



RAFAELA REZENDE MIZAEI

LIOFILIZAÇÃO DE SEMENTES DO GÊNERO *Coffea*

**LAVRAS-MG
2021**

RAFAELA REZENDE MIZAE

LIOFILIZAÇÃO DE SEMENTES DO GÊNERO *Coffea*

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

Pesq. Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa
Orientadora

Dra. Ana Luiza de Oliveira Vilela
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2021**

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

Mizael, Rafaela Rezende.

Liofilização de sementes do gênero *Coffea* / Rafaela Rezende
Mizael. - 2021.

36 p.

Orientador(a): Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa.

Coorientador(a): Ana Luiza de Oliveira Vilela.

Monografia (graduação) - Universidade Federal de Lavras,
2021.

Bibliografia.

1. Liofilização de sementes. 2. Gênero *Coffea*. 3. Secagem a
vácuo. I. Rosa, Sttela Dellyzete Veiga Franco da. II. Vilela, Ana
Luiza de Oliveira. III. Título.

RAFAELA REZENDE MIZAE

LIOFILIZAÇÃO DE SEMENTES DO GÊNERO *Coffea*

FREEZE DRYING OF SEEDS OF THE GENUS *Coffea*

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

APROVADA em 18 de novembro de 2021.

Pesq. Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

Dra. Ana Luiza de Oliveira Vilela UFLA

Ma. Nathália Aparecida Bragança Fávaris UFLA

Ma. Marina Chagas Costa UFLA

Pesq. Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa
Orientadora

Dra. Ana Luiza de Oliveira Vilela
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2021**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus, pela oportunidade de me graduar em uma universidade tão conceituada como a UFLA.

Agradeço à minha mãe, meu pai e irmão, pela confiança depositada em mim e por todo investimento emocional e financeiro realizado, pelos conselhos e consolos, vocês são meu exemplo de vida, meu apoio e segurança.

Agradeço aos professores da melhor escola em que tive a oportunidade de estudar, Escola Municipal Álvaro Botelho, professores estes que moldaram a pessoa que hoje tenho orgulho de ser. Trago comigo uma imensidão de amor, de conhecimento e uma bagagem de saudade que serão eternos enquanto eu viver.

Sou grata pela oportunidade de participar do programa BIC-JÚNIOR da UFLA, pois foi a partir dele que escolhi minha carreira e área que desejo seguir profissionalmente.

Agradeço à minha Orientadora, Pesquisadora Doutora Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, pela disponibilidade e compreensão, e que por duas vezes minha orientadora reafirmou meus valores e minha determinação. Espero um dia ser ao menos uma sombra da pessoa que você é!

Agradeço também à minha Coorientadora, Doutora Ana Luiza de Oliveira Vilela, que sempre disponível e acessível me ajudou em cada dúvida e dificuldade, esse trabalho não estaria pronto sem você!

À minha família e amigos pelas orações e apoio, aos amigos que aqui fiz e sempre me lembrarei, aos professores que tive, essa conquista também é de vocês.

Termino exaltando minha gratidão pelas memórias que criei nessa universidade. Por onde ando me lembro dos momentos felizes que aqui passei, que felizmente foram a maioria, me lembro também dos momentos difíceis que serviram para reforçar minha persistência em meio as adversidades.

MUITO OBRIGADA!

Se temos uma biblioteca e um jardim temos tudo.
Marcus Cícero

RESUMO

A desidratação é o método mais antigo para preservar os alimentos. Hoje em dia, uma das técnicas utilizadas nesse processo é a liofilização, que também é adotada em processos de conservação de vários outros itens. Os produtos que passam por esse procedimento podem ser preservados e armazenados por muitos anos sem a necessidade de qualquer tipo de conservantes ou baixa temperatura. Esse procedimento vem sendo utilizado para secar e armazenar sementes, com o intuito de preservar sua viabilidade. A manutenção da qualidade das sementes de café durante o armazenamento é uma das maiores preocupações de produtores, uma vez que elas perdem rapidamente a viabilidade, não conservando o poder germinativo em níveis satisfatórios por períodos superiores a seis meses após a colheita, quando armazenadas em condições normais de ambiente. Desta forma, o objetivo nesse trabalho foi montar uma curva de secagem das sementes em liofilizador, e também avaliar os efeitos da liofilização na conservação de sementes de diferentes espécies do gênero *Coffea*. Para isso, foram utilizadas sementes da safra 2020/2021, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar Arara e *Coffea canephora* Pierre, com e sem pergaminho, para montagem da curva de secagem em liofilizador. E para as análises fisiológicas de armazenamento, foram utilizadas somente as sementes de *C. arabica*. Para avaliação inicial do lote, as sementes foram submetidas à determinação do teor de água, teste de germinação e teste de tetrazólio e, em seguida, submetidas à secagem em sílica gel até atingirem o teor de água de 16 %. Em sequência, as sementes foram secadas em liofilizador por 96 horas, até atingirem o teor de água de 5%. Foram retiradas amostras diariamente para avaliar a velocidade de secagem das sementes para a montagem da curva. Após secagem, o pergaminho foi retirado manualmente das sementes e as mesmas foram acondicionadas em embalagens impermeáveis e armazenadas por zero, um, dois e três meses em duas temperaturas, 10°C (câmara fria) e em temperatura ambiente, até a realização mês-a-mês das análises fisiológicas. Antes das avaliações fisiológicas, as sementes foram pré-embebidas até teor de água de 20%. A qualidade fisiológica das sementes após o processo de liofilização foi avaliada pelo teste de tetrazólio, de germinação e peso da matéria seca de plântulas. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado. Para a curva de secagem, em esquema fatorial de 2 X 2 X 8 sendo, duas espécies *C. canephora* e *C. arabica* L., sementes com e sem pergaminho e oito dias de secagem. Para as análises fisiológicas das sementes de *C. arabica* L. armazenadas, em esquema fatorial 2 X 4, sendo duas temperaturas (10°C e 25°C) e quatro meses de armazenamento, com quatro repetições. O processo de liofilização é prejudicial em sementes de café arábica com redução do vigor ao longo do armazenamento.

Palavras-chave: Secagem a vácuo. *Coffea arabica* L. *Coffea canephora* Pierre. Sementes.

ABSTRACT

Dehydration is the oldest method to preserve food. Nowadays, one of the techniques used in this process is lyophilization, which is also adopted in conservation processes of several other items. Products passing through this procedure can be preserved and stored for many years without the need for any type of preservatives or low temperature. This procedure is commonly used to dry and store seeds, with the intention of preserving its feasibility. Maintaining the quality of coffee seeds, during storage, for example, is one of the major producers concerns, since they quickly lose feasibility, not conserving germinative power at satisfactory levels for periods of more than six months after harvesting, when stored under normal environment conditions. In this way, the objective in this work was to set up a drying curve of the seeds in the lyophilizer, and also effects on storage during storage. For this, seeds of the 2020/2021 harvest seeds were used, the species *Coffea arabica* L., cultivate macaw and *Coffea canephora*, with and without parchment, for mounting the drying curve in lyophilizer. And for the physiological storage analyzes, only the seeds of *C. arabica* were used. For initial assessment of the batch, the seeds were submitted to the water content determination, germination test and tetrazolium test and then submitted to the water content of 16% (damp base). In sequence, the seeds were dried in a lyophilizer for 96 hours, until they reached a water content of 5%. Samples were held every day to evaluate the seed drying speed for the assembly of the curve. After drying, they were packed in waterproof packaging and stored by zero, one, two and three months in two temperatures, 10°C (cold chamber) and at room temperature, until the month-to-month achievement of the physiological analyzes. Before physiological evaluations, the seeds were pre-embedded up to 20% moisture. The physiological quality of the seeds after the lyophilization process was evaluated by the tetrazolium and germination test and seedling dry matter weight. The experiment was installed in a completely randomized design. For the drying curve, in a factorial scheme of 2 X 2 X 8, with two species *C. canephora* and *C. arabica* L., seeds with and without parchment and eight days of drying. For the physiological analysis of seeds of *C. arabica* L. stored, in a 2 X 4 factorial scheme, with two temperatures (10°C and 25°C) and four months of storage, with four replications. The freeze-drying process is harmful in arabica coffee seeds with reduced vigor during storage.

Keywords: Vacuum drying. *Coffea arabica* L. *Coffea canephora* Pierre. Seeds.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	10
1.1 INTRODUÇÃO	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 A LIOFILIZAÇÃO E SUAS APLICAÇÕES	12
2.2 TRANSFERÊNCIA DE ENERGIA E MASSA	13
2.3 AS ETAPAS DA LIOFILIZAÇÃO	14
2.3.1 CONGELAMENTO	14
2.3.2 SECAGEM PRIMÁRIA: SUBLIMAÇÃO	15
2.3.3 SECAGEM SECUNDÁRIA: DESSORÇÃO	16
2.4 TIPOS DE LIOFILIZADORES	16
2.5 LIOFILIZAÇÃO EM SEMENTES	17
2.6 SEMENTES DE CAFÉ	19
CAPÍTULO 2: ESTUDO PRELIMINAR SOBRE A LIOFILIZAÇÃO DE SEMENTES DE <i>COFFEA</i>	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL	24
2.2 LOCAL E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO	24
2.3 SECAGEM DAS SEMENTES	24
2.4 LIOFILIZAÇÃO DAS SEMENTES DE CAFÉ	25
2.5 CURVA DE SECAGEM DAS SEMENTES	25
2.6 EMBEBIÇÃO DAS SEMENTES	25
2.7 ANÁLISES FISIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE CAFÉ	26
<i>Determinação do teor de água</i>	26
<i>Teste de germinação</i>	26

<i>Massa seca de plântulas</i>	26
<i>Teste de tetrazólio</i>	27
2.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.1 CURVA DE SECAGEM DAS SEMENTES NO PROCESSO DE LIOFILIZAÇÃO	28
3.2 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS	30
5. CONCLUSÃO	33
5. REFERÊNCIAS	34
ANEXO	10

1. CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 INTRODUÇÃO

A desidratação é o método mais antigo para preservar os alimentos. Os povos primitivos desidratavam ervas, raízes, frutas e carnes através da exposição solar para sobreviverem a longos períodos de inverno, devido aos escassos ou inexistentes recursos alimentares. O fato de os alimentos serem desidratados, logo mais leves, era uma vantagem para quando eles tinham de percorrer grandes distâncias (GONÇALVES, 2015).

Atualmente, uma das técnicas utilizadas como forma de desidratação é a liofilização. Os produtos que passam por esse procedimento podem ser preservados e armazenados por muitos anos sem a necessidade de qualquer tipo de conservantes ou baixa temperatura. Certos produtos desidratados, quando adicionado água, pode retornar ao seu estado normal com suas características físicas e nutritivas mantidas.

A liofilização é o processo de desidratação do produto por sublimação, que consiste na passagem da água no estado sólido diretamente para o estado gasoso (o gelo formado transforma-se diretamente em vapor de água). Como lembra Ramírez-Navas (2006), essa tecnologia tem suas raízes na refrigeração e também pode ser chamada de criodessecação por causa de sua fase inicial de congelamento. O termo dessecação se refere à desidratação do produto, e crio significa “frio” em grego.

Foi somente em 1958 que a liofilização foi utilizada no setor alimentício, e ainda assim limitada apenas para alguns alimentos como leite, sopas, ovos, fermento, sucos de frutas e café. Anteriormente, o processo era utilizado na preservação de tecidos animais, de bactérias e na preparação de grandes quantidades de ácido láctico.

A maior aplicação da liofilização é na área farmacêutica (comprimidos, tecidos, plasma, soro e outros produtos biológicos), na indústria química para preparação de catalisadores, seguida da secagem de materiais orgânicos como madeira, flores, preservação de animais (taxidermia), preservação de documentos, livros antigos e atualmente vem sendo utilizada no ramo de alimentos (RAMÍREZ-NAVAS, 2006).

Segundo Garcia (2009), o estado de agregação de qualquer substância depende das condições de temperatura e pressão a que ela está exposta, podendo se apresentar em estado sólido, líquido ou gasoso. Em determinadas condições é possível a coexistência de dois estados físicos, e em condições fixas e características de cada substância podem ainda coexistir os três estados físicos, o chamado ponto triplo das substâncias. O ponto triplo da água é definido pela

pressão em 610 Pa e à temperatura de 0,01°C, e o processo da liofilização somente ocorre quando a temperatura e a pressão parcial do vapor da água são menores que ele, desse modo não haverá água em estado líquido durante o processo e danos estruturais no produto serão evitados.

A baixa longevidade de sementes de café tem sido atribuída à sua sensibilidade à dessecação. Algumas espécies do gênero *Coffea* possuem sementes que são excepcionalmente de curta viabilidade, particularmente quando armazenadas em ambientes naturais (BRANDÃO JUNIOR, 2000). A semente de café possui germinação lenta e desuniforme, dificultando a formação de mudas de alta qualidade na época correta de plantio. Sementes do gênero *Coffea* spp. possuem tolerância intermediária a dessecação, tolerando parcialmente a secagem e não resistindo à secagem a baixos teores de umidade e ao armazenamento por longos períodos.

A grande preocupação ao se tratar de secagem e armazenamento de sementes de café é sua curta longevidade natural, como aumentá-la sem perder a viabilidade, vigor e como contornar os empecilhos relacionados a dessecação. Por isso, a manutenção da qualidade das sementes de café, durante o armazenamento, é uma das maiores preocupações de produtores.

As sementes são colhidas nos meses de abril a junho e a semeadura para a produção de mudas é feita logo em seguida em razão da baixa longevidade e lenta germinação das sementes. Assim, as mudas ficam prontas para ir para o campo em um período de baixa precipitação, prejudicando o pegamento e a formação de uma lavoura uniforme. O domínio de técnicas de conservação das sementes é de grande importância para a cafeicultura, pois permitirá o semeio para a produção de mudas em ocasião mais adequada (ARAUJO et al., 2008).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A LIOFILIZAÇÃO E SUAS APLICAÇÕES

Operacionalmente poderíamos definir a liofilização como um método controlável de desidratar materiais lábeis, frequentemente de origem biológica, através da dessecação sob pressão reduzida (BARTOLOMEU, 2014).

A liofilização é utilizada em processos de conservação de vários itens. Os produtos que passam por esse procedimento podem ser preservados e armazenados por muitos anos sem a necessidade de qualquer tipo de conservantes ou baixa temperatura. Além disso, em certos produtos desidratados, quando adicionado água, podem retornar ao seu estado normal com suas características físicas e nutritivas mantidas.

De acordo com Bartolomeu (2014), essa técnica apresenta várias vantagens ao competir com outros métodos de desidratação. A baixa temperatura, mantida durante todo o procedimento, evita qualquer alteração química das substâncias sensíveis ao calor e umidade. Por este motivo, um produto seco por esta técnica mantém inalterável a sua composição química original, a sua atividade terapêutica e outras propriedades características. Quando o produto liofilizado é, por exemplo, um alimento, sua qualidade nutricional é preservada em razão das condições de baixa pressão e temperatura envolvidas no processo, pois seus componentes ficam protegidos das reações enzimáticas e oxidativas que levam às perdas nutricionais.

Na liofilização os produtos passam pelo processo de desidratação por sublimação, em que a água contida passa diretamente do estado sólido para o gasoso. Primeiramente a água se torna cristais de gelo e depois evapora em forma de vapor. Porém, há dois mecanismos que podem promover o dano à estrutura celular e conduzir diretamente à diminuição da firmeza do tecido. O primeiro está relacionado com a possibilidade de perfuração da membrana celular pelo cristal de gelo intracelular, que contribui para a redução de pressão de turgor (pressão que se deve exercer sobre uma solução quando esta se encontra separada de seu solvente por uma membrana semipermeável para impedir o fluxo de moléculas). O segundo se relaciona com a quebra da estrutura da parede celular pelo cristal formado no meio extracelular, abrindo caminho para o colapso celular (TERRONI et al., 2013).

Segundo Bartolomeu (2014), os tipos de produtos que podem ser liofilizados são: os não-biológicos, onde o processo é usado para desidratar ou concentrar reativos ou substâncias químicas sensíveis ao calor; os bio-produtos não vivos que compreendem a principal área de aplicação e inclui: enzimas, hormônios, antibióticos, vitaminas, hemo-derivados, anticorpos,

vacinas inativadas, ossos e outros tecidos do corpo para uso cirúrgico ou médico e os alimentos onde propriedades organolépticas são importantes. A liofilização é também, usada para outras finalidades, como livros danificados por inundações, artefatos de museu, entre outros, ou ainda para organismos vivos, como bactérias, fungos, vacinas viróticas atenuadas e sementes, principalmente de hortaliças (TERRONI et al., 2013).

Geralmente a liofilização é aplicada a sementes em pesquisas quanto sua conservação, armazenamento e quebra de dormência. A grande preocupação é a curta longevidade natural das sementes, como aumentá-la sem perder a viabilidade e vigor e como contornar os empecilhos relacionados a dessecação.

São vários os fatores que influenciam na qualidade das sementes de café e dentre esses fatores, a secagem e o grau de umidade tem grande influência, principalmente em função da sensibilidade das sementes à dessecação. Dessa forma, conhecer o comportamento fisiológico das sementes quanto à capacidade de tolerar a secagem é de fundamental importância para proporcionar condições adequadas que garantam a manutenção da viabilidade das sementes (BRANDÃO JÚNIOR, 1999; COELHO et al., 2015).

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas, visando caracterizar as melhores condições de preservação da qualidade fisiológica das sementes de café por períodos mais prolongados. Além disso, a baixa longevidade das sementes do café é um fator limitante para a manutenção do germoplasma a longo prazo, colocando em risco a variabilidade genética existente (ROSA et al., 2013).

O processo de liofilização se mostra eficiente comparado com outros meios de desidratação, frente características como contração do produto, perda de voláteis, decomposição térmica, ações enzimáticas e desnaturação de proteínas (GARCIA, 2009). Porém, é um método caro devido aos altos custos energéticos, de operação e manutenção (GUIMARÃES, 2010). Atrelado a rápida perda de viabilidade das sementes de café e sua tolerância à dessecação leva-nos a pensar se sua utilização seria promissora.

2.2 TRANSFERÊNCIA DE ENERGIA E MASSA

A liofilização é um processo simultâneo, que envolve transmissão de calor e transferência de massas. A força motora de transferência de massa é o gradiente de pressão e a força motora de calor é o diferencial de temperatura. Com o fornecimento de calor a pressão constante e abaixo de 4,58 mmHg a um material congelado, se inicia a sublimação (gelo sólido sublima diretamente para vapor sem se fundir), porém, como a emissão de vapores aumenta a

pressão destes, bloqueando a sublimação, logo é necessário um equipamento ou dispositivo que retenha os vapores emitidos, na prática é utilizado um condensador.

O calor latente de sublimação (quantidade de calor necessária para que ocorra a sublimação) é de 2,84 MJ kg⁻¹ e pode ser conduzido através do alimento pela camada seca ou pela congelada, ou produzido por micro-ondas (geração interna de calor). O vapor d'água sai dos alimentos através de canais formados pelo gelo sublimado, e sendo assim removido.

O gradiente de pressão parcial de vapor (força condutora da transmissão de massas) depende da pressão que existe na câmara de secagem e da temperatura do condensador de vapor d'água, ambas devem ser tão baixas quanto economicamente possível, e também da temperatura do gelo na frente de sublimação, que deve ser tão alta quanto possível, sem que ocorra a fusão. As condições geralmente utilizadas na prática, levando em consideração a questão econômica, são: pressão da câmara de 13 Pa e a temperatura do condensador cerca de -35 °C. (GARCIA, 2009).

2.3 AS ETAPAS DA LIOFILIZAÇÃO

Segundo Ramíres-Navas (2006) citando T.A. Jennings (1993), a liofilização é definida como um processo de estabilização, em que o material é primeiramente congelado e o solvente, comumente água, é concentrado e reduzido por sublimação seguida de dessorção, até um ponto em que não haja mais crescimento biológico ou reações químicas. O processo tem por objetivo a diminuição da atividade de água da substância em questão, através de uma série de operações em que o material é submetido durante o processamento, que são: o congelamento, a sublimação e a dessorção (GARCIA, 2009). Ramíres-Navas (2006) ainda diz que o processo de liofilização é um dos preparos mais adequados para a conservação de produtos biológicos, porque reúne os dois métodos mais confiáveis de conservação, o congelamento e a desidratação.

2.3.1 CONGELAMENTO

No congelamento dos alimentos, as soluções aquosas dos alimentos se transformam em uma mistura de duas fases sendo uma constituída por cristais de gelo e a outra pela solução concentrada dos solutos (TERRONI et al., 2013). O desempenho da liofilização depende significativamente deste estágio, por causa da forma e distribuição do tamanho dos poros, da conexão entre as redes de poros da camada seca formada pela sublimação da água ou da substância aquosa congelada durante a secagem primária, da dependência do processo de

liofilização com os cristais de gelo formados durante o estágio de congelamento, tendo influência, também, na consistência do produto final, cor e retenção de aroma (BOSS, 2004).

Para um material ser congelado, de forma que a liofilização possa ocorrer, deve haver uma mudança de fase envolvendo o solvente. Se o solvente é água, então devem ser formados cristais de gelo. A formação desses cristais de gelo resulta na separação do soluto do solvente. Os solutos são então confinados a uma localização conhecida como a região intersticial da matriz. Essa região intersticial não só tem que conter os solutos da formulação original, mas também uma quantidade pequena de água que não cristalizou (BARTOLOMEU, 2014).

A velocidade de secagem é altamente dependente da resistência do produto à transferência de calor e ao fluxo de vapor da frente de sublimação que é definido pelo limite entre a camada seca (já desidratada) e a congelada (EL-BACHÁ E KIM, 2014).

Boss (2004) citando Adamiec *et al.* (1995), diz que um congelamento lento (10-100°C/min) é prejudicial para as células porque propicia a formação de grandes cristais de gelo que após a sublimação da água ou da substância aquosa podem causar prejuízos mecânicos à estrutura das células como a membrana plasmática. Boss (2004) acrescenta que o congelamento “ultraswift” (1000°C/min) é resultado de uma queda brusca de pressão ou temperatura. Em consequência desta espécie de choque pequenos cristais de gelo são formados e distribuídos uniformemente sem afetar a estrutura das células.

2.3.2 SECAGEM PRIMÁRIA: SUBLIMAÇÃO

A secagem primária inicia-se quando a temperatura e pressão requeridas são atingidas no condensador e câmara respectivamente. A temperatura de placa é aumentada de tal forma que a sublimação do gelo possa ocorrer na matriz do produto. A temperatura do produto é então diminuída para assegurar uma matriz completamente congelada ao longo de todo o processo de secagem primária (BARTOLOMEU, 2014). Este estágio ocorre por difusão e convecção pelos poros da camada de secagem (MARQUES E COSTA, 2015).

De acordo com (GARCIA, 2009), ao passo que o gelo sublima, a temperatura da superfície do alimento começa a aumentar enquanto o interior permanece congelado e frio, portanto, é necessário que se diminua progressivamente a temperatura das placas para evitar a queima da superfície seca do alimento.

As condições típicas utilizadas na liofilização são a temperatura superficial do produto de 35 a 80 °C no máximo, e pressão da câmara 13 a 270 Pa, em alimentos muito sensíveis ao calor e cultivos microbianos o usual é de 20 a 30°C e pressões inferiores a 13 Pa. A velocidade

de secagem é lenta, cerca de 1,5 kg de água $m^{-2}.h^{-1}$ correspondente a um avanço na frente de sublimação de 0,2 a 0,3 $cm.h^{-1}$. A secagem primária chega ao fim quando o aumento da temperatura do produto atinge um valor próximo ao do ambiente ou quando é observado o desaparecimento da interface entre camada seca e camada congelada.

2.3.3 SECAGEM SECUNDÁRIA: DESSORÇÃO

O processo de secagem secundária, também chamado de dessorção, serve para diminuir o conteúdo de umidade residual no produto, de tal forma que já não haverá crescimento biológico ou reações químicas (BARTOLOMEU, 2014). Neste estágio é feita a eliminação da água que não está livre, que faz parte de cerca de 5% a 10% do total da água do produto (PINEDO, 2002; MARQUES E COSTA, 2015).

Esse procedimento ocorre depois que todo gelo já foi eliminado do produto sendo liofilizado, mas que ainda continua retendo certa quantidade de água líquida. Para obtenção de um produto estável, o conteúdo de umidade deve ser reduzido a cerca de 2 a 8 %, que corresponde a água fortemente ligada, por evaporação ou dessorção. Este resultado pode ser obtido se o produto parcialmente seco permanecer no liofilizador por cerca de 2 a 6 horas e for aquecido até sua temperatura se igualar a da placa (20 a 60 °C), mantendo-se o vácuo, assim ocorre a evaporação de grande parte da água residual (GARCIA, 2009).

A conclusão do processo de secagem secundária geralmente é simbolizada pela temperatura do produto aproximando-se da temperatura de placa por um período específico de tempo (BARTOLOMEU, 2014).

2.4 TIPOS DE LIOFILIZADORES

De acordo com Terroni *et al.*, (2013), os liofilizadores constituem-se basicamente pelos elementos: câmara de vácuo, fonte de calor, condensador e bomba de vácuo. A câmara de vácuo, onde o produto fica contido, tem por objetivo diminuir a pressão, para que não ocorra fusão do gelo. A fonte de calor tem a finalidade de suprir calor latente de sublimação. Já o condensador é formado por serpentinas de refrigeração que transformam os vapores diretamente em gelo (executando a chamada sublimação inversa). E a bomba de vácuo tem a finalidade de remover os vapores não condensáveis.

Os diversos tipos de liofilizadores se diferenciam pelo modo como o calor é fornecido à superfície do produto em questão. Os tipos comumente utilizados comercialmente são os

liofilizadores por condução e radiação e atualmente também a liofilização por micro-ondas também está sendo cogitada. Já o aquecimento por convecção, que se dá por diferença de densidade de um fluido, não se mostra tão eficaz, porque o aquecimento ocorre dentro da câmara de vácuo, e no vácuo não ocorre a movimentação por diferença de densidade.

Cada um destes tipos de secadores pode ser encontrado tanto na versão contínua como em batelada. Na secagem por batelada o produto é fechado dentro da câmara de secagem mantendo-se a temperatura do aquecedor entre 100 e 120°C para a secagem inicial, sendo gradualmente reduzida durante o período de secagem de 6 à 8 h. Atualmente já existem outros equipamentos onde se dispensa a utilização de bandejas e o alimento move-se no liofilizador por meio de esteiras rolantes, bases fluidizadas ou por atomização (GARCIA, 2009).

Os liofilizadores de contato e condução possuem a melhor capacidade de volume dentre os demais, porém são mais demorados. O alimento é aquecido em bandejas, como há condutividade térmica apenas em um dos lados, o contato não é uniforme.

Nos acelerados, o alimento fica entre duas camadas de malhas de metal com uma leve pressão dos lados. O calor é transferido por condução pela malha e o vapor sai pela superfície da placa de aquecimento.

Nos liofilizadores por radiação, é utilizada a radiação infravermelha para aquecer o alimento em bandejas e por ser disposto em camadas finas, aquece uniformemente. A pressão é constante durante todo o procedimento.

Os liofilizadores de micro-ondas e dielétricos são pouco utilizados e funcionam a partir da radiofrequência.

Já nos liofilizadores de compressão reversível há a remoção de 90% da água do alimento. A compressão ocorre a uma pressão de 69.000 kPa, fazendo que o alimento se torne elástico por causa da umidade residual, e por isso ele é posteriormente desidratado sob vácuo. (FELLOWS, 2006; MARQUES E COSTA, 2015).

2.5 LIOFILIZAÇÃO EM SEMENTES

Tratando-se de liofilização aplicada às sementes, encontramos pesquisas testando a secagem e procurando um método de armazenamento que preserve a viabilidade das sementes, principalmente para recalcitrantes.

A secagem de sementes até níveis baixos de teor de umidade (4 a 6%) apresenta dificuldades técnicas consideráveis, principalmente quando é indispensável que a secagem não altere a capacidade de germinação (NATALE E CARVALHO, 1983). Alguns estudos propõem

submeter as sementes à liofilização e a outros métodos de secagem, e ainda dividir as sementes da liofilização em embalagens permeáveis e impermeáveis, e compará-los para assim saber se a liofilização é vantajosa.

No trabalho de Degan et al. (2001), sementes de ipê-branco foram inicialmente congeladas a -40°C e depois submetidas a vácuo, sob pressão de 13,3 Pa, durante 16 h. Na câmara seca, com 40% de umidade relativa do ar e temperatura de 34°C (bulbo seco) e 23°C (bulbo úmido), as sementes permaneceram pelo período de 24 h. Na estufa com circulação forçada de ar, as sementes permaneceram por 30 min a 35°C . Para a secagem na câmara seca e na estufa, as sementes foram espalhadas em camada fina e homogênea, em bandeja de metal. Os autores concluíram que as sementes liofilizadas conservaram sua capacidade germinativa quando armazenadas em câmara fria.

No trabalho de Santos (2018), foi feita liofilização de sementes de cinco espécies florestais, visando a superação da dormência física, avaliando a protrusão da raiz primária e formação de plântulas normais. Foram utilizadas sementes das espécies *Dinizia excelsa* Ducke, *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb., *Parkia multijuga* Benth., *Stryphnodendron pulcherrimum* (Willd.) Hochr. e *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Vell.) Blake. A liofilização foi realizada em temperaturas abaixo de -50°C a uma pressão menor que 10^{-1} atm. Como conclusão obteve-se que a liofilização teve sucesso na superação de dormência das sementes de *S. pulcherrimum* e *O. pyramidale*, sendo estatisticamente superior ao controle. Já para as sementes de *P. multijuga* e *D. excelsa*, a liofilização não superou a impermeabilidade do tegumento, porém, as sementes liofilizadas emitiram a raiz primária e desenvolveram plântulas normais após tratamento convencional de superação de dormência. Isto mostra que o processo de liofilização não afetou a capacidade germinativa das sementes.

Trabalhando com secagem e armazenamento de sementes de *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* (Benth.) *Altschul*, popularmente conhecido como Angico-vermelho e *A. colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) *Altschul* conhecido como Angico-do-cerrado, Marques (2007) tinha o objetivo de confirmar a classificação das sementes quanto ao comportamento fisiológico no armazenamento e quanto à longevidade; conservar a qualidade fisiológica das sementes a médio prazo; testar métodos de secagem para reduzir, com segurança, o teor de água das sementes a baixos níveis; e armazenar as sementes desidratadas em temperatura inferior a zero, visando à conservação a longo prazo. As sementes foram desidratadas sobre soluções salinas saturadas, sobre sílica gel e por liofilização e foram armazenadas por diferentes períodos em sala de laboratório, câmara seca, câmara fria, freezer, ultra freezer e nitrogênio líquido fase vapor. Posteriormente foram avaliados o teor de água, a capacidade germinativa e o vigor das

sementes. Ele chegou às seguintes conclusões: As sementes conservaram sua qualidade fisiológica a médio prazo quando acondicionadas em embalagem permeável e armazenadas em câmara seca; quando acondicionadas em embalagem impermeável e armazenadas em câmara fria; quando liofilizadas, acondicionadas em embalagem impermeável e armazenadas em sala de laboratório.

2.6 SEMENTES DE CAFÉ

As divisas geradas com a exportação e a mão-de-obra empregada nas diferentes etapas de produção fazem do café uma cultura de indiscutível importância sócio econômica para o país (ARAÚJO et al., 2008).

A manutenção da qualidade das sementes de café durante o armazenamento é uma das maiores preocupações dos produtores de sementes, uma vez que elas perdem rapidamente a viabilidade, não conservando o poder germinativo em níveis satisfatórios por períodos superior a seis meses após a colheita quando armazenadas em condições normais de ambiente (WENT, 1957; LIMA et al., 2004). Isso também limita a semeadura a um curto espaço de tempo, concentrando a obtenção de mudas em épocas que nem sempre são as mais apropriadas para o plantio. O domínio de técnicas de conservação das sementes é de grande importância para a cafeicultura, pois permitirá o semeio para a produção de mudas em ocasião mais adequada (ARAÚJO et al., 2008).

A baixa longevidade de sementes de café tem sido atribuída à sua sensibilidade à dessecação. As alterações físicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem durante o processamento e subsequente secagem determinam, não só o potencial de sementes de café para a produção de mudas, assim como o potencial para o armazenamento (ROSA et al., 2013). Algumas espécies do gênero *Coffea* possuem sementes que são excepcionalmente de curta viabilidade, particularmente quando armazenadas em ambientes naturais (BRANDÃO JUNIOR, 2000).

Os resultados dos trabalhos com sementes de café são contraditórios, não havendo definição das condições ideais para seu armazenamento. Diversos estudos têm demonstrado que a principal causa da rápida perda do poder germinativo é a grande sensibilidade destas sementes à desidratação (BACCHI, 1955; BACCHI, 1956; ROBERTS, 1973; ELLIS et al., 1990; ARAÚJO et al., 2008).

A secagem do café é, comparativamente, mais difícil de ser executada que a de outros produtos. Além do elevado teor de açúcar presente na mucilagem (mesocarpo de fruto), a

umidade inicial, aproximadamente igual a 60% (base úmida), faz com que a taxa de deterioração seja alta, logo após a colheita. Qualquer que seja o método de secagem utilizado para condicionar o produto ao armazenamento seguro, é fundamental evitar fermentações indesejáveis antes e durante a secagem e, além disso, deve-se evitar temperatura excessivamente elevada na massa de grãos (LACERDA FILHO E SILVA, 2006).

Segundo Afonso Júnior et al. (2006), alguns estudos têm evidenciado, de modo geral, que para a conservação das sementes de café, são necessários valores relativamente altos para o teor de umidade: 35% b.u. (Vasconcelos et al., 1992), de 36 a 40% b.u. (Silva e Dias, 1985), 40% b.u. (Barboza e Herrera, 1990). Contudo, apesar de destacar a superioridade do teor de umidade próximo de 40% na manutenção da viabilidade e vigor das sementes de café, Miranda et al. (1993), concordando com Miglioranza (1982) e Ellis et al. (1991), consideraram que teores de umidade próximos a 10 % b.u. são aceitáveis para a manutenção da viabilidade dessas sementes.

Tolerância à dessecação pode ser definida como a capacidade de sobreviver, por cessamento reversível do metabolismo, a eliminação de quase toda água livre celular e retomar o funcionamento metabólico normal, sem danos permanentes, após o processo de reidratação (PHILLIPS et al., 2002; OLIVER et al., 2000; CARVALHO, 2017) e está relacionada a diversos fatores. Um deles é a exposição à seca sazonalmente e à ecossistemas úmidos. Outro é a morfologia da semente e o ambiente natural em que a espécie se desenvolve. Também pode ser atribuído a duração do período de maturação.

De modo geral, as sementes são classificadas em três grupos em relação à capacidade de tolerar a secagem e o armazenamento. Sementes de comportamento ortodoxas suportam a secagem a teores de água próximos a 5% e podem ser armazenadas em baixas temperaturas (sub zero) por longos períodos de tempo. As sementes recalcitrantes não apresentam tais características e perdem rapidamente a qualidade quando submetidas a essas condições (ROBERTS, 1973; COELHO et al., 2015). Sementes de comportamento intermediário suportam parcialmente a desidratação (cerca de 10 a 13 % de umidade), mas perdem a viabilidade quando armazenadas em temperaturas baixas (subzero) por longos períodos de tempo (DUSSERT, 2006, 2012; BRANDÃO JUNIOR, 2000; GENTIL, 2001; COELHO et al., 2015).

As sementes de *C. arabica* primeiramente foram classificadas como recalcitrantes, devido sua curta viabilidade, porém após Ellis et al. (1990) observarem que apesar de serem prejudicadas pelo armazenamento sob temperaturas de 0° e 20°C, as sementes não apresentam redução significativa na germinação quando seus teores de água são reduzidos próximo a 10%

e, por essa razão, foi criado um terceiro grupo de classificação denominado de intermediárias, e as sementes do gênero *Coffea* foram incluídas nesse grupo.

Uma das conclusões do trabalho de Araujo et al. (2008), é que sementes de café se conservam melhor quando armazenadas com 18,5% de umidade inicial, em ambiente de baixa temperatura (7° C), independente da embalagem.

Considerando todas essas informações, e devido à falta de pesquisas, é incerto dizer que a liofilização é um método favorável de secagem e armazenamento para as sementes do gênero *Coffea*, devido à falta de pesquisas do uso da liofilização em sementes de café. Por causa da baixa umidade e temperatura em que a semente se encontrará não se sabe ao certo se sua viabilidade será mantida, assim como a germinação.

Além desta revisão sobre o processo de liofilização, foi realizado um pré-teste sobre a liofilização de sementes de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre, cujos resultados serão também apresentados.

CAPÍTULO 2: ESTUDO PRELIMINAR SOBRE A LIOFILIZAÇÃO DE SEMENTES DE *Coffea*

RESUMO: A manutenção da qualidade das sementes de café, durante o armazenamento, é uma das maiores preocupações de produtores, uma vez que elas perdem rapidamente a viabilidade, não conservando o poder germinativo em níveis satisfatórios por períodos superiores a seis meses após a colheita, quando armazenadas em condições normais de ambiente. A liofilização é um procedimento comumente utilizado para secar e armazenar sementes, com o intuito de preservar sua viabilidade. Desta forma, o objetivo neste trabalho foi montar uma curva de secagem das sementes em liofilizador, assim como, avaliar os efeitos da liofilização na conservação. Para isso, foram utilizadas sementes da safra 2020/2021, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar Arara e *Coffea canephora* Pierre, com e sem pergaminho, para montagem da curva de secagem em liofilizador. E para as análises fisiológicas de armazenamento, foram utilizadas somente as sementes de *C. arabica*. E para as análises fisiológicas de armazenamento, foram utilizadas somente as sementes de *C. arabica*. Para avaliação inicial do lote, as sementes foram submetidas à determinação do teor de água, teste de germinação e teste de tetrazólio e, em seguida, submetidas à secagem em sílica gel até atingirem o teor de água de 16 % (base úmida). Em sequência, as sementes foram secadas em liofilizador por 96 horas, até atingirem o teor de água de 5%. Foram retidas amostras a cada dia para avaliar a velocidade de secagem das sementes para a montagem da curva. Após secagem, o pergaminho foi retirado manualmente das sementes e as mesmas foram acondicionadas em embalagens impermeáveis e armazenadas por zero, um, dois e três meses em duas temperaturas, 10°C (câmara fria) e em temperatura ambiente, até a realização mês-a-mês das análises fisiológicas. Antes das avaliações fisiológicas, as sementes foram pré-embebidas até teor de água de 20%. A qualidade fisiológica das sementes após o processo de liofilização foi avaliada pelo teste de tetrazólio, de germinação e peso de matéria seca de plântulas. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado. Para a curva de secagem, em esquema fatorial de 2 X 2 X 8 sendo, duas espécies *C. canephora* e *C. arabica* L., sementes com e sem pergaminho e oito dias de secagem. Para as análises fisiológicas das sementes de *C. arabica* L. armazenadas, em esquema fatorial 2 X 4, sendo duas temperaturas (10°C e 25°C) e quatro meses de armazenamento, com quatro repetições. Na curva de secagem foi possível observar diminuição da umidade das sementes mais acentuada nas primeiras horas e se estabilizou com 72 horas. De acordo com os resultados preliminares dos experimentos, não foi constatado efeito significativo entre os fatores temperatura e tempo de armazenamento, para as variáveis respostas, protrusão, plântulas normais, normais fortes e viabilidade de embriões, mas ocorreram diferenças no número de plântulas com folhas cotiledonares e matéria seca da parte aérea e de raiz, onde foi constatado queda da qualidade das sementes durante o armazenamento. O processo de liofilização é prejudicial em sementes de café arábica com redução do vigor ao longo do armazenamento.

1. INTRODUÇÃO

A manutenção da qualidade das sementes de café durante o armazenamento é uma das maiores preocupações dos produtores de sementes, uma vez que elas perdem rapidamente a viabilidade, não conservando o poder germinativo em níveis satisfatórios por períodos superior a seis meses após a colheita quando armazenadas em condições normais de ambiente (WENT, 1957; LIMA et al., 2004). Isso também limita a semeadura a um curto espaço de tempo, concentrando a obtenção de mudas em épocas que nem sempre são as mais apropriadas para o plantio.

O domínio de técnicas de conservação das sementes é de grande importância para a cafeicultura, pois permitirá o semeio para a produção de mudas em ocasião mais adequada (ARAUJO et al., 2008). A baixa longevidade de sementes de café tem sido atribuída à sua sensibilidade à dessecação. As alterações físicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem durante o processamento e subsequente secagem determinam, não só o potencial de sementes de café para a produção de mudas, assim como o potencial para o armazenamento (ROSA et al., 2013). Algumas espécies do gênero *Coffea* possuem sementes que são excepcionalmente de curta viabilidade, particularmente quando armazenadas em condições ambientes (BRANDÃO JUNIOR, 2000).

Segundo Ramíres-Navas (2006) citando Jennings (1993), a liofilização é definida como um processo de estabilização, em que o material é primeiramente congelado e o solvente, comumente água, é concentrado e reduzido por sublimação seguida de dessorção, até um ponto em que não haja mais crescimento biológico ou reações químicas. O processo tem por objetivo a diminuição da atividade de água da substância em questão, através de uma série de operações em que o material é submetido durante o processamento, que são: o congelamento, a sublimação e a dessorção (GARCIA, 2009). Ramíres-Navas (2006) ainda diz que o processo de liofilização é um dos preparos mais adequados para a conservação de produtos biológicos, porque reúne os dois métodos mais confiáveis de conservação, o congelamento e a desidratação.

Com isso, o objetivo nesse trabalho foi avaliar o processo de liofilização na qualidade fisiológica das sementes de café arábica liofilizadas armazenadas diferentes temperaturas, 10°C (câmara fria) e 25°C (temperatura ambiente), e em diferentes meses, zero, um, dois e três meses. Bem como, montar uma curva de secagem do processo de liofilização em sementes de café arábica e café canephora, para uso em estudos posteriores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

Foram utilizados frutos de café, das espécies *Coffea canephora* Pierre e *Coffea arabica* L. da safra 2020/2021. Para espécie *C. arabica* L, foram utilizados frutos da cultivar ‘Arara’. Os frutos foram colhidos no estágio de maturação cereja, por meio de colheita seletiva e lavados para a separação de frutos chochos, malformados, brocados e de impurezas. Em sequência, os frutos foram descascados e as sementes foram desmuciladas por meio da fermentação em água.

2.2 LOCAL E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

Após o despulpamento dos frutos e desmucilagem das sementes, o experimento foi conduzido no Setor de Sementes do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras-MG. Para avaliação inicial, as sementes foram submetidas à determinação do teor de água, teste de germinação, peso seco de plântulas e teste de tetrazólio.

Em seguida, foram submetidas à secagem até atingirem o teor de água de 16% (base úmida), conforme trabalhos realizados por Figueiredo et al. (2017) e Coelho et al. (2017). Posteriormente, as sementes de espécies *C. canephora* e *C. arabica* L. foram liofilizadas para obtenção da curva de secagem. Em sequência, as sementes de *C. arabica* L. liofilizadas foram acondicionadas em embalagens impermeáveis armazenadas por zero, um, dois e três meses em duas temperaturas, 10°C (câmara fria) e 25°C (temperatura ambiente), até a realização mês a mês das análises fisiológicas.

2.3 SECAGEM DAS SEMENTES

Para a secagem das sementes foi utilizado como agente dessecante, sílica em gel, em caixas tipo “gerbox” contendo 60 gramas de sílica gel ativada, mantidas em câmaras tipo B.O.D, reguladas em temperatura de 25°C, na ausência de luz. A perda de água durante a secagem foi monitorada por pesagens contínuas em balança de precisão de 0,001 g, até teor de água de 16% bu.

2.4 LIOFILIZAÇÃO DAS SEMENTES DE CAFÉ

Para as análises fisiológicas, as sementes com e sem os pergaminhos foram submetidas à secagem a vácuo por 96 horas em liofilizador (*Integrated SpeedVac System* modelo L101, marca Liobras), até atingirem 5% de umidade. Após a liofilização, as sementes tiveram seus pergaminhos retirados manualmente e, em sequência essas foram acondicionadas em embalagens impermeáveis e armazenadas por zero, um, dois e três meses, em duas temperaturas, 10°C (câmara fria) e 25°C (temperatura ambiente) até a realização mês a mês das análises.

2.5 CURVA DE SECAGEM DAS SEMENTES

Para a curva de secagem foram utilizadas sementes de *C. canephora* e *C. arabica* com e sem pergaminho. As sementes de *C. canephora* e *C. arabica* L. foram submetidas à secagem a vácuo por oito dias em liofilizador (*Integrated SpeedVac System* modelo L101, marca Liobras), e diariamente foram coletadas amostras das sementes para obtenção do teor de água (BRASIL, 2009), até atingirem 5% de umidade. Em sequência, a partir dos dados obtidos do teor de água por dia de cada espécie foi elaborada a curva de secagem.

2.6 EMBEBIÇÃO DAS SEMENTES

A cada mês de armazenamento, as sementes liofilizadas foram submetidas ao pré-condicionamento na temperatura de 30°C por 48 horas. O pré-condicionamento foi realizado utilizando caixas plásticas transparentes, “tipo gerbox”, contendo 40 mL de água destilada no fundo do recipiente. As sementes foram distribuídas sobre as telas metálicas, em camada única, no interior das caixas plásticas, visando garantir a exposição uniforme ao ambiente interno. As caixas, contendo as sementes foram mantidas em estufa de incubação (BOD). Em seguida, a avaliação das sementes foi realizada por meio das análises fisiológicas.

2.7 ANÁLISES FISIOLÓGICAS DAS SEMENTES DE CAFÉ

Todas as análises fisiológicas foram realizadas mês a mês de armazenamento, completando os quatro meses de armazenamento para cada temperatura 10°C e 25°C, mediante os seguintes testes descritos.

Determinação do teor de água

A determinação do teor de água foi realizada pelo método de estufa a 105°C, durante 24 horas (BRASIL, 2009), com duas repetições de cinco sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem com base no peso seco (bs) das sementes.

Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes de cada tratamento, foram semeadas em papel de germinação umedecidos com água destilada, na quantidade de duas vezes e meia o peso do papel seco. Os rolos de germinação foram acondicionados em germinador, regulado a 30 °C, na presença de luz (BRASIL, 2009). Foram realizadas avaliações aos 15, 30 e 45 dias.

Aos 15 dias foi determinada a porcentagem de protrusão radicular. Aos 30 dias da semeadura foi determinada a porcentagem de plântulas normais, sendo consideradas como plântulas normais, aquelas que apresentavam raiz principal e pelo menos duas raízes laterais saudáveis e bem formadas e plântulas normais fortes, as plântulas que tinham mais de três centímetros de eixo hipocotiledonar. Após 45 dias da semeadura, foi computada a porcentagem de plântulas com folhas cotiledonares expandidas.

Massa seca de plântulas

A massa seca de plântulas foi determinada aos 45 dias após a semeadura. A parte aérea foi separada das raízes, com auxílio de bisturi e o material vegetal foi colocado em sacos de papel, os quais foram submetidos à secagem em estufa de circulação forçada de ar em 60°C por cinco dias ou até a massa constante. A massa seca foi determinada em balança de precisão (0,0001 g), com os resultados expressos em mg/plântula.

Teste de tetrazólio

Foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes de café embebidas em água destilada por 36 horas, em temperatura de 30°C (CLEMENTE et al., 2011), para extração dos embriões. Os embriões foram extraídos com auxílio de bisturi e mantidos em solução antioxidante polivinilpirrolidona (PVP) e, após esta etapa, foram lavados em água destilada e embebidos em solução de tetrazólio 0,5%, em frascos escuros, mantidos em temperatura de 30°C, por três horas. Os embriões foram avaliados quanto à viabilidade, com auxílio de lupa estereoscópica com aumento de 10 vezes para visualização interna e externa de suas estruturas, obtidas pelo corte longitudinal ao meio dos embriões. Assim, foram classificados em viáveis e não viáveis, por meio da análise da localização e extensão de danos observados (BRASIL, 2009).

2.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

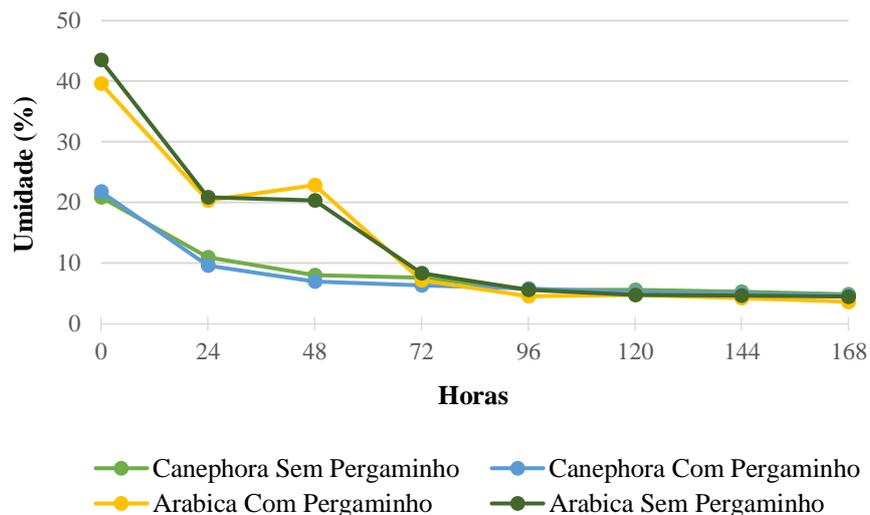
O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado. Para a curva de secagem, em esquema fatorial de 2 X 2 X 8 sendo, duas espécies *C. canephora* Pierre e *C. arabica* L., sementes com e sem pergaminho e oito dias de secagem. Para as análises fisiológicas das sementes de *C. arabica* L. armazenadas, em esquema fatorial 2 X 4, sendo duas temperaturas (10°C e 25°C) e quatro meses de armazenamento, com quatro repetições. Os resultados da curva de secagem e as análises fisiológicas foram submetidos à análise de variância por meio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014), sendo as médias comparadas por meio da análise de regressão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CURVA DE SECAGEM DAS SEMENTES NO PROCESSO DE LIOFILIZAÇÃO

A curva de secagem em liofilizador das sementes de *C. arabica* e *C. canephora* está apresentada na figura 1. De acordo com a análise de variância (ANEXO, TABELA 1), ocorreu interação entre os fatores horas de secagem e sementes com e sem pergaminho. Observa-se que o teor de água das sementes *C. arabica* e *C. canephora*, nas primeiras horas do processo de liofilização apresentaram diminuição acentuada do teor de água até valores próximos de 5% com 72 horas de liofilização. Todavia, após 72 horas de liofilização as sementes de ambas as espécies, com e sem pergaminho, apresentaram comportamento semelhante com a estabilização da perda do teor de água das sementes.

Figura 1 - Curvas de secagem em liofilizador de sementes de *C. arabica* e *C. canephora*, com ou sem pergaminho.



Na tabela 1, verifica-se as equações das curvas de secagem para as duas espécies, com e sem pergaminho, assim como, os valores das médias observadas e médias estimadas. Com esses dados, poderemos estimar o tempo médio para a secagem de sementes de café em liofilizador, o que auxiliará em pesquisas futuras.

Tabela 1 – Equações das curvas de secagem em liofilizador de sementes de *C. arabica* e *C. canephora*, com ou sem pergaminho, e comparação entre as médias observadas e estimadas.

	<i>C. arabica</i>				<i>C. canephora</i>			
	Sem Pergaminho		Com Pergaminho		Sem Pergaminho		Com Pergaminho	
Equação da reta	$y = 0,0022x^2 - 0,5755x + 39,88$		$y = 0,0019x^2 - 0,5154x + 37,343$		$y = 0,0009x^2 - 0,2298x + 18,584$		$y = 0,0011x^2 - 0,2521x + 18,63$	
Horas	Médias estimadas	Médias observadas	Médias estimadas	Médias observadas	Médias estimadas	Médias observadas	Médias estimadas	Médias observadas
0	39,87	43,46	37,34	39,59	18,58	20,88	18,63	21,78
24	27,35	20,90	26,08	20,34	13,60	10,99	13,19	9,58
48	17,40	20,30	17,03	22,83	9,69	8,06	8,98	6,97
72	10,03	8,33	10,19	7,20	6,84	7,56	5,99	6,32
96	5,23	5,62	5,56	4,57	5,06	5,61	4,22	5,77
120	3,00	4,77	3,14	4,74	4,35	5,65	3,68	5,20
144	3,35	4,67	2,93	4,26	4,71	5,34	4,36	5,01
168	6,28	4,49	4,94	3,66	6,13	4,87	6,27	4,68
R²	0,944		0,9267		0,9038		0,8479	

De acordo com a Tabela 2, para a espécie *C. arabica* L., ocorreram poucas diferenças na secagem das sementes com ou sem pergaminho em liofilizador. Porém, foi observado que as sementes sem pergaminho iniciaram o processo de secagem com maior teor de água (43%), e as 24 horas do processo de secagem, já não diferiram estatisticamente das sementes com pergaminho, quando as 48 horas já apresentavam menor média de teor de água que as sementes com pergaminho. Porém a partir de 72 horas de secagem, onde atingiram cerca de 8% de umidade, não ocorreram mais diferenças entre as sementes com ou sem pergaminho. Podemos dizer então, que as sementes sem pergaminho, dessa espécie, apresentam maior taxa de secagem inicial que as sementes com pergaminho.

Tabela 2 – Comparação da secagem em liofilizador de sementes de *C. arabica* e *C. canephora*, com ou sem pergaminho.

Horas de secagem	<i>C. arabica</i> L.		<i>C. canephora</i> Pierre	
	Sem Pergaminho	Com Pergaminho	Sem Pergaminho	Com Pergaminho
0	43,46 a	39,59 b	20,88 a	21,78 a
24	20,90 a	20,34 a	10,99 a	9,58 b
48	20,30 b	22,83 a	8,06 a	6,06 b
72	8,33 a	7,2 a	7,56 a	6,32 b
96	5,52 a	4,57 a	5,61 a	5,77 a
120	4,77 a	4,74 a	5,65 a	5,20 a
144	4,67 a	4,26 a	5,34 a	5,01 a
168	4,49 a	3,66 a	4,87 a	4,68 a

*Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si.

No entanto, para a espécie *C. canephora* Pierre, a velocidade de secagem das sementes com pergaminho foi maior que as sementes sem pergaminho até as 72 horas do processo. Mas após atingirem cerca de 5% de umidade, a 96 horas de secagem, não ocorreram mais diferenças entre as sementes com e sem pergaminho.

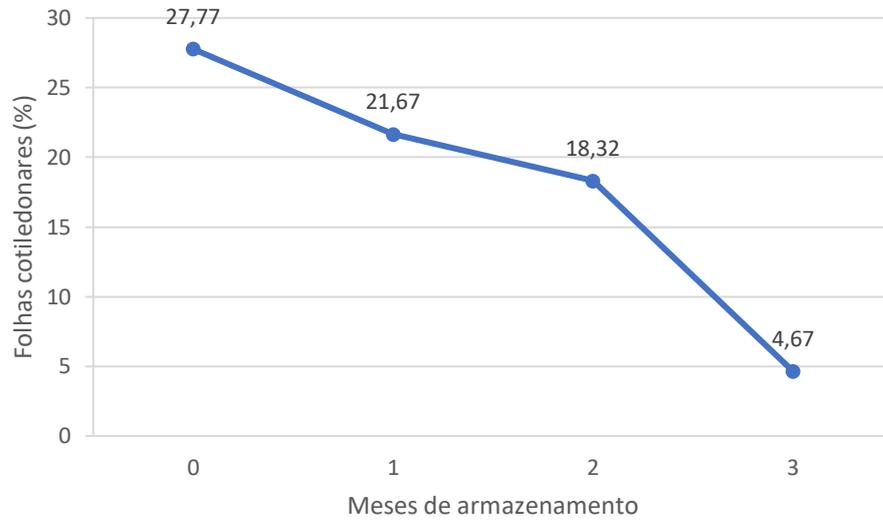
3.2 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS

De acordo com a análise de variância (ANEXO, TABELA 2), os resultados da avaliação do número de embriões viáveis no teste de tetrazólio, de plântulas protrundidas aos 15 dias, de normais e normais fortes, aos 30 dias do teste de germinação, não apresentaram diferenças significativas nas diferentes temperaturas e tempos de armazenamento., isso quer dizer que as plântulas avaliadas mostram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, quando desenvolvidas sob condições favoráveis.

Além disso, apesar do estresse hídrico ao qual as sementes foram submetidas, pois foram secas até 5% de umidade, e é comumente estabelecido que as sementes de *C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre, para manterem sua viabilidade, não devem ter sua umidade diminuída abaixo de 12% e 15% respectivamente, na avaliação do tetrazólio das sementes liofilizadas, a porcentagem média das sementes viáveis foi satisfatória, obtendo uma média geral, dentro de todos os tratamentos, de 76%.

De acordo com a análise de variância, o número de folhas cotiledonares apresentaram diferenças estatísticas apenas quanto ao tempo de armazenamento. Foi possível notar que a porcentagem diminui conforme o tempo de armazenamento, sendo o mês quatro o que apresenta menor porcentagem de 4,67% (FIGURA 2).

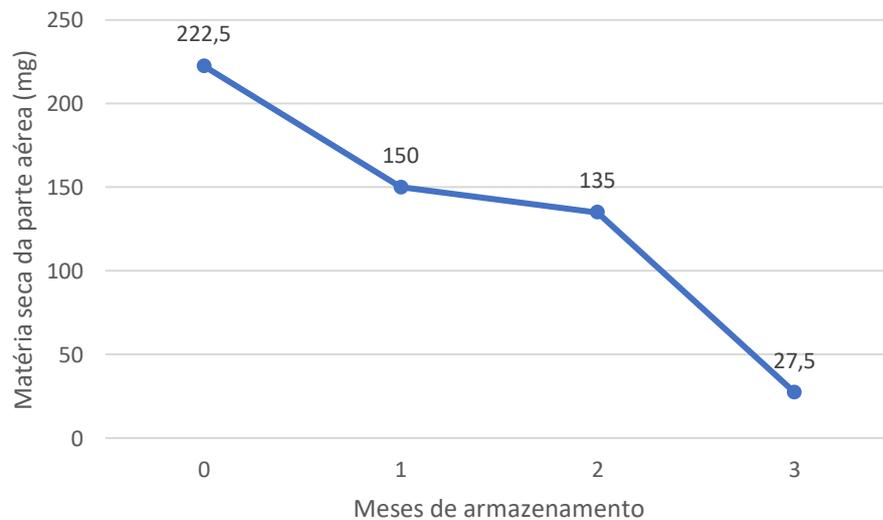
Figura 2 - Porcentagens medias de plântulas com folhas cotiledonares de *C. arabica* aos 45 dias do teste de germinação ao longo do armazenamento.



Os resultados da matéria seca da parte aérea e da raiz também não tiveram diferenças estatísticas entre as diferentes temperaturas de armazenamento, mas ocorreram diferenças no tempo de armazenamento.

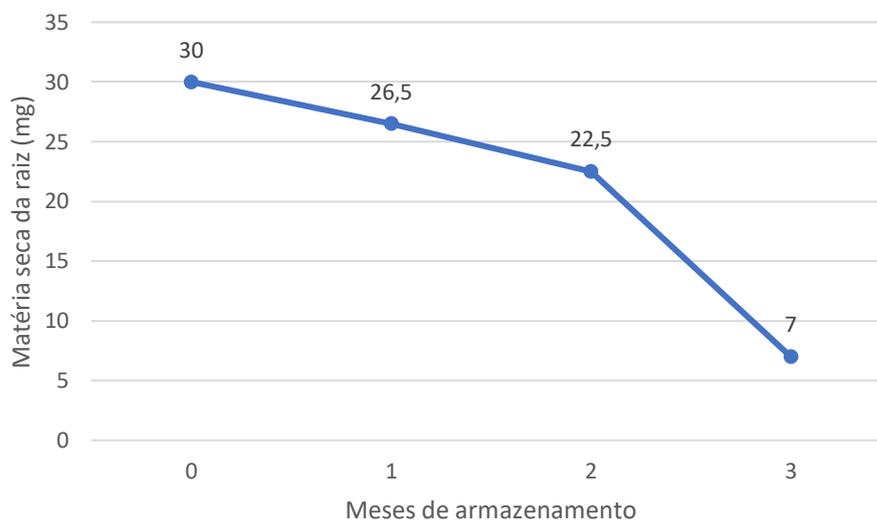
A avaliação do peso da matéria seca da parte aérea, representada pela figura 3, mostrou que quanto maior o tempo de armazenamento menor a quantidade de matéria seca, sendo o mês 4 o de menor porcentagem, com 27,5 mg.

Figura 3 - Porcentagens médias de matéria seca da parte aérea de *C. arabica* aos 45 dias do teste de germinação ao longo do armazenamento.



O peso da matéria seca da raiz, representado na figura 4, apresenta semelhança com o resultado anterior, tendo sido o mês 4 o de menor quantidade com 7 mg de matéria seca da raiz.

Figura 4 - Porcentagens medias de matéria seca de raiz de *C. arabica* aos 45 dias do teste de germinação ao longo do armazenamento.



5. CONCLUSÃO

A liofilização é prejudicial em sementes de café arábica, com redução do vigor ao longo do armazenamento.

Apesar de ter ocorrido redução na qualidade das sementes liofilizadas, o desempenho fisiológico se manteve no armazenamento por três meses, tanto em câmara fria como em ambiente.

Observa-se alta viabilidade das sementes em sal de tetrazólio, apesar dos baixos percentuais de germinação.

5. REFERÊNCIAS

- Afonso Júnior, P. C. *et al.* (2006) 'Secagem, armazenamento e qualidade fisiológica de sementes do cafeeiro', *Revista Brasileira de Armazenamento*, Especial C(9), pp. 67–82.
- Araujo, R. F. *et al.* (2008) 'Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) despulpado e não despulpado', *Revista Brasileira de Sementes*, 30(3), pp. 71–78.
- Bartolomeu, A. M. I. (2014) 'Liofilização: Ciência ou Arte?', *Revista de Ingeniería de la USIL*, 1(1), pp. 93–102.
- Boss, E. A. (2004) *Modelagem e otimização do processo de liofilização - Aplicação para leite desnatado e café solúvel*.
- Brandão Junior, D. da S. (2000) *Marcadores da tolerância à dessecação de sementes de cafeeiro*.
- Brasil, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Departamento Nacional de Produção Vegetal (2009), *Regras para análise de sementes*, Brasília: SNDA/DNDV/CLAV.
- Carvalho, M. H. de (2017) *Aspectos fisiológicos e moleculares de sementes de Coffea arabica submetidas à secagem*.
- Clemente, A. da C. S. *et al.* (2011) 'Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio', *Revista Brasileira de Sementes*, 33(1), pp. 38–44.
- Coelho, S. V. B. *et al.* (2015) 'Qualidade fisiológica de sementes de café submetidas à secagem rápida e lenta', *IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, p. 4.
- Coelho, S. V. B. *et al.* (2017) 'Tolerance of *Coffea arabica* L. seeds to sub zero temperatures', *Ciência e Agrotecnologia*, 41(3), pp. 312–321.
- Degan, P. *et al.* (2001) 'Influência de métodos de secagem na conservação de sementes de Ipê-branco', *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 5(3), pp. 492–496. doi: 10.1590/s1415-43662001000300021.
- El-bachá, A. and Kim, R. (2014) *Estudo do processo de secagem da polpa de açaí por liofilização e atomização*.
- Ferreira, D. F. (2014) 'Sisvar: a guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons', *Ciência e Agrotecnologia*, 38(2), pp. 109–112.
- Figueiredo, M. A. de *et al.* (2017) 'Exploratory studies for cryopreservation of *Coffea arabica* L. seeds', *Journal of Seed Science*, 39(2), pp. 150–158.
- Garcia, L. P. (2009) *Liofilização aplicada a alimentos*.
- Gonçalves, O. M. de A. R. (2015) *Estudo comparativo de processos de desidratação por liofilização e secagem convencional*.

- Guimarães, P. V. R. (2010) *Secagem de café - Uma revisão*.
- Lacerda Filho, A. F. de and Silva, J. de S. e (2006) 'Secagem de café em combinação', *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 10(3), pp. 671–678.
- Lima, S. M. P. *et al.* (2004) 'Efeitos de tempos e temperaturas de condicionamento sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro', *Ciência e Agrotecnologia*, 28(3), pp. 506–514.
- Marques, E. C. and Costa, S. R. R. da (2015) 'Estudo da liofilização pela engenharia de produto no processamento industrial de alimentos', *Acta Tecnológica*, 10(1), pp. 44–52.
- Marques, M. A. (2007) *Secagem e armazenamento de sementes de Anadenanthera peregrina var. falcata (Benth.) Altschul e A. colubrina (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb.) Altschul*.
- Natale, W. and Carvalho, N. M. de (1983) 'A liofilização como método de secagem de sementes de Ipê-Roxo (Tabebuia sp).', *Revista brasileira de armazenamento*, 8(1,2), pp. 35–37.
- Ramírez-Navas, J. S. (2006) 'Liofilización de los alimentos', *Revista RECITEIA*, 6(2), p. 40.
- Rosa, S. D. V. F. da *et al.* (2013) 'Aspectos fisiológicos e sanitários de grãos de café submetidos ao processamento, secagem e armazenamento', *VIII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, p. 6 p.
- Santos, A. A. S. da S. (2018) *Liofilização como alternativa para superação de dormência em sementes de cinco espécies florestais amazônicas*.
- Terroni, H. C. *et al.* (2013) 'Liofilização', *Revista Científica UNILAGO*, 1(1), pp. 271–284.

ANEXO

Tabela 1. Resumo da análise de variância do tempo de secagem em liofilizador de sementes de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre com ou sem pergaminho.

	<i>Coffea arabica</i> L.	<i>Coffea canephora</i> Pierre
Pergaminho		
Horas de secagem		
P x HS	*	*
CV	12,45	9,60

*Com diferença significativa (p>0,5)

Tabela 2. Resumo da análise de variância para a protrusão radicular aos 15 dias, plântulas normais e normais fortes aos 30 dias, plântulas com folhas cotiledonares e matéria seca da parte aérea e raiz aos 45 dias do teste de germinação, e viabilidade de embriões por meio do teste do tetrazólio de sementes de *Coffea arabica* L. submetidas a secagem pelo método de liofilização.

	Protrusão	Normais	Normais Fortes	Folhas Cotiledonares	MS Parte aérea	MS Raízes	Tetrazólio
Tempo				*	*	*	
Temperatura							
T x T							
CV	8,8	12,34	163,3	17	22,48	44,57	15,85

*Com diferença significativa (p>0,5)