



**IARAMARUM DE JESUS FALCÃO**

**SELEÇÃO DE NOVAS CEPAS DE LEVEDURAS PARA  
FERMENTAÇÃO DE CAFÉS ARÁBICA (*Coffea arabica L.*) E  
CONILON (*Coffea canephora P.*)**

**LAVRAS - MG**

**2022**

**IARAMARUM DE JESUS FALCÃO**

**SELEÇÃO DE NOVAS CEPAS DE LEVEDURAS PARA FERMENTAÇÃO DE  
CAFÉS ARABICA (*Coffea arabica L.*) E CONILON (*Coffea canephora P.*)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dra. Rosane Freitas Schwan  
Orientador  
Dra. Nádia Nara Batista  
Coorientadora  
Msc. Pâmela Mynsen Machado Martins  
Coorientadora

**LAVRAS – MG  
2022**

**IARAMARUM DE JESUS FALCÃO**

**SELEÇÃO DE NOVAS CEPAS DE LEVEDURAS PARA FERMENTAÇÃO DE  
CAFÉS ARABICA (*Coffea arabica* L.) E CONILON (*Coffea canephora* P.)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para a obtenção do título de Bacharel.

Aprovado em:

---

Dra. Nádia Nara Batista  
DBI/UFLA

---

Dra. Ana Paula Pereira Bressani  
DBI/UFLA

---

Prof. Dra. Rosane Freitas Schwan  
DBI/UFLA

**LAVRAS – MG  
2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradecer a Deus, pois sem ele nada disso seria possível, por me dar sabedoria durante todas as dificuldades passadas.

A minha mãe Marcia que sempre me apoiou durante todo percurso para que hoje esse dia fosse possível, por sempre fazer o seu melhor dentro de todas as dificuldades da vida, que é sempre será meu maior amor, a minha maior riqueza e inspiração.

Ao meu Pai Luizir por juntamente com a minha mãe, conceder-me o dom da vida e sempre incentivar a mim e as minhas irmãs o aprendizado.

As minhas irmãs Tainã, Athâmis, Suyá, Kenia, Tarumim e ao meu irmão Adjj por sempre torcerem por mim durante toda a minha jornada, amo vocês. As minhas sobrinhas Camila e Marina por toda doçura e amor.

Ao meu namorado Gabriel, por sempre acreditar em mim e por fazer tudo possível e impossível para que esse dia pudesse chegar; por ser minha companhia diária, meu professor particular, minha inspiração e meu amor. E aos meus sogros Marilene e Admilson, e meu cunhado Marcelo, por me adotarem pra essa família que amo.

Ao meu cãopanheiro de todos os dias Tião, por me permitir ser sua mãe e me dar o seu amor incondicional. Te amo Tiru!

A todas as amizades que fiz durante esses anos de graduação, em especial minha duplinha Pâmela, minha filha Lara, Matheus Felipe, Mauricio, Carla, Dani, Pâmela M. e todos outros que passaram de alguma forma durante esse percurso comigo.

Aos meus colegas de laboratórios, pelo companheirismo durante esses anos e pela troca de conhecimento compartilhamos durante esses anos. A todos os núcleos de estudos que tive oportunidade de participar, em especial o NEAPAN, por ser uma das minhas melhores lembranças e orgulho que tenho da faculdade.

As minhas coorientadoras Pâmela e Nádia por todo o auxílio, sem vocês esse trabalho não seria possível.

A minha orientadora Rosane, pela oportunidade de aprender tanto durante esse período de iniciação científica, e também pela confiança comigo e com o meu trabalho.

Por fim agradeço a Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Ciências dos Alimentos, por todo aprendizado recebido durante toda a graduação.

## RESUMO

O café é a bebida não alcoólica mais consumida no mundo e o Brasil é o maior produtor e exportador de café. Existe uma grande diversidade de microrganismos presentes naturalmente no café, como bactérias, fungos e leveduras que podem influenciar de maneira benéfica na qualidade final do produto. Neste trabalho, foi avaliado novas cepas de leveduras para potencial utilização como culturas iniciadoras nos cafés arábica e conilon. Foram avaliadas 56 cepas das espécies *Cystofilobasidium ferigula* (10), *Rhodotorula mucilaginosa* (5), *Debaryomyces hansenii* (1), *Wickerhamomyces anomalus* (4), *Hanseniaspora uvarum* (7), *Hanseniaspora opuntiae* Čadež (2), *Pichia kluyveri* (2), *Pichia fermentans* (2), *Meyerozyma guilliermondii* (6) e *Meyerozyma caribbica* (17). Teste enzimáticos foram realizados para avaliar a atividade da pectina liase e poligalacturonase nas cepas e ao final foram selecionadas 34 que apresentaram melhor atividade enzimática. A fermentação em meio de casca e polpa de café foi realizada para avaliar o crescimento e também os compostos orgânicos e voláteis obtidos a partir da fermentação com diferentes cepas. As técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa com espectrômetro de massa foram realizadas para caracterizar o perfil dos ácidos orgânicos e compostos voláteis. O crescimento das cepas no ultimo tempo de fermentação (48 h) foi em torno de  $10^7$  UFC/ml para o café arábica e conilon. Os compostos orgânicos detectados foram o ácido málico, cítrico e succínico. As cepas *Meyerozyma guilliermondii* CCMA1737 e a *Meyerozyma caribbica* CCMA1993, seguidas das *Meyerozyma caribbica* CCMA1617, *Meyerozyma caribbica* CCMA1992, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Meyerozyma caribbica* CCMA1735, *Pichia kluyveri* CCMA1658, *Cystofilobasidium ferigula* CCMA1647 e *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 foram selecionadas como potenciais culturas iniciadoras para o café arábica. As cepas: *Hanseniaspora uvarum* CCMA1895, *Rhodotorula mucilaginosa* CCMA1663, *Pichia kluyveri* CCMA1652, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 foram selecionadas como potenciais culturas indicadoras para o café conilon. Além disso, o comportamento das potenciais culturas iniciadoras deve ser avaliada durante o processo fermentativo do café arábica e conilon.

**Palavras-chave:** Café. Fermentação. Culturas iniciadoras.

## ABSTRACT

Coffee is the most consumed non-alcoholic beverage in the world and Brazil is the largest producer and one of the largest exporters of it. There is a great diversity of microorganisms naturally present in coffee, such as bacteria, fungi and yeasts that can beneficially influence the final quality of the product. In this work, new yeast strains were evaluated for possible use as starter cultures in arabica and conilon coffees. A total of 56 strains of the species were evaluated *Cystofilobasidium ferigula* (10), *Rhodotorula mucilaginosa* (5), *Debaryomyces hansenii* (1), *Wickerhamomyces anomalus* (4), *Hanseniaspora uvarum* (7), *Hanseniaspora opuntiae* Čadež (2), *Pichia kluyveri* (2), *Pichia fermentans* (2), *Meyerozyma guilliermondii* (6) and *Meyerozyma caribbica* (17). Enzyme tests were carried out to evaluate the activity of pectin lyase and polygalacturonase in the strains and, in the end, 34 were selected that showed better enzymatic activity. Fermentation in coffee husk and pulp medium was carried out to evaluate the growth and also the organic and volatile compounds obtained from the fermentation with different strains. The techniques of high-performance liquid chromatography and gas chromatography with mass spectrometer were performed to characterize the profile of organic acids and volatile compounds. The growth of strains in the last fermentation time was around  $10^7$ CFU/mL for arabica and conilon coffee. The organic compounds detected were malic, citric and succinic acid. The strains: *Meyerozyma guilliermondii* CCMA1737 and *Meyerozyma caribbica* CCMA1993, *Meyerozyma caribbica* CCMA1617, *Meyerozyma caribbica* CCMA1992, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Meyerozyma caribbica* CCMA1735, *Pichia kluyveri* CCMA1658, *Cystofilobasidium ferigula* CCMA1647, and *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 were selected as potential starter cultures for Arabica coffee. The strains: *Hanseniaspora uvarum* CCMA1895, *Rhodotorula mucilaginosa* CCMA1663, *Pichia kluyveri* CCMA1652, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 were selected as potential initiator cultures for conilon coffee. In addition, the behavior of potential starter cultures should be evaluated during the fermentation process of arabica and conilon coffee.

**Keywords:** Coffee. Fermentation. Starter cultures.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produtividade média (toneladas por hectare).....	12
Figura 2 – Partes do café. ....	13
Figura 3 - Café arabica (esquerdo) e robusta (direito) cru. ....	14
Figura 4 - Fluxograma do experimento. ....	23
Figura 5 – Heatmap das classes de voláteis produzidos em meio CPM para o café arábica ...	46
Figura 6 - Heatmap das classes de voláteis produzidos em meio CPM para o café conilon....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química dos resíduos do café.....	14
Tabela 2 - Isolados obtidos pela Coleção de Culturas da Microbiologia Agrícola.....	20
Tabela 3 – Análise das leveduras a partir do teste de pectinase em meio MP7 e MP5.....	26
Tabela 4 – Cepas de leveduras selecionadas a partir do teste de pectinase em meio MP7 e MP5 .....	29
Tabela 5: População microbiana, pH e Brix no meio CPM com café arabica .....	32
Tabela 6: População microbiana, pH e Brix no meio CPM com café conilon.....	33
Tabela 7 - Dados estatísticos da produção de ácidos orgânicos no meio CPM arábica.....	34
Tabela 8 - Dados estatísticos da produção de ácidos orgânicos no meio CPM conilon.....	36
Tabela 9 - Área inicial e final dos compostos voláteis no café arábica.....	39
Tabela 10 - Área inicial e final dos compostos voláteis no café conilon .....	42



## SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO .....	10
1.1 - Objetivos gerais.....	11
1.2 - Objetivos específicos .....	11
2 - REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1 - Cafeicultura brasileira .....	12
2.2 - Composição química do café .....	13
2.3 - Processo fermentativo do café.....	16
2.4 - Uso de culturas iniciadoras e produção de enzimas .....	17
3 - METODOLOGIA .....	19
3.1 - Microrganismos.....	19
3.2 - Pectinases .....	24
3.3 - Avaliação de crescimento em meio à base de café .....	24
3.4 - Análise ácidos orgânicos.....	25
3.5 - Compostos voláteis .....	25
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
4.1 - Atividade de pectinase das leveduras epifíticas do café .....	26
4.2 - Avaliação de crescimento em meio à base de café .....	30
4.3 - Análise de ácidos orgânicos .....	34
4.4 - Compostos voláteis .....	38
5 - CONCLUSÃO .....	49
REFERÊNCIAS .....	50

## 1 - INTRODUÇÃO

O café é a bebida não alcoólica mais consumida no mundo, sendo o Brasil o maior produtor e exportador, seguido pelo Vietnã e Colômbia (ICO, 2020). A crescente produção, comercialização e consumo do café mostra a grande importância econômica do café mundialmente (SAKIYAMA; FERRÃO, 2015). Entre as espécies de café se destacam o *Coffea arabica* sendo a mais consumida mundialmente, seguido do *Coffea canefora* (BERTRAND *et al.*, 2003).

Entre as principais diferenças das duas espécies de café temos as propriedades sensoriais do café torrado. O café arábica apresenta aroma e sabor mais intensos, acidez e amargor balanceados com notas achocolatadas e amendoadas. Enquanto o café conilon apresenta um sabor mais amargo, com notas amadeiradas e terrosas, remetendo a cereais (AGNOLETTI *et al.*, 2019).

Durante o processamento de pós-colheita do café, a etapa de fermentação do fruto é de extrema importância pois favorece o aumento da qualidade sensorial da bebida (BRESSANI *et al.*, 2020). Sendo assim, a fermentação do café torna-se uma alternativa economicamente viável para que se obtenha cafés com aromas e sabores diferenciados, fazendo com que se agregue valor ao produto final (MARTINEZ *et al.*, 2019; MARTINS *et al.*, 2019, 2020).

A etapa de fermentação ocorre de forma espontânea a partir da degradação da mucilagem que está presente ao redor dos grãos, uma vez que este apresenta elevada quantidade de substâncias pécticas (AGATE; BHAT, 1966). Inicialmente acreditava-se que a degradação dessas substâncias pécticas ocorria a partir de enzimas pectinolíticas produzidas pelo próprio fruto. Entretanto, hoje já se sabe que essas enzimas não são suficientes e que a ação microbiana também se faz necessária (FRANK; LUM; DELACRUZ, 1965). Essas substâncias são degradadas pelas pectinases, enzimas produzidas por bactérias e leveduras (PUERTA, 2013).

Durante a etapa de fermentação, culturas iniciadoras podem ser utilizadas para induzir o processo de fermentação e assim melhorar a qualidade sensorial da bebida (BRESSANI *et al.*, 2020). Essa melhora na bebida ocorre devido à produção de enzimas extracelulares e ácidos orgânicos que são produzidos, por exemplo, por leveduras. O seu metabolismo pode acarretar a hidrólise de macromoléculas, produzindo importantes precursores de aroma, como açúcares redutores, aminoácidos e ácido clorogênico (LEE *et al.*, 2015).

Leveduras das espécies como *Meyerozyma caribbica*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Hanseniaspora opuntiae* Čadež, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia anomala* e *Pichia kluyveri*, já foram estudadas e utilizadas na fermentação do café, como culturas iniciadoras, atribuindo

características desejáveis ao produto final (ARAÚJO, 2015; ASSIS, 2012; MASOUD; JESPERSEN, 2006; SILVA *et al.*, 2008)

Desta forma, é importante a seleção de novas cepas de leveduras que possam vir a ser utilizadas como culturas iniciadoras durante o processo de fermentação do café com o intuito de gerar atributos específicos para o mesmo. Assim, o objetivo deste trabalho será selecionar novas cepas de leveduras para fermentação em cafés arábica (*Coffea arabica* L.) e conilon (*Coffea canephora* P.).

### **1.1 - Objetivos gerais**

O presente trabalho teve como objetivo selecionar de novas cepas de leveduras na fermentação do café arábica (*Coffea arabica*) e conilon (*Coffea canephora* P.).

### **1.2 - Objetivos específicos**

- Realização de testes enzimáticos com as cepas para verificar a produção de pectina liase e poligalacturonase.
- Avaliação do potencial fermentativo das melhores cepas de leveduras em meio de casca e polpa de café.
- Avaliação dos compostos orgânicos e voláteis produzidos por cada uma das cepas selecionadas pela etapa de produção enzimática.

## 2 - REFERENCIAL TEÓRICO

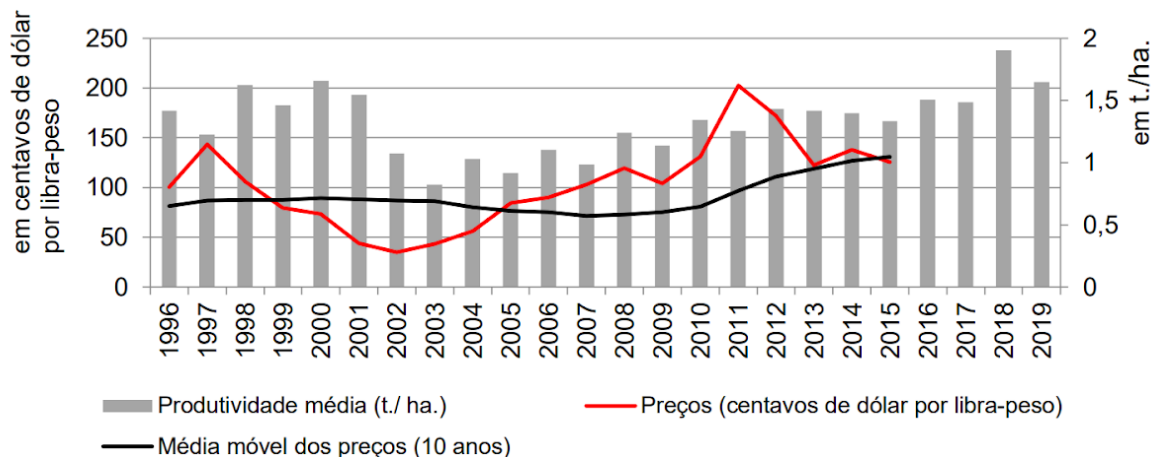
### 2.1 - Cafeicultura brasileira

Há mais de um século, o Brasil vem se destacando no mercado cafeeiro mundial como maior produtor e um dos maiores exportadores de café, sendo responsável por cerca de um terço da produção mundial. Por se tratar de um produto natural, com aromas e sabores distintos, o café é uma das bebidas mais aceitas e apreciadas no mundo (SANTOS, 2019). Sendo assim, a produção do café tem impacto direto na economia mundial, principalmente a brasileira.

Nos últimos 23 anos, a menor produtividade do café ocorreu em 2003, devido à baixa bialidade (elevada produção em 2002), redução dos cuidados com as plantações (adubação e tratamento fitossanitário) e redução das chuvas que conseqüentemente, contribuíram para o atraso na floração. Também pode-se atribuir a redução da produtividade no início da década de 2000 com a desvalorização do café devido à queda dos preços internacionais, pois enquanto em 1997 o café era cotado a US\$143,38 por libra-peso, em 2002 esse valor chegou a US\$34,95 (Figura 1) (CONAB, 2020).

Figura 1 - Produtividade média (toneladas por hectare).

Dados de 1996 a 2019, preços internacionais do café em grão, em centavos de dólar por libra-peso e média móvel de 10 anos



Fonte: Campos (2022).

De acordo com Caldarelli, Gilio e Ziberman (2019), a especialização na produção de café de baixa qualidade com baixo custo de produção no Brasil faz com que se tenha uma perda para os competidores internacionais que investem principalmente em qualidade, certificação e

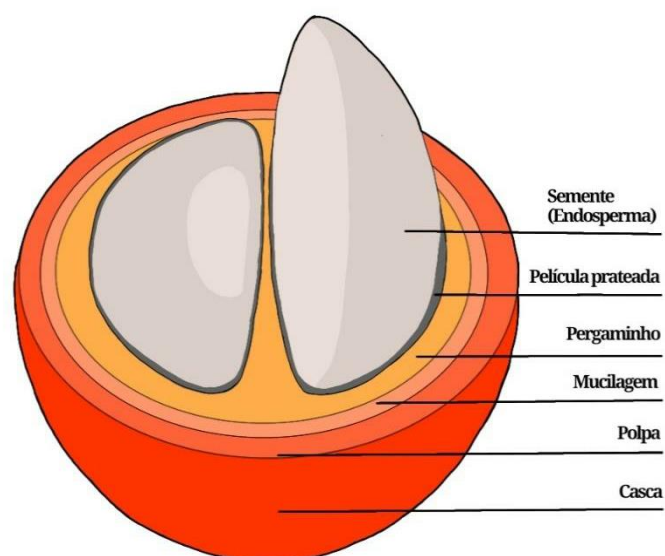
promoção internacional do café, como a Colômbia. Além disso, outros países entraram na competição de cafés de baixo custo, como é o caso do Vietnã, Indonésia, Índia e China.

As espécies mais cultivadas nas variadas regiões cafeeiras do mundo são *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* P. representando, praticamente, 100% de todo o café comercializado. O café arabica representa cerca de 70% na produção mundial e o café canéfora 30% (APARECIDO, 2021). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020), no Brasil no ano de 2020 houve um aumento de 25% em relação às sacas de 60 quilos beneficiadas dos tipos arabica e robusta quando comparado com o ano anterior.

## 2.2 - Composição química do café

O fruto de café é constituído de seis partes principais: o embrião, a casca (epicarpo), polpa (endocarpo/pergaminho), mucilagem (mesocarpo), película prateada (espermoderma) e semente (endosperma) (VILELA, 2011). Dentre as espécies mais cultivadas, o café arabica apresenta melhor qualidade, proporcionando uma bebida de maior valor comercial e alcançando preços superiores aos da canéfora, cuja bebida é considerada neutra, muito usada nas misturas ou blends e na indústria de café solúvel, sendo favorecida pelo preço reduzido ou pela concentração de sólidos solúveis, o que representa um maior rendimento industrial (SANTOS, 2019).

Figura 2 – Partes do café.



Fonte: Da autora (2022).

Entre o café arabica e conilon existem várias diferenças, variando desde o número de cromossomos (44 e 22, respectivamente), o tempo entre florada, fruto maduro (7-9 e 10-11 meses, respectivamente) e as características físico-químicas e sensoriais da bebida. O café arabica possui preço mais elevado no mercado mundial quando comparado ao café canéfora (MAXIMINO, 2018). A Tabela 1 apresenta a composição em porcentagem dos resíduos de casca e polpa do café.

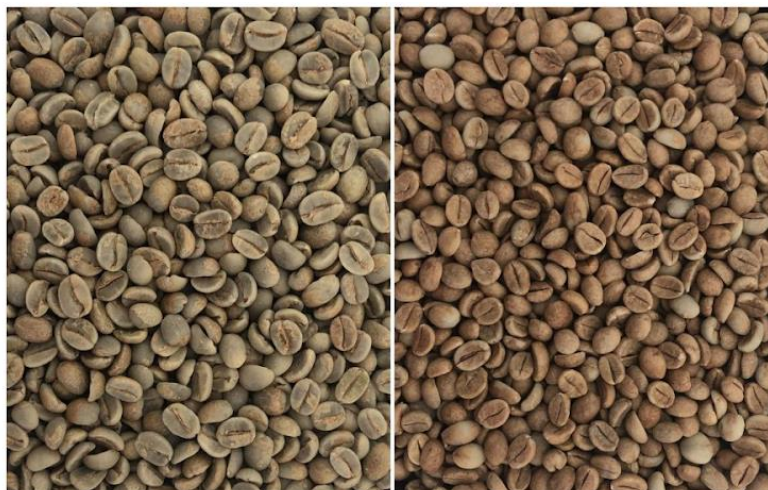
Tabela 1 – Composição química dos resíduos do café.

Componentes (%)	Polpa (via úmida)	Casca (via seca)
Umidade	82,4	13,0 -15,0
Cinzas	7,3	5,4-6,2
Carboidratos	21-32,3	57,8-72,3
Celulose	63,0 0	24,5-43,0
Hemicelulose	2,3-3,6	7,0-11,0
Proteína	7,5-15,0	7,0-9,2
Lipídeos	2,0-7,0	0,3-2,0
Fibra total	60,5	24-30,8
Polifenóis totais	1,5-2,6	0,8-1,2
Açúcar total	9,7-14,4	22,8-26,5
Substância pectica	6,5	1,6
Lignina	14,3-17,5	23,7-28,3
Taninos	1,8 – 8,56	4,5-9,3
Ácido clorogênico	2,4-2,6	2,5
Cafeína	1,3-1,5	1,0-1,3

Fonte: Durán *et al.* (2017).

A principal diferença entre as duas espécies está nas propriedades sensoriais do café torrado. O café arabica apresenta aroma e sabor mais intensos, acidez e amargor balanceados com notas achocolatadas e amendoadas. Já o café robusta é mais amargo, com notas amadeiradas e terrosas, remetendo a cereais. Existe também características físicas que diferenciam o grão do arabica com o conilon. O grão do café arabica tem um formato oval e com a cor amarelo-esverdeado, enquanto o grão conilon é mais arredondado e de cor marrom amarelada (SENAR, 2017) (Figura 3).

Figura 3 - Café arabica (esquerdo) e robusta (direito) cru.



Fonte: Agnoletti et al., (2019).

Existem alguns compostos químicos que são fundamentais e caracterizam sensorialmente os cafés quando os mesmos são submetidos ao processo de torra, visto que são precursores de reações, como o ácido clorogênico, cafeína, açúcares redutores e trigonelina. O ácido clorogênico (ACG), sofre forte degradação no processamento térmico e dá origem a compostos voláteis, como os fenólicos, que são importantes para o sabor do café. A cafeína possui propriedades estimulantes e fornece amargor característico, contribuindo para a qualidade final da bebida. A trigonelina é uma n-metilbetaína responsável pela formação de produtos de degradação como pirróis e piridinas que são importantes para o aroma do café.

Em relação aos teores de cafeína, o café canéfora apresenta, em média, o dobro de quantidade encontrada no café arábica. Os valores de ácidos clorogênicos totais também são maiores para a espécie canéfora. Por outro lado, quanto aos teores de açúcares, a sacarose é encontrada em dobro no café arábica. Além disso, o teor de trigonelina também é maior para o café arábica. Tanto a cafeína como os ácidos clorogênicos são frequentemente relacionados com o amargor e a adstringência (AGNOLETTI *et al.*, 2019).

O café também apresenta vários constituintes químicos voláteis, dentre eles temos principalmente ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, compostos fenólicos, que no café, está relacionado ao seu sabor característico. O aroma característico do café torrado está ligado a uma série de reações térmicas como pirólise, caramelização e reações de Maillard, durante a torra, que resulta na degradação dos compostos voláteis e não voláteis do processamento pós-colheita e dos voláteis derivados termicamente (LEE *et al.*, 2015; RODRIGUES, SANDY DIAS *et al.*, 2020).

### 2.3 - Processo fermentativo do café

O processo fermentativo do café ocorre de forma espontânea no café cereja. O tempo de fermentação depende do estágio de amadurecimento do fruto, variedade utilizada do café, temperatura, pH e tipos de microrganismos presentes. A temperatura e o pH, podem influenciar diretamente na fermentação. Durante o processo fermentativo tem-se a degradação da mucilagem por enzimas produzidas pelos microrganismos presentes no café. Assim, os grãos de café absorvem os compostos oriundos da fermentação da mucilagem, o que vem a alterar as características do café, trazendo diferentes sabores e compostos químicos e voláteis no café (RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020). Os frutos do café podem ser processados de três formas: natural (seca), via semiseca e via úmida. O processamento por via semiseca, nada mais é que uma variação do processamento via úmida. Onde a fermentação, diferente dos de via úmida, ocorre diretamente no terreiro (VILELA, 2011).

No processamento via natural os frutos são colhidos, separados de acordo com sua maturação, lavados e encaminhados para secagem, que pode ser realizada ao sol em terreiros, ou em secadores mecânicos e o tempo de secagem depende do teor de umidade que deve atingir aproximadamente 12% podendo levar até 4 semanas (BORÉM *et al.*, 2008). No método semiseco, a casca, a polpa e a mucilagem parcial ou total são removidas mecanicamente e conduzidas a secagem onde ocorre a fermentação diretamente nos terreiros, sendo que a quantidade de mucilagem removida depende do maquinário que foi utilizado. Já o processamento via úmida, ocorre a retirada parcial ou completa da mucilagem do café de forma mecânica ou manual, e o café é transferido para tanques com água onde irá ocorrer a fermentação por 24 à 72h dependendo das condições do ambiente. Nesta etapa tem-se a degradação e solubilização da mucilagem e em seguida os grãos de café são removidos do tanque e levados para terreiros para secagem ao sol (FREITAS, 2018; LEE *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2018). O tipo de processamento e os fatores econômicos definem a escolha da técnica de secagem (DE MELO PEREIRA *et al.*, 2019).

Antigamente a fermentação era vista como um processo prejudicial para as características desejáveis do café. Após muitos estudos foi comprovado que o processo de degradação causada por microrganismos, que ocorre durante a fermentação, gera compostos que podem influenciar positivamente na qualidade da bebida. Estudos feitos por FILETE *et al.* (2020) mostraram resultados positivos durante a fermentação anaeróbica controlada do café. Evangelista *et al.* (2014) também demonstrou melhora nos atributos sensoriais do café após a utilização de culturas iniciadoras no processamento seco.



No entanto, essa fermentação, que ocorre de forma natural durante o processo de secagem, deve ser realizada de maneira controlada pelos produtores para não levar a características indesejadas (DORTA *et al.*, 2021). Ter um controle da fermentação dos frutos do café é uma alternativa para melhoria da qualidade da bebida (RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020).

Os microrganismos presentes na etapa de colheita e processamento do café são denominados de microbiota e a mesma é composta de bactérias, leveduras e fungos filamentosos. A partir do conhecimento do papel desses microrganismos se obtém o produto final com a qualidade desejada. Esses microrganismos utilizam os compostos da mucilagem e da polpa como nutrientes. Assim, ácidos orgânicos e outros metabólitos são secretados interferindo nos atributos sensoriais da bebida. No início do processo fermentativo a população de bactérias é maior do que a de leveduras, independentemente do processo empregado. A microbiota natural dos grãos de café vem sendo estudada e empregada na fermentação do café utilizando como culturas iniciadoras (FREITAS, 2018; RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020).

A partir do controle da fermentação é possível que sejam produzidos cafés com sabores e aromas especiais tais como doces, cítricos, frutados e amanteigados. Durante esse processo ocorre natural ou controlada. É durante esse processo, com temperatura e tipo de processo definidos, que os grãos absorvem os compostos resultantes da fermentação da mucilagem, modificando características, intensidade, sabores, compostos químicos e voláteis presentes no grão do café fermentado (RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020).

#### **2.4 - Uso de culturas iniciadoras e produção de enzimas**

O processo de utilização de culturas iniciadoras consiste na seleção dos microrganismos que serão inoculados diretamente na matéria-prima, predominando sobre a microbiota e promovendo as alterações desejadas no produto final (DORTA *et al.*, 2021; FREITAS, 2018).

O emprego de culturas iniciadoras durante o processo de fermentação do café leva ao aumento da qualidade e diversifica as nuances sensoriais dos cafés produzidos. Pesquisas atuais são dedicadas à seleção de leveduras fermentadoras do fruto do café, como as que produzem ésteres, uma vez que essa classe apresenta grande relevância na produção de compostos voláteis que são positivos para o produto final. As bactérias do ácido láctico também estão sendo usadas para produção de éster, como por exemplo, acetato de etila, isobutirato de etila e acetato de

hexila. O uso dessas bactérias permite o controle do crescimento de microrganismos indesejáveis como fungos filamentosos, especialmente aqueles produtores de ocratoxina (DE MELO PEREIRA *et al.*, 2019; DORTA *et al.*, 2021; MASSAWE; LIFA, 2010; ZHANG *et al.*, 2019).

Estudos como de Silva *et al.* (2013), descrevem as etapas utilizadas para a realização da seleção de novas culturas iniciadoras para o café. Estes estudos selecionam microrganismos que são pectinolíticos, avaliam o comportamento do mesmo em meio de cultura de polpa de café, e utilizam os critérios para selecionar microrganismos para fermentação do café baseados na produção de pectina liase, produção de compostos orgânicos e voláteis e ausência de produção de metabólitos indesejáveis que poderiam vir a afetar negativamente o produto final.

Na fermentação do café ocorrem diversos processos bioquímicos, produzindo enzimas pelas leveduras e bactérias que estão na mucilagem, fermentando e degradando açúcares, lipídios, proteínas e ácidos, que são convertidos em álcoois, ácidos, ésteres e cetonas. Essas substâncias convertidas alteram as características sensoriais dos grãos de café (RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020).

Existem diversas enzimas no café, principalmente polifenoloxidasas, proteases e lipases, que são ligadas à oxidação dos grãos, processo que acontecendo de forma controlada favorece a qualidade sensorial da bebida. Estas enzimas são naturais do grão, mas podem vir de origem microbiana e degradam, principalmente, a mucilagem. As enzimas pectinolíticas e as celulolíticas também estão envolvidas no processo de fermentação (FREITAS, 2018).

As pectinases são importantes na fermentação de café, pois aceleram o processo de fermentação, ajudando a remover a camada de mucilagem do grão. Essa mucilagem é constituída de três quartos de substâncias pécicas, celulasas e hemicelulasas presentes no preparo enzimático ajudam na digestão da mucilagem. O que leva à diminuição do tempo fermentação do processamento do café que pode ser reduzido de 40 a 80 horas para 20 horas por tratamento enzimático. Além de que se utilizada de maneira controlada, as enzimas pécicas podem levar ao aumento da qualidade do produto final, a partir da diminuição do tempo de fermentação (CARR, 1985).

Utilizar culturas iniciadoras durante a fermentação garante um produto final com qualidade sensorial elevada e também permite a padronização deste produto. A velocidade e tipos de produtos são dependentes dos seguintes fatores que afetam o metabolismo dos microrganismos: temperatura externa, tipo de fermentação aplicada, tempo de processamento,

qualidade do café despulpado utilizado, acidez do substrato, disponibilidade de oxigênio e higiene (FREITAS, 2018; RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020).

Masoud et al. (2004) e Silva et al. (2008) observaram em seus estudos que as espécies de leveduras mais frequentes durante o processamento de café são *Pichia kluyveri*, *Pichia anomala*, *Hanseniaspora uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii* e *Torulaspota delbrueckii*. Essas leveduras são consideradas grandes produtoras de pectinase.

Estudos atuais mostram que algumas espécies de leveduras podem vir a ser utilizadas como culturas iniciadoras, dentre elas destacam-se algumas leveduras que foram submetidas a testes de atividades de poligalacturonase, pectina liase e pectina metilesterase como *Saccharomyces* sp., *Pichia* sp., *Candida* sp. e *Torulaspota* sp.. Estas leveduras apresentaram maior eficiência em relação à atividade pectinolítica para a degradação da mucilagem durante a fermentação do café (SILVA *et al.*, 2013).

Além disso, algumas leveduras como *Debaryomyces hansenii* e *Cystofilobasidium ferigula*, mesmo não sendo utilizadas como inóculos, foram detectadas durante a fermentação do café (EVANGELISTA, 2014). Outras pesquisas mostraram que leveduras como *Pichia anomalus* e *Debaryomyces hansenii* podem ser utilizadas na redução da esporulação de fungos potencialmente toxigênicos e naturalmente presentes em frutos de café (RAMOS *et al.*, 2010). *Meyerozyma caribbica*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Hanseniaspora opuntiae* Čadež, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia anomala* e *Pichia kluyveri* apresentam potencial biológico para produção de pectinase, sendo importantes microrganismos na degradação da mucilagem do café, além de apresentar um bom potencial para produção de atributos aromáticos durante a fermentação (ARAÚJO, 2015; ASSIS, 2012; MASOUD; JESPERSEN, 2006; SILVA *et al.*, 2008). Também foi visto que leveduras como a *Rhodotorula mucilaginosa* apresentaram bons resultados na produção de carotenóides durante a fermentação do café (DIAS, 2016) e *Wickerhamomyces anomalus* demonstrou uma boa atividade de  $\beta$ -glucosidases. (TOFALO *et al.*, 2012).

Assim, conhecer sobre estes microrganismos e as enzimas atuantes na fermentação do café, bem como selecionar culturas iniciadoras possibilita a produção de bebidas com características sensoriais diferenciadas (FREITAS, 2018; RODRIGUES, GUILHERME ZATTI; CUNHA, 2020).

### **3 - METODOLOGIA**

#### **3.1 - Microrganismos**

As cepas de leveduras isoladas dos frutos de cafés arábica e robusta foram obtidas na Coleção de Culturas da Microbiologia Agrícola (CCMA, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG). *Cystofilobasidium ferigula*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Debaryomyces hansenii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Hanseniaspora uvarum*, *Hanseniaspora opuntiae* Čadež, *Pichia kluyveri*, *Pichia fermentans*, *Meyerozyma guilliermondii* e *Meyerozyma caribbica* foram previamente isoladas do fruto do café *Coffea arabica* L. e do *Coffea canephora* P. durante os processos fermentativos natural e cereja descascado, totalizando 56 cepas (Tabela 2) (EVANGELISTA *et al.*, 2015; MARTINS *et al.*, 2020; PEREIRA, PRISCILA VARGAS *et al.*, 2021; PEREIRA, THAYANNA SCOPEL *et al.*, 2022; RIBEIRO *et al.*, 2018).

Tabela 2 - Isolados obtidos pela Coleção de Culturas da Microbiologia Agrícola.

<b>Código CCMA</b>	<b>Espécie do Microrganismo</b>	<b>Espécie do Café</b>	<b>Trabalho que foi isolado</b>
CCMA0465	<i>Pichia fermentans</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(EVANGELISTA <i>et al.</i> , 2015)
CCMA0466	<i>Pichia fermentans</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(EVANGELISTA <i>et al.</i> , 2015)
CCMA0468	<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(EVANGELISTA <i>et al.</i> , 2015)
CCMA1615	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1616	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1617	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1619	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1621	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1622	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1623	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1624	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1631	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)

			2020)
CCMA1634	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1635	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1636	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1637	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1639	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1640	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1646	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1647	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1649	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1650	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1651	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1652	<i>Pichia</i> sp.	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1653	<i>Meyerozyma</i> sp	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1654	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1658	<i>Pichia</i> sp.	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1659	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1660	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1662	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)

CCMA1663	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1665	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(MARTINS <i>et al.</i> , 2020)
CCMA1733	<i>Hanseniaspora opuntiae</i> Cadez	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1734	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1735	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1736	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1737	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1738	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1739	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1740	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	<i>Coffea canephora</i> P.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1892	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1893	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1895	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1942	<i>Hanseniaspora opuntiae</i> Čadež	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1944	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1949	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1950	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1951	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1952	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> ,

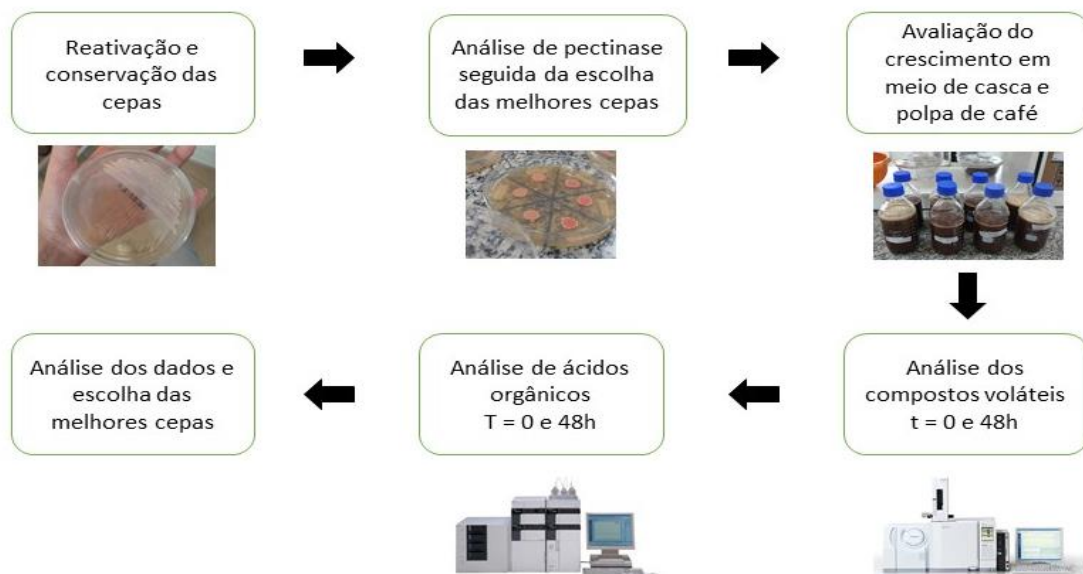
CCMA1953	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1954	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1992	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1993	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1995	<i>Meyerozyma caribbica</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA1996	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)
CCMA2016	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Coffea arabica</i> L.	(PEREIRA <i>et al.</i> , 2021)

Fonte: Da autora, 2022.

As cepas de leveduras foram reativadas e mantidas em YEPG líquido (em g L<sup>-1</sup>: extrato de levedura 10; peptona 20; glicose 20) e a mesma quantidade glicerol líquido 40%, a -80 ° C para posteriores análises. O experimento foi conduzido conforme a Figura 4.

Figura 4 - Fluxograma do experimento.

**FLUXOGRAMA DO EXPERIMENTO**



Fonte: Da autora, 2022

### 3.2 - Pectinases

A produção de pectinase foi determinada pelos métodos descritos por Schwan et al. (1997) e Silva et al. (2013) com modificações. As leveduras foram cultivadas em placas com meio mineral. O meio mineral contém: 5% de glicose, 0,6% de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,1% de extrato de levedura, 0,2%  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ , 1,5% de ágar e 0,1 ml de soluções:  $\text{FeSO}_4$  0,0001%,  $\text{MgSO}_4$  0,02%,  $\text{CaCl}_2$  0,0002%,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0,0002%,  $\text{MnSO}_4$ , 0,0014%,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,001%,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Foi realizado dois meios diferentes, o meio MP5 que foi utilizado como substrato para determinação da atividade da poligalacturonase (PG), onde foi adicionado ao meio mineral e 0,5% ácido poligalacturônico, e o meio MP7 que continha o meio mineral e 0,5% pectina que foi utilizado como substrato para a determinação da atividade da pectina liase. As cepas foram inoculadas em meio YEPG líquido por 24h à 28°C. Em seguida foi realizado o plaqueamento por microgota em placas de petri contendo meio MP5 e meio MP7. As placas foram incubadas a 28° por 48h e o plaqueamento foi realizado em triplicata. A atividade enzimática foi indicada a partir da formação de um halo claro ao redor das colônias após a precipitação do ácido poligalacturônico ou da pectina com 1% de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB).

### 3.3 - Avaliação de crescimento em meio à base de café

A fermentação das leveduras foi realizada em meio de cultura contendo polpa de café (CPM) conforme descrito em Silva et al. (2013) com modificações. O preparo do meio CPM foi realizado com 20% (v/v) de extrato de casca e polpa de café fresco e 15 g/L de glicose. O pH foi ajustado para 5,5. O extrato foi preparado com 200 g da casca e polpa de café, misturado em 1 L de água, triturado no liquidificador por 5 min e filtrado. Em seguida, o meio foi esterilizado a 121°C por 15 min. Foi utilizado o mesmo lote de casca e polpa em todos os experimentos para que não se tenha diferenças na composição química.

As leveduras foram crescidas em YEPG até uma concentração de  $10^8$  UFC/ml. Em seguida as células foram centrifugadas e ressuspensas em meio CPM. Assim, 10 ml de inóculo ( $\times 10^8$  UFC/ml) foi transferido para frascos de 500mL contendo 90 ml de meio CPM que foi mantido a 28°C por 48h. As amostras foram coletadas em intervalos de 0, 24 e 48h de fermentação para realização de análise de crescimento por microgota, foram coletadas amostras nos tempos de 0 e 24h para análise de carboidratos, compostos orgânicos e voláteis, também foi realizada a medição do pH e do °Brix nos tempos 0 e 48h. As fermentações foram realizadas



em duplicata. Os resultados foram avaliados com auxílio do software Sisvar, a partir do teste de Scott-Knott.

### **3.4 - Análise ácidos orgânicos**

Inicialmente as amostras foram centrifugadas duas vezes a 10000 rpm, 4°C por 10 min. As amostras tiveram o seu pH ajustado com ácido perclórico até 2.1, em seguida foram filtradas para que pudessem ser injetadas.

Os ácidos orgânicos foram avaliados durante os tempos 0 e 48h por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) usando um cromatógrafo Shimadzu, modelo LC-10A *i* (Shimadzu Corp. Japão). Foi utilizada uma coluna Shimpack SCR-101H (7,9 mm x 30 cm) com uma solução 100 mM de ácido perclórico com uma taxa de fluxo de 0,6 ml / minuto como a fase móvel. A temperatura do forno foi mantida a 50°C. Esses foram detectados por meio de absorvância de UV (210 nm). Os compostos foram identificados pela comparação de seus tempos de retenção com os tempos de retenção de padrões certificados. Os ácidos foram quantificados por meio de curvas de calibração obtidas a partir de compostos padrão que foram os ácidos succínico, acético, málico, láctico e cítrico. Os testes foram realizados em duplicatas (RIBEIRO et al. 2020). Os resultados foram avaliados com auxílio do software Sisvar, a partir do teste de Scott-Knott.

### **3.5 - Compostos voláteis**

Os compostos voláteis foram analisados no primeiro e no último tempo de fermentação (0 e 48h), usando microextração de headspace de fase sólida (HS-SPME) de acordo com Evangelista et al. (2014). O meio CPM fermentado com a respectiva levedura foi diluído em água destilada em proporção de 1/10 (100 uL de meio para 900 uL de água destilada) e colocado em um frasco de 15 ml hermeticamente fechado. Em seguida o meio foi equilibrado por 15 min a 60 °C e exposta ao meio CPM fermentado por 30 min na mesma temperatura. O meio foi analisado a partir de um cromatógrafo de gás (GC) Shimadzu QP2010 GC equipado com espectrometria de massa (MS) e uma coluna capilar de sílica Carbo-Wax 20 M (30 m × 0,25 mm × 0,25 mm). A temperatura do forno foi mantida a 60°C durante 5 min, depois teve um aumento de temperatura para 230 °C a 10°C/min, por fim a mesma foi mantida a 230°C durante 15 min. O injetor e o detector foram mantidos a 230 e 240 °C, respectivamente. O gás transportador He foi mantido a uma taxa de fluxo de 1,9 ml / min. O modo de injeção sem divisão foi 230 °C por 2 min, e o detector de massa será um quadrupolo com um sistema eletrônico de ionização por impacto a 70 eV e 230 °C (VISINTIN et al., 2017). Os compostos

voláteis foram identificados comparando o espectro de massa com a biblioteca NIST11 (RIBEIRO et al. 2020). Os resultados foram avaliados com auxílio do software Heatmapper.

## 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 - Atividade de pectinase das leveduras epifíticas do café

A cepas utilizadas neste estudo foram avaliadas quanto a produção de poligalacturonase (MP5) e pectinaliase (MP7) (Tabela 3). De acordo com Vilela et al. (2011), os microrganismos que apresentam alta atividade de pectina liase ou alta atividade de poligalacturonase e pectina metilesterase simultaneamente são importantes para o processo de fermentação devido a participação na remoção de mucilagem. Assim, esses microrganismos, por apresentarem alta atividade, ou seja, formação de um halo, apresentam potencial para serem utilizados como culturas iniciadoras.

Das 56 cepas, 34 foram selecionadas e submetidas a análise de capacidade fermentativa em meio CPM (Tabela 4).

Tabela 3 – Análise das leveduras a partir do teste de pectinase em meio MP7 e MP5.

<b>Código CCMA</b>	<b>Meio MP5</b>	<b>Meio MP7</b>
<i>Pichia fermentans</i> CCMA0465	--	--
<i>Pichia fermentans</i> CCMA0466	--	--
<i>Debaryomyces hansenii</i> CCMA0468	--	--
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1615	--	--
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> CCMA1616	--	--
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1617	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1619	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1621	--	--

<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> CCMA1622	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1623	--	--
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1624	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1631	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1634	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1635	--	--
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1636	--	--
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> CCMA1637	++	++
<i>Hanseniaspora uvarum</i> CCMA1639	--	--
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> CCMA1640	++	++
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> CCMA1646	--	--
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1647	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1649	--	--
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> CCMA1650	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1651	++	++
<i>Pichia kluyveri</i> CCMA1652	++	++
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> CCMA1653	++	++
<i>Cystofilobasidium ferigula</i> CCMA1654	++	++
<i>Pichia kluyveri</i>	++	++

CCMA1658		
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	++	++
CCMA1659		
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	++	++
CCMA1660		
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	--	--
CCMA1662		
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	++	++
CCMA1663		
<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	--	--
CCMA1665		
<i>Hanseniaspora opuntiae</i> Cadez	++	++
CCMA1733		
<i>Meyerozyma caribbica</i>	++	++
CCMA1734		
<i>Meyerozyma caribbica</i>	++	++
CCMA1735		
<i>Meyerozyma caribbica</i>	--	--
CCMA1736		
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	++	++
CCMA1737		
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	++	++
CCMA1738		
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	++	++
CCMA1739		
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	--	--
CCMA1740		
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	++	++
CCMA1892		
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	--	--
CCMA1893		
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	++	++
CCMA1895		
<i>Hanseniaspora opuntiae</i> Čadež	--	--
CCMA1942		
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	++	++
CCMA1944		

<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1949	--	--
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1950	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1951	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1952	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1953	--	--
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1954	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1992	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1993	++	++
<i>Meyerozyma caribbica</i> CCMA1995	++	++
<i>Hanseniaspora uvarum</i> CCMA1996	--	--
<i>Hanseniaspora uvarum</i> CCMA2016	--	--

Tabela 4 – Cepas de leveduras selecionadas a partir do teste de pectinase em meio MP7 e MP5

<b>Código CCMA</b>	<b>Espécie do microrganismo</b>
CCMA1631	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>
CCMA1619	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>
CCMA1647	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>
CCMA1651	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>
CCMA1654	<i>Cystofilobasidium ferigula</i>
CCMA1733	<i>Hanseniaspora opuntiae</i> Cadez
CCMA1944	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
CCMA1895	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
CCMA1892	<i>Hanseniaspora uvarum</i>

CCMA1617	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1624	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1634	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1952	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1951	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1954	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1950	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1995	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1992	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1993	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1734	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1735	<i>Meyerozyma caribbica</i>
CCMA1737	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>
CCMA1738	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>
CCMA1739	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>
CCMA1653	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>
CCMA1658	<i>Pichia kluyveri</i>
CCMA1652	<i>Pichia kluyveri</i>
CCMA1622	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
CCMA1663	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
CCMA1637	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
CCMA1660	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
CCMA1659	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
CCMA1650	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
CCMA1640	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>

---

#### 4.2 - Avaliação de crescimento em meio à base de café

A performance fermentativa das 34 cepas foi avaliada quanto aumento populacional (UFC/ml), redução do pH e °Brix do meio à base de café arábica e conilon. A população microbiana foi avaliada durante os tempos de 0, 24 e 48h (Tabela 5). No café arábica, a cepa *R. mucilaginosa* CCMA 1637 foi a que apresentou maior crescimento ( $4.82.10^8$ ) com 24 h de

fermentação. Após 48 h de fermentação a população de todas as cepas mantiveram em torno de  $4.10^7$  UFC/ml.

No CPM conilon, as cepas *H. uvarum* CCMA 1944, *H. uvarum* CCMA 1895, *H. uvarum* CCMA 1892 e *M. caribbica* CCMA 1995 foram as que apresentaram aumento populacional significativo com 24h ( $1,37.10^8$ ,  $1,03.10^8$ ,  $1,00.10^8$  e  $1,32.10^8$ , respectivamente) e 48h ( $1,87.10^8$ ,  $1,87.10^8$ ,  $1,87.10^8$  e  $1,70.10^8$ , respectivamente.) de fermentação (Tabela 6). *H. opuntiae cadez* CCMA 1733 apresentou elevada população ( $1,38.10^8$ ) apenas com 24 h de fermentação.

No *Coffea arabica* L. a concentração de sólidos solúveis e pH, inicialmente, foi de 5. Já para o *Coffea canephora* P. a concentração de sólidos solúveis e pH foi de 5,5 e 5, respectivamente. No final da fermentação a concentração de sólidos solúveis e pH no *Coffea arabica* L variou entre 2,2 a 5 e o pH de 4 a 5. Já para o *Coffea canephora* P. a concentração de sólidos solúveis variou entre 2 a 4,2 e pH de 4 a 5.

Tabela 5 - População microbiana, pH e Brix no meio CPM com café arábica

Cepas de leveduras	População microbiana (UFC/ml)			°Brix	pH
	Tempo (horas)				
	0	24	48		
<i>C. ferigula</i> CCMA 1631	7,85.10 <sup>6</sup> d	7.00.10 <sup>7</sup> b	6.40.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	4,00 a
<i>C. ferigula</i> CCMA 1619	7,50.10 <sup>6</sup> d	1.15.10 <sup>8</sup> b	1.15.10 <sup>8</sup> a	4,50 l	5,00 c
<i>C. ferigula</i> CCMA 1647	7,00.10 <sup>6</sup> d	9.17.10 <sup>7</sup> b	6.50.10 <sup>7</sup> a	2,40 c	4,00 a
<i>C. ferigula</i> CCMA 1651	5,84.10 <sup>6</sup> d	3.30.10 <sup>7</sup> b	2.65.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	4,50 b
<i>C. ferigula</i> CCMA 1654	1,13.10 <sup>7</sup> d	5.75.10 <sup>7</sup> b	6.32.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	4,50 b
<i>W. anomalus</i> CCMA 1660	1,17.10 <sup>7</sup> d	4.34.10 <sup>7</sup> b	8.17.10 <sup>7</sup> a	2,70 d	4,50 b
<i>W. anomalus</i> CCMA 1659	1,75.10 <sup>7</sup> d	7.00.10 <sup>7</sup> b	8.00.10 <sup>7</sup> a	3,80 f	4,50 b
<i>W. anomalus</i> CCMA 1650	8,15.10 <sup>6</sup> d	6.66.10 <sup>7</sup> b	6.44.10 <sup>7</sup> a	2,20 b	4,00 a
<i>W. anomalus</i> CCMA 1640	5,50.10 <sup>6</sup> d	1.93.10 <sup>7</sup> b	6.50.10 <sup>7</sup> a	2,50 c	5,00 c
<i>H. uvarum</i> CCMA 1944	1,90.10 <sup>7</sup> d	1.47.10 <sup>8</sup> b	1.32.10 <sup>8</sup> a	2,00 a	4,50 b
<i>H. uvarum</i> CCMA 1895	4,75.10 <sup>7</sup> b	7.17.10 <sup>7</sup> b	5.65.10 <sup>7</sup> a	3,00 f	4,00 a
<i>H. uvarum</i> CCMA 1892	3,46.10 <sup>7</sup> c	5.45.10 <sup>7</sup> b	1.10.10 <sup>8</sup> a	3,00 f	4,00 a
<i>H. opuntiae</i> cadez CCMA 1733	2,32.10 <sup>7</sup> d	1.20.10 <sup>8</sup> b	8.00.10 <sup>7</sup> a	2,80 d	4,50 b
<i>R. mucilaginosa</i> CCMA 1622	9,00.10 <sup>6</sup> d	9.00.10 <sup>7</sup> b	8.00.10 <sup>7</sup> a	4,50 l	5,00 c
<i>R. mucilaginosa</i> CCMA 1663	1,13.10 <sup>7</sup> d	3.25.10 <sup>7</sup> b	6.17.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	4,50 b
<i>R. mucilaginosa</i> CCMA 1637	6,00.10 <sup>7</sup> a	4.82.10 <sup>8</sup> a	7.67.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	5,00 c
<i>P. kluyveri</i> CCMA 1652	8,34.10 <sup>6</sup> d	7.17.10 <sup>7</sup> b	1.10.10 <sup>8</sup> a	3,70 g	5,00 c
<i>P. kluyveri</i> CCMA 1658	1,20.10 <sup>7</sup> d	6.84.10 <sup>7</sup> b	6.69.10 <sup>7</sup> a	2,80 d	4,00 a
<i>M. caribbica</i> CCMA 1617	1,30.10 <sup>7</sup> d	3.30.10 <sup>7</sup> b	4.00.10 <sup>7</sup> a	5,00 m	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1624	1,24.10 <sup>7</sup> d	6.50.10 <sup>7</sup> b	4.65.10 <sup>7</sup> a	4,50 l	4,00 a
<i>M. caribbica</i> CCMA 1634	7,30.10 <sup>6</sup> d	2.15.10 <sup>7</sup> b	3.00.10 <sup>7</sup> a	4,50 l	4,00 a
<i>M. caribbica</i> CCMA 1952	1,19.10 <sup>7</sup> d	5.42.10 <sup>7</sup> b	8.34.10 <sup>7</sup> a	3,90 h	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1951	9,00.10 <sup>6</sup> d	2.07.10 <sup>7</sup> b	5.34.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1954	1,57.10 <sup>7</sup> d	5.00.10 <sup>7</sup> b	1.53.10 <sup>8</sup> a	2,40 c	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1950	1,19.10 <sup>7</sup> d	1.03.10 <sup>8</sup> b	1.60.10 <sup>8</sup> a	2,80 d	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1995	1,47.10 <sup>7</sup> d	3.50.10 <sup>7</sup> b	6.34.10 <sup>7</sup> a	4,20 k	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1992	1,17.10 <sup>7</sup> d	4.55.10 <sup>7</sup> b	7.17.10 <sup>7</sup> a	3,80 f	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1993	1,00 .10 <sup>7</sup> d	6.84.10 <sup>7</sup> b	1.00.10 <sup>8</sup> a	2,80 d	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1734	2,43.10 <sup>7</sup> d	5.75.10 <sup>7</sup> b	7.00.10 <sup>7</sup> a	4,50 l	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1735	8,35.10 <sup>6</sup> d	3.28.10 <sup>7</sup> b	9.00.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	5,00 c
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1737	9,17.10 <sup>6</sup> d	3.87.10 <sup>7</sup> b	7.59.10 <sup>7</sup> a	4,00 i	5,00 c
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1738	7,80.10 <sup>6</sup> d	2.30.10 <sup>7</sup> b	5.84.10 <sup>7</sup> a	4,50 l	4,50 b
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1739	1,99.10 <sup>7</sup> d	6.50.10 <sup>7</sup> b	7.09.10 <sup>7</sup> a	4,10 j	4,50 b
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1653	1,22.10 <sup>7</sup> d	5.50.10 <sup>7</sup> b	1.34.10 <sup>8</sup> a	2,90 e	4,50 b
Erro padrão médio	6,037.10 <sup>6</sup>	2.995.10 <sup>7</sup>	2.281.10 <sup>7</sup>	0,032	0,015

Médias seguidas de diferentes letras na coluna diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott  $p \leq 0,05$



Tabela 6 - População microbiana, pH e Brix no meio CPM com café conilon.

Cepas de leveduras	População microbiana (UFC/ml)			°Brix	pH
	Tempo (horas)				
	0	24	48		
<i>C. ferigula</i> CCMA 1631	5,50.10 <sup>6</sup> b	4,67.10 <sup>7</sup> c	7,33.10 <sup>7</sup> d	2,60 c	4,00 a
<i>C. ferigula</i> CCMA 1619	5,50.10 <sup>6</sup> b	1,25.10 <sup>7</sup> d	9,50.10 <sup>7</sup> c	4,20 k	5,00 c
<i>C. ferigula</i> CCMA 1647	1,05.10 <sup>7</sup> b	4,00.10 <sup>7</sup> c	3,50.10 <sup>7</sup> f	2,00 a	4,50 b
<i>C. ferigula</i> CCMA 1651	1,55.10 <sup>7</sup> b	3,15.10 <sup>7</sup> d	5,00.10 <sup>7</sup> e	4,00 j	4,50 b
<i>C. ferigula</i> CCMA 1654	9,82.10 <sup>6</sup> b	2,05.10 <sup>7</sup> d	7,50.10 <sup>7</sup> d	4,00 j	4,50 b
<i>W. anomalus</i> CCMA 1660	6,34.10 <sup>6</sup> b	5,75.10 <sup>7</sup> b	8,50.10 <sup>7</sup> d	2,80 d	4,00 a
<i>W. anomalus</i> CCMA 1659	1,24.10 <sup>7</sup> b	6,84.10 <sup>7</sup> b	8,59.10 <sup>7</sup> d	2,80 d	4,00 a
<i>W. anomalus</i> CCMA 1650	6,17.10 <sup>6</sup> b	4,17.10 <sup>7</sup> c	8,34.10 <sup>7</sup> d	3,00 e	4,50 b
<i>W. anomalus</i> CCMA 1640	1,65.10 <sup>7</sup> b	4,50.10 <sup>7</sup> c	1,05.10 <sup>8</sup> c	2,00 a	4,00 a
<i>H. uvarum</i> CCMA 1944	4,00.10 <sup>7</sup> b	1,37.10 <sup>8</sup> a	1,87.10 <sup>8</sup> a	2,80 d	4,50 b
<i>H. uvarum</i> CCMA 1895	1,60.10 <sup>7</sup> b	1,03.10 <sup>8</sup> a	1,87.10 <sup>8</sup> a	2,40 b	4,00 a
<i>H. uvarum</i> CCMA 1892	7,97.10 <sup>7</sup> a	1,00.10 <sup>8</sup> a	1,87.10 <sup>8</sup> a	2,80 d	4,50 b
<i>H. opuntiae cadez</i> CCMA 1733	2,50.10 <sup>7</sup> b	1,38.10 <sup>8</sup> a	1,15.10 <sup>8</sup> c	2,80 d	5,00 c
<i>R. mucilaginoso</i> CCMA 1622	1,60.10 <sup>7</sup> b	5,25.10 <sup>7</sup> d	1,10.10 <sup>8</sup> c	3,80 h	4,50 b
<i>R. mucilaginoso</i> CCMA 1663	7,17.10 <sup>6</sup> b	1,67.10 <sup>7</sup> d	4,50.10 <sup>7</sup> f	4,00 j	4,50 b
<i>R. mucilaginoso</i> CCMA 1637	2,50.10 <sup>6</sup> b	4,50.10 <sup>7</sup> c	6,15.10 <sup>7</sup> e	2,80 d	4,50 b
<i>P. kluyveri</i> CCMA 1652	9,65.10 <sup>6</sup> b	7,25.10 <sup>7</sup> b	6,00.10 <sup>7</sup> e	2,80 d	5,00 c
<i>P. kluyveri</i> CCMA 1658	1,00.10 <sup>7</sup> b	6,50.10 <sup>7</sup> b	9,00.10 <sup>7</sup> d	2,80 d	4,00 a
<i>M. caribbica</i> CCMA 1617	1,02.10 <sup>7</sup> b	4,30.10 <sup>7</sup> c	1,05.10 <sup>8</sup> c	4,20 k	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1624	1,40.10 <sup>7</sup> b	4,75.10 <sup>7</sup> c	7,15.10 <sup>7</sup> d	4,20 k	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1634	3,42.10 <sup>7</sup> b	2,20.10 <sup>7</sup> d	6,15.10 <sup>7</sup> e	2,60 c	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1952	1,15.10 <sup>7</sup> b	1,05.10 <sup>8</sup> c	1,45.10 <sup>8</sup> b	3,60 f	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1951	1,27.10 <sup>7</sup> b	4,82.10 <sup>7</sup> c	9,17.10 <sup>7</sup> d	3,00 e	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1954	7,09.10 <sup>6</sup> b	4,25.10 <sup>7</sup> c	5,50.10 <sup>7</sup> e	4,00 j	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1950	1,23.10 <sup>7</sup> b	7,49.10 <sup>7</sup> b	1,57.10 <sup>7</sup> g	2,60 c	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1995	1,88.10 <sup>7</sup> b	1,32.10 <sup>8</sup> a	1,70.10 <sup>8</sup> a	3,70 g	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1992	7,00.10 <sup>6</sup> b	2,85.10 <sup>7</sup> d	8,00.10 <sup>7</sup> d	4,00 j	4,50 b
<i>M. caribbica</i> CCMA 1993	1,25.10 <sup>7</sup> b	3,50.10 <sup>7</sup> d	1,32.10 <sup>8</sup> b	4,00 j	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1734	1,95.10 <sup>7</sup> b	5,00.10 <sup>7</sup> c	7,33.10 <sup>7</sup> d	4,00 j	5,00 c
<i>M. caribbica</i> CCMA 1735	9,00.10 <sup>6</sup> b	4,00.10 <sup>7</sup> d	1,30.10 <sup>8</sup> b	4,00 j	4,50 b
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1737	1,95.10 <sup>7</sup> b	4,00.10 <sup>7</sup> d	6,34.10 <sup>7</sup> e	3,80 h	4,50 b
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1738	8,75.10 <sup>6</sup> b	4,30.10 <sup>7</sup> c	6,84.10 <sup>7</sup> e	3,90 i	4,50 b
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1739	1,42.10 <sup>7</sup> b	6,67.10 <sup>7</sup> b	1,50.10 <sup>8</sup> b	3,60 f	4,50 b
<i>M. guilliermondi</i> CCMA 1653	1,87.10 <sup>7</sup> b	2,75.10 <sup>7</sup> d	5,67.10 <sup>7</sup> f	3,80 h	4,50 b
Erro padrão médio	7,010.10 <sup>6</sup>	7,762.10 <sup>6</sup>	7,086.10 <sup>6</sup>	0,015	0,018

Médias seguidas de diferentes letras na coluna diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott  $p \leq 0,05$

### 4.3 - Análise de ácidos orgânicos

Alguns ácidos orgânicos já foram encontrados durante a fermentação do café sendo eles o láctico, cítrico, málico, succínico, acético e tartárico, Esses ácidos quando encontrados em concentração de 1 e 4 mg/ml (Lopez et al, 1989) conferem atributos como doçura, amargor e aroma, que são altamente desejáveis para o produto. Entretanto, também já foram detectados ácidos indesejados como butírico e propiônico, que em concentração superior a 1 mg/ml conferem à bebida sabores desagradáveis como cebola e a sua presença no produto final demonstram que os grãos foram fermentados excessivamente. As leveduras presentes durante a fermentação influenciam diretamente na presença desses compostos (BRESSANI et al, 2020; SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014; SIVETZ, 1963; JHAM et al, 2002).

Em estudos como de Cardoso et al, (2021) o ácido cítrico proporcionou sabor limão, e ácido málico proporcionou sabor maçã. Já em Evangelista et al, (2014) os ácidos succínico e málico, aumentaram a acidez do produto final, sendo sua presença desejável. Demonstrando a importância positiva da presença desses ácidos ao final do processo fermentativo.

Os ácidos cítricos, málico e succínico foram encontrados ao final processo fermentativo. A avaliação da produção de ácidos durante o processo fermentativo foi realizada através do cálculo entre o tempo final menos o tempo inicial da fermentação. Em seguida foi realizada a análise estatística para verificar se houve diferença significativa entre as amostras no último tempo de fermentação do café arábica (TABELA 7) e do café conilon (TABELA 8), respectivamente.

Tabela 7 - Dados estatísticos da produção de ácidos orgânicos no meio CPM arábica.

Cepas de Leveduras	Produção ácidos Orgânicos g/L
<i>Cystofilobasidium ferigula</i>	
CCMA 1631	0,411 <sup>d</sup>
CCMA 1619	0,221 <sup>d</sup>
CCMA 1647	0,953 <sup>b</sup>
CCMA 1651	0,000 <sup>e</sup>
CCMA 1654	0,217 <sup>d</sup>
CCMA 1660	0,268 <sup>d</sup>
CCMA 1659	0,673 <sup>c</sup>
CCMA 1650	0,000 <sup>e</sup>

CCMA 1640	0,303 <sup>d</sup>
<hr/>	
<b><i>Hanseniaspora uvarum</i></b>	
CCMA 1944	0,989 <sup>b</sup>
CCMA 1895	0,008 <sup>e</sup>
CCMA 1892	0,089 <sup>e</sup>
<hr/>	
<b><i>Hanseniaspora opuntiae cadez</i></b>	
CCMA 1733	0,545 <sup>c</sup>
<hr/>	
<b><i>Rhodotorula mucilaginosa</i></b>	
CCMA 1622	0,720 <sup>c</sup>
CCMA 1663	0,029 <sup>e</sup>
CCMA 1637	0,228 <sup>d</sup>
<hr/>	
<b><i>Pichia kluyveri</i></b>	
CCMA 1652	0,606 <sup>c</sup>
CCMA 1658	0,930 <sup>b</sup>
<hr/>	
<b><i>Meyerozyma caribbica</i></b>	
CCMA 1617	0,826 <sup>b</sup>
CCMA 1624	0,648 <sup>c</sup>
CCMA 1634	0,000 <sup>e</sup>
CCMA 1952	0,456 <sup>d</sup>
CCMA 1951	0,103 <sup>e</sup>
CCMA 1954	0,131 <sup>e</sup>
CCMA 1950	0,835 <sup>b</sup>
CCMA 1995	0,360 <sup>d</sup>
CCMA 1992	0,832 <sup>b</sup>
CCMA 1993	1,421 <sup>a</sup>
CCMA 1734	0,216 <sup>d</sup>
CCMA 1735	0,857 <sup>b</sup>
<hr/>	
<b><i>Meyerozyma guilliermondii</i></b>	
CCMA 1737	1,277 <sup>a</sup>
CCMA 1738	0,000 <sup>e</sup>
CCMA 1739	0,510 <sup>c</sup>
CCMA 1653	0,547 <sup>c</sup>
<hr/>	
Erro Padrão Médio	0,089
<hr/>	

Os dados são apresentados como médias seguidas de diferentes letras na coluna diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott  $p \leq 0,05$ .

Durante a fermentação do café arábica as cepas que apresentaram maior produção de ácido succínico, cítrico e málico, foram as cepas *Meyerozyma guilliermondii* CCMA1737 e a *Meyerozyma caribbica* CCMA1993, seguidas das *Meyerozyma caribbica* CCMA1617, *Meyerozyma caribbica* CCMA1992, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Meyerozyma caribbica* CCMA1735, *Pichia kluyveri* CCMA1658, *Cystofilobasidium ferigula* CCMA1647 e *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944.

Tabela 8 - Dados estatísticos da produção de ácidos orgânicos no meio CPM conilon.

Cepas de Leveduras	Produção ácidos Orgânicos g/L
<b><i>Cystofilobasidium ferigula</i></b>	
CCMA 1631	0,643 <sup>b</sup>
CCMA 1619	0,449 <sup>c</sup>
CCMA 1647	0,411 <sup>c</sup>
CCMA 1651	0,000 <sup>d</sup>
CCMA 1654	0,401 <sup>c</sup>
CCMA 1660	0,000 <sup>d</sup>
CCMA 1659	0,000 <sup>d</sup>
CCMA 1650	0,000 <sup>d</sup>
CCMA 1640	0,713 <sup>b</sup>
<b><i>Hanseniaspora uvarum</i></b>	
CCMA 1944	1,336 <sup>a</sup>
CCMA 1895	0,889 <sup>a</sup>
CCMA 1892	0,760 <sup>b</sup>
<b><i>Hanseniaspora opuntiae cades</i></b>	
CCMA 1733	0,172 <sup>d</sup>
<b><i>Rhodotorula mucilaginosa</i></b>	
CCMA 1622	0,588 <sup>b</sup>
CCMA 1663	0,979 <sup>a</sup>
CCMA 1637	0,818 <sup>b</sup>

<b><i>Pichia kluyveri</i></b>	
CCMA 1652	1,013 <sup>a</sup>
CCMA 1658	0,363 <sup>c</sup>
<b><i>Meyerozyma caribbica</i></b>	
CCMA 1617	0,438 <sup>c</sup>
CCMA 1624	0,000 <sup>d</sup>
CCMA 1634	0,760 <sup>b</sup>
CCMA 1952	0,209 <sup>d</sup>
CCMA 1951	0,667 <sup>b</sup>
CCMA 1954	0,358 <sup>c</sup>
CCMA 1950	1,105 <sup>a</sup>
CCMA 1995	0,462 <sup>c</sup>
CCMA 1992	0,559 <sup>b</sup>
CCMA 1993	0,000 <sup>d</sup>
CCMA 1734	0,219 <sup>d</sup>
CCMA 1735	0,545 <sup>b</sup>
<b><i>Meyerozyma guilliermondii</i></b>	
CCMA 1737	0,477 <sup>c</sup>
CCMA 1738	0,527 <sup>b</sup>
CCMA 1739	0,841 <sup>b</sup>
CCMA 1653	0,559 <sup>b</sup>
Erro Padrão Médio	0,109

Os dados são apresentados como médias seguidas de diferentes letras na coluna diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott  $p \leq 0,05$

Durante a fermentação do café conilon as cepas que apresentaram maior produção de ácido succínico, cítrico e málico, foram as cepas *Hanseniaspora uvarum* CCMA1895, *Rhodotorula mucilaginosa* CCMA1663, *Pichia kluyveri* CCMA1652, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944. Uma vez que esses ácidos são de interesse positivo no produto final, as cepas que apresentaram a maior produção dos mesmos demonstram potencial para serem utilizadas como culturas iniciadoras para no café.

#### 4.4 - Compostos voláteis

Cinco classes de compostos possuem grande impacto para o aroma do café, sendo eles pirazinas, furanos, ésteres, aldeídos e cetonas, sendo os dois primeiros produzidos maioritariamente após o processo de torra (LÓPEZ-GALILEA, 2006; BRESSANI et al., 2021).

Os compostos voláteis foram analisados no tempo final de fermentação em ambos os meios. Álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres e ácidos foram detectados no meio contendo café arábica e conilon. Os alcanos foi o único grupo detectado apenas no meio contendo café conilon. Durante a avaliação de compostos voláteis foram encontrados no total de 44 compostos para a fermentação realizada no meio CPM com café arábica sendo eles 8 da classe dos ácidos, 12 da classe dos álcoois, 3 dos aldeídos, 3 das cetonas, 13 dos ésteres e 5 dos fenóis. Já na fermentação realizada no meio CPM com café conilon foram encontrados 70 compostos, sendo eles 7 da classe dos ácidos, 5 da classe dos alcanos, 19 dos álcoois, 2 dos aldeídos, 3 das cetonas, 30 dos ésteres e 4 dos fenóis.

Nas Figuras 5 e 6 temos a relação da concentração entre as classes dos compostos voláteis presentes no café arábica e conilon, respectivamente.

Tabela 9 - Área inicial e final dos compostos voláteis no café arábica

Classe dos Compostos	Area Inicial	CCMA 1737	CCMA 1993	CCMA 1617	CCMA 1992	CCMA 1950	CCMA 1735	CCMA 1658	CCMA 1647	CCMA 1944
Ácidos										
Acetic acid	46678	22748	25357	46781	-	18463,5	70156	-	-	9986,5
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	49244	46124,5	24687	39663,5	33584,5	37773	37083,5	22965,5	41965	31843
Ethyl 9-hexadecenoate	52874	24952	14955	21506	3901	28929	38603	34001,5	26684	48970
Propanoic acid, 2-methyl-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl Oleate	12066	7479	-	-	-	-	10494,5	-	-	-
(E)-.beta.-Famesene	-	-	9651,5	-	-	11502,5	-	6298,5	5055,5	5984,5
9-Hexadecenoic acid	10930	9948	-	-	-	-	15829	-	-	-
Nonanoic acid	-	-	-	-	-	-	9947	-	-	-
Álcoois										
1-Butanol, 3-methyl-	-	427648	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Heptanol, 6-methyl-	-	-	-	26206,5	-	131871	-	-	-	-
1-Nonanol	-	5272	-	-	-	-	8259,5	-	-	-
1-Octanol	-	25992	16957,5	11971	8937	103519,5	23095	9809	10541	10227
1-Octanol, 2-butyl-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzyl alcohol	45307	47629	143451	47487,5	40411	143484	56063	76682,5	86033	54337
Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-	9171	7458,5	7460,5	8559,5	5674	8278	9421,5	6887,5	5813	3549,5
L-.alpha.-Terpineol	11837	-	-	8886	6615,5	-	11486	-	-	7726
n-Nonadecanol-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenylethyl Alcohol	106462	279720,5	4816379,5	182741	380067	1494865	386385,5	4429054	571270,5	2925225,5
(S)-3-Ethyl-4-methylpentanol	46376	46830,5	-	25511,5	27056	189046	50342	-	-	43417,5

1-Dodecanol	28428	51798	9140,5	17658	19969,5	21580	64151	9764	7421	13257,5
E,E-2,13-Octadecadien-1-ol	-	116573,5	24554,5	69151	55436,5	43307	132747	45783,5	35970,5	24859,5
1-Decanol	13059	22274,5	-	8791	-	6683	10561,5	-	-	13277
Aldeídos										
Tetradecanal	21881	-	-	9863,5	7366,5	-	13163,5	-	-	-
Heptadecanal	242226	136022,5	24069	165126	66944	49841,5	148895,5	-	28267,5	20337
2-Undecenal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cetonas										
2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-4-Hydroxy-3-methylacetophenone	9321	9862,5	2045,5	10101,5	4860	7492,5	11915	-	-	4662,5
7-Acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3394
	1973	7310,5	8489	3298	8602	4798	5441	-	1284,5	5602,5
Ésteres										
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	107417	218310,5	77661,5	140344	85525,5	130339	216008,5	49655,5	47937,5	282245
2-Ethylhexyl salicylate	11746	16006,5	-	8182,5	-	-	16936	-	-	-
2-Propenoic acid, pentadecyl ester	5226	9965,5	-	-	-	-	-	-	-	-
9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	15048	5246	-	4735	-	-	9521	-	-	-
Cyclopentanetricanoic acid, methyl ester	-	50188	9842,5	16183	8747,5	16374	60013,5	17758	10425	6915
Dodecanoic acid, ethyl ester	168476	73523	120194,5	52313,5	-	2951926	94307,5	87720	82991,5	907630,5
Hexadecanoic acid, ethyl ester	90548	50419	-	20710,5	-	-	66590,5	16414	-	-



Methyl salicylate	102716	49805,5	-	-	-	-	78804,5	-	-	-
n-Hexadecanoic acid	50953	56754	-	33084	-	-	110462	-	-	-
Octanoic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tetradecanoic acid	17393	-	-	-	-	-	31738,5	-	-	-
Tetradecanoic acid, ethyl ester	31520	13016,5	-	13174,5	10831	32926	18299,5	17150,5	13914	169067
Hexadecanoic acid, methyl ester	49570	50419	9687,5	37761	8883	16175	59218,5	17758	10612	8999
1,2- Benzenedicarboxylic acid, bis(2- methylpropyl) ester	-	218310,5	77661,5	140344	8552,5	130339	216008,5	49655,5	47937,5	282245
Fenóis										
2-Methoxy-4- vinylphenol	4916	-	-	-	-	-	-	-	-	3500
Phenol, 2,4-bis(1,1- dimethylethyl)-	46693	75288	81067	16095	60371	47115	61002	64509,5	66822	32675,5
Phenol, 4-ethyl-	-	46173,5	105314,5	102827	19356,5	41090	127239,5	-	4271	7278
Phenol, 4-ethyl-2- methoxy-	-	128201	374709	229886,5	53360	144901	417885,5	-	10061,5	18766

Tabela 10 - Área inicial e final dos compostos voláteis no café conilon

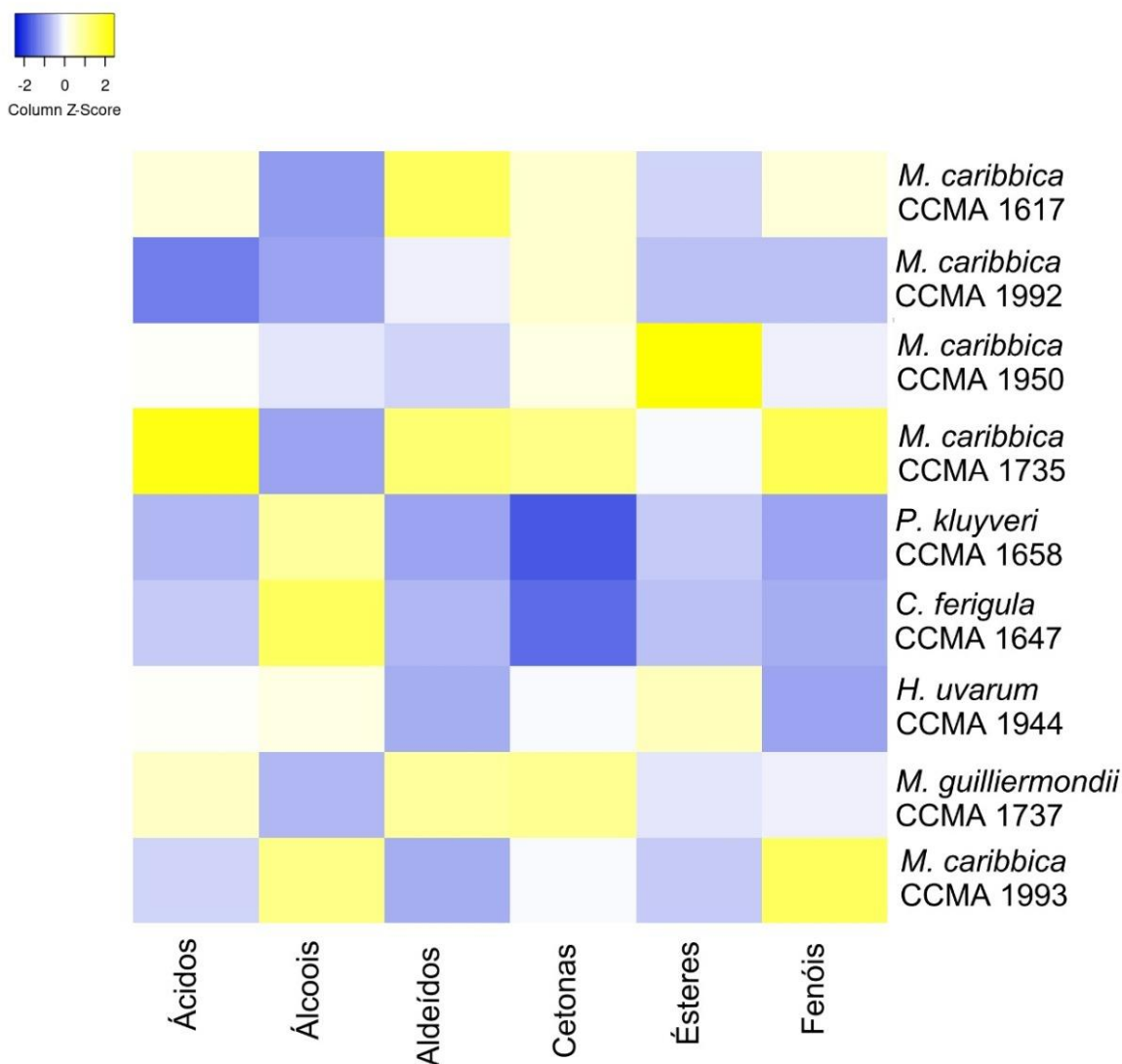
Classe dos Compostos	Area Inicial	CCMA1895	CCMA1663	CCMA1652	CCMA1950	CCMA1944
Ácidos						
Acetic acid	11026	416052	84507,5	26745,5	75479	27317
Butanoic acid, 3-methyl-cis-10-	-	-	6152,5	1929	-	-
Dodecanoic acid	12496	329898,5	42967	100457,5	255931	51598
n-Decanoic acid	-	391785,5	1433,5	8185,5	121460,5	-
Octanoic acid	-	121059,5	2528	8319	55664,5	3971,5
1-Decanol	-	18324	3721	-	11250	13624
Nonanoic acid	1223	48928	2229,5	23185,5	27257	1297
Alcanos						
Cyclopropane, 1-heptyl-2-methyl-	5753	26966,5	6662	3477,5	14381	6865,5
Hexadecane	4709	6920,5	9666	5233	11473,5	11381
Octacosane	-	11159	6773	5797	-	-
Tetradecane	13729	-	13849	15827	-	21046,5
Álcoois						
Phenylethyl Alcohol	120546	794826	471126	407347,5	1700418	3595332
1-Eicosanol	6009	24454,5	19138	8037	35849,5	23802
1-Nonanol	7551	29708	7167,5	6549,5	-	6824
1-Octanol, 2-butyl-	-	16140,5	7925	9159	95758,5	5642,5
1-Tetradecanol	5564	21812,5	19074	7727	30678	20978,5
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	8222	21951,5	6360,5	4710,5	6844	8966,5
2-Dodecanol	23245	140268,5	97150	63647,5		95758,5
2-Nonanol	95232	730514,5	105845	37992,5	225430,5	50216,5
Benzyl alcohol	58942	55528,5	45061	24185,5	44339	37385

E-11,13-Tetradecadien-1-ol	-	7119	4328,5	-	-	-
Ethanol, 2-(dodecyloxy)-	8624	28617	20656,5	26236	78688	19152
n-Hexadecanoic acid	41006	43105	43240,5	55691	78863,5	48377,5
n-Nonadecanol-1	2724	6762	2780	5964,5	6708,5	2863
1-Dodecanol	-	-	434109,5		209820,5	327287
Aldeídos						
Benzaldehyde, 2,4-dimethyl-	52654	-	103851	-	22060,5	-
Tetradecanal	7229	-	-	27485	-	-
Cetona						
2-Tetradecanone	2670	-	7620	5458,5	8066	9924,5
2-Undecanone, 6,10-dimethyl-	4308	-	5729,5	3818	2823,5	6815
5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	74727	-	25628,5	-	1022528	199908
Ésteres						
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	142023	385456	147660	241533,5	209881	155194,5
2-Ethylhexyl salicylate	17338	38062	29261,5	31315	29456,5	36139
2-Propenoic acid, tridecyl ester	-	10432	2826,5	-	-	-
6-Octadecenoic acid, methyl ester, (Z)-	-	-	3166,5	-	-	-
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	3093	-	-	2401	-	2664,5
9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	2573	2068,5	9041,5	12926,5	5243,5	5319

Acetic acid, 2-phenylethyl ester	1364522	2836266	310397,5	20763282	2324532	1423785
Acetic acid, phenylmethyl ester	17849	53372	4810	523764	24043	-
Benzeneacetic acid, ethyl ester	-	88575	-	43998	20349,5	40746,5
Benzoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	98884	233694,5	88003,5	63608	69033	55212
Decanoic acid, ethyl ester	7689	968279	17680,5	86564,5	2469347	348697
Diamyl phthalate	14823	31280	11127,5	42322,5	37199	10951,5
Dodecanoic acid, ethyl ester	67695	1367428	134441	269331,5	3388525	660718,5
Ethyl 9-decenoate	-	-	-	-	26043	27349,5
Ethyl 9-hexadecenoate	26907	124334,5	29438,5	66779,5	78053,5	94736
Ethyl Oleate	6786	-	12012	14018	14752,5	12183
Hexadecanoic acid, ethyl ester	35472	42291,5	53798,5	33668	19003,5	55519
Hexadecanoic acid, methyl ester	30704	29743	29644,5	20172	10919	30925,5
Isopropyl myristate	4076	13045,5	15766,5	77968,5	40049,5	29037
Lauryl acetate	-	16140,5	12314	-	-	17222
Linoleic acid ethyl ester	7161	-	19150	20300,5	17924	14041,5
Methyl salicylate	991780	1760227	908495	766049	711524,5	612345
Oleic Acid	10314	19233,5	6138,5	11559	18453	20945
Sulfurous acid, 2-propyl tetradecyl ester	-	9962	4180	9260	20267	5642,5
Tetradecanoic acid	8256	17093,5	11120	17192,5	28970,5	27507,5

Tetradecanoic acid, ethyl ester	31049	54316,5	59838,5	22183,5	52019	218719
Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3- propanediyl ester	-	73625,5	44694,5	-	9689	13413
Fenóis						
2-Methoxy-4-vinylphenol	4847	3414,5	44738,5	3553	5054	9592
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	78526	136818,5	172881,5	127862	168998	141887,5
Phenol, 4-ethyl-	4990	3509,5	16136,5	4436,5	8084	2727
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	60036	13787,5	73265	15460	36200	9773,5

Figura 5 – Heatmap das classes de voláteis produzidos em meio CPM para o café arábica

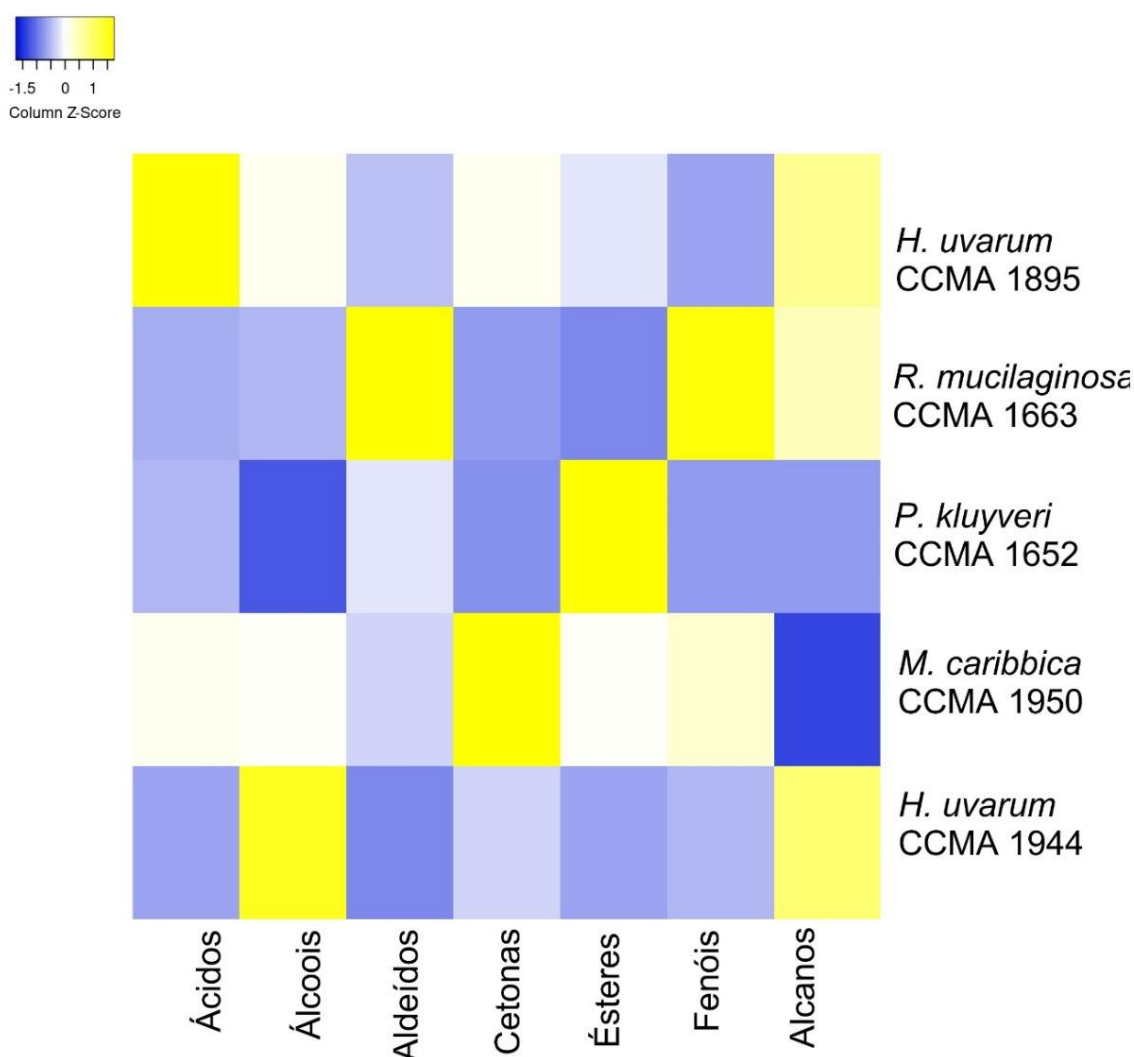


A figura 5 demonstra as classes de voláteis encontrados ao final da fermentação do café arábica.

Três classes aromáticas são de maior importância no produto final e sua maior concentração é de grande interesse, sendo elas a classe dos ésteres, cetonas e aldeídos (LÓPEZ-GALILEA, 2006; BRESSANI et al., 2021). Para a produção de cetonas destacaram-se as cepas, *Meyerozyma caribbica* CCMA1735 e a *Meyerozyma guilliermondii* CCMA1737. Ambas tiveram a produção dos ácidos 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- e do ácido 7-Acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin. Já no último tempo de fermentação os compostos das classes dos aldeídos, apesar de estarem presentes (onde as cepas *Meyerozyma caribbica* CCMA1617, *Meyerozyma caribbica* CCMA1735 e *Meyerozyma guilliermondii* CCMA1737 foram as que apresentaram maior concentração final), quando comparados com o tempo inicial descritos na

tabela 9, não obtiveram aumento, sendo assim, foi visto que durante a fermentação do café arábica não teve-se produção compostos da classe dos aldeídos, e que os compostos presentes são provenientes do próprio fruto do café. E a produção de compostos da classe dos ésteres se destacam as cepas *Meyerozyma caribbica* CCMA1950 e a *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 ambas tiveram a produção dos ácidos Dodecanoic acid ethyl ester, Tetradecanoic acid, ethyl ester e 1,2-Benzenedicarboxylic acid bis(2-methylpropyl) ester.

Figura 6 - Heatmap das classes de voláteis produzidos em meio CPM para o café conilon.



A figura 6 demonstra as classes de voláteis encontrados ao final da fermentação do café conilon. Para a produção de cetonas a cepa *Meyerozyma caribbica* CCMA1950 foi a que apresentou maior produção, demonstrando a produção do ácido 5,9-Undecadien-2-ona, 6,10-dimethyl-, (Z) e do ácido 2-Tetradecanone no ultimo tempo de fermentação. Já a produção de compostos das classes dos aldeídos a cepa *Rhodotorula mucilaginosa* CCMA1663 foi a que

demonstrou maior concentração final entre as cepas, a mesma teve a produção do ácido benzaldeído. E a produção de compostos da classe dos ésteres a cepa que mostrou a maior produção foi *Pichia kluyveri* CCMA1652, que produziu em maior quantidade os Acetic acid, 2-phenylethyl ester, Methyl salicylate e o Dodecanoic acid.

Dentre os compostos voláteis presentes ao final da fermentação, destacam-se os da classe dos ésteres (acetato e etílico), pois são, quantitativamente, o maior grupo formado, Esse grupo é conhecido pela sua contribuição com notas sensoriais florais e frutadas e a utilização de culturas iniciadoras de leveduras que auxiliam no aumento desses compostos podem impactar positivamente na qualidade do café. ( EVANGELISTA et al., 2014b; SAERENS et al., 2010; SILVA et al., 2013) Os ácidos Acetic acid 2-phenylethyl ester, Methyl salicylate, Dodecanoic acid, Tetradecanoic acid, ethyl ester, Dodecanoic acid ethyl ester e 1,2-Benzenedicarboxylic acid bis(2-methylpropyl) ester, mesmo não tendo ainda atributos sensoriais atribuídos a eles, os mesmos já foram detectados em outros estudos de fermentação de café (PEREIRA et al.,2016;BRESSANI.,2018; EUGÊNIO.,2015)

Destacam-se também a classe das cetonas, que podem ser geradas a partir do processo de fermentação utilizando leveduras (EVANGELISTA et al., 2014b, 2014a; HIRST; RICHTER, 2016). O ácido 5,9-Undecadien-2-ona, 6,10-dimethyl-, (Z) demonstrou em diferentes estudos agregar ao produto final compostos aromáticos desejáveis, como no estudo de Bressani (2018) onde o mesmo agregou ao produto final aroma de chocolate doce. Além dos ácidos 2-Pentadecanone,6,10,14-trimethyl- e do ácido 7-Acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin, apesar de não ter atualmente atributos sensoriais atribuídos a eles, os mesmos já foram detectados em outros estudos de fermentação de café (BRESSANI.,2018;RIBEIRO et al.,2020)

E também, os compostos da classe dos aldeídos que são gerados durante o processo de remoção da mucilagem do café são importantes precursores de aromas. No presente estudo foi detectado o composto benzaldeído que pode trazer ao produto final aroma frutado e de cereja.(BRESSANI et al., 2020; EVANGELISTA et al.,2014b, 2014a).



## 5 - CONCLUSÃO

Os testes aplicados são eficazes para avaliação e seleção de possíveis novas culturas iniciadoras. Das 56 cepas, 34 apresentaram produção de pectinases e dessas 12 cepas foram selecionadas como boas produtoras de ácidos orgânicos. As cepas *Meyerozyma guilliermondii* CCMA1737 e a *Meyerozyma caribbica* CCMA1993, seguidas das *Meyerozyma caribbica* CCMA1617, *Meyerozyma caribbica* CCMA1992, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Meyerozyma caribbica* CCMA1735, *Pichia kluyveri* CCMA1658, *Cystofilobasidium ferigula* CCMA1647 e *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 foram selecionadas como potenciais culturas iniciadoras para o café arábica. As cepas: *Hanseniaspora uvarum* CCMA1895, *Rhodotorula mucilaginosa* CCMA1663, *Pichia kluyveri* CCMA1652, *Meyerozyma caribbica* CCMA1950, *Hanseniaspora uvarum* CCMA1944 foram selecionadas como potenciais culturas indicadoras para o café conilon. Além disso, o comportamento das potenciais culturas iniciadoras deve ser avaliada durante o processo fermentativo do café arábica e conilon.

## REFERÊNCIAS

- AGATE. A. D.; BHAT. J. V. Role of pectinolytic yeasts in the degradation of mucilage layer of *Coffea robusta* cherries. *Applied microbiology*. v. 14. n. 2. p. 256–260. 1966.
- AGNOLETTI. Bárbara Z. *et al.* Discrimination of Arabica and conilon coffee from physicochemical properties allied to chemometrics. *Revista Virtual de Química*. v. 11. n. 3. p. 785–805. 2019.
- APARECIDO. Camila Fernandes Ferreira. UTILIZAÇÃO DE SILÍCIO EM *Coffea arabica* L. E *Coffea canephora* Pierre CULTIVADOS EM DIFERENTES REGIMES HÍDRICOS. 2021. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/204194>>.
- ARAÚJO. MIGUEL AUGUSTO MACHADO DE. Isolamento E Seleção De Leveduras Para Produção De Enzimas De Interesse Industrial a Partir De Frutos Do Cerrado. p. 67. 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/handle/ri/8792>>.
- ASSIS. Mariana Oliveira. Identificação das leveduras isoladas de uvas cultivadas no Vale do Submédio São Francisco e sua utilização na fermentação do mosto de uva. 2012. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/handle/ri/8792>>.
- BERTRAND. B. *et al.* Impact of the *Coffea canephora* gene introgression on beverage quality of *C. arabica*. *Theoretical and Applied Genetics*. v. 107. n. 3. p. 387–394. 2003.
- BORÉM. Flávio Meira *et al.* Qualidade do café natural e despulpado após secagem em terreno e com altas temperaturas. *Ciência e Agrotecnologia*. v. 32. n. 5. p. 1609–1615. 2008.
- Bressani. A. P. P.. Martinez. S. J.. Batista. N. N.. Simão. J. B. P.. Dias. D. R.. & Schwan. R. F. (2021). Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee. *Food Chemistry*. 361. 130133. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130133
- BRESSANI. Ana Paula Pereira *et al.* Organic acids produced during fermentation and sensory perception in specialty coffee using yeast starter culture. *Food Research International*. v. 128. p. 108773. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108773>>.
- BRESSANI. Ana Paula Pereira *et al.* Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. *LWT*. v. 92. p. 212-219. 2018.
- CALDARELLI. Carlos Eduardo; GILIO. Leandro; ZILBERMAN. David. The Coffee Market in Brazil: challenges and policy guidelines. *The Coffee Market in Brazil: challenges and policy guidelines*. v. 39. n. 69. p. 1–21. 2019.

- CAMPOS. Samuel Alex Coelho. Análise da competitividade do setor cafeeiro brasileiro no mercado internacional. *Economia & Região*. v. 10. n. 1. p. 123. 2022.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira. *Boletim da Safra 2021*. v. 8. n. Terceiro levantamento. p. 59. 2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>>.
- CARDOSO. W. S.. et al.. Aspectos Bioquímicos de Fermentação do Café. Livro: Determinantes da Qualidade na Produção de Café. editora Springer. p. 149-208. 2021.
- CARR J.G.. Tea, coffee and cocoa. In: B.J.B. Wood (Editor). *Microbiology of Fermented Foods* (Vol. 2). London: *Elsevier Science Ltd.*. 1985.
- DE MELO PEREIRA. Gilberto V. *et al.* Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. *Food Chemistry*. v. 272. n. August 2018. p. 441–452. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>>.
- DIAS. Mariana. Aproveitamento De Resíduos Do Processamento De Café Para Produção De Carotenoides Por Leveduras E Bactérias. p. 122. 2016. Disponível em: <<http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/8444>>.
- DORTA. Claudia *et al.* Fermentação de café via úmida com adição de culturas iniciadoras e a inclusão de características sensoriais na bebida / Wet coffee fermentation with addition of starter cultures and the inclusion of sensory characteristics in the beverage. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*. v. 4. n. 1. p. 579–589. 2021.
- DURÁN. C. A.A. *et al.* Coffee: General aspects and its use beyond drink. *Revista Virtual de Química*. v. 9. n. 1. p. 107–134. 2017.
- EUGÊNIO, Miriam Helena Alves. Análise sensorial química e perfil de voláteis de cafés especiais das quatro regiões cafeeiras do estado de Minas Gerais. 2015.
- EVANGELISTA. Suzana Reis. Avaliação Da Microbiota Presente No Processamento Úmido Do Café . E Do Uso De Culturas Iniciadoras No Processamento Natural E Semi-Seco. p. 183. 2014.
- EVANGELISTA. Suzana Reis *et al.* Microbiological diversity associated with the spontaneous wet method of coffee fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. v. 210. p. 102–112. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.008>>.
- FRANK. H. A.; LUM. N. A.; DELACRUZ. A. S. Bacteria Responsible for Mucilage-Layer Decomposition in Kona Coffee. *Applied microbiology*. v. 13. n. 2. p. 201–207. 1965.

FREITAS. VALDEIR VIANA. Avaliação Da Fermentação Do Café Arabica Com Uso De Minas Gerais - Brasil. p. 54. 2018. Disponível em: <[https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/24288/1/texto\\_completo.pdf](https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/24288/1/texto_completo.pdf)>.

FILETE. Cristhiane Altoé et al. Fermentação anaeróbica no café arabica e seu impacto no perfil sensorial. *Revista Eletrônica Sala de Aula em Foco* . v. 6. n. 3. pág. 112-123. 2020.

HIRST. Marissa B.. and Chandra L. Richter. "Review of aroma formation through metabolic pathways of *Saccharomyces cerevisiae* in beverage fermentations." *American Journal of Enology and Viticulture* 67.4 (2016): 361-370.

ICO. I. C. O. Coffee Market Report - March 2020. 2020. Disponível em: <http://www.ico.org/Market-Report-19-20-e.asp>. Acesso em: 08 de Março de 2021

PEREIRA, Gilberto Vinícius de Melo et al. Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 51, n. 7, p. 1689-1695, 2016.

PUERTA. G. Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé). 2013. (0120-0178).

JHAM. Gulab N.. et al. "Comparação de GC e HPLC para a quantificação de ácidos orgânicos em café." *Análise Fitoquímica: Um Jornal Internacional de Técnicas Químicas e Bioquímicas de Plantas* 13.2 (2002): 99-104.

LEE. Liang Wei *et al.* Coffee fermentation and flavor - An intricate and delicate relationship. *Food Chemistry*. v. 185. p. 182–191. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.124>>.

LOPEZ. Fred. et ai. "Interação da cafeína com o complexo do receptor GABAA: Alterações na função do receptor, mas não na ligação do ligante." *Jornal Europeu de Farmacologia: Farmacologia Molecular* 172.6 (1989): 453-459.

LÓPEZ-Galilea. Isabel. et al. "Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54.22 (2006): 8560-8566.

MARTINEZ. Silvia Juliana *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.

MARTINS. Pâmela Mynsen Machado *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. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108872>>.

MARTINS. Pâmela Mynsen Machado *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.

MASOUD. Wafa *et al.* Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. *Yeast*. v. 21. n. 7. p. 549–556. 2004.

MASOUD. Wafa; JESPERSEN. Lene. Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa. *International Journal of Food Microbiology*. v. 110. n. 3. p. 291–296. 2006.

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

MAXIMINO. Raphael Canal. LIMIARES SENSORIAIS PARA CONCENTRAÇÃO DE CAFÉ CONILON (*Coffea canephora*) NO CAFÉ ARABICA (*Coffea arabica*). PERFIL SENSORIAL PELA ANÁLISE TEMPO-INTENSIDADE E PERCEPÇÃO DOS CONSUMIDORES EM RELAÇÃO À BEBIDA. *Angewandte Chemie International Edition*. 6(11). 951–952.. p. 0–100. 2018. Disponível em: <<http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/11324>>.

PEREIRA *et al.* Microbial diversity and chemical characteristics of *Coffea canephora* grown in different environments and processed by dry method. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. v. 37. n. 3. p. 1–12. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11274-021-03017-2>>.

PEREIRA. Thayanna Scopel *et al.* Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial communities. chemical composition and sensory quality of coffee. *Food Microbiology*. v. 103. p. 103962. 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002021002288>>.

RAMOS. Darlê Martins Barros *et al.* Inibição in vitro de fungos toxigênicos por *Pichia sp.* e *Debaryomyces sp.* isoladas de frutos de café (*Coffea arabica*). *Acta Scientiarum - Agronomy*. v. 32. n. 3. p. 397–402. 2010.

RIBEIRO, Luciana Silva *et al.* The use of mesophilic and lactic acid bacteria strains as starter cultures for improvement of coffee beans wet fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 36, n. 12, p. 1-15, 2020.

RIBEIRO. Luciana Silva *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.

RODRIGUES. Guilherme Zatti; CUNHA. Gustavo Rennó Reis Almeida Luciane Tavares Da. Desenvolvimento E Validação Da Fermentação Controlada De Frutos Do Café No Pós-Colheita Em Diferentes Tempos. *Journal of Chemical Information and Modeling*. v. 53. n. 9. p. 21–25. 2020. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/scp>>.

RODRIGUES. Sandy Dias *et al.* Sensory q-grader evaluation of fermented Arabica coffees by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and lactic bacteria (*pediococcus acidilactici*) cultures. *Coffee Science*. v. 15. n. 1. p. 1–9. 2020.

SAERENS. Sofie MG. et al. "Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*." *Microbial biotechnology* 3.2 (2010): 165-177.

SAKIYAMA. N. S.; FERRÃO. M. A. G. Botany and Production of coffee. In: SCHWAN. R. F.; FLEET. G. H. (Ed.). *Cocoa and Coffee Fermentations*. CRC Press. Taylor & Francis Group. Florida. EUA. 2015. p. 341-365.

SANTOS. Flavia Santana. ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE DIVERSOS MÉTODOS DE PREPARO DE CAFÉ DAS VARIEDADES ARABICA (*COFFEA ARABICA L.*) E ROBUSTA (*COFFEA CANEPHORA*). v. 3. n. 2. p. 58–66. 2019.

SCHWAN. Rosane F.; COOPER. Richard M.; WHEALS. Alan E. Endopolygalacturonase secretion by *Kluyveromyces marxianus* and other cocoa pulp-degrading yeasts. *Enzyme and Microbial Technology*. v. 21. n. 4. p. 234–244. 1997.

SUNARHARUM. Wenny B.; WILLIAMS. David J.; SMYTH. Heather E. Complexidade do sabor do café: uma perspectiva composicional e sensorial. *Food Research International* . v. 62. p. 315-325. 2014.

SILVA. Cristina Ferreira *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. Cristina Ferreira *et al.* Succession of bacterial and fungal communities during natural

coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*. v. 25. n. 8. p. 951–957. 2008.

SIVETZ. Michael; FOOTE. Herbert Elliot. Tecnologia de processamento de café.

TOFALO. Rosanna *et al.* Development and application of a real-time PCR-based assay to enumerate total yeasts and *Pichia anomala*. *Pichia guillermondii* and *Pichia kluyveri* in fermented table olives. *Food Control*. v. 23. n. 2. p. 356–362. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.07.032>>.

VILELA. Danielle Marques. SELEÇÃO IN VITRO DE CULTURAS INICIADORAS PARA FERMENTAÇÃO DE FRUTOS DE CAFÉ ( *Coffea arabica* L .) PROCESSADOS VIA SECA E SEMI-SECA. *Tese*. p. 80. 2011.

ZHANG. Sophia Jiyuan *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. 2019.