

### Universidade Federal de Minas Gerais Instituto de Ciências Agrárias Campus Regional Montes Claros



### TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

#### ENGENHARIA DE ALIMENTOS

## CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GRÃOS DE GRÃOS DE CAFÉ ARÁBICA (Coffea arabica L.) FERMENTADOS POR Lactobacillus plantarum

DEYSE KAROLINE DE SOUZA LIMA

Deyse Karoline	de Souza Lima
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS arabica L.) FERMENTADOS	S DE GRÃOS DE CAFÉ ARÁBICA (Coffea POR Lactobacillus plantarum
Ii F p	Crabalho de Conclusão de Curso apresentado ao instituto de Ciências Agrárias da Universidade Gederal de Minas Gerais, como requisito parcial, para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Gabriela da Rocha Lemos Mendes

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Deyse Karoline de Souza Lima.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GRÃOS DE CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica L.*) FERMENTADOS POR *Lactobacillus plantarum* 

provada pela banca ex	caminadora constituída por:	
	Sandro Braga Soares ICA/UFMG	
	Prof. Igor Viana Brandi ICA/ UFMG	

Montes Claros, 16 de fevereiro de 2022.



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS COLEGIADO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

#### ATA DE DEFESA DE MONOGRAFIA / TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC)

Aos 16 dias do mês de fevereiro de 2022, às 10 h 00 min, o/a estudante Deyse Karoline de Souza Lima, matrícula 2017430760, defendeu o Trabalho intítulado "CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE GRÃOS DE CAFÉ ARÁBICA (Coffea arabica L.) FERMENTADOS por Lactobacillus plantarum" tendo obtido a média (70,00 setenta pontos).

Participaram da banca examinadora os abaixo indicados, que, por nada mais terem a declarar; assinam eletronicamente a presente ata.

Nota: 70,00 (setenta pontos)

Orientador(a): Gabriela Lemos Mendes

Nota: digitar a nota em numeral (escrever a nota por extenso)

Coorientador(a), se houver: nome completo do coorientador

Nota: 70,00 (setenta pontos) Examinador(a): Igor Viana Brandi

Nota: 70,00 (setenta pontos)

Examinador(a): Sandro Braga Soares

Nota: digitar a nota em numeral (escrever a nota por extenso)

Examinador(a): nome completo do examinador



Documento assinado eletronicamente por **Gabriela da Rocha Lemos Mendes, Servidor(a)**, em 16/02/2022, às 14:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº 10.543</u>, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Sandro Braga Soares, Técnico de Laboratório**, em 16/02/2022, às 15:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº</u> 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Igor Viana Brandi**, **Professor do Magistério Superior**, em 16/02/2022, às 15:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do <u>Decreto nº 10.543</u>, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento\_imprimir\_web&acao\_origem=arvore\_visualizar&id\_documento=1338345&infra\_sistema... 1/2

18/02/2022 14:12

SEI/UFMG - 1254012 - Ata de defesa de Monografia/TCC



https://sei.ufmg.br/sei/controlador\_externo.php?

acao=documento\_conferir&id\_orgao\_acesso\_externo=0, informando o código verificador 1254012 e
cocódigo CRC 075D81A9.

Este documento deve ser editado apenas pelo Orientador e deve ser assinado eletronicamente por todos os membros da banca.

Referência: Processo nº 23072.238680/2020-46

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que me sustentou e guiou permitindo que essa conquista se tornasse real. Agradeço aos meus pais Cícero e Edilza, que acreditaram no meu sonho e se dedicaram no desenvolvimento dos meus estudos, amo vocês! Aos meus irmãos Deyvide e Denise, que sempre foram uma inspiração para mim. Ao meu namorado André, pelo cuidado e paciência durante esses anos. Agradeço aos meus avós, tios, tias e primos que sempre me encorajaram. Agradeço também as minhas amigas de vida Talia, Letícia, Ana Flávia, Leila, Eline e Jeaniffe, que estiveram sempre presentes trazendo tranquilidade e alegrias.

Aos meus companheiros de universidade Larissa Santos, Larissa Roberta, Wilson, Hélia, Flávia Morgana e Leonardo por todos os ensinamentos, projetos e trabalhos que levaram a construção de uma bela amizade. Agradeço também aos técnicos do laboratório Hugo Calixto e Sandro Braga, por toda a ajuda e disponibilidade durante a construção deste trabalho.

Meu agradecimento e admiração aos professores que compartilharam conhecimentos e experiências, principalmente ao professor Igor que me proporcionou o acesso aos projetos de pesquisa e extensão e também a professora Gabriela por me orientar e estar sempre disponível.

#### **RESUMO**

O setor cafeeiro tem mostrado grande relevância no agronegócio brasileiro, tendo milhões de sacas exportadas; e além da exportação, o consumo interno segue em crescimento constante. Para se sobressair cada produtor busca inovações, de modo a garantir um café de qualidade, preço justo e com bons desempenhos em suas características. Tendo consciência da importância do café tanto para produtores rurais quanto para indústrias e consumidores, este trabalho, teve como objetivo analisar as características físico-químicas de amostras de grãos de café da espécie Coffea arabica L. quando submetidos ao processo fermentativo, com Lactobacillus plantarum. Para isso, grãos de café foram fermentados com a bactéria, seguindo os seguintes tratamentos: fermentação com grãos inteiros sem a adição do inóculo - controle (tratamento 1); fermentação com grãos inteiros com a adição do inóculo – (tratamento 2) e fermentação com grãos moídos com a adição do inóculo (tratamento 3). Ao longo das 72 horas de fermentação, todos os grãos estavam com umidade média de 8,8% (DP±0,2). A análise estatística mostrou que não houve variação significativa para pH entre os tratamentos em nenhum dos tempos analisados sendo a média geral de 5,99. Após 18 horas de fermentação, o tratamento 1 apresentou 0,67% de acidez, diferindo estatisticamente do tratamento 3 (0,47%). A partir das 42 horas de fermentação, não houve diferença nos teores de acidez entre os tratamentos avaliados. Para açúcar redutor, após 18 horas de fermentação, o tratamento 3 apresentou uma maior variação na concentração de açúcares redutores diferindo dos demais. Em 66 horas e 72 horas de fermentação, todos os tratamentos diferiram entre si com valores variando de 5,60 a 6,92 g/L para o tratamento 1; 3,5 a 4,3 para o tratamento 2; e 9,4 a 10,7 para o tratamento 3. A fermentação em grãos secos de Coffea arabica L., mesmo sem a presença da mucilagem, modificou as principais características do café indicando que o processo fermentativo foi realizado, principalmente nos grãos que passaram pela moagem.

PALAVRAS CHAVES: Culturas Iniciadoras, Processo fermentativo, Cultura cafeeira

#### **ABSTRACT**

The coffee sector has shown great relevance in Brazilian agribusiness, with millions of bags exported; and in addition to exports, domestic consumption continues to grow steadily. To stand out, each producer seeks innovations, in order to guarantee a quality coffee, fair price and with good performance in its characteristics. Aware of the importance of coffee for both rural producers and industries and consumers, this work aimed to analyze the physicochemical characteristics of samples of coffee beans of the species Coffea arabica L. when subjected to the fermentation process with Lactobacillus plantarum. For this, coffee beans were fermented with the bacteria, following the following treatments: fermentation with whole beans without the addition of inoculum – control (treatment 1); fermentation with whole grains with the addition of the inoculum – (treatment 2) and fermentation with ground grains with the addition of the inoculum (treatment 3). During the 72 hours of fermentation, all grains had an average moisture content of 8.8% (SD±0.2). Statistical analysis showed that there was no significant variation for pH between treatments in any of the analyzed times, the general average being 5.99. After 18 hours of fermentation, treatment 1 showed 0.67% acidity, statistically differing from treatment 3 (0.47%). After 42 hours of fermentation, there was no difference in acidity levels between the treatments evaluated. For reducing sugar, after 18 hours of fermentation, treatment 3 showed a greater variation in the concentration of reducing sugars, differing from the others. At 66 hours and 72 hours of fermentation, all treatments differed with values ranging from 5.60 to 6.92 g/L for treatment 1; 3.5 to 4.3 for treatment 2; and 9.4 to 10.7 for treatment 3. Fermentation in dry beans of Coffea arabica L., even without the presence of mucilage, modified the main characteristics of the coffee, indicating that the fermentation process was carried out, mainly in the beans that passed by grinding.

Keywords: Starter cultures, Fermentation process, Coffee culture

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Desenho do fruto de café e suas partes	.12
Figura 2 - Diagrama ilustrativo das etapas de trabalho	.17
Figura 3 - Variação do pH com o tempo de fermentação	.20
Figura 4 - Variação da acidez de diferentes tratamentos em função do tempo	de
fermentação	21
Figura 5 – Curva padrão do açúcar redutor das concentrações previamente definidas	.22
Figura 6 - Variação de açúcar redutor de diferentes tratamentos em função do tempo	de
fermentação	24
Figura 7 – Aparência dos grãos fermentados	.26

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de pH do meio líquido da fermentação a 30°C	19
Tabela 2 - Valores de acidez do meio líquido da fermentação a 30°C	20
Tabela 3 - Valores de acúcar redutor do meio líquido da fermentação a 30°C	23

## **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1 Culturas de Lactobacillus plantarum	14
2.2 Obtenção dos grãos de café	14
2.3 Determinação do teor de umidade	14
2.4 Tratamentos	15
2.5 Fermentação	15
2.6 Análise de pH e acidez	15
2.7 Análise de açúcares redutores	16
2.8 Análise estatística	16
2.9 Esquema das etapas de desenvolvimento do trabalho	17
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
3.1 Avaliação da umidade inicial dos grãos	18
3.2 Avaliação do processo fermentativo	18
4 CONCLUSÃO	27
5 REFERÊNCIAS	28

#### 1 INTRODUÇÃO

Café é o termo utilizado para uma bebida obtida a partir de grãos torrados e moídos, estes são adquiridos no interior dos frutos de árvores pertencentes ao gênero *Coffea*. Dentre as setenta espécies existentes as mais cultivadas e comercializadas são *Coffea Arabica L*. (Café Arábica) e *Coffea Canephora* (Café Robusta). O café arábica é de origem indígena, da Etiópia. Estima-se que no século XVI tenha ocorrido a primeira torra, dando origem a bebida conhecida atualmente (BABOVA *et al.*,2016.; FOLMER *et al.*, 2017).

A implantação do café em terras brasileiras teve seu início por volta de 1727, no estado do Pará. Posteriormente, a produção de café apresentou crescimento na região onde atualmente se encontra o estado de Rondônia, e sua evolução levou a cafeicultura ao crescimento, tornando-a expressiva. Com o passar dos anos notou-se que altas temperaturas combinadas com a umidade e luminosidade da região estavam prejudicando o produto. Desta forma a produção foi se deslocando pouco a pouco para regiões do Espírito Santo, São Paulo e Minas Gerais (ESPINDULA *et al.*,2017; UKERS, 1922).

O setor cafeeiro tem mostrado grande relevância no agronegócio brasileiro com 56,3 milhões de sacas produzidas na safra de 2021/2022, colocando o Brasil no *ranking* dos maiores produtores mundiais, com 33,22 milhões de sacas exportadas em 2021/22 (USDA, 2021). Dados da Revista Rabobank apontam que em 2023 a colheita será estimada de 63,5 milhões de sacas, sendo 42 milhões de café arábica e 21,5 milhões de café robusta (BORGES, 2021).

Paralelo à grande produção de café, ocorre também o aumento do consumo. O Brasil é o segundo maior consumidor de café, perdendo apenas para os Estados Unidos, segundo pesquisa realizada pela empresa Euromonitor em 2017. A Associação Brasileira de Café mostrou que o consumo interno foi calculado em 21,2 milhões de sacas no período de novembro de 2019 a outubro de 2020, o que representa uma alta de 1,34% em relação ao período anterior (ABIC, 2020).

Esse aumento tem levado o café a se consolidar de maneira gradativa no setor de bebidas. Deste modo, as indústrias têm mostrado interesse em investir neste ramo com novos produtos, desenvolvidos com alta tecnologia.

O conjunto dos processos envolvidos para atender às demandas dos consumidores e ao mesmo tempo conduzir uma atividade econômica viável é conhecido como *from farm to* 

*fork*. Esta técnica também ocorre na produção de café, que passa por diversas operações unitárias, como os processos fermentativos e de secagem (TADINI, 2018).

A alta produtividade se baseia em uma via de mão dupla, na qual o consumidor é atraído pela qualidade, serviço e preço. O produtor para entregar tal resultado busca novas tecnologias e conhecimento.

Um ponto relevante a ser verificado na aplicabilidade dos conhecimentos está ligado diretamente a estrutura do café, sendo dividida da seguinte forma: endosperma (grão), endocarpo (casca), película prateada e mesocarpo (mucilagem) (DURÁN *et al.*, 2017). Como esquematizado na Figura 1.

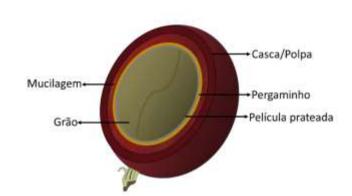


Figura 1 – Desenho do fruto do café e suas partes

Fonte: DURÁN, 2017.

As qualidades particulares que levam o café a adquirir suas características já estão incluídas no próprio grão de café (KITZBERGER. *et al.*, 2013). Segundo pesquisa realizada por Barbosa (2019) os grãos de café apresentam alguns compostos químicos como proteínas, lipídeos, cafeína, ácidos clorogênicos, açúcares, sacarose e cafestol.

Nota-se que o território de plantio de café arábica é superior as demais espécies, devido ao bom desempenho dos grãos nos atributos sensoriais (ESQUIVEL e JIMENEZ, 2012). A qualidade sensorial descritiva do café arábica é definida pela *Specialty Coffee Association - SCA* (SCA, 2021).

Na etapa de pós-colheita o processamento do café pode ser realizado em três formas diferentes: por via seca resultando em um café natural; outra opção é o processamento através da via semiúmida que gera o café cereja descascado; e por fim é possível realizar na etapa de pós-colheita a obtenção do grão pela via úmida que elimina a casca da mucilagem resultando

em um café despolpado que passou por processos complexos como fermentação e secagem (PEREIRA, 2017).

No beneficiamento por via úmida ocorre a degradação dos componentes da mucilagem (carboidratos complexos, proteínas e açúcares simples) através das atividades microbianas que são geradas pelo ambiente microaerofílico. Neste tipo de processamento póscolheita, os grãos são depositados em tanques de alvenaria com grandes volumes de água (SILVA. *et al.*, 2008; PEREIRA. *et al.*, 2014). Durante essa fermentação é possível verificar a presença de muitos gêneros de microrganismos que produzirão compostos aromáticos, enzimas e ácidos orgânicos (PEREIRA. *et al.*, 2016).

Os microrganismos que agem nos grãos são distintos conforme cada região. A degradação da mucilagem que ocorre no processo fermentativo altera as características finais do café, tanto através de excreção de produtos metabólicos, quanto pelo consumo dos compostos dos grãos (ESQUIVEL e JIMÉNEZ, 2012). Bactérias, leveduras e fungos filamentosos, quando em boas condições de crescimento, podem atuar sobre o café despolpado e o café natural, fermentando, produzindo enzimas e gerando álcool (AMORIM *et al.*, 1977; SILVA *et al.*, 2000).

Frequentemente é encontrado o microrganismo do gênero *Bacillus* em amostras de café de solo em estado final de maturação e processamento, sendo esta uma espécie bacteriana gram positiva esporulante. Sua relevância na fermentação se dá principalmente pela capacidade de secretar enzimas degradativas, bem como proteases, amilases e celulases (SILVA. 2000). Já as cepas de *Lactobacillus plantarum*, durante o catabolismo da fenilalina, podem produzir fenilcetaldeídos e fenilacetato, desta forma é gerado um café com percepções frutadas e florais (PEREIRA *et al.*,2020).

Ocorrendo de forma espontânea ou induzida, os processos fermentativos são únicos, impactados pelas rotas metabólicas e pelos processos de acidificação. (PEREIRA *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2020). Quando a fermentação acontece de maneira natural, a qualidade do café é inconsistente. Para processos que visam a produção em larga escala, com características consistentes, faz-se essencial o uso de culturas iniciadoras ou *starter* (RIBEIRO et al., 2017; ELHALIS et al., 2020).

O objetivo deste trabalho foi acompanhar o processo fermentativo de *Lactobacillus* plantarum, utilizado como cultura iniciadora em grãos de café inteiros e moídos, através de análises físico-químicas do produto.

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Culturas de Lactobacillus plantarum

Para a fermentação utilizou-se os *Lactobacillus plantarum* codificados como 2552 com referência ATCC 8014 do lote 62.21 obtidos da coleção de Culturas Tropical da Fundação André Tosello. Para a reativação da linhagem liofilizada rompeu-se a ampola através de choque térmico, sendo adicionado 0,2 mL de água peptonada para formar a suspensão que foi reidratada por 15 minutos. Posteriormente todo o conteúdo da ampola foi transferido para um tubo Falcon contendo 5 mL de caldo MRS, sendo este levado a estufa a 30°C, por 24 horas. Com a cultura crescida foi realizada a estria de esgotamento em placa contendo MRS.

As cepas foram propagadas em 5 mL de caldo MRS a 30°C "-overnight-". Após a propagação as células foram colhidas em centrífuga da marca Spinlab sl-5m a 10000 rpm por 7 minutos a 30°C e ressuspensas em água peptonada. As suspensões foram diluídas para concentração de 10<sup>7</sup> células/mL.

#### 2.2 Obtenção dos grãos de café

Os grãos secos de Café Arábica (Safra 2021) foram fornecidos por produtores locais, da cidade de Varginha, MG. Os grãos foram anteriormente classificados e processados via seca (não lavados).

#### 2.3 Determinação do teor de umidade

Inicialmente os grãos foram quarteados e em seguida determinou-se a umidade, através dos procedimentos indicados pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Pesando 5 g de café e levando-os para estufa elétrica de secagem da marca Nova Ética do modelo 410/3ND com circulação de ar e temperatura constante de 105°C, até que a diferença entre os valores sucessivos atingisse peso constante.

#### 2.4 Tratamentos

Posteriormente os grãos foram pesados e divididos em três tratamentos. Cada tratamento possuía três frascos com 250g, sendo estes as repetições, conforme demostrado a seguir.

Tratamento 1: Controle – As amostras de café inteiro receberam 1 mL de água destilada, para mimetizar o experimento que foi inoculado na cultura iniciadora.

Tratamento 2: Amostras de grãos inteiros, com a adição do *Lactobacillus plantarum* na concentração de 10<sup>7</sup> células/ mL.

Tratamento 3:Amostras de grãos de café moído, com granulometria de 30 mesh, inoculados com *Lactobacillus plantarum* na concentração de 10<sup>7</sup> células/mL. A moagem foi realizada em um moinho elétrico para café da marca Botini B55. A separação nas peneiras foi realizada sobre agitação manual de 10 minutos. As partes do grão que ficaram retidas, foram separadas em três frascos sendo cada um destes frascos uma repetição de exatamente 250g.

#### 2.5 Fermentação

Para cada tratamento, os grãos de café foram submetidos ao mesmo teor de umidade, e para isso, a proporção de café e água destilada autoclavada foi de 1:2, conforme a metodologia adaptada de Massawe e Lifa (2010). Os tratamentos 2 e 3 foram inoculados com suspenções de *Lactobacillus plantarum* com concentração de 10<sup>7</sup> células / mL. Cada tratamento e suas respectivas repetições foram incubados a 30°C em estufa da marca Nova Ética do modelo 410/3ND, por 72 horas.

#### 2.6 Análise de pH e acidez

Foram coletadas alíquotas de todos os tratamentos e as avaliações foram realizadas em duplicata. As análises de pH foram realizadas através de pHmetro de bancada da marca Even modelo PHS-3E. A acidez total foi realizada conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O cálculo de acidez está descrito na equação 1.

$$Acidez(\%) = \frac{V \times f \times 100}{P \times c} \tag{1}$$

 $V = n^{\circ}$  de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01M gasto na titulação

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 ou 0,01M

P = quantidade de amostra usada na titulação

c = correção para solução de NaOH 1 M, 10 para solução NaOH 0,1 M e 100 para solução NaOH 0,01 M

#### 2.7 Análise de açúcares redutores

A quantificação de açúcares redutores foi realizada pela metodologia descrita por Miller (1959) utilizando ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), onde 1 mL da amostra foi misturado com 0,5 mL do reagente DNS. Posteriormente, os tubos contendo a mistura foram submetidos a banho maria a 100°C por 5 min, em seguida os tubos foram resfriados e adicionados 8,5 mL de água destilada para completar o volume de 10 mL. Passado por estas etapas os tubos foram homogeneizados em vórtex e levados para leitura em espectrofotômetro da marca Nova instrumentos do modelo NI 1600UV. Os resultados foram calculados utilizando uma curva padrão de calibração 2 g/L de glicose e expressos em g/L.

#### 2.8 Análise estatística

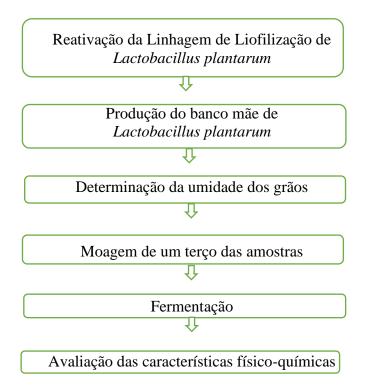
Foram preparadas duas fermentações semissólidas, sendo uma com o grão inteiro e outra com o grão moído, além das fermentações foi preparado um controle sem a adição do inóculo. O experimento foi arranjado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema de parcelas subdivididas no tempo, sendo as parcelas os tratamentos e as subparcelas os tempos de avaliação. Sendo realizado ANOVA, teste de médias para comparar o efeito entre os tratamentos. E o efeito dos tempos de fermentação foram analisados por meio de análise de regressão, escolhendo-se os modelos adequados para representa-los em função do seu comportamento biológico da significância dos coeficientes do modelo e do valor do coeficiente de determinação (R2).

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do Software RStudio (R Core Team, 2021).

#### 2.9 Esquema das etapas de desenvolvimento do trabalho

A Figura 2 apresenta o diagrama de atividades de todas as etapas de desenvolvimento do trabalho.

Figura 2: Diagrama ilustrativo das etapas de trabalho.



Fonte: Do autor (2022).

#### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação da umidade inicial dos grãos

Realizada as análises de secagem descritas na metodologia para obtenção de umidade dos grãos, encontrou-se um valor médio de 8,8% (DP±0,2).

Essa avaliação é de grande relevância uma vez que a atividade de água influenciará diretamente na velocidade das reações químicas, enzimáticas e crescimento microbiano. A umidade é um dos principais parâmetros utilizados para garantir o tempo de vida útil dos grãos (CAPORASO *et al.*, 2018). Conforme Adnan *et al.*, (2017) os valores do teor de umidade dos grãos de café variam de 8,0 a 12,05%, portanto, os grãos utilizados neste experimento encontravam-se dentro dos valores padrões.

#### 3.2 Avaliação do processo fermentativo

Ocorrido o processo fermentativo com o *Lactobacillus plantarum*, foram realizadas as análises de pH, acidez e açúcares redutores. Esses resultados são reflexos de diversos fatores como a superfície de contato, alterando a disponibilização de açúcares (AVALLONE *et al.*, 2002; MAYO *et al.*,2010).

Passado o tempo inicial, notou-se a presença de outros microrganismos resistentes nos grãos de café mesmo após o processo de autoclavação a 121°C por 15min, caracterizando a formação de esporos. Estes microrganismos tornaram-se perceptíveis, quando as condições de vida microbiana estavam favoráveis com a temperatura e umidade. Desta forma os resultados encontrados neste trabalho mostram uma competição celular entre os microrganismos distintos. Esta situação torna-se justificável, visto que os cafés utilizados neste trabalho foram aqueles naturais que passaram pela via seca.

Os grãos de café processados pelo método simples que, normalmente são por via seca, geram o "café natural" e apresentam um controle durante o processo fermentativo menos rigoroso. Sendo eles distribuídos nos espaços de secagem denominados terreiros, ficando agrupados durante a noite e espalhados durante o dia, para que esses grãos em seus diferentes estados de maturação sequem e fermentem simultaneamente (ESQUIVEEL e JIMÉNEZ, 2012). Desta forma, estão mais susceptíveis a contaminações.

Ainda nestas condições, seguiu-se com as análises físico-químicas a fim de avaliar o efeito fermentativo em tais amostras e observar a competição celular entre os microrganismos.

Os grãos crus de café geralmente apresentam uma variação de pH de 6,39 a 6,61 (MENDONÇA *et al.*, 2005). Na Tabela 1 pode - se visualizar os valores de pH para cada tratamento durante as 72 horas de fermentação.

Tabela 1: Valores de pH do meio líquido da fermentação a 30°C

Trotomontos			Variaçã	o de pH con	no tempo		
Tratamentos –	0h	18h	24h	42h	48h	66h	72h
1	6,3	6,3	6,3	5,9	5,9	5,9	5,9
2	6,3	6,2	6,2	5,9	5,9	5,7	5,8
3	6,3	6,1	5,9	5,8	5,9	5,6	5,7

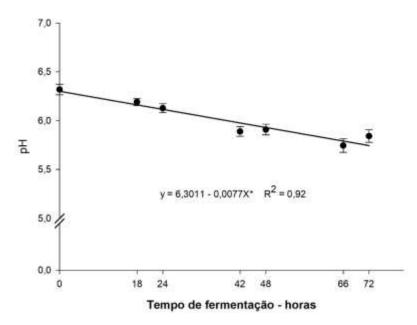
Fonte: Do autor (2022).

Estatisticamente, ao longo do tempo o pH dos tratamentos não apresentaram diferenças significativas e tiveram um valor médio de 5,99. Nos estudos de Massawe e Lifa (2010), os valores de pH da fermentação realizada com *Lactobacilus* durante 24 horas apresentaram valores variando entre 4,31 e 5,16.

Não houve interação entre os tratamentos e tempo. Já os tempos de fermentação influenciaram no pH. Observa-se na Figura 3 que houve uma redução linear no pH com o avanço dos tempos de fermentação. A cada hora de fermentação houve uma redução no valor de pH de 0,0077.

<sup>\*</sup>Valores médios. As médias não se diferiram estatisticamente entre si pelo teste de *Tukey* comparando os diferentes tempos de fermentação para cada tratamento (p<0.05). Tratamento 1: controle com grãos inteiros, tratamento 2: grãos inteiros com *L. plantarum*, tratamento 3:grãos moídos com *L. plantarum*.

Figura 3. Variação do pH com o tempo de fermentação.



Fonte: Do autor (2022).

Barras = erro padrão da média. \* significativo a 0,01.

Os resultados para a análise de acidez, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Acidez (%) do meio líquido da fermentação a 30°C

Testamentos	Acidez (%) ao longo de 72h de fermentação						
Tratamentos -	0	18	24	42	48	66	72
1	$0,70^{a}$	0,67 a	0,65 a	0,48 a	0,25 a	0,43 a	0,37 a
2	$0,72^{a}$	$0,63^{ab}$	0,57 a	0,38 a	0,38 a	$0,51^{a}$	0,43 a
3	0,57 a	$0,47^{b}$	$0,30^{b}$	0,37 a	0,37 a	0,61 a	0,55 a

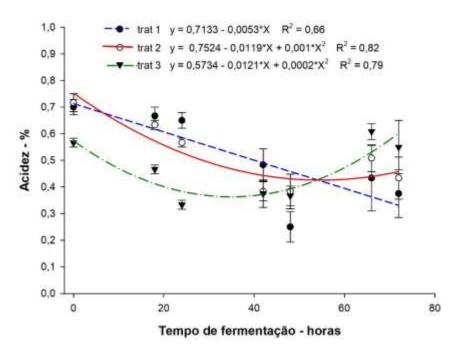
Fonte: Do autor (2022).

Houve interação entre os tratamentos e tempos de fermentação na acidez. Na Figura 4 observa-se que os grãos submetidos ao tratamento 1 (grãos inteiros sem adição de *L. plantarum*) reduziram o valor de acidez de forma linear com o avanço dos tempos de fermentação. Já os grãos submetidos aos tratamentos 2 (grãos inteiros com adição de *L.* 

<sup>\*</sup>Médias seguidas com letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de *Tukey* (p<0.05). Tratamento 1: controle com grãos inteiros, tratamento 2: grãos inteiros com *L. plantarum*, tratamento 3:grãos moídos com *L. plantarum*.

plantarum) e tratamento 3(grãos moídos com adição de *L. plantarum*) apresentaram um ajuste quadrático com o avançar dos tempos, ocorrendo um decréscimo nos valores de acidez até o tempo de 60 horas de fermentação, com aumento nos valores de acidez após este tempo.

Figura 4. Variação da acidez de diferentes tratamentos em função do tempo de fermentação.



Fonte: Do autor (2022).

Barras = erro padrão da média. \* significativo a 0,01.

Grãos de café tem qualidade atrelada a acidez, uma vez que a acidez é influenciada pela fermentação (PIMENTA,2001). Podendo produzir um sabor desejável ao produto final, ou ser indesejável quando ocorrem fermentações excessivas.

Os valores de acidez titulável encontrados neste trabalho variaram de 0,70 a 0,37% para o tratamento 1(grão inteiro sem adição de *L. plantarum*); 0,72 a 0,42% para o tratamento 2(grão inteiro com adição de *L. plantarum*); e de 0,57 a 0,55% para o tratamento 3(grãos moídos com adição de *L. plantarum*). Angelim *et al.*, (2021) obteve acidez titulável de 8 a 13,6% em cafés já torrados e moídos. Segundo Cruz (2016), a acidez titulável total para cafés crus será sempre menor que cafés torrados, pois o grau da torra influência no teor de ácidos presentes no produto.

Portela *et al.*, (2021) obteve valores de acidez variando de 3,8 mL a 4,5 mL para café arábica quando titulou 20mL de suas amostras com NaOH a 0,1M e o pH de suas amostras estavam em torno de 8,2. Para Zhang *et* al., (2022) os resultados expressos em gramas de ácido acético por litro de infusão de café variaram de 0,60 a 0,52 com titulação realizada de 0,01M de NaOH com pH aproximadamente 7. Os estudos de Córdoba *et al.*, (2021) atingiram valores que variavam de 6,05mg a 6,30mg de ácido clorogênico por grama de café através de sua análise utilizando 50 mL de amostra titulada com NaOH a 0,1M quando o pH estava próximo de 6,5.

Quanto a obtenção dos açúcares redutores utilizando o ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), é sabido que, os açúcares redutores são carboidratos com o grupo carbonílico livre que tem a capacidade de oxidarem em solução alcalina (SILVA *et al.*,2003). Desta forma quando o DNS reage com o açúcar redutor é gerado o 3-amino-5-nitrosalicílico, este composto é de coloração avermelhada com absorção máxima de luz de 540 nm (TEIXEIRA *et al.*, 2012).

Projetou-se um gráfico para obtenção da equação da reta como pode ser analisado na Figura 5.

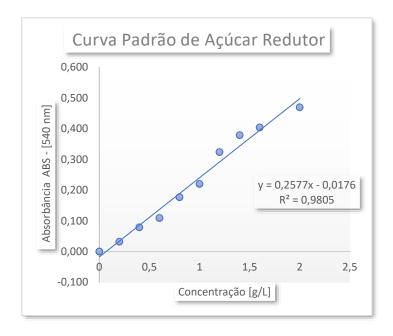


Figura 5 - Curva padrão do açúcar redutor das concentrações previamente definidas.

Fonte: Do autor (2022).

Obtida a equação da curva padrão, foi realizada a leitura da amostra conforme metodologia de Miller (1959) obtendo-se então as concentrações de açúcar redutor, sendo estas descritas na Tabela 3.

Tabela – 3 Valores de açúcar redutor do meio líquido da fermentação a 30°C

Variação de Açúcar Redutor [g/L] com o tempo [h]							
Tratamentos -	0	18	24	42	48	66	72
1	0,39a	1,35 b	1,61 b	6,09 ab	6,59 ab	5,60 <sup>b</sup>	6,92 <sup>b</sup>
2	0,98 a	1,62 b	$3,14^{b}$	4, 99 <sup>b</sup>	5,00 b	3,51 °	4,29 °
3	1,16 a	5,42 a	5,42 a	7,71 <sup>a</sup>	6,94 <sup>a</sup>	9,43 a	10,74 <sup>a</sup>

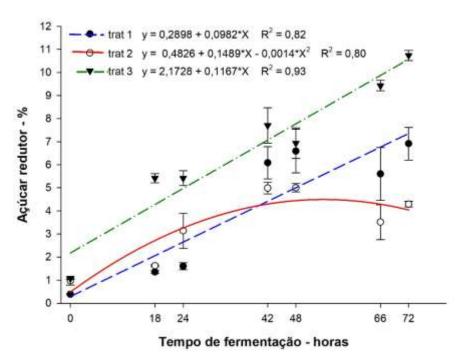
Fonte: Do autor (2022).

De acordo com os valores descritos nas Tabelas 3, nota-se que no tratamento 1(grãos inteiros sem adição de *L. plantarum*), mesmo sem a adição do inóculo, teve o aumento do açúcar. No tratamento 2(grãos inteiros com adição de *L. plantarum*) houve menos disponibilização de açúcar redutor, isso se deve a competição celular que ocorreu entre os microrganismos que estavam presentes nos grãos de café com o *L. plantarum*. O tratamento que obteve maiores valores de açúcares e que apresentou uma grande diferença foi o tratamento 3(grãos moídos com adição de *L. plantarum*), esse resultado se deve pelo processo de moagem a qual o tratamento 3 foi submetido e consequentemente aumentando a superfície de contato dos microrganismos fermentativos inoculados com o grão, expandindo assim a disponibilização de açúcares, porém entre os tratamentos 1 e 2 estatisticamente não houve diferença significativa.

Houve interação entre os tratamentos e tempos de fermentação. Observa-se na Figura 6 que os tratamentos 1 e 3 promoveram aumento linear nos valores de açúcar redutor, já o tratamento 2 promoveu um comportamento quadrático, com aumento dos valores e posterior decréscimo a partir do tempo de fermentação de 66 horas.

<sup>\*</sup>Médias seguidas com letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de *Tukey* (p<0.05), entre os tratamentos. Tratamento 1: controle com grãos inteiros, tratamento 2: grãos inteiros com *L. plantarum*, tratamento 3:grãos moídos com *L. plantarum*.

Figura 6. Variação de açúcar redutor de diferentes tratamentos em função do tempo de fermentação.



Fonte: Do autor (2022).

Barras = erro padrão da média. \* significativo a 0,01.

Tais resultados são influenciados pelos processos que acontecem na fermentação pela via metabólica do *L. plantarum*, de modo que, a sacarose presente no grão estava sendo transformada em glicose e frutose, estes que são açúcares redutores. Através deles torna-se possível a produção dos ácidos. Na medida que ocorria o aumento de açúcares redutores ocorria também o aumento de acidez (PEREIRA *et al.*, 2020).

Segundo Lacerda *et al.*, (2020) quanto menor o tempo de fermentação maior o teor de açúcar, em fermentações superiores a 72 horas o impacto na qualidade do café ocorre de maneira negativa.

Segundo Santos et~al~(2018), os valores médios de frutose e glicose dos grãos de café não apresentam diferenças significativas ao longo de seus estágios de desenvolvimento e maturação. Siridevi et~al~(2019) indicaram que a quantidade média de açúcares redutores presentes na mucilagem do grão são de 3,78 (DP  $\pm$  0,51), sendo estes superiores aos encontrados no tempo zero deste estudo. É válido ressaltar que os grãos usados neste experimento não possuíam mucilagem, entretanto, este fato não impossibilitou o processo fermentativo.

Messias *et al.*, (2012) em pesquisa relacionada a influência de variação de açúcares redutores de *Coffeea arabica L.* obtiveram um valor médio de 0,3819 e desvio padrão: 0,1254 sendo que o valor mais baixo foi de 0,15 e o mais alto de 0,71. Todavia, esta foi uma pesquisa em que os grãos não passaram pelo processo fermentativo com culturas *starts*. Os resultados encontrados por estes pesquisadores foram semelhantes ao tratamento 1 deste trabalho quando ainda estavam com 0 horas de fermentação.

Já para Kwak, Jeong e Kim (2018) que investigavam as propriedades físicoquímicas de grãos de café fermentados, obtiveram em seus resultados a variação de açúcar redutor inicialmente de 0,68 mg/mL a 1,12mg/mL e em 24 horas 2,47mg/mL a 2,67mg/mL. Mesmo que os grãos usados nesta pesquisa não possuíam mucilagem a quantidade de açúcar redutor permaneceu semelhante aos encontrados na literatura.

Os *Bacillus* são os microrganismos que normalmente aparecem nos cafés que já estão em estado final de degradação (SILVA, 2000). Os *Bacillus* assim como os *Lactobacillus* plantarum são as espécies bacterinas mais encontradas em processo de fermentação por via seca, sendo associados a grande presença no solo na água e nas plantas (VILELA,2010), indicando que os grãos que passam pelo processo de via seca, têm uma maior tendência para risco de contaminação.

Apesar de ser um processo muito empregado não é o mais indicado quando se deseja um café que mantenha suas qualidades por mais tempo. Para tanto, seriam necessárias mais pesquisas para identificar quais microrganismos permanecem no café após o processo de via seca.

A fermentação dos grãos apresentou o surgimento de espumas, com mudança na coloração e grande absorção de água, como pode ser observado na Figura 7

Figura 7 – Aparência dos grãos fermentados.



Fonte: Do autor (2022).

Imagens da esquerda: grãos secos antes da fermentação. Imagens da direita: grãos fermentados por 72 horas

#### 4 CONCLUSÃO

A quantidade de umidade influência nas reações químicas, enzimáticas e crescimento microbiano. Os grãos usados neste trabalho apresentavam umidade de 8,8% (DP±0,2).

A presença de microrganismos resistentes, só se torna perceptível quando as condições de temperatura e umidade são favoráveis. Cafés que são obtidos por via seca, são mais susceptíveis a contaminação. Apesar dos processos pela via seca serem os mais usados pelos produtores de café, a ocorrência de microrganismos resistentes são fortes indícios de que a qualidade do produto final está sendo afetada, visto que, cafés que passam por este processo estão mais suscetíveis a degradação.

Durante o processo fermentativo de 72 horas, o valor médio de pH foi de 5,99. Observou-se na análise de acidez, que após 18 horas de fermentação o tratamento 1 (grão inteiro sem adição do *L. plantarum*) apresentou valor de 0,67%, diferindo do tratamento 3 (grão moído com adição do *L. plantarum*) com valor de 0,47%. Em 24 horas, o tratamento 3 (grão moído com adição do *L. plantarum*) diferiu dos demais tratamentos com acidez de 0,30%.

Na avaliação de açúcar redutor, notou-se, que após 18 horas de fermentação, o tratamento 3 (grão moído com adição do *L. plantarum*) apresentou maior variação na concentração de açúcar, consistindo em 5,42 g/L, comparado aos demais tratamentos. Em 42 horas de fermentação o tratamento 3 (grão moído com adição do *L. plantarum*) teve maior variação na concentração de açúcar redutor correspondendo a 7,71 g/L diferindo apenas do tratamento 2 (grãos inteiros com adição de *L. plantarum*) que teve 4,99 g/L de variação de concentração de açúcar redutor. Durante os períodos de fermentação de 66 a 72 horas, todos os tratamentos apresentaram diferença estatística variando de 5,60 a 6,92 g/L para o tratamento 1 (grão inteiro sem adição do *L. plantarum*); 3,51 a 4,29 g/L para o tratamento 2(grãos inteiros com adição do *L. plantarum*) e 9,43 a 10,73 g/L para o tratamento 3 (grãos moídos com *L. plantarum*).

A elaboração da fermentação em grãos secos de *Coffee arabica L*. é uma alternativa tecnologicamente viável. Os resultados obtidos em pequena escala, mostraram diferenças em suas características físico-químicas, como alterações de acidez e de açúcares. Mesmo sem a presença de mucilagem, sendo mais significativa para o tratamento de menor granulometria.

#### **5 REFERÊNCIAS**

ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. 2022. Disponível em: <a href="https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe-2020/">https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria-indu

ADNAN, A. *et al*.Rapid prediction of moisture content in intact green coffee beans using near infrared spectroscopy. **Foods**. v. 6, 2017.

AMORIM, H. V. *et al.* Biochemical, physical and organoleptical changes during raw coffee quality deterioration. ASIC, 8<sup>a</sup> Colloque Abidjan, p. 183-186, 1977.

ANGELIM, C. C. *et al.* Análise comparativa de parâmetros físico-químicos e de compostos bioativos em cafés cafeinados e descafeinados. **Research Society and Development**, v. 10, n.16, e256101623939, 2021.

AVALLONE, S. *et al.* Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. **In J Food Sci Technol**. V.37, p.191-198. 2002

BABOVA, O.; OCCHIPINTI, A.; MAFFEI, M. E. Chemical partitioning and antioxidante capacity of green coffee (Coffea Arabica and Coffea Canephora) of differente geographical origin. **Rev. Phytochemistry**, v. 123, p.33-39, mar, 2016.

BARBOSA, M. S. G. Correlation between the composition of green Arabica coffee beans and the sensory quality o coffee brews. **Food Chemistry**, v. 292, p.275-280, set., 2019.

BORGES, R. Rabobank projeta safra de café do Brasil 22/23 em 63,5 mil sacas. MoneyTimes, 2021. Disponível em < <a href="https://www.moneytimes.com.br/rabobank-projeta-safra-de-cafe-do-brasil-22-23-em-635-mi-sacas/">https://www.moneytimes.com.br/rabobank-projeta-safra-de-cafe-do-brasil-22-23-em-635-mi-sacas/</a> Acessado em: 19, jan de 2022.

CAPORASO, N. *et al.* Rapid prediction of single green coffee bean moisture and lipid content by hyperspectral imaging. **Journal of Food Engineering**, v.227, p. 18-29, 2018.

CÓRDOBA, N. *et al.* Specialty and regular coffee bean quality for cold and brewing: Evalvation of sensory profile and physicochemical characteristics. **LWT**. v. 145, jun. 2021.

CRUZ, T. A. Avaliação física, química e físico-química dos cafés das microrregiões da chapada de minas. TCC (Graduação em Química). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Diamantina, Minas Gerais, 2016.

DURÁN, C.A.A. *et al.* Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida. **Revista Virtual de Quimica, Rio de Janeiro**, v. 9, n. 1, pp. 107–134, 2017.

ELHALIS, H. *et al.* Ecological diversity, evolution and metabolismo of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans. **Int. J. Food Microbiol**. 321, 108544.2020.

ESPINDULA, M. C. *et al.* Café Conilon Gestão e Manejo com Sustentabilidade. **Universidade Federal do Espírito Santo**, p. 83-102, 2017.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee byproducts. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p.488-495, 2012

EUROMONITOR INTERNATIONAL. Tendências do mercado de cafés em 2017. 2017. Disponível em:< <a href="https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/pesquisas-2/pesquisa-tendencias-de-consumo/">https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/pesquisas-2/pesquisa-tendencias-de-consumo/</a>>. Acesso em: 20 jan. 2022.

FOLMER,B. *et al.* The Craft And Science of Coffee . 1 ed. Estados Unidos. Editora. **Academic Press**, p.556, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1:Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: IMESP 2008. p. 419-462.

KITZBERGER, C. S. G. *et al.* Composição química de cafés arábica de cultivares tradicionais e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 11, p. 1498-1506, 2013.

KWAK, H. S.; JEONG, Y.; KIM, M. Effect of yeast fermentation of green coffee beans on antioxidante activity and consumer acceptability. **Journal of food quality**, 2018.

LACERDA, J. M. B. *et al.* Efeito da fermentação Natural em Café Arábica. **Ifes Ciência**, v. 6, n. 3, p. 99-111, 2020.

MASSAWE, G. A. LIFA, S. J. Yeasts and lactic acid bactéria coffee fermentation starter cultures. **Int. J. Postharvest Technology and Innvation**, v. 2, n. 1, 2010.

MAYO, B. *et al.* Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. In Biotechnology of lactic acid bactéria: Novel Applications. p. 3-32, 2010.

MENDONÇA, L. M. V. L. *et al.* Parâmetros bromatológico de grãos crus e torrados de cultivares de café (Coffea arábica L.) **Ciência Tecnol. Aliment.**, Campinas. v. 25(2), p. 239-243, jun. 2005.

MESSIAS, J. A. T. *et al.* Determination of the influence of the variation of reducing and non – reducing sugares on coffee quality with use of artificial neural network. Eng. Agric., Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 354 -360, mar./abr. 2012.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

PEREIRA, G. V. D. M., *et al.* Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffe beans by the wet process. **Int. J. Food Microbiol**.2014.

PEREIRA, G. V. M., *et al.* Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. **Int J Food Sci Technol** 2016.

PEREIRA, G.V. D. M., *et al.* Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. Crit **Rev Food Sci Nutr** 2017.

PEREIRA, G. V. M., *et al.* Lactic acid bactéria: what coffee industry should know? **Current Opinion in Food Scienc**, v. 31, p. 1-8, 2020.

PEREIRA, L. L. Novas abordagens para produção de café especiais a partir do processamento via úmida. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2017.

PIMENTA, C. J. Época de colheita e tempo de permanência dos frutos à esperada secagem na qualidade do café (*Coffea arábica L.*) Universidade Federal de Lavras -UFLA, Minas Gerais, 2001.

PORTELA, C. S. *et al.* Effects of brewing conditions and coffee sepecies on the physicochemical characteristics, preference and dynamics of sesory atribute perception in cold brews. **Food Research International.** V.151, dez. 2021.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <a href="https://www.R-project.org/">https://www.R-project.org/</a>.

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

SANTOS, R. A.*et al.* Analysis of sugars and chlorogenic acidin coffee harvestedat different ripening stages and after processing. **Braz. J. Food Techol.** e2017163, v. 21, 2018.

SCA. Protocols and Best Practices. Disponível em: < <a href="https://sca.coffee/research/protocols-best-practices">https://sca.coffee/research/protocols-best-practices</a>>. Acessado em: 20 jan. 2022.

SILVA, C. F., BATISTA, L. R, ABREU, L.M., Dias ES, Schwan RF: Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (Coffea arabica) fermentation. **Food Microbiol** 2008.

SILVA C.F *et al.* Microbial diversity during maturation na natural processing of coffee cherries of coffea arabica in Brazil. **International jornal os food microbiologyy**, v. 60, n. 2-3, p. 251-260, 2000

SILVA, R. N. *et al.* Comparação de métodos para determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 337 – 341, 2003.

SIRIDEVI, G. B. *et al.* Coffee starter microbiome and in-silico approach to improve arabica coffee. **LWT – Food Science and Techologi**, v. 114, 108382, 2019.

TADINI, C. C. *et al.* **Operações Unitárias na Industria de Alimentos**; 1 °ed. Rio de Janeiro: LTC, 2018

TEIXEIRA, R. S. S. et al. Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5 – dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity measurements. **Carbohydrate research**, Amaterdam, v. 363, p.33-37, 2012.

USDA. United State Department of Agriculture. Production, supply and distribution online. 2021. Disponível em: < <a href="https://www.fas.usda.gov/data/brazil-coffee-semi-annual-6">https://www.fas.usda.gov/data/brazil-coffee-semi-annual-6</a> >. Acesso em: 19 jan. 2022.

UKERS, W. H. All About Coffee. 1°ed. New York. The Tea And Coffee Trade Journal. 1922.

VILELA, D.M. *et al.*, Molecular ecology and polphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica L.*).**Food microbiology**, London, v. 27, n. 8, p.1128-1135. doi: 10.1016/j.fm.2010.07.024. 2010.

ZHANG, L. *et al.* Extraction and physicochemical characteristics of high pressure – assisted cold brew coffee. **Future Foods**.v 5, 2022.