve-média e utilizada para degustação após 24 horas. Para avaliar a uniformidade da amostra, foram preparadas cinco xícaras de cada amostra. Um painel de 5 especialistas treinados com certificado Q-Grader em café

avaliaram as amostras (MARTINS et al., 2020). Os atributos a avaliados foram: fragrância, aroma, sabor, gosto residual, acidez, corpo, uniformidade, equilíbrio, doçura, limpeza, defeitos e pontuação geral.

## **2.5 Análise estatística**

Os resultados da contagem populacional microbiano, concentração de ácidos orgânicos, concentração de compostos bioativos e concentrações dos compostos voláteis, foram analisados utilizando a técnica Análise de Variância (ANOVA), que permite comparar as variâncias entre as médias. O teste foi realizado utilizando o software Sisvar versão 5.8 (FERREIRA, 2014).

## **3 RESULTADOS**

### **3.3 Análise microbiológica por PCR em tempo real (qPCR)**

No biorreator de 50 L a contagem populacional iniciou com valor de 5.69 Log cell.g<sup>-1</sup> seguido de uma redução no meio da fermentação e posterior aumento até alcançar o valor o final de 5.83 Log cell.g<sup>-1</sup> no final da secagem, mostrando uma diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre os tempos comparados. O comportamento no biorreator de 1400 L foi, contagem no início da fermentação de 5.09 log cell.g<sup>-1</sup>, seguido de um aumento populacional no meio da fermentação, ocorrendo uma queda na contagem ao final do processo fermentativo. A população alcançou seu maior valor ao final da secagem com uma taxa de 6.06 Log cell.g<sup>-1</sup>. O biorreator de 7000 L iniciou a fermentação com valores 5.98 log cell.g<sup>-1</sup>, estatisticamente acima dos demais biorreatores ( $p \leq 0.05$ ). Na metade da fermentação a população reduziu para 4.47 Log cell.g<sup>-1</sup>, e ao final da secagem alcançou seu maior valor com taxa de 6.47 log cell.g<sup>-1</sup>, valor este, acima da contagem do início da fermentação (Fig. 2).

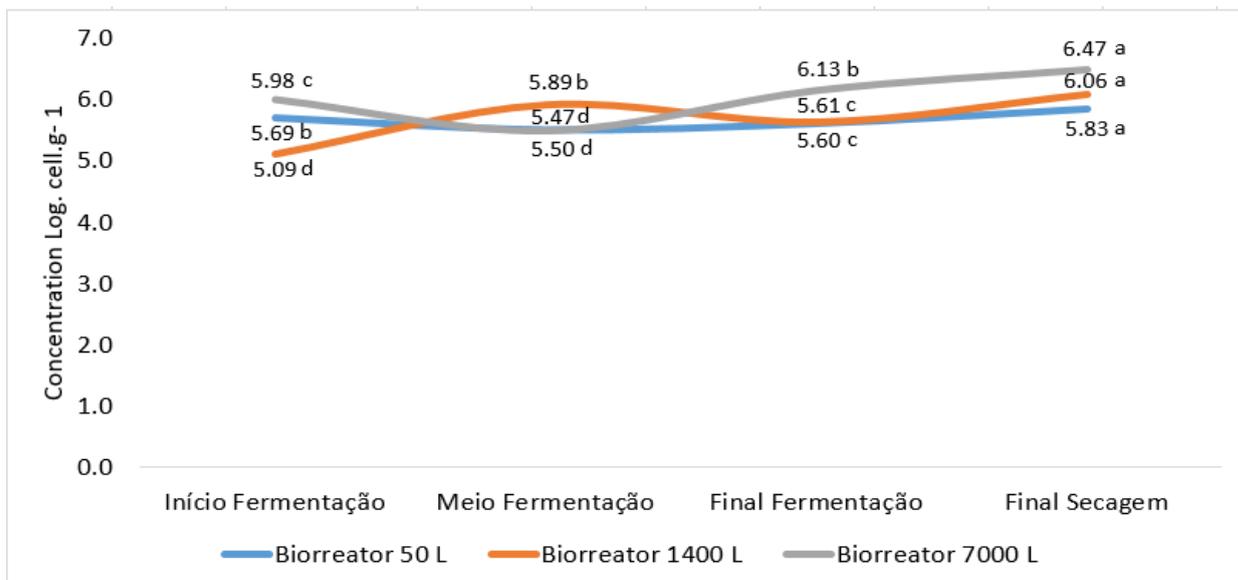


Fig.2. Monitoramento populacional da *Saccharomyces cerevisiae* como cultura iniciadora no processo fermentativo por qPCR.

### 3.4 Análises físico-químicas

#### 3.4.1 Análise dos ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Os ácidos orgânicos detectados nos tempos início, meio, fim de fermentação e fim de secagem em diferentes escalas de biorreatores foram: ácido cítrico, málico, succínico, láctico, acético e propiônico. O ácido cítrico teve um declínio em sua concentração nos biorreatores de 50 L e 1400 L, com valor inicial de 0.98 g/kg e 1.33 g/kg, alcançando os valores de 0.47 g/kg e 0.57 g/kg, diferentemente do biorreator de 7000 L, que aumentou sua concentração de 0.24 g/kg para 0.27 g/kg, mostrando uma diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ). Já o ácido málico, apresentou valores iniciais de 2.54 g/kg no biorreator de 50 L, 2.77 g/kg no biorreator de 1400 L e 2.27 g/kg no biorreator de 7000 L. Estas concentrações foram reduzidas durante a fermentação, e apesar do leve aumento na secagem, alcançou valores finais de 1.95 g/kg no biorreator de 50 L, 2.76 g/kg no biorreator de 1400 L e 0.32 g/kg no biorreator de 7000 L, concentrações menores quando comparado ao início processo. O ácido succínico aumentou a concentração nos biorreatores de 1400 L de 2.47 g/kg para 4.02 g/kg e 7000 L de 0.58 g/kg para 3.06 g/kg, diferentemente do biorreator de 50 L que reduziu a concentração de 2.55 g/kg para 2.49 g/kg.

O ácido láctico registrou um aumento de concentração em todos tratamentos ao decorrer do processo fermentativo e secagem. Este foi o ácido orgânico encontrado em maior abundância nos biorreatores avaliados. O biorreator de 50 L apresentou ausência no início do processo e alcançou valor final de 4.62 g/kg. No biorreator de 1400 L a concentração iniciou em 0.57 g/kg encerrando com 4.87 g/kg e no biorreator de 7000 L passou de 0.11 g/kg para o valor final de 5.13 g/kg.

A avaliação do ácido acético mostrou que ocorreu um aumento de concentração durante todo processo nos biorreatores de 50 L e 1400 L de 0.0 g/kg e 0.41 g/kg alcançando concentrações de 0.80 g/kg e 0.97 g/kg, diferentemente do biorreator de 7000 L onde ocorreu a queda ao decorrer da fermentação e secagem, com valor inicial de 3.62 g/kg e ausência ao final do processo.

O ácido propiônico teve o mesmo comportamento em todos os biorreatores analisados (Fig. 3), aumentando sua concentração no decorrer do processo até o final de secagem. O valor no biorreator de 50 L iniciou com 0.40 g/kg chegando à 1.54 g/kg, no biorreator de 1400 L a concentração iniciou em 0.28 g/kg chegando à 1.50 g/kg e no biorreator de 7000 L alcançou valor final de 0.05 g/kg com ausência no início do processo.

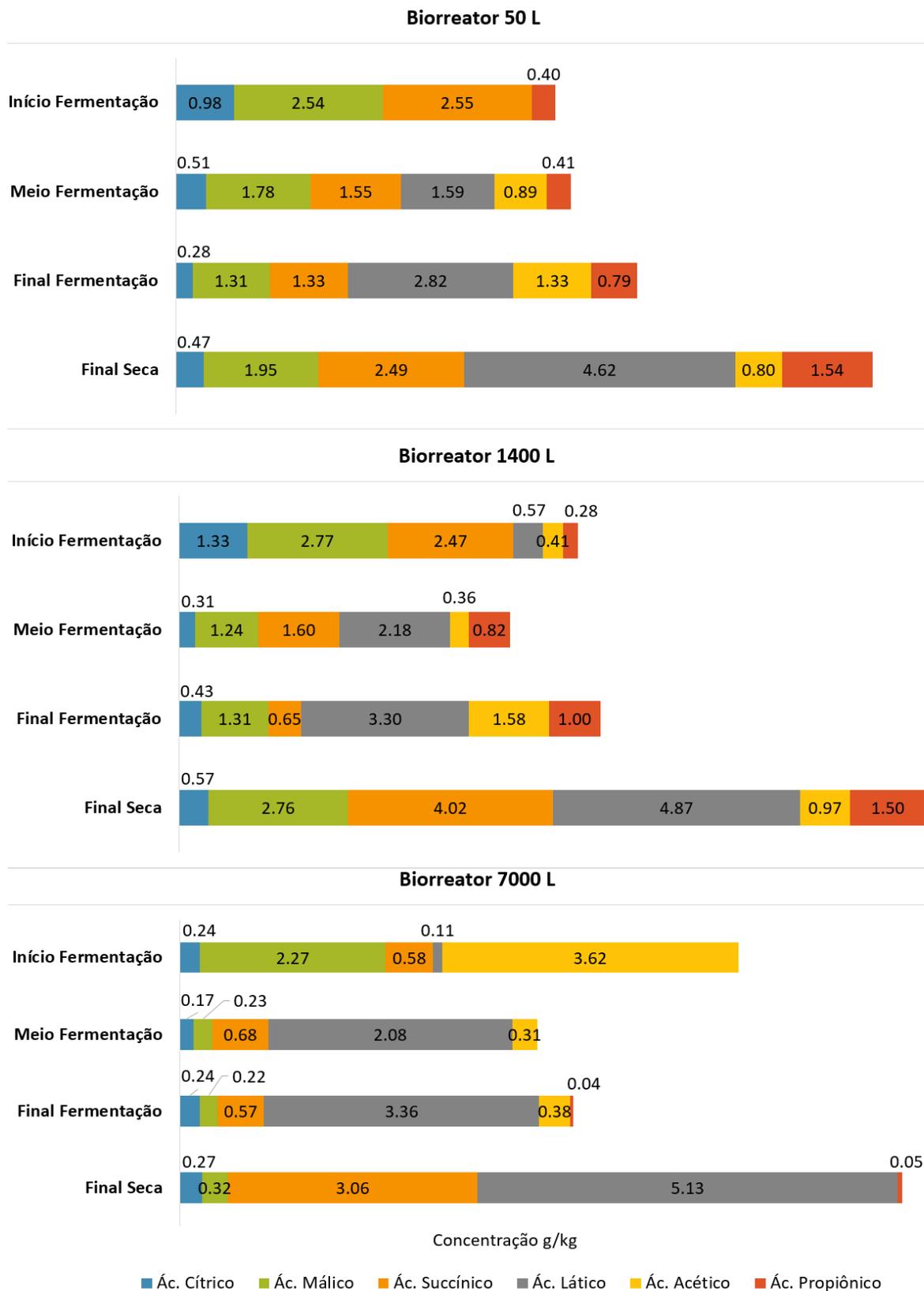


Fig. 3. Concentrações em g/kg dos ácidos orgânicos analisados por HPLC, em função da etapa do processo.

### 3.4.2 Análise dos compostos bioativos

O café fermentado no biorreator de 50 L apresentou diminuição nas concentrações de trigonelina e cafeína, iniciando com valores de 5.36 g/kg e 4.35 g/kg, chegando a valores finais de 4.35 g/kg e 3.31 g/kg, mas registrou um aumento do ácido clorogênico de 0.38 g/kg com valor no final de seca em 0.65 g/kg. Este mesmo comportamento foi observado no biorreator de 1400 L, com valores iniciais de 5.64 g/kg e 3.98 g/kg de trigonelina e cafeína, e ao final de seca, alcançando valores de 5.32 g/kg e 3.85 g/kg. O ácido clorogênico apresentou o valor de 1.48 g/kg, finalizando o processo com concentração de 2.30 g/kg. No biorreator de 7000 L ocorreu diminuição da concentração da trigonelina de 3.97 g/kg para 2.86 g/kg, cafeína de 1.59 g/kg para 1.44 g/kg e do ácido clorogênico de 2.28 g/kg, para 1.30 g/kg ao final da secagem (Fig. 4). As concentrações dos compostos avaliados em função do tempo tiveram diferença estatística significativa ( $p \leq 0.05$ ) nos biorreatores avaliados.

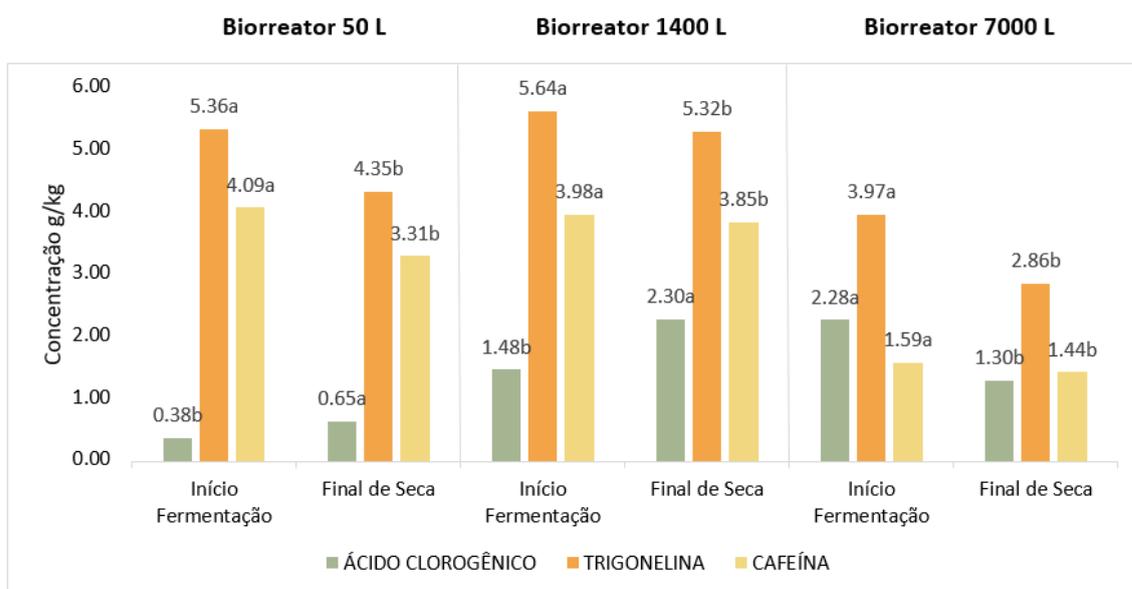


Fig. 4. Concentrações dos compostos bioativos analisados por HPLC.

### 3.4.3 Compostos voláteis por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC / MS).

Os compostos encontrados foram divididos nas classes químicas como ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e outros (cafeína, piridina e furanos). Avaliando estatisticamente, todos os tratamentos apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0.05$ )

quando comparado os tempos de avaliação entre o início da fermentação e final da secagem (Tabela 1). No início da fermentação os biorreatores de 50 L e 1400 L registraram maiores valores relacionados a presença de álcoois, respectivamente 5.85 mg/g e 7.37 mg/g, os principais foram o 1-Hexanol e 3-Ethyl-4-methylpentanol. No biorreator de 7000 L, a classe química predominante foi a dos ácidos, com valor de 8.7 mg/g, com destaque para o ácido acético e a segunda classe química de maior concentração foi a dos álcoois, com valores de 2.46 g/mg.

No tempo final da secagem, os compostos mais encontrados nos biorreatores de 50 L e 1400 L, foram da classe química dos aldeídos com valores respectivos de 5.08 mg/g e 4.43 mg/g, em destaque o benzaldeído. Para a classe dos álcoois as quantidades foram de 3.49 mg/g e 3.95 mg/g. No biorreator de 7000 L as classes químicas ésteres e ácidos foram encontrados em maiores concentrações, ambas com valores de 2.05 g/mg (Fig.5).

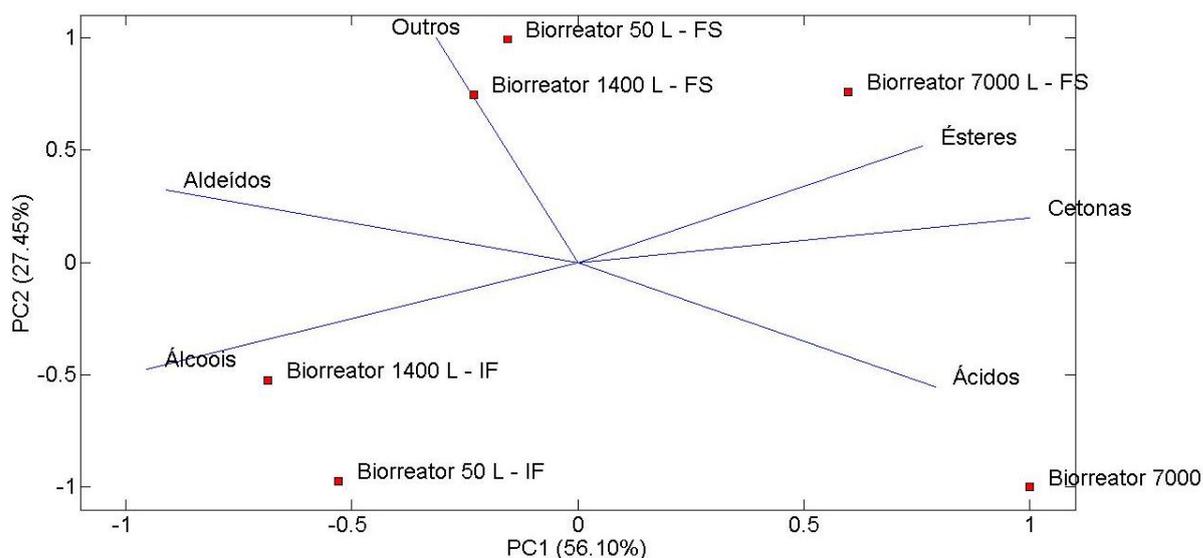


Fig. 5. PCA das concentrações dos compostos voláteis determinados por GC-MS nos biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L nas etapas IF – Início de fermentação e FS – Final de secagem.

Tabela 1. Quantificação dos compostos voláteis nos biorreatores de (50 L, 1400 L e 700 L).

Tratamento	Tempos	Compostos voláteis mg/g					
		Ácidos	Álcoois	Aldeídos	Cetonas	Ésteres	Outros
Biorreator 50L	Início fermentação	1.90 <sup>b</sup>	5.85 <sup>a</sup>	3.44 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.33 <sup>b</sup>	1.85 <sup>b</sup>
	Final de seca	2.50 <sup>a</sup>	3.49 <sup>b</sup>	5.08 <sup>a</sup>	0.18 <sup>a</sup>	1.95 <sup>a</sup>	3.37 <sup>a</sup>
Biorreator 1400L	Início fermentação	2.48 <sup>a</sup>	7.37 <sup>a</sup>	3.72 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.33 <sup>b</sup>	2.15 <sup>b</sup>
	Final de seca	1.94 <sup>b</sup>	3.95 <sup>b</sup>	4.43 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	1.70 <sup>a</sup>	2.42 <sup>a</sup>
Biorreator 7000L	Início fermentação	8.70 <sup>a</sup>	2.46 <sup>a</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.44 <sup>b</sup>	1.40 <sup>b</sup>	1.70 <sup>b</sup>
	Final de seca	2.05 <sup>b</sup>	1.63 <sup>b</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0.57 <sup>a</sup>	2.05 <sup>a</sup>	1,95 <sup>a</sup>

Os dados são apresentados como média, os valores médios com diferentes letras são diferentes significativamente em ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.5 Análise sensorial

As notas apresentadas pelos provadores, avaliaram que fermentação anaeróbica induzida (SIAF) aplicada aos biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L foram bem conduzidas, classificando os cafés como especiais. A maior pontuação foi registrada no biorreator de 1400 L com nota de 87 pontos e aromas de frutas passas, chocolate ao leite remetendo a cacau e castanhas, com sabores de avelã, nozes, melado, pão de mel e noz-moscada, além de um equilíbrio entre doçura, acidez e finalização da bebida. O biorreator de 50 L registrou pontuação de 86 pontos, aromas de frutas vermelhas, melado, chocolate ao leite e cacau, os sabores foram de frutas cítricas remetendo a guaraná, especiarias, anis e avelã e equilíbrio entre doçura e acidez. O biorreator de 7000 L registrou uma pontuação de 83 pontos conforme (Fig. 6).

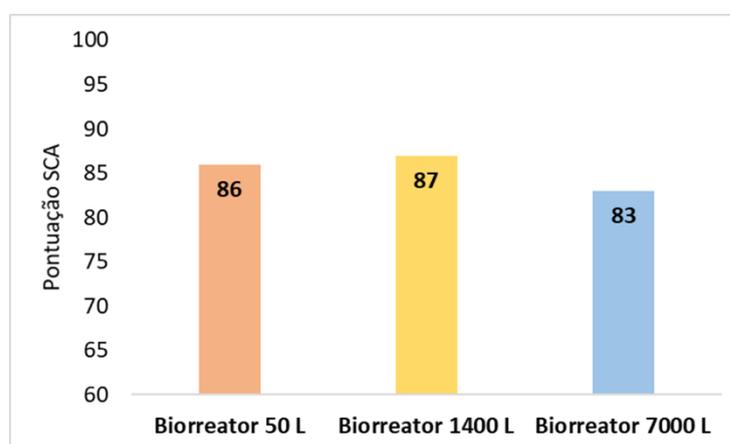


Fig. 6. Pontuação da avaliação sensorial seguindo protocolo da Specialty Coffee

Association (SCA).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 Análise microbiológica por PCR em tempo real (qPCR)

A contagem populacional no início da fermentação foi de 5.69 Log cell.g<sup>-1</sup> e 5.09 Log cell.g<sup>-1</sup> nos biorreatores de 50 L e 1400 L respectivamente, o maior valor encontrado foi no biorreator de 7000 L, 5.98 Log cell.g<sup>-1</sup>, estes resultados se diferem significativamente ( $p \leq 0.05$ ) entre os biorreatores avaliados. Esta concentração de células no início da fermentação pode variar de acordo com método aplicado de inoculação, algumas células podem ser perdidas pelo fluxo de ar quando pulverizadas (MARTINEZ et al., 2017).

O biorreator de 1400 L registrou aumento populacional no meio da fermentação, assim como Jimenez et al. (2022) que utilizou a técnica de fermentação anaeróbica auto induzida (SIAF) em biorreatores de 50 L utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como cultura iniciadora e chegou a viabilidade de 6.0 Log cell.g<sup>-1</sup>. Os biorreatores de 50 L e 7000 L, apresentaram uma diminuição populacional do início para o meio da fermentação, alcançando valores de 5.50 Log cell.g<sup>-1</sup> e 5.47 Log cell.g<sup>-1</sup>.

A variação populacional da *Saccharomyces cerevisiae* é influenciado de acordo com os fatores ambientais onde se desenvolve, podendo assim se adaptar ao meio (DA MOTA et al., 2020). Esta espécie produz enzimas pectinolíticas, que auxilia o processo fermentativo de café por degradar a mucilagem do fruto (SILVA et al., 2008; SILVA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2018). Em todos tratamentos ocorreram aumento populacional entre o tempo de final de fermentação e final de secagem, pois as leveduras se multiplicam na presença de oxigênio.

Desta forma, os resultados apresentados demonstraram que o escalonamento de biorreatores utilizando culturas iniciadoras pode se tornar uma alternativa para melhoria na qualidade da bebida uma vez que se padronize o processo e monitore todas as etapas da fermentação.

### 4.2 Análises físico-químicas

#### 4.2.1 Análise dos ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta

### eficiência (HPLC)

A presença e produção de alguns ácidos orgânicos durante o processo fermentativo, desempenha um papel promissor na classificação de cafés especiais com características sensoriais desejadas (WANG et al., 2020; CASSIMIRO et al., 2022; JIMÉNEZ et al., 2022), pois influencia o sabor e contribuem para a acidez da bebida (RIBEIRO et al. 2017a). A acidez é um atributo importante da qualidade do café em combinação com o dulçor, o amargor e aroma (SUNARHARUM et al., 2014). As concentrações destes ácidos estão relacionadas a diversos fatores como, região, altitude, variedade do café, características genéticas, grau de maturidade do fruto, linhagem das leveduras, formas de inoculação e métodos de processamento (EVANGELISTA et al., 2014b; MARTINEZ et al., 2017; DIVIŠ et al., 2019; MARTINS et al., 2019). Os ácidos succínico, málico e cítrico, estão naturalmente presentes no café (MARTINEZ et al., 2017; BRESSANI et al., 2018; DA MOTA et al., 2022) e podem ser mantidos durante o processamento, fermentação e secagem (BRESSANI et al., 2018; BRESSANI et al., 2021a; 2021b; JIMÉNEZ et al., 2022). Comportamento este, observado nas fermentações dos biorreatores de 1400 L e 7000 L. O biorreator de 50 L apresentou um declínio na concentração destes ácidos, que é desejável pois contribuem para a percepção da doçura, frescor e sabor frutado (FARAH, 2019). Além de influenciar na formação de compostos voláteis durante a torrefação, como pirazinas, furanos e ésteres (ELHALIS et al., 2021).

O ácido cítrico é um composto primário produzido por diversos microrganismos e realça sabores frutados na bebida (MARTINEZ et al. 2021). Trabalho realizado por Martinez et al. (2019) em cafés fermentados utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 detectou aumento na concentração de ácido cítrico ao final do processo de secagem, assim como observado no café fermentado no bioerreator de 7000 L. Outros experimentos registraram a diminuição deste composto ao final da fermentação e secagem (ZHANG et al. 2019b; BRESSANI et al., 2021a; BRESSANI et al., 2021b). Este comportamento foi observado nos biorreatores de 50 L e 1400 L. A presença do ácido cítrico interfere diretamente nos sabores doces na bebida (OESTREICH-JANZEN, 2013; RIBEIRO et al., 2017b; MARTINEZ et al., 2019), além de apresentar notas frutadas remetendo a frutas silvestres, leve acidez e brilho (VANDENBERGHE et al., 2018).

Pesquisa realizada com café por via natural pelo método SIAF, detectou a

presença de ácido málico no início da fermentação (DA MOTA et al., 2022). Entretanto, a concentração tende a diminuir ao final da fermentação e secagem (BRESSANI et al., 2021a). As fermentações utilizando os biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L apresentaram este mesmo comportamento. Esta redução pode ter ocorrido através da conversão de ácido málico em ácido lático por bactérias da microbiota dos grãos de café (AVALLONE et al., 2002; EVANGELISTA et al., 2015). É um composto importante para o perfil sensorial da bebida, caracterizando um sabor suave, evidenciando notas frutadas (FARAH, 2019).

A concentração do ácido succínico aumentou nos biorreatores de 1400 L e 7000 L, ao final do processo de secagem. Este comportamento foi registrado em trabalhos realizados em diferentes regiões, utilizando leveduras como inóculo (MARTINEZ et al., 2019; BRESSANI et al., 2021; DA MOTA et al., 2022). Apenas o biorreator de 50 L apresentou redução na concentração deste composto. O ácido succínico pode ser produzido através do ciclo do glioxilato pela oxidação do isocitrato, bem como no ciclo redutor do ácido cítrico (JAYARAM et al., 2014). Fatores como temperatura de fermentação, disponibilidade de oxigênio, composição química do meio e a genética da cepa, podem afetar a produção deste ácido (BRESSANI et al., 2021a).

O ácido lático foi detectado em concentrações maiores ao final da fermentação, aumento este, relacionado com a presença de bactérias lácticas presentes nos grãos de café (AVALLONE et al., 2001; PEREIRA et al., 2022; JIMÉNEZ et al., 2022). Desta forma, também foi detectado ao final do processo de secagem do café (FERREIRA e MENDES-FAIA, 2019). Comportamento semelhante no presente estudo, que confirmou o aumento deste ácido orgânico nas fermentações conduzidas em biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L. Este aumento ocorreu devido as bactérias lácticas utilizarem os açúcares presentes no fruto do café para produzir ácido lático (MARTINEZ et al., 2019), ou seguirem a via metabólica da descarboxilação do ácido málico (LEEUWENHOEK, 1999; CASSIMIRO et al., 2022; JIMÉNEZ et al., 2022). Mas quando ocorre alta produção de ácido acético e redução do ácido lático, é devido à transformação do ácido lático em ácido acético por bactérias heterofermentativas (ELFERINK et al., 2001). A presença deste ácido na bebida, auxilia na acidez, corpo (DI CAGNO et al., 2011) e pode apresentar notas amanteigadas à bebida (FARAH, 2019).

Outro ácido orgânico que aumentou a concentração nos testes com os biorreatores de 50 L, 1400 L foi o ácido acético. Trabalhos realizados com fermentação de café,

também registraram um aumento na concentração de ácido acético ao final do processo (EVANGELISTA et al., 2014a, 2014b; RIBEIRO et al., 2017a, 2017b; MARTINEZ et al., 2017; BRESSANI et al., 2018; BRESSANI et al., 2021b; DA MOTA et al., 2022). O biorreator de 7000 L registrou uma diminuição na concentração deste ácido. Apesar da relação direta com a presença de bactérias, as leveduras também podem produzir ácido acético em baixas concentrações durante a fermentação (PEREIRA et al., 2019). Algumas características como, a cepa selecionada, concentração de açúcar, fonte de nitrogênio e vitaminas, auxiliam na produção de ácido acético, a presença deste ácido contribui para acidez da bebida e é responsável pelo aroma frutado, vinho e fermentado (BRESSANI et al., 2018; SENINDE, 2020; BRESSANI et al., 2021a)

Dentre os ácidos orgânicos avaliados, o ácido propiônico é o único indesejável pois, é um indicador de fermentação excessiva, remetendo a notas sensoriais de cebola (SILVA, 2013; HAILE e KANG, 2019). Este composto foi detectado nas fermentações dos biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L. A produção ácido propiônico pode estar relacionada com a presença de bactérias da espécie *Bacillus* (MARTINEZ et al., 2019), e foi registrado em fermentações utilizando diferentes métodos de inoculação (EVANGELISTA et al., 2014a, 2014b; RIBEIRO et al., 2017a, 2017b; MARTINEZ et al., 2017; BRESSANI et al., 2018; BRESSANI et al., 2021b;).

#### **4.2.2 Análise dos compostos bioativos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)**

Compostos bioativos, como cafeína, trigonelina e ácido clorogênico, conferem funcionalidade à bebida de café, pois exercem propriedades antioxidantes (MARTINEZ et al., 2021). No entanto, sua concentração depende de vários fatores, como espécie, variedade de café, condições de cultivo, processamento, armazenamento e tipos de preparo (CASSIMIRO et al., 2022). Os ácidos clorogênicos são compostos fenólicos com propriedades farmacológicas, atividade antibacteriana e antiinflamatória (SONG et al., 2018). Estes compostos fazem parte da composição química do café verde e continuam presentes após o processo de fermentação anaeróbica induzida (SIAF) (PEREIRA et al., 2022).

Os biorreatores de 50 L e 1400 L, registraram o aumento de concentração do ácido clorogênico ao final da fermentação. Este comportamento pode ocorrer pois o composto é transportado do interior para superfície do grão com intuito de proteger o

fruto do ataque de microrganismos (FAGAN et al., 2011). Comportamento diferente foi observado no biorreator de 7000 L, que apresentou uma redução de concentração deste composto ao final do processo de secagem. Tratamentos utilizando *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 como cultura iniciadora, apresentaram diminuição dos ácidos clorogênicos ao final da fermentação (BRESSANI et al., 2021). O ácido clorogênico é o composto fenólico mais abundante no café e contribui para o amargor, pigmentação e adstringência da bebida (DUARTE et al., 2010; SUNARHARUM et al., 2014; MARTINEZ et al., 2021).

Outro composto bioativo avaliado foi a trigonelina, sua presença pode contribuir para o amargor e adstringência na bebida (ZHANG et al., 2019a). A trigonelina é o segundo alcaloide mais abundante nos grãos de café (FARAH, 2012; JESZKA-SKOWRON et al., 2016; CASSIMIRO 2022). Os biorreatores testados neste experimento apresentaram concentrações variando entre 2.86 g/kg e 5.32 g/kg ao final da secagem, estes valores foram reduzidos quando comparados ao início da fermentação em todos tratamentos. Estudo de Martinez et al., (2022) registrou valor de 3.66 g/kg em cafés de lavouras próximas de 900 m de altitude, e redução da concentração ao final do processo fermentativo (MARTINEZ et al., 2017). Os aromas do café torrado estão relacionados com a concentração dos compostos derivados da trigonelina (BRESSANI et al., 2021a, BELCHIOR et al., 2019), importantes para caracterização do perfil sensorial do café (BRESSANI et al., 2018).

Dentre compostos bioativos, a cafeína foi encontrada em maior valor quando comparada a trigonelina e ácidos clorogênicos (DUARTE et al., 2010; MARTINEZ et al., 2022.). Diferentemente das concentrações detectadas neste trabalho, os biorreatores de 50 L, 1400 L, e 7000 L registraram a cafeína como o segundo composto bioativo de maior concentração, em todos tratamentos foi observada a redução de suas concentrações ao final da secagem. Podendo estar relacionada com a presença de bactérias e fungos filamentosos que degradam a cafeína em xantina ou dimetilxantina durante o processo fermentativo (OKTAVIANAWATI, et al., 2020). Este composto é solúvel em água e análise realizada na água residual do processo fermentativo apresentou presença de compostos endógenos dos grãos de café como cafeína (ZHANG et al., 2019a). Os valores de cafeína, influenciam diretamente o amargor da bebida (SUNARHARUM et al., 2014).

#### **4.2.3 Compostos voláteis por cromatografia gasosa com espectrometria de**

### massa (GC / MS)

O processamento pós-colheita pode alterar o perfil dos compostos voláteis em grãos de café (BERTRAND et al., 2006; DA MOTA et al., 2020), assim como a região, altitude e variedade do café (EVANGELHISTA et al., 2014; BRESSANI et al., 2018). Os biorreatores de 50 L e 1400 L, registraram os álcoois como a classe química mais abundante no início da fermentação. Resultado semelhante encontrado em cafés fermentados em biorreatores de 50 L (BRESSANI et al. 2021). No biorreator de 7000 L os álcoois foram a segunda classe química de maior concentração, valor este, inferior quando comparada a classe química dos ácidos.

Após a fermentação, as principais classes químicas encontradas no fruto do café são os álcoois, aldeídos, ácidos, cetonas e ésteres, resultantes do metabolismo das leveduras (BRESSANI et al. 2018, BRESSANI et al. 2021, CASSIMIRO et al. 2022). Os biorreatores de 50 L e 1400 L, apresentaram os aldeídos como a principal classe química encontrada ao final da secagem, seguida pela classe dos álcoois. A presença de álcool indica que os microrganismos estão metabolicamente ativos (MARTINEZ et al., 2019). Alguns precursores dos álcoois são os aldeídos, principalmente os acetaldeídos que são liberados pelas células das leveduras durante a fermentação, difundindo com os grãos de café (MARTINEZ et al., 2022).

O biorreator de 7000 L apresentou os ésteres como a classe química de maior concentração, seguida pela classe dos ácidos. As reações de esterificação envolvendo o álcoois, são primordiais para formação de ésteres na fermentação, pois, os compostos são sintetizados por alcoólise, acidólise, esterificação e transesterificação (LEE, 2015), ou pela utilização de lipídeos e acetil-CoA no metabolismo celular (DZIALO et al., 2017). A formação destes compostos, geralmente contribui para caracterização de aroma doce, mel, frutado e floral em toda a fermentação (RIBEIRO et al., 2018).

O aumento da classe química dos ácidos foi registrada em experimentos utilizando biorreatores de 50 L (DA MOTA et al. 2022; BRESSANI et al., 2018; BRESSANI et al. 2021a). Existe uma relação entre a utilização de leveduras e o composto volátil ácido hexanóico, na fermentação de café natural (JIMENEZ et al., 2022).

Desta forma, a utilização de biorreatores controla o ambiente interno, diminuindo a oscilação da concentração dos compostos voláteis (MARTINEZ et al. 2019). Além de serem modificados conforme a espécie de leveduras utilizada, pois diferentes cepas, secretam diferentes compostos de acordo com seu processo metabólico (LEE et al.,

2015; MARTINEZ et al., 2019). A definição da qualidade sensorial da bebida está diretamente relacionada com a quantidade e diversidade de compostos voláteis (BRESSANI et al., 2019).

### 4.3 Análise sensorial

Uma alternativa para melhoria na qualidade sensorial da bebida é a aplicação do processo fermentativo, que modula, diferencia e aumenta os descritores sensoriais do café (BRESSANI et al., 2021b). Visando isto, os produtores rurais tentam a aumentar as escalas de produção de cafés especiais, pois agregam valor ao produto. A elevação da pontuação influencia diretamente no poder de negociação, principalmente quando classificado como especiais (MARTINEZ et al., 2021)

Os cafés fermentados nos biorreatores de 50 L, 1400 L e 7000 L, foram avaliados por provadores treinados e pontuados com notas de 86, 87 e 83 pontos respectivamente, sendo classificados como cafés especiais. O perfil do sabor e aroma podem ser influenciados de acordo com monitoramento do processo fermentativo, trabalhos utilizando o método de fermentação anaeróbica auto induzida (SIAF) apresentaram melhoria na qualidade, caracterizando diferentes perfis sensoriais (JIMÉNEZ et al., 2022).

O biorreator de 50 L apresentou o perfil sensorial com notas frutadas, frutas cítricas remetendo a guaraná, chocolate ao leite, nozes e especiarias. Foi o biorreator de maior concentração de compostos voláteis, principalmente os aldeídos e álcoois. Sabores frutados e de chocolate, foram encontrados em cafés fermentados em biorreatores em níveis elevados de aldeídos e álcoois (ELHALIS et al., 2022). Experimentos que utilizaram *Saccharomyces cerevisia* CCMA 0543 como cultura iniciadora apresentaram notas de nozes, amêndoas e frutas cítricas (BRESSANI et al., 2019; BRESSANI et al., 2021a; ELHALIS et al., 2022).

O café fermentado no biorreator de 1400 L apresentou o perfil sensorial de notas frutadas, chocolate remetendo a cacau, amêndoas, castanhas, melão e pão de mel. Foi o biorreator de maior concentração de ácidos orgânicos, principalmente o ácido lático. A acidez e sua intensidade é um parâmetro importante para caracterização da bebida, o ácido lático pode evidenciar o aroma frutado. O ácido cítrico, evidencia a acidez cítrica e traz corpo à bebida, estes atributos influenciam diretamente na classificação do café (CASSIMIRO et al. 2022).

A utilização de biorreatores na fermentação de cafés, intensifica o atributo frutado independentemente de sua escala, pois as leveduras produzem ésteres que atribuem esta característica (PEREIRA et al., 2022). O biorreator de 7000 L apresentou a maior concentração de éster quando comparado com os demais biorreatores testados, caracterizando o perfil sensorial de notas frutadas, florais, caramelo, doce e mel. O dulçor também é um atributo importante para pontuação final da bebida (CASSIMIRO et al., 2022).

O efeito benéfico da inoculação de leveduras na qualidade do café foi relatado usando diferentes tipos e escalas de biorreatores (EVANGELISTA et al., 2014a; BRESSANI et al., 2018; MARTINS et al., 2019; DA MOTA et al., 2020; MARTINEZ et al., 2021). Visando isto, os produtores rurais procuram aumentar as escalas de produção de cafés especiais, pois agregam valor ao produto. A elevação da pontuação influencia diretamente no poder de negociação, principalmente quando classificado como especiais (MARTINEZ et al., 2021). Os consumidores estão mudando seu comportamento em relação a qualidade sensorial de cafés, atributos diferenciados que influenciam na pontuação final da bebida são fatores importantes para decisão de compra (BRESSANI et al., 2021b).

## **5. CONCLUSÃO**

O biorreator de 50 L apresentou maiores concentrações de compostos voláteis, evidenciando notas sensoriais de frutas vermelhas e cítricas remetendo a guaraná, especiarias e melaço. O biorreator de 1400 L, maiores concentrações de ácidos orgânicos e perfil sensorial de frutas passas, chocolate ao leite remetendo a cacau e castanhas. Estes resultados impactaram na prova de xícara pois os provadores descreveram perfis sensoriais distintos, mesmo com a diferença de apenas 1 ponto na nota final. O biorreator de 7000 L, apresentou maior contagem populacional ao final do processo de secagem, menores concentrações dos compostos analisados e menor nota sensorial, com atributos florais, herbais e doces. O escalonamento de biorreatores, deve ser realizado monitorando algumas etapas do processo como a forma de inoculação, homogeneização do inóculo no café e garantia de ambiente anaeróbio, possibilitando assim melhorias na qualidade sensorial do café.

## **6. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem às seguintes agências brasileiras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelas bolsas, aos produtores de cafés da região sul do Estado de Minas Gerais, Brasil, pela coleta das amostras e a Syngenta (NUCOFFEE) pelo apoio no projeto.

## REFERÊNCIAS

AVALLONE, S. et al. Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. **Current Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 252–256, 2001.

AVALLONE, S. et al. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 191–198, 2002.

BELCHIOR, V. et al. Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Spectroscopy (ATR-FTIR) and chemometrics for discrimination of espresso coffees with different sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 273, p. 178–185, 2019.

BERTRAND, B. et al. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. **Tree Physiology**, v. 26, n. 9, p. 1239–1248, 2006.

BRESSANI, A. P. P. et al. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 92, n. October 2017, p. 212–219, 2018.

BRESSANI, A. P. P. et al. Organic acids produced during fermentation and sensory perception in specialty coffee using yeast starter culture. **Food Research International**, v. 128, n. October 2019, p. 108773, 2019.

BRESSANI, A. P. P. et al. Coffee protein profiles during fermentation using different yeast inoculation methods. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 55, 2020.

BRESSANI, A. P. P. et al. Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee. **Food Chemistry**, v. 361, n. January, 2021a.

BRESSANI, A. P. P. et al. Characterization of bioactive, chemical, and sensory compounds from fermented coffees with different yeasts species. **Food Research International**, p. 110755, 13 out. 2021b.

CASSIMIRO, D. M. DE J. et al. Coinoculation of lactic acid bacteria and yeasts increases the quality of wet fermented Arabica coffee. **International Journal of Food Microbiology**, v. 369, n. March, 2022.

DA MOTA, M. C. B. et al. Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. **Food Research International**, v. 136, n. June, 2020.

DA MOTA, M. C. B. et al. Impact of microbial self-induced anaerobiosis fermentation (SIAF) on coffee quality. **Food Bioscience**, p. 101640, 25 fev. 2022.

DÍAZ, C. et al. Characterization and dynamic behavior of wild yeast during spontaneous wine fermentation in steel tanks and amphorae. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

DI CAGNO, R. et al. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and

sensory properties of red and green smoothies. **Food Microbiology**, v. 28, n. 5, p. 1062–1071, 2011.

DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J.; KŘÍKALA, J. The effect of coffee beans roasting on its chemical composition. **Potravinářstvo Slovak Journal of Food Sciences**, v. 13, n. 1, p. 344–350, 2019.

DUARTE, W. F. et al. Fermentative behavior of *Saccharomyces* strains during microvinification of raspberry juice (*Rubus idaeus* L.). **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3, p. 173–182, 2010.

DZIALO, M. C. et al. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. June, p. S95–S128, 2017.

FAGAN, E. B. et al. Effect of time on coffee bean (*Coffea* spp.) growth in cup quality. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 5, p. 729–738, 2011.

ELFERINK, S. J. O.; W. H. et al. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 125–132, 2001.

ELHALIS, H. et al. Microbiological and biochemical performances of six yeast species as potential starter cultures for wet fermentation of coffee beans. **Lwt**, v. 137, n. October 2020, p. 110430, 2021.

ELHALIS, H. et al. Coffee fermentation: Expedition from traditional to controlled process and perspectives for industrialization. **Applied Food Research**, v. 3, n. 1, p. 100253, 2022.

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

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, 2014b.

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

FARAH, A. Coffee Constituents. **Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention**, p. 21–58, 2012.

FARAH, A. (2019). Coffee production, quality and chemistry (A. Farah, Ed.). Royal Society of Chemistry.

FERREIRA, A. M.; MENDES-FAIA, A. The role of yeasts and lactic acid bacteria on the metabolism of organic acids during winemaking. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1–19, 2019.

FERREIRA, D. F. *Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons.*

**Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, 2014.

HAILE, M.; KANG, W. H. The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. **Journal of Food Quality**, v. 2019, 2019.

JAYARAM, V. B. et al. Succinic acid in levels produced by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) during fermentation strongly impacts wheat bread dough properties. **Food Chemistry**, v. 151, p. 421–428, 2014.

JESZKA-SKOWRON, M. et al. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 8, p. 1403–1409, 2016.

JIMENEZ, E. J. M. et al. Influence of anaerobic fermentation and yeast inoculation on the viability, chemical composition, and quality of coffee. **Food Bioscience**, v. 51, n. November 2022.

KALAIVANI, K.; KALAISELVI, M. M.; SENTHIL-NATHAN, S. Effect of methyl salicylate (MeSA), an elicitor on growth, physiology and pathology of resistant and susceptible rice varieties. **Scientific Reports**, v. 6, n. July, p. 1–11, 2016.

KRISHNA, C. Solid-state fermentation systems - An overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 1–2, p. 1–30, 2005.

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

MAGALHÃES JÚNIOR, A. I. et al. A critical techno-economic analysis of coffee processing utilizing a modern fermentation system: Implications for specialty coffee production. **Food and Bioproducts Processing**, v. 125, p. 14–21, 2021.

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

MARTINEZ, S. J. et al. Effect of bacterial and yeast starters on the formation of volatile and organic acid compounds in coffee beans and selection of flavors markers precursors during wet fermentation. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. JUN, 2019.

MARTINEZ, S. J. et al. Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. **Food Research International**, v. 139, n. April 2020, 2021.

MARTINEZ, S. J. et al. Dominant microbial communities and biochemical profile of pulped natural fermented coffees growing in different altitudes. **Food Research International**, v. 159, n. July, 2022.

MARTINS, P. M. M. et al. Production of coffee (*Coffea arabica*) inoculated with yeasts: impact on quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 13, p. 5638–5645, 2019.

MARTINS, P. M. M. et al. Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. **Food Research International**, v. 129, n. November 2019, p. 108872, 2020.

OESTREICH-JANZEN, S. **Caracterización físico-química y sensorial de dos variedades de café (Coffea arabica) del occidente de Honduras**. [s.l.] Elsevier Inc., 2013.

OKTAVIANAWATI, I. et al. The Impacts of Traditional Fermentation Method on the Chemical Characteristics of Arabica Coffee Beans from Bondowoso District, East Java. **The Journal of Pure and Applied Chemistry Research**, v. 9, n. 2, p. 133–141, 2020.

PANDEY, A. Recent process developments in solid-state fermentation. **Process Biochem**, v. 27, n. 2, p. 109-117, 1992.

PEREIRA, G. V. M. et al. Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. **Food Chemistry**, v. 272, n. December 2017, p. 441–452, 2019.

PEREIRA, T. S. et al. Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial communities, chemical composition and sensory quality of coffee. **Food Microbiology**, v. 103, p. 103962, 1 maio 2022.

RIBEIRO, D. E. et al. Profile of Organic Acids and Bioactive Compounds in. **Coffee Science**, v. 13, n. 2, p. 187–197, 2018.

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

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

SENINDE, D. R.; CHAMBERS, E. Coffee flavor: A review. **Beverages**, v. 6, n. 3, p. 1–25, 2020.

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

SILVA, C. F. et al. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 235–247, 2013.

SONG, J. L. et al. Changes in Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Coffee under Different Roasting Conditions. **Korean Journal of Plant Resources**, v. 31, n. 6, p. 704–713, 2018.

SCAA - Specialty Coffee Association. SCAA Protocols | Cupping Specialty Coffee.  
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, 2014.

VANDENBERGHE, L. P. S. et al. Solid-State Fermentation for the Production of Organic Acids. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, p. 415–434, 2018.

ZHANG, S. J. et al. Following coffee production from cherries to cup: Microbiological and metabolomic analysis of wet processing of *Coffea arabica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 6, 2019a.

ZHANG, S. J. et al. Influence of Various Processing Parameters on the Microbial Community Dynamics, Metabolomic Profiles, and Cup Quality During Wet Coffee Processing. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. November, p. 1–24, 2019b.

WEBB, C. Design Aspects of Solid State Fermentation as Applied to Microbial Bioprocessing. **Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering**, v. 4, n. 1, p. 511–532, 2017.

WANG, S. J.; ZHONG, J. J. Bioreactor Engineering. **Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources**, p. 131–161, 2007.

WANG, C. et al. Potential of lactic acid bacteria to modulate coffee volatiles and effect of glucose supplementation: fermentation of green coffee beans and impact of coffee roasting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 409–420, 2019.

WANG, C. et al. Coffee flavour modification through controlled fermentation of green coffee beans by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. **LWT**, v. 120, p. 108930, 1 fev. 2020. BoultonC, QuainD(2001) Yeast management. In: BoultonC, QuainD(ed).