



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**ANA VALÉRIA ULHANO BRAGA**

**ESTUDO DA FERMENTAÇÃO ANAERÓBIA INDUZIDA EM CAFÉ**

**CAMPINAS**

**2022**

**ANA VALÉRIA ULHANO BRAGA**

**ESTUDO DA FERMENTAÇÃO ANAERÓBIA INDUZIDA EM CAFÉ**

**STUDY OF SELF-INDUCED ANAEROBIC FERMENTATION IN COFFEE**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Tecnologia de Alimentos.

Dissertation/ Thesis presented to the Faculty/Institute of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor, in Food Technology.

Orientador: Dr. Flavio Luís Schmidt

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA ANA VALÉRIA ULHANO BRAGA, E ORIENTADA PELO PROF. DR. FLÁVIO LUÍS SCHMIDT.

**CAMPINAS**

**2022**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

B73e Braga, Ana Valéria Ulhano, 1989-  
Estudo da fermentação anaeróbia induzida em café / Ana Valéria Ulhano  
Braga. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Flavio Luis Schmidt.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de  
Engenharia de Alimentos.

1. Pós-colheita. 2. Fermentação de café. 3. Microbiologia. 4. Compostos  
orgânicos voláteis. 5. Atividade enzimática. I. Schmidt, Flavio Luis. II.  
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.  
III. Título.

Informações Complementares

**Título em outro idioma:** Study of self-induced anaerobic fermentation in coffee

**Palavras-chave em inglês:**

Postharvest

Coffee fermentation

Microbiology

Volatile organic compounds

Enzymatic activity

**Área de concentração:** Tecnologia de Alimentos

**Titulação:** Doutora em Tecnologia de Alimentos

**Banca examinadora:**

Flavio Luis Schmidt [Orientador]

Karen Signori Pereira

Rosana Francisco Siqueira dos Santos

Beatriz Thie Iamanaka

Liliana de Oliveira Rocha

**Data de defesa:** 25-10-2022

**Programa de Pós-Graduação:** Tecnologia de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-6281-6297>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0798448997071753>

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Flavio Luís Schmidt**

Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

**Dra. Karen Signori Pereira**

Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

**Dra. Rosana Francisco Siqueira dos Santos**

Professora aposentada - Unimetrocamp

**Dra. Beatriz Thie Iamanaka**

Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL

**Dra. Liliana de Oliveira Rocha**

Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

*A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertações/Teses e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação.*

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Antônio e Tomires, dedico todas minhas conquistas. Sem o apoio de vocês, nada seria possível.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - código de financiamento 2018/09186-3.

Agradeço a Camila Archanjo e ao Sindicafé por possibilitar a realização das análises sensoriais, por me inserir no mundo do café e me apresentar tantos sabores novos.

Agradeço ao Eduardo e a Fernanda do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) por viabilizar as análises cromatográficas.

Agradeço as pesquisadoras Gláucia Pastore e Ana Paula Pereira pelo apoio no desenvolvimento da análise de cromatografia gasosa.

Agradeço a técnica Aline do Laboratório de Microbiologia da FEA pelas orientações e apoio durante a realização das análises microbiológicas.

Agradeço a empresa Neopropecta por tornar possível a análise de identificação genética da comunidade microbiana.

Agradeço ao laboratório de enzimologia (Instituto de Biologia/UNICAMP) e os professores Márcio André Miranda e Hiroshi Aoyama pelo apoio no desenvolvimento das análises de atividade enzimática.

Agradeço especialmente a empresa DaTerra e a fazenda Tozan do Brasil e pessoalmente ao Gabriel e Donizete pela doação amostras, por ceder espaço e estrutura que possibilitaram o desenvolvimento da pesquisa, e principalmente por toda a generosidade em dividir o conhecimento sobre a produção de café.

Agradeço ao Laboratório de Frutas e Hortaliças pela estrutura, a professora Priscilla Efraim e as técnicas Ana Koon e Juliana por todo apoio e ensinamentos durante meu período no laboratório.

Agradeço a todos os amigos e colegas da FEA que me ajudaram, me orientaram e me ensinaram muito mais do que análises de alimentos. Sou muito grata por todas as amizades que fiz nesse tempo.

Agradeço ao meu orientador prof. Flavio Luís Schmidt, que além de dividir todo o conhecimento em relação a Tecnologia de Alimentos, sempre foi um exemplo de profissional e pessoa, disposto a ajudar e incentivar, sempre com leveza e alegria.

Agradeço a minha família por todo o apoio durante o desenvolvimento da pesquisa, que permitiu com que tudo fosse possível.

E agradeço a meu noivo Danilo pelo incentivo, por toda a força, pela paciência, pelo cuidado (principalmente nos momentos mais difíceis) e por comemorar comigo cada alegria. Obrigada por segurar minha mão sempre.

## RESUMO

A aplicação de processos de fermentação em café tem aumentado nos últimos anos devido à busca do produtor e consumidor por qualidade e diversidade nos perfis sensoriais da bebida. Nesse estudo, frutos de café foram fermentados naturalmente em recipientes fechados, sem adição de água, através de um processo chamado fermentação anaeróbia induzida. Foram realizados 15 processos em duas fazendas com perfis de produtos distintos. Após a secagem, amostras de café foram enviadas para análise sensorial com *Q-graders*. Com amostras de café verde e torrado foram realizadas análises físico-químicas de umidade,  $A_w$ , densidade aparente e expansão na torra, índice de refração e sólidos solúveis, condutividade elétrica e lixiviação de potássio, compostos fenólicos totais, melanoidinas, cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico, sacarose, glicose e frutose, ácidos orgânicos e compostos voláteis. Com o fruto do café congelado foram realizadas análises de pH e acidez titulável, análises microbiológicas tradicionais e identificação genética da comunidade microbiana, e análise da atividade enzimática da invertase, poligalacturonase e endo- $\beta$ -mannanase. Em 12 processos, houve aumento da nota da avaliação sensorial, além do desenvolvimento de maior complexidade na descrição de atributos da bebida. O processo de fermentação levou a um aumento na quantidade de ácido oxálico, ácido láctico e ácido acético no café verde e a redução na quantidade de ácido láctico e do ácido acético no café torrado. Após o processo, 13 compostos voláteis aumentaram e 11 reduziram no café verde e 12 compostos voláteis tiveram aumento e 15 tiveram redução no café torrado. 2,3-butanodiol e acetato de etila no café verde e 2,3-butanodiol, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, 2-furanometanol propanoato, 1-(2-furil)etano-1-ona, 2,5-dimetilfurano, furfural, 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona, 3-etil-2-hidroxiciclopent-2-en-1-ona, acetoína, maltol, 1H-Pirrole-2-carboxaldeído e 1-(2-tienil)ethanona no café torrado foram positivamente correlacionados com a avaliação sensorial. 655 espécies de bactérias e 296 de fungos foram identificadas através da análise de genética da comunidade microbiana. Os gêneros predominantes das bactérias foram *Enterobacter* sp., *Lactobacillus* sp. e *Pantoea* sp., e dos fungos foram *Cladosporium* sp. e *Candida* sp.. 31 espécies de microrganismos foram detectadas pela primeira vez na fermentação do café, incluindo *Wallemia mellicola*, responsável por até 7,6% das sequências em uma amostra. A lavagem do café antes da fermentação levou a: rápida redução do pH; rápido desenvolvimento de *Lactobacillus* sp. e rápida dominância de *Candida* sp.; redução do tempo de fermentação necessário para obter a melhor nota sensorial; aumento na atividade da invertase na semente; atividade mais expressiva da invertase na polpa/casca; tendência decrescente na atividade da poligalacturonase na polpa/casca de café. A redução da quantidade de hexanal, o aumento da quantidade de ácido acético e o aumento na atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase são

indicativos de que o café continua o processo de amadurecimento durante esse tipo de fermentação. A fermentação anaeróbia induzida é uma alternativa interessante de processamento pós-colheita para aumentar a qualidade da bebida, e gerar cafés com diferentes características sensoriais, agregando valor ao produto através de um baixo investimento.

## ABSTRACT

The use of coffee fermentation processes has increased in recent years due to the producer and consumer's search for quality and diversity in the beverage sensory profiles. In this study, coffee fruits were naturally fermented in closed containers, without the addition of water, through a process known as self-induced anaerobic fermentation (SIAF). 15 processes were carried out on two farms with different product profiles. After drying, coffee samples were sent for sensory analysis by *Q-graders*. With samples of green and roasted coffee, were performed the physicochemical analyzes of: moisture, Aw, apparent density and expansion on roasting, °Brix and soluble solids, electrical conductivity and potassium leaching, total phenolic compounds, melanoidins, caffeine, chlorogenic acids and caffeic acid, sucrose, glucose and fructose, organic acids and volatile organic compounds. pH, titratable acidity, traditional microbiological analysis, genetic identification of microbial community and enzymatic activity analyses (invertase, polygalacturonase, and endo- $\beta$ -mannanase) were performed with the frozen coffee fruit. In 12 processes, there was an increase in the average of the sensory evaluation grade, in addition to the description of complex sensory attributes. The fermentation process led to a significant increase in the amount of oxalic acid, lactic acid, and acetic acid in green coffee and a reduction in the amount of lactic acid and acetic acid in roasted coffee. After the process, 13 volatile compounds increased and 11 decreased in green coffee, and 12 volatile compounds increased and 15 decreased in roasted coffee. 2,3-butanediol and ethyl acetate in green coffee and 2,3-butanediol, 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone, 2-furanmethanol propanoate, 1-(2-furyl)ethane-1-one, 2,5-dimethylfuran, furfural, 2-hydroxy-3-methylcyclopent-2-en-1-one, 3-ethyl-2-hydroxycyclopent-2-en-1-one, acetoin, maltol, 1H-pyrrole-2-carboxaldehyde and 1-(2-thienyl)ethanone in roasted coffee were positively correlated with sensory evaluation. 655 species of bacteria and 296 of fungi were identified through the genetic identification of microbial community. The predominant bacterial gender was *Enterobacter* sp., *Lactobacillus* sp., and *Pantoea* sp., and the fungi were *Cladosporium* sp. and *Candida* sp.. 31 species of microorganisms were detected for the first time in coffee fermentation, including *Wallemia mellicola*, responsible for up to 7.6% of the sequences in a sample. Washing the coffee before fermentation led to: faster pH reduction; faster development of *Lactobacillus* sp. and faster dominance of *Candida* sp.; reduction of the fermentation time needed to obtain the best sensory score; increase in the invertase activity in the seed; more expressive activity of invertase in the pulp/peel; decreasing trend in polygalacturonase activity in coffee pulp/husk. The reduction in the hexanal amount, the increase in the acetic acid amount, and the increase in the endo- $\beta$ -mannanase enzyme

activity are indicative that the coffee continues ripening during this fermentation type. Self-induced anaerobic fermentation is an interesting alternative of post-harvest processing to increase the quality of the beverage, and generate coffees with different sensory characteristics, adding value to the product through a low investment.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Anatomia do fruto de café .....	24
<b>Figura 2:</b> Ponto de maturação de frutos do cafeeiro. O quadro branco mostra o café cereja, que é o ponto ideal para a colheita.....	26
<b>Figura 3:</b> Etapas do beneficiamento úmido e processos pós-colheita que o café pode ser submetido antes de ser levado para secagem .....	28
<b>Figura 4:</b> Biorreator de aço inoxidável desenvolvido para a fermentação anaeróbia de café .....	34
<b>Figura 5:</b> Ficha de avaliação da qualidade do café verde utilizada na metodologia da <i>Specialty Coffee Association</i> (SCA) .....	38
<b>Figura 6:</b> Versão em português da roda de aromas desenvolvida pela <i>Specialty Coffee Association</i> (SCA) como apoio para o provador descrever os atributos identificados durante a prova .....	39
<b>Figura 7:</b> Principais reações químicas que ocorrem durante a torra do café que levam a formação dos principais compostos responsáveis pelo sabor e aroma da bebida .....	50
<b>Figura 8:</b> Localização das fazendas onde foram feitos os processos de fermentação anaeróbia de café.....	73
<b>Figura 9:</b> Fluxograma da metodologia utilizada para fermentação anaeróbia induzida do café na etapa de teste .....	74
<b>Figura 10:</b> Fluxograma que mostra os processos conduzidos nas Fazendas 1 e 2 para o estudo da fermentação anaeróbia induzida.....	75
<b>Figura 11:</b> Recipientes utilizados para processos de fermentação de café .....	76
<b>Figura 12:</b> Mangueira que permite a liberação de ar do recipiente de fermentação .....	77
<b>Figura 13:</b> Análises físico-químicas realizadas em amostras (controle e fermentadas) dos 5 processos de fermentação anaeróbia induzida que apresentaram maior ganho de qualidade sensorial.....	79
<b>Figura 14:</b> Análises realizadas nas amostras dos processos de acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P13) .....	84
<b>Figura 15:</b> Análises microbiológicas tradicionais realizadas com amostras dos frutos de café dos processos de acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P13) .....	85
<b>Figura 16:</b> Metodologia utilizada para a avaliação da atividade enzimática na casca/polpa e/ou semente do café durante o processo de fermentação anaeróbia induzida.....	88
<b>Figura 17:</b> Notas totais da avaliação sensorial (escala SCA) das amostras de café do teste preliminar de fermentação anaeróbia induzida .....	93
<b>Figura 18:</b> Mudança de aparência do café fermentado por 7 dias em relação ao seu controle .....	96
<b>Figura 19:</b> Variação de temperatura no interior de recipientes de diferentes volumes (20 a 1000L) utilizados para fermentação de café.....	98
<b>Figura 20:</b> Nota total da avaliação sensorial (metodologia SCA) das amostras de cafés fermentados e seus controles na etapa de estudo do processo de fermentação .....	107

<b>Figura 21:</b> Análise de Componentes Principais (PCA) da avaliação sensorial das amostras de café controle e fermentados escolhidas para as análises físico-químicas (P1, P5, P9, P12 e P13).....	109
<b>Figura 22:</b> Notas totais da avaliação sensorial (escala SCA) das amostras dos processos de acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P3).....	111
<b>Figura 23:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre as análises de ácidos orgânicos presentes no café verde e a análise sensorial dos cafés controle e fermentados.....	122
<b>Figura 24:</b> Cromatograma de compostos voláteis do café verde analisados por HS-SPME/GC-MS .....	127
<b>Figura 25:</b> Grupos totais de compostos orgânicos voláteis do café verde .....	131
<b>Figura 26:</b> Análise de Componentes Principais (PCA) de compostos orgânicos voláteis identificados no café verde em amostras controle e fermentadas .....	132
<b>Figura 27:</b> Mapa de calor da correlação de Pearson entre a avaliação sensorial e VOCs de café verde .....	132
<b>Figura 28:</b> Cromatograma de compostos voláteis de café torrado analisados por HS-SPME/GC-MS .....	140
<b>Figura 29:</b> Grupos de compostos orgânicos voláteis identificados nas amostras de café torrado (amostras controle e fermentadas).....	145
<b>Figura 30:</b> Análise de Componentes Principais de compostos orgânicos voláteis identificados no café torrado em amostras controle e fermentadas.....	146
<b>Figura 31:</b> Mapa de calor da correlação de Pearson entre avaliação sensorial e VOCs de café torrado .....	147
<b>Figura 32:</b> pH e acidez titulável das amostras de casca/polpa do fruto fresco, café verde e café torrado .....	155
<b>Figura 33:</b> Contagem microbiológica por método tradicional de bactérias aeróbias mesófilas totais, anaeróbias mesófilas totais, bactérias lácticas e bolores e leveduras em frutos de café submetidos aos três processos de acompanhamento fermentação (P9, P12 e P13).....	158
<b>Figura 34:</b> Abundância relativa (%) de sequencias de gêneros de bactérias e fungos que foram identificadas durante os processos de fermentação do café .....	160
<b>Figura 35:</b> Mapa de calor das espécies bacterianas e fúngicas mais predominantes e sua abundância (%) nos três processos de fermentação do café .....	162
<b>Figura 36:</b> Índice de correlação de Pearson entre gêneros de bactérias identificadas na análise genética da comunidade microbiana e as notas da avaliação sensorial .....	164
<b>Figura 37:</b> Análise de coordenadas principais (PCoA) com base nas diferenças de Bray-Cuttis da comunidade bacteriana (gêneros) em amostras de fermentação anaeróbia induzida do café .....	166
<b>Figura 38:</b> Análise de coordenadas principais (PCoA) com base nas diferenças de Bray-Cuttis da comunidade de fungos (gêneros) em amostras de fermentação anaeróbia induzida do café .....	168

<b>Figura 39:</b> Índice de correlação de Pearson entre gêneros de fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e as notas da avaliação sensorial da bebida do café .....	170
<b>Figura 40:</b> Riqueza (índice Chao1), Equabilidade (índice de Pielou) e Diversidade (índice de Shannon) de sequências de espécies de bactérias e fungos de análise genética da comunidade microbiana .....	172
<b>Figura 41:</b> Correlação de Spearman e classificação da co-ocorrência e co-exclusão para as espécies bacterianas e fúngicas que tiveram maior predominância nos processos de fermentação (> 5% de abundância relativa em pelo menos uma amostra) .....	175
<b>Figura 42:</b> Rede microbiana da co-ocorrência de microrganismos no processo de fermentação de café através da correlação de Spearsman (valores de coeficiente >0,7)..	176
<b>Figura 43:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre bactérias identificadas na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café verde durante o processo de fermentação.....	177
<b>Figura 44:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre bactérias identificadas na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café torrado durante o processo de fermentação .....	179
<b>Figura 45:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café verde durante o processo de fermentação.....	180
<b>Figura 46:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café torrado durante o processo de fermentação .....	181
<b>Figura 47:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre bactérias identificados na análise de identificação genética da comunidade microbiana e resultados das análises de ácidos orgânicos do café verde e torrado.....	183
<b>Figura 48:</b> Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e resultados das análises de ácidos orgânicos do café verde e torrado.....	184
<b>Figura 49:</b> Atividade das enzimas Invertase, poligalacturonase e endo-β- mannanase durante a fermentação do café.....	185
<b>Figura 50:</b> Mapa de calor representando a correlação do índice de Pearson entre microrganismos e atividade enzimática identificada durante a fermentação de café.....	187

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Resultado da avaliação sensorial realizada por provadores certificados (Q-Graders) seguindo metodologia SCA para as amostras de café controle e fermentadas a 22 e 35°C .....	95
<b>Tabela 2:</b> Resultado da avaliação sensorial realizada por provadores certificados (Q-Graders) seguindo metodologia SCA para as amostras dos cafés <i>C. canephora</i> e <i>C. arabica</i> fermentados nas fazendas 1 e 2 .....	100
<b>Tabela 3:</b> Resultado das análises de umidade e atividade de água das amostras de café verde controle e fermentadas .....	113
<b>Tabela 4:</b> Resultado das análises de umidade e atividade de água das amostras de café verde controle e fermentadas .....	114
<b>Tabela 5:</b> Valores de Índice de refração (°Brix) e sólidos solúveis das amostras de café verde e café torrado controle e fermentadas .....	115
<b>Tabela 6:</b> Resultado das análises de condutividade elétrica e lixiviação de potássio nas amostras de café verde controle e fermentadas .....	116
<b>Tabela 7:</b> Resultado das análises de compostos fenólicos totais nas amostras de café verde e café torrado controle e fermentadas .....	117
<b>Tabela 8:</b> Resultado da análise de melanoidinas no café torrado controle e fermentadas .....	118
<b>Tabela 9:</b> Resultado das análises de cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico em amostras de café verde e café torrado controle e fermentadas .....	119
<b>Tabela 10:</b> Resultado das análises de sacarose, glicose e frutose presente nas amostras de café verde controle e fermentadas .....	120
<b>Tabela 11:</b> Resultado das análises de ácidos orgânicos presentes nas amostras de café verde controle e fermentadas .....	121
<b>Tabela 12:</b> Resultado da análise de ácidos orgânicos das amostras de café torrados controle e fermentadas .....	124
<b>Tabela 13:</b> Compostos orgânicos voláteis totais identificados nas amostras de café verde controle e fermentadas .....	129
<b>Tabela 14:</b> Compostos orgânicos voláteis que apresentaram aumento ou redução em todas as amostras de café verde fermentado em relação ao seu controle .....	133
<b>Tabela 15:</b> Compostos orgânicos voláteis totais identificados nas amostras de café torrado controle e fermentadas .....	141
<b>Tabela 16:</b> Compostos orgânicos voláteis que apresentaram aumento ou redução em todas as amostras de café torrado fermentado em relação ao seu controle .....	149
<b>Tabela 17:</b> Número de sequências genéticas identificadas nas amostras de fruto de café na análise de identificação genética da comunidade microbiana .....	159
<b>Tabela A1:</b> Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais, bactérias lácticas, anaeróbios mesófilos totais, bolores e leveduras das amostras de frutos de café durante os processos de fermentação anaeróbia induzida .....	203

<b>Tabela A2:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9 .....	204
<b>Tabela A3:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12 .....	205
<b>Tabela A4:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13 .....	206
<b>Tabela A5:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9 .....	207
<b>Tabela A6:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12 .....	210
<b>Tabela A7:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13 .....	213
<b>Tabela A8:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9 .....	216
<b>Tabela A9:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12 .....	217
<b>Tabela A10:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13 .....	218
<b>Tabela A11:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9 .....	219
<b>Tabela A12:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12 .....	222
<b>Tabela A13:</b> Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13 .....	225
<b>Tabela A14:</b> Número de sequências dos gêneros identificados na região 16S (bactérias) na análise de identificação genética da comunidade microbiana .....	228
<b>Tabela A15:</b> Número de sequências das espécies identificadas na região 16S (bactérias) na análise de identificação genética da comunidade microbiana .....	238
<b>Tabela A16:</b> Número de sequências dos gêneros identificados na região ITS (fungos) na análise de identificação genética da comunidade microbiana .....	265

<b>Tabela A17:</b> Número de sequências das espécies identificadas na região ITS (fungos) na análise de identificação genética da comunidade microbiana .....	270
<b>Tabela A18:</b> Índice de Pearson (p-valor <0,05) que mostra as correlações positivas e negativas maiores que 0,5 entre a quantidade de sequências de gêneros de bactérias identificadas na análise de identificação genética da comunidade microbiana e a avaliação sensorial .....	282
<b>Tabela A19:</b> Índice de Pearson (p-valor <0,05) que mostra as correlações positivas e negativas maiores que 0,5 entre a quantidade de sequências de gêneros de fungos identificados na análise de identificação genética da comunidade microbiana e a avaliação sensorial .....	284

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	21
2 OBJETIVOS .....	22
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivos específicos .....	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	23
3.1 História do café .....	23
3.2 Mercado e consumo .....	23
3.3 Anatomia do fruto do café .....	24
3.4 Espécies e variedades .....	25
3.5 Processos pós-colheita do café .....	26
3.5.1 Fermentação do café.....	29
3.5.2 Processo via seca – processo natural .....	30
3.5.3 Cereja descascado - processo despulpado / desmucilado .....	31
3.5.4 Processo despulpado natural - <i>honey</i> .....	32
3.5.5 Café fermentado por via úmida ( <i>wet processing – fully washed</i> ).....	32
3.5.6 Fermentação anaeróbia induzida .....	33
3.5.7 Fermentação por maceração carbônica .....	35
3.5.8 Processamento em tratos digestórios de animais .....	35
3.6 Secagem do café .....	36
3.7 Qualidade do café .....	36
3.7.1 <i>Cupping</i> para avaliação da qualidade de <i>C. arabica</i> – metodologia SCA....	37
3.8 Composição química do café verde .....	40
3.8.1 Carboidratos.....	40
3.8.2 Proteínas.....	41
3.8.3 Lipídeos.....	41
3.8.4 Ácidos orgânicos .....	42
3.8.5 Ácidos clorogênicos (CGAs) e ácidos hidroxicinâmicos .....	42
3.8.6 Cafeína e outras metilxantanas .....	43
3.8.7 Trigonelina.....	44
3.8.8 Minerais.....	44
3.8.9 Compostos voláteis .....	44
3.9 Processo de torra do café e composição química.....	45
3.9.1 Carboidratos.....	45
3.9.2 Proteínas.....	46
3.9.3 Lipídeos.....	46
3.9.4 Ácidos orgânicos .....	46
3.9.5 Ácidos clorogênicos (CGAs) e ácidos hidroxicinâmicos .....	47
3.9.6 Cafeína e outras metilxantanas .....	48
3.9.7 Trigonelina.....	48
3.9.8 Melanoidinas .....	49

3.9.9 Compostos voláteis .....	49
3.10 Modificações químicas durante a fermentação do café .....	53
3.10.1 Carboidratos.....	53
3.10.2 Proteínas.....	54
3.10.3 Ácidos orgânicos .....	55
3.10.4 Ácidos clorogênicos.....	56
3.10.5 Compostos voláteis .....	57
3.11 Microrganismos presentes no café .....	57
3.11.1 Microrganismos endofíticos dos frutos .....	57
3.11.2 Microrganismos identificados durante o processo pós-colheita .....	58
3.11.2.1 Processamento via seca – natural.....	59
3.11.2.2 Processamento do café despulpado.....	59
3.11.2.3 Processamento por via úmida (wet-processing) .....	60
3.11.2.4 Processamento natural despulpado ( <i>honey</i> ) .....	62
3.11.2.5 Fermentação anaeróbia induzida.....	62
3.11.3 Microrganismos inoculados durante o processo de fermentação .....	64
3.11.3.1 Leveduras.....	65
3.11.3.2 Bactérias.....	68
3.12 Enzimas presentes no café.....	69
3.12.1 Enzimas envolvidas na formação e degradação de sacarose .....	70
3.12.2 Proteases .....	70
3.12.3 Pectinases.....	70
3.12.4 Polifenoloxidase .....	71
3.12.5 Endo- $\beta$ -mannanase.....	72
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	73
4.1 Locais de coleta de amostras de café.....	73
4.2 Teste de fermentação anaeróbia induzida de café .....	73
4.3 Estudo do processo de fermentação anaeróbia induzida de café .....	74
4.3.1 Análise sensorial .....	78
4.3.2 Análises físico-químicas .....	78
4.3.2.1 Umidade.....	79
4.3.2.2 Atividade de água.....	79
4.3.2.3 Densidade aparente e expansão na torra.....	79
4.3.2.4 Condutividade elétrica e Lixiviação de Potássio.....	80
4.3.2.5 Compostos fenólicos totais.....	80
4.3.2.6 Índice de Refração e sólidos solúveis.....	80
4.3.2.7 Melanoidinas.....	81
4.3.2.8 Cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico.....	81
4.3.2.9 Sacarose, glicose e frutose.....	81
4.3.2.10 Ácidos orgânicos.....	82
4.3.2.11 Análise de compostos orgânicos voláteis (VOCs) por HS-SPME/GC-MS .....	83

4.3.3 Acompanhamento da fermentação.....	83
4.3.3.1 pH e acidez titulável.....	84
4.3.3.2 Análises microbiológicas.....	84
4.3.3.2.1 Análise microbiológica tradicional.....	84
4.3.3.2.2 Identificação genética da comunidade microbiana.....	86
4.3.3.2.2.1 Enriquecimento e extração de DNA.....	86
4.3.3.2.2.2 Sequenciamento de alto desempenho de genes das regiões (bactérias) e ITS (fungos) .....	87
4.3.3.3 Análises enzimáticas.....	87
4.3.3.3.1 Preparo de amostra.....	89
4.3.3.3.2 Atividade da enzima invertase.....	89
4.3.3.3.3 Atividade da enzima poligalacturonase.....	89
4.3.3.3.4 Atividade da enzima endo- $\beta$ -mannanase.....	90
4.3.3.3.5 Quantificação do açúcar formado.....	91
4.3.3.3.6 Quantificação de proteínas no extrato.....	91
4.3.4 Análises estatísticas.....	91
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
5.1 Teste preliminar .....	93
5.2 Estudo do processo de fermentação anaeróbia induzida de café .....	96
5.2.1 Processos .....	96
5.2.2 Acompanhamento da temperatura .....	97
5.2.3 Análise sensorial .....	99
5.2.3.1 Amostras selecionadas para análises físico-químicas.....	108
5.2.3.2 Amostras para acompanhamento do processo de fermentação.....	110
5.2.4 Análises físico-químicas.....	112
5.2.4.1 Umidade e atividade de água.....	112
5.2.4.2 Densidade aparente e expansão na torra.....	113
5.2.4.3 Índice de refração e sólidos solúveis.....	114
5.2.4.4 Condutividade elétrica e Lixiviação de Potássio.....	115
5.2.4.5 Compostos fenólicos totais.....	116
5.2.4.6 Melanoidinas.....	117
5.2.4.8 Cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico.....	118
5.2.4.7 Sacarose, glicose e frutose.....	120
5.2.4.8 Ácidos orgânicos.....	121
5.2.4.9 Análise de compostos orgânicos voláteis (VOCs).....	126
5.2.4.9.1 Café verde.....	126
5.2.4.9.2 Café torrado.....	139
5.2.5 Acompanhamento dos processos de fermentação.....	154
5.2.5.1 pH e acidez titulável.....	154
5.2.5.2 Análises microbiológicas.....	157
5.2.5.2.1 Análises microbiológicas tradicionais.....	157
5.2.5.2.2 Identificação genética da comunidade microbiana.....	158

5.2.5.2.2.1 Correlação entre microrganismos e compostos voláteis.....	176
5.2.5.2.2.2 Correlação entre microrganismos e ácidos orgânicos.....	182
5.2.5.3 Análises enzimáticas.....	184
6 CONCLUSÕES .....	190
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	191
8 REFERÊNCIAS.....	192
9 ANEXOS .....	203

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o consumo de cafés especiais aumentou muito no Brasil e em todo o mundo. Devido a essa demanda, o produtor de café passou a buscar processos pós-colheita que permitam melhorar a qualidade da bebida, agregando valor ao seu produto e diversificando o portfólio de sabores oferecido aos clientes (GUIMARÃES et al., 2019; MARTINEZ et al., 2021a).

Após a colheita do café, a aplicação de uma etapa adicional de fermentação, passou a ter visibilidade após alguns baristas ganharem campeonatos mundiais utilizando cafés que passaram por esse tipo de processo e que levou à comercialização desses produtos a preços muito elevados (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

A fermentação anaeróbia induzida é um tipo de processo em que os frutos do café são colocados dentro de tambores ou tanques fechados, que impedem a entrada do oxigênio, e por isso permitem um processo mais prolongado e impedem o crescimento de fungos filamentosos produtores de toxinas (DA MOTA et al., 2022; PEREIRA et al., 2022).

O processo de fermentação do café é muito complexo, em que há uma atividade muito intensa de diferentes grupos de microrganismos e enzimas (já presentes no fruto e as produzidas pelos microrganismos), além do metabolismo do próprio fruto que continua ativo, e gera mudanças químicas durante o tempo de fermentação (PEREIRA; MOREIRA, 2020; PEREIRA et al., 2022)

Esse processo leva então a alteração da composição café verde, como mudança na composição de carboidratos, ácidos, ácidos clorogênicos, proteínas e compostos voláteis que são precursores para o desenvolvimento de sabor durante a torra do café. Essas mudanças levam ao desenvolvimento de um perfil sensorial diferente e a uma bebida com características mais complexas do que o café que não foi submetido ao processo de fermentação (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Devido ao grande ganho econômico que pode gerar aos produtores e até mesmo no mercado de cafés especiais, o estudo do processo de fermentação anaeróbia induzida se torna muito importante. A partir do conhecimento dos microrganismos e enzimas que tem maior atuação, do entendimento de que mudanças químicas ocorrem durante o processo e que tem impacto positivo na qualidade sensorial da bebida, processos futuros podem ser conduzidos de forma mais assertiva e buscando atingir o maior potencial de ganho de qualidade da bebida.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo geral do trabalho foi avaliar o potencial do processo de fermentação anaeróbia induzida de aumentar a qualidade sensorial da bebida.

### **2.2 Objetivos específicos**

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- identificar compostos químicos, incluindo açúcares, ácidos e compostos orgânicos voláteis que são gerados durante o processo de fermentação e são responsáveis por impactar a qualidade da bebida;
- avaliar a cinética de reações e crescimento microbiano durante a fermentação;
- identificar os microrganismos que tem maior atuação e maior impacto no processo fermentativo;
- avaliar a atividade enzimática durante o processo de fermentação.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 História do café

Os primeiros registros da descoberta da planta café como alimento ocorreu no Iêmen quando padres notaram que cabras que se alimentavam de seus frutos permaneciam acordadas e agitadas a noite toda. Eles começaram então a consumir o fruto como estimulante para permanecerem acordados durante suas orações (FLAMENT, 2002).

O primeiro registro da expansão do café pelo mundo relata que em torno do ano 575 a.C., quando a planta do café, da espécie *Coffea arabica* começou a ser cultivada e comercializada já para o preparo da bebida, no Iêmen, no sudeste da Etiópia, regiões de fronteira do Quênia e sul do Sudão. Do Iêmen, plantas de café foram levadas para a Índia e, muito tempo depois (em torno de 1690) para a ilha de Java. Em torno de 1710, o café foi levado para Amsterdã, onde foram cultivados em estufas. De Amsterdã, o café foi levado para o continente americano, chegando no Suriname em 1718 (FARAH, 2019; JONATHAN MORRIS, 2018).

No ano de 1727, já mais difundido na América central e norte da América do Sul, o café foi levado para o estado do Pará no Brasil, a partir da Guiana Francesa. Até o século 20, a espécie *Coffea arabica* era a única cultivada comercialmente no Brasil e em todo o mundo (FARAH, 2019).

A expansão mundial da espécie *Coffea canephora* a partir da África central (principalmente do Congo) ocorreu somente no século 20, como uma solução para o ataque da ferrugem nas folhas do cafeeiro, que estava causando grandes perdas nas plantações de *C. arabica*. O uso dessa espécie também foi ampliado devido a melhor adaptação a locais com maiores temperaturas e menores altitudes (FARAH, 2019; JONATHAN MORRIS, 2018).

### 3.2 Mercado e consumo

No ano de 2020, a produção de café foi de 175.347.000 sacas (60Kg/cada), sendo 105.262.000 da espécie *C. arabica* e 70.086.000 sacas da espécie *C. canephora*. O Brasil foi o maior produtor mundial, atingindo 69.000.000 sacas, seguido do Vietnã (29.000.000 sacas), Colômbia (14.300.000 sacas) e Indonésia (12.100.000 sacas) (ICO, 2020).

Em relação ao consumo, segundo o último relatório divulgado pela Organização Internacional do Café (ICO), na safra de 2020/2021, o consumo mundial de café verde foi de

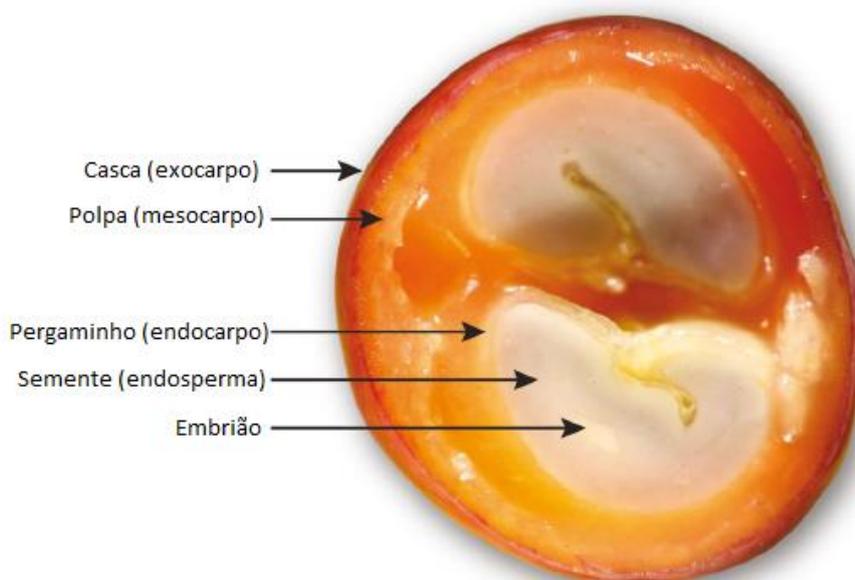
166.346.000 sacas de 60Kg (ICO, 2021). Os maiores consumidores foram a União Europeia (40.251.000 sacas), Estados Unidos (26.982.000 sacas) e Brasil (22.400.000 sacas) (ICO, 2021).

Além disso, o consumo de cafés especiais também tem aumentado nos últimos anos, devido ao aumento da procura por qualidade e por experiências sensoriais exclusivas pelos consumidores (GUIMARÃES et al., 2019).

### 3.3 Anatomia do fruto do café

Do interior para o exterior, o fruto do cafeeiro é composto normalmente por duas sementes (endosperma) contendo um embrião em cada; uma película que envolve a semente e pode ser observada após a secagem, chamada de película prateada (perisperma); uma proteção que envolve a semente (endocarpo), que após a secagem é chamada de pergaminho; a mucilagem, que é a parte da polpa que não fica aderida a casca; a polpa da fruta aderida a casca (mesocarpo) e a casca externa (exocarpo) (BORÉM, 2015; FARAH, 2019). A Figura 1 mostra a anatomia de um fruto de café.

**Figura 1:** Anatomia do fruto de café



Fonte: adaptado de Farah (2019).

A semente do cafeeiro é a porção do fruto que, após passar por alguns processos (secagem, descascamento, torra e moagem), é utilizada para o preparo da bebida de café. Sua composição química é muito importante já que contém os precursores

de sabores e aromas que vão influenciar diretamente a qualidade da bebida (BORÉM, 2015). A composição química da semente é descrita no item 3.8 deste trabalho.

A mucilagem pode compor até 31% da massa do fruto do cafeeiro, variando de acordo com a espécie, variedade, maturação, manejo, altitude. Quando o café ainda está imaturo, ela é rígida e conforme vai amadurecendo, algumas enzimas atuam e quebram as cadeias de pectinas formando um gel, que, em média, para o café da espécie *C. arabica*, possui, em torno de 88% de água e 7% de carboidratos totais (esses são compostos por 28% de pectinas, 15% de polissacarídeos e outros açúcares) (BORÉM, 2015).

### 3.4 Espécies e variedades

Desde o início do cultivo do café, diferentes espécies e variedades foram descobertas e outras foram selecionadas com o objetivo de aumentar a produção, aumentar a resistência a variações de condições climáticas e pragas e aumentar a qualidade da bebida. Hoje, apesar de existir mais de 100 espécies catalogadas, somente as espécies *Coffee arabica* e *Coffee canephora* possuem importância comercial no mercado mundial (FARAH, 2019).

No geral, o mercado considera que a espécie *C. arabica* apresenta qualidade superior em relação ao café espécie *C. canephora*. Isso acontece porque a bebida produzida a partir do café da espécie *C. arabica* apresenta maior doçura e é mais aromática, enquanto a produzida a partir de grãos da espécie *C. canephora* é mais neutra em relação a doçura e acidez e tem um sabor intenso de cereal torrado e é mais encorpada. A diferença nas características sensoriais da bebida se dá a diferença na composição química dos grãos, e conseqüentemente a diferença nos compostos de aroma formados durante a torra (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Cada espécie possui diferentes exigências quanto ao local de cultivo, para atingirem sua maior capacidade produtiva e maior qualidade. A espécie *C. arabica* se desenvolve melhor quando cultivada em locais onde a média de temperatura anual fica entre 19 e 22°C. Já a espécie *C. canephora* se desenvolve melhor em temperaturas mais altas, com médias anuais entre 23 e 26°C (FARAH, 2019).

A altitude em que o café é cultivado tem também uma grande interferência na qualidade da bebida produzida. Quanto maior a altitude, menor é a temperatura média do ambiente. Por causa disso, os frutos do café têm um tempo de maturação diferente, sendo que em altitudes maiores, a maturação é mais lenta e há maior acúmulo de açúcares na semente. A incidência do sol é outro fator que influencia diretamente a qualidade da bebida produzida pelo café. Cafés cultivados na sombra, tendem a ser mais bem avaliados do que café cultivados estritamente no sol (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.5 Processos pós-colheita do café

A escolha dos processos a que serão submetidos o café após a colheita depende de vários fatores como disponibilidade de tecnologia, equipamentos, água, mão de obra, tempo, além de fatores climáticos, capital que pode ser investido e qual a qualidade que deseja atingir (FARAH, 2019).

Todo o manejo do café influencia na qualidade da bebida gerada. Para que a bebida tenha a melhor qualidade possível, é muito importante que a colheita seja realizada no momento certo. O estágio de maturação ideal dos frutos para a colheita é quando o fruto é chamado de café cereja, ou seja, quando está totalmente maduro (Figura 2) (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

**Figura 2:** Ponto de maturação de frutos do cafeeiro. O quadro branco mostra o café cereja, que é o ponto ideal para a colheita.



Fonte: Farah (2019).

Para obter um lote com a maior parte dos frutos no ponto ideal de maturação, a colheita pode ser feita de forma seletiva, onde somente os frutos maduros são colhidos manualmente, ou o café no ponto ideal pode ser separado, através de seletora eletrônica ou utilizando equipamento de benefício úmido do café (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O equipamento de benefício úmido é composto por algumas etapas (Figura 3):

- limpeza - em que as folhas e sujidades que estiverem junto com os frutos são retiradas através de uma corrente de ar;
- separação por densidade - os frutos são submersos em água e os frutos muito maduros, que já secaram no pé e alguns frutos defeituosos, bóiam (e por isso são chamados de bóia), e o café cereja com o verde afundam;
- descascamento/ separação - a fração de café cereja com o verde é colocada dentro de uma peneira circular e pressionada com uma escova, permitindo que a casca dos frutos maduros se rompa, as sementes passem pela peneira e os frutos verdes permaneçam intactos e são separados;

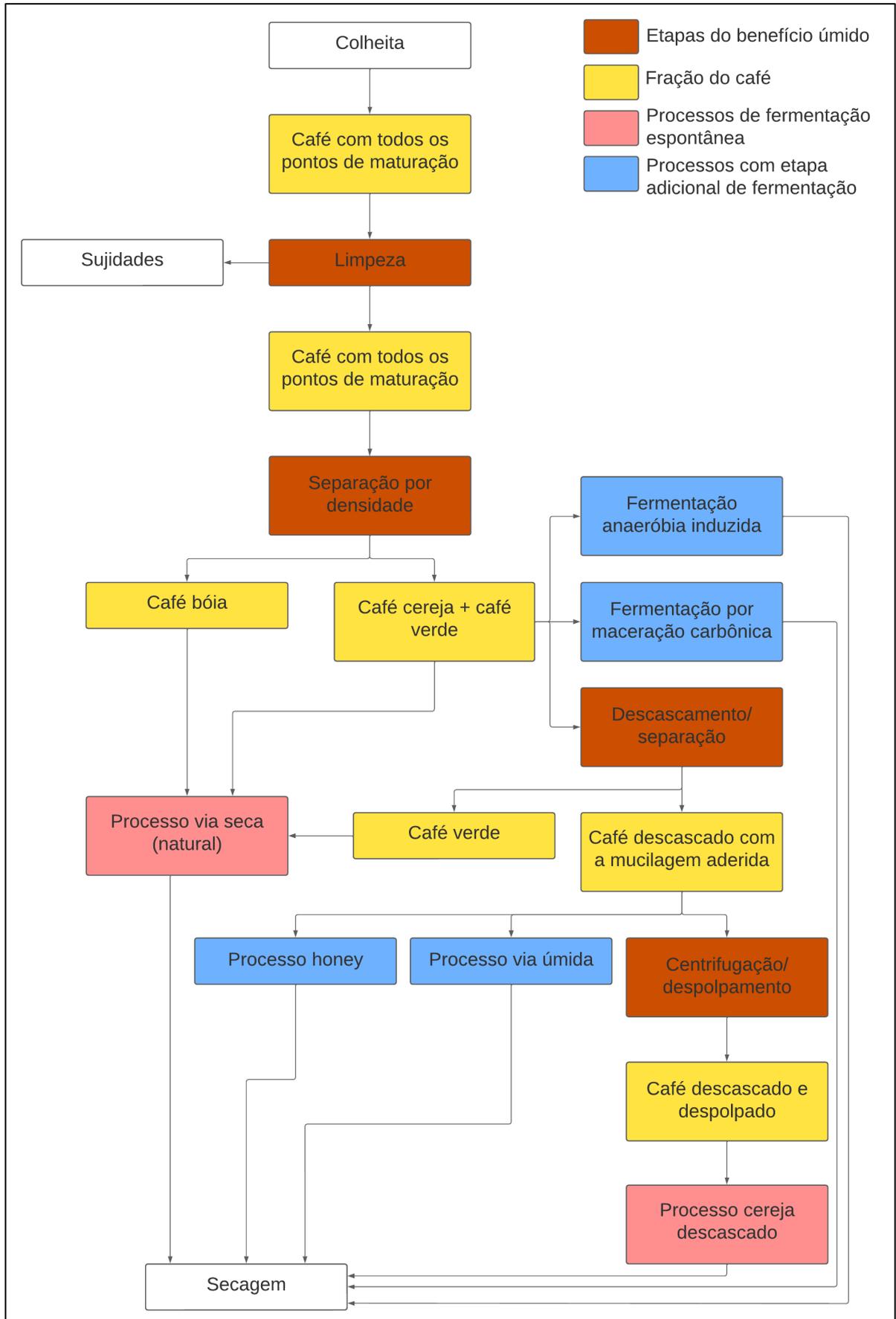
- centrifugação - as sementes do café cereja pode passar por uma centrifugação para a retirada da mucilagem (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O equipamento de beneficiamento permite a separação dos frutos com diferentes estágios de maturação, para que possam ser processados separadamente. Mas, apesar de existir a possibilidade utilizar o equipamento de beneficiamento, o produtor pode optar por processar o café inteiro, mantendo sua casca, que é chamado de processo natural. Além disso há a possibilidade de manter a mucilagem nas sementes para passar por diferentes processos pós-colheita (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Independente do processo pós-colheita escolhido, o café deve ser processado o mais rápido possível evitando que ocorram fermentações indesejadas que podem deteriorar o fruto levando a uma perda de qualidade da bebida (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

As variações de processos pós-colheita podem gerar bebidas com características sensoriais diferentes (PEREIRA; MOREIRA, 2020). MUSEBE; AGWANDA; MEKONENCABI (2007) estimaram que 40% das características físico-químicas e sensoriais do café são dependentes de todas as variáveis que ocorrem com o fruto até o momento da colheita e que 60% são determinadas pelo processo que ocorre com o fruto após a colheita.

**Figura 3:** Etapas do beneficiamento úmido e processos pós-colheita que o café pode ser submetido antes de ser levado para secagem



### 3.5.1 Fermentação do café

Todos os frutos de café, desde quando estão no pé, no momento da colheita e até atingir baixos níveis de umidade durante a secagem, passarão por processos de fermentação. Em alguns processos, após a colheita, o café é levado diretamente para a secagem, e em outros é submetido a alguma etapa adicional de fermentação antes de ir para a secagem (Figura 3). A fermentação do café ocorre de forma espontânea, através de microrganismos e enzimas presentes nos frutos, no ambiente, na água adicionada ou utilizada para lavagem/despulpamento dos frutos ou processo ou através de inoculação de microrganismos, chamados de culturas iniciadoras (*starter cultures*). Esses microrganismos modificam a composição química do café através do consumo e degradação de compostos e produção de uma série de outros metabólitos. Essa modificação química pode alterar as características sensoriais da bebida produzida, podendo agregar valor ao produto (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SCHWAN; FLEET, 2014).

Além dos processos bioquímicos gerados por microrganismos durante a fermentação, uma série de reações ocorrem também através da atividade celular da própria semente, podendo consumir e produzir diversos compostos, mesmo após a colheita, já que a semente permanece ativa durante todo o processo pós-colheita até o final da secagem, somente cessando após o período de armazenamento (BASTIAN et al., 2021; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Inicialmente, a fermentação do café era utilizada somente com o objetivo de remover a mucilagem e acelerar o processo de secagem. Hoje, além desse propósito, a fermentação é utilizada também com o objetivo do desenvolvimento de sabores e aumento da qualidade sensorial da bebida, permitindo a criação de micro lotes com características sensoriais diferentes, a partir de um mesmo café cultivado em um mesmo local. Além disso, uma vantagem da aplicação da fermentação é que, dependendo de como é conduzido o processo, há a redução da contaminação das sementes por fungos filamentosos, e assim, reduz a contaminação do café por micotoxinas (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SCHWAN; FLEET, 2014).

O processo de fermentação do café tem o potencial de aumentar bastante a classificação do café na escala SCA (explicação no item 3.7), chegando a mais de 5 pontos, o que agrega bastante valor ao comercializar o produto. Mas, apesar de alguns processos não gerar aumento significativo na nota total, o processo de fermentação tem o potencial de produzir cafés com perfis sensoriais completamente diferentes, aumentando as opções de produtos à venda pelo produtor (MARTINEZ et al., 2021a; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O aumento da nota da avaliação sensorial do café tende a ser maior para cafés que iniciam o processo com uma qualidade menor. Assim, a fermentação tem grande

potencial para ser aplicada em locais com menor altitude, que no geral apresentam cafés com qualidade inferior. Cafés que naturalmente apresentam alta qualidade sensorial, tendem a ter um menor ganho com o processo fermentativo. Apesar disso, o processo ainda pode ser vantajoso, porque mesmo um aumento de 1 ou dois pontos na avaliação final do café é muito importante para o produtor porque ele passa a vender o café a um preço maior (MARTINEZ et al., 2021a; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.5.2 Processo via seca – processo natural

No processo pós-colheita chamado de via seca ou processo natural, após a colheita, os frutos do café são levados inteiros para a etapa de secagem, com a polpa e a casca intactas. Antes de ir para secagem, normalmente esse café é limpo para retirada de impurezas como, poeira, terra, folhas, galhos e pedras. Em seguida, normalmente, o café passa também por uma etapa de separação dos frutos por densidade, onde os frutos muito maduros, mal granados, mal-formados e brocados boiam (e, por isso são chamados de boia) e os frutos que estão no ponto ideal de maturação (chamados de cereja) junto com os frutos verdes afundam. Após essa separação, cada uma dessas frações são secas, armazenadas e processadas separadamente (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Esse método é o mais antigo e simples de processamento do café e é utilizado principalmente em locais em que a época da colheita coincide com a época de seca, favorecendo a secagem ao sol. A umidade inicial dos frutos é em torno de 57% e após a secagem deve atingir entre 11-12%. Esse é o principal método utilizado para café da espécie *C. canephora* em todo o mundo. Para a espécie *C. arabica* é utilizado principalmente no Brasil, na Etiópia, Haiti, Indonésia e no Iêmen (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Quando o café natural é seco em terreiro convencional, é recomendado que, especialmente no início do processo, esse café seja colocado em uma camada na altura de um único fruto, aumentando o contato do ar seco, do vento e do sol com a superfície. Assim, a secagem ocorre mais rapidamente no início e evita a fermentação indesejada, que pode levar ao desenvolvimento de sabores desagradáveis e o desenvolvimento de fungos na superfície dos frutos (FARAH, 2019).

A baixa qualidade muitas vezes relacionada ao processo natural se dá na maioria das vezes pela falta de seletividade na colheita (e posterior secagem de frutos com diferentes níveis de maturação em um mesmo lote), e a falta de cuidado durante a secagem (camadas muito espessas ou locais mais úmidos), que levam a fermentação indesejada. Mas, se foi feita uma colheita seletiva ou separação de frutos com um mesmo grau de

maturação e a secagem for realizada com cuidado, os cafés processados por esse método podem apresentar alta qualidade. Esses cafés apresentam características de uma bebida encorpada e muito doce, com notas complexas que remetem a chocolate, nozes e frutas, que é muito valorizado no mercado de cafés especiais. Devido à presença da casca e da mucilagem durante a secagem, esse café apresenta maior quantidade de açúcares redutores do que cafés beneficiados descascados e despulpados. Já os cafés que boiaram na separação por densidade, geralmente apresentam baixa qualidade devido aos defeitos contidos nessa fração (como cafés brocados, mal granados, que fermentaram no pé). Uma alternativa para melhorar a qualidade é, após a secagem e o descascamento, passar esse café por uma seletora eletrônica que retira esses defeitos, fazendo assim um lote dos melhores grãos para comercialização (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Apesar desse processo pós-colheita ser mais “simples” que os demais, como os frutos são levados inteiros (com a casca) para o terreiro, o tempo de secagem é maior, levando em torno de 4 semanas. Além disso, após a secagem, o café passa por um período de descanso, e o fato de estar com a casca, faz com que ocupe mais espaço de armazenamento, chegando a ocupar o dobro do espaço de um café seco já sem casca (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### **3.5.3 Cereja descascado - processo despulpado / desmucilado**

Para o processamento do café descascado, a casca e a polpa são mecanicamente retiradas utilizando água para facilitar o processo. Uma escova pressiona os frutos contra uma peneira e somente os frutos maduros têm a casca rompida e assim, além da retirada da casca, há a separação dos frutos maduros dos frutos verdes (que permanecem inteiros). Após o descascamento, ainda no equipamento de beneficiamento, o café passa por uma etapa de centrifugação que retira a mucilagem presente ao redor da semente e é levado diretamente para a secagem. A bebida produzida pelo café que passa por esse processo pós-colheita, geralmente apresenta sabor mais suave e é menos encorpada (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O café sem a casca ocupa menos espaço e como não tem a polpa, demora menos tempo para a secar. No armazenamento desse café, chega a ocupar 50% do volume do café que é seco com casca. Mas, uma desvantagem importante nos processos pós-colheita que usam o café descascado é a quantidade de água utilizada. Após ser lavado, descascado e despulpado, a água fica com alta concentração de matéria orgânica vinda do café e não pode ser devolvida para rios e lagos sem tratamento (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.5.4 Processo despulpado natural - *honey*

Para o processo do café despulpado natural, também chamado de *honey*, após a casca e a polpa serem retiradas mecanicamente, parte ou toda a mucilagem é mantida em volta da semente, e dessa forma, é levado para secar. Existem variações nesse processo como a quantidade de mucilagem deixada na semente, o local em que esse café é seco (no sol ou na sombra) e a espessura da camada durante a secagem. Após a secagem, essas variações podem gerar cores diferentes na superfície do pergaminho que envolve a semente de café, e então ele pode ser chamado de *black honey*, *red honey* e *yellow honey* (mais comum) (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

No geral, as características sensoriais desenvolvidas no café processado por via despulpado natural são intermediárias ao café despulpado e ao café natural, apresentando um sabor mais leve que o café natural e mais corpo do que o café despulpado (FARAH, 2019).

### 3.5.5 Café fermentado por via úmida (*wet processing – fully washed*)

O café processado por via úmida, também chamado de *fully washed*, é um café que passa pelo despulpador onde há a remoção mecânica da casca e da polpa, mas não há a retirada da mucilagem. A mucilagem que fica grudada na semente, é retirada através de uma etapa de fermentação proposital. Essa fermentação é feita colocando essas sementes de café em um tanque e são cobertas com água, onde ocorre a solubilização e digestão da mucilagem através de microrganismos e enzimas presentes no ambiente. O processo ocorre até que essa mucilagem seja totalmente removida, o que normalmente leva entre 12 e 48 horas, o que varia dependendo da temperatura ambiente, tipo de processo, quantidade de mucilagem, entre outros fatores. O tempo final de fermentação é determinado pelo produtor quando ele toca nos grãos e percebe que o café perdeu a textura viscosa da mucilagem. O tanque então é drenado, o café lavado e levado para secagem (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O café processado via úmida, geralmente é mais leve, menos encorpado que os cafés naturais, com aromas agradáveis e com maior acidez. Mas se processo de fermentação for mal-conduzido, pode haver perda de qualidade e desvalorização do produto. Para evitar que isso ocorra, o produtor precisa estar muito atento quanto a higiene do tanque de fermentação, qualidade da água utilizada, tempo entre a colheita e o benefício do café, ponto de maturação do fruto, tempo de fermentação, temperatura e homogeneização do tanque garantindo que todo o processo ocorra de maneira uniforme

(FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Na Colômbia, Costa Rica, Guatemala, México, El Salvador, Quênia e Havaí, esse é o processo predominante utilizado para *C. arabica* e é muito pouco usado para processamento de *C. canephora*, especialmente na Índia e Indonésia (FARAH, 2019).

Para otimizar o processo, atingindo melhores atributos de qualidade, desenvolver características específicas de sabor e reduzir o tempo de fermentação, alguns produtores fazem a adição de enzimas e de microrganismos (chamados de *starter cultures*), que pode reduzir o tempo de fermentação (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.5.6 Fermentação anaeróbia induzida

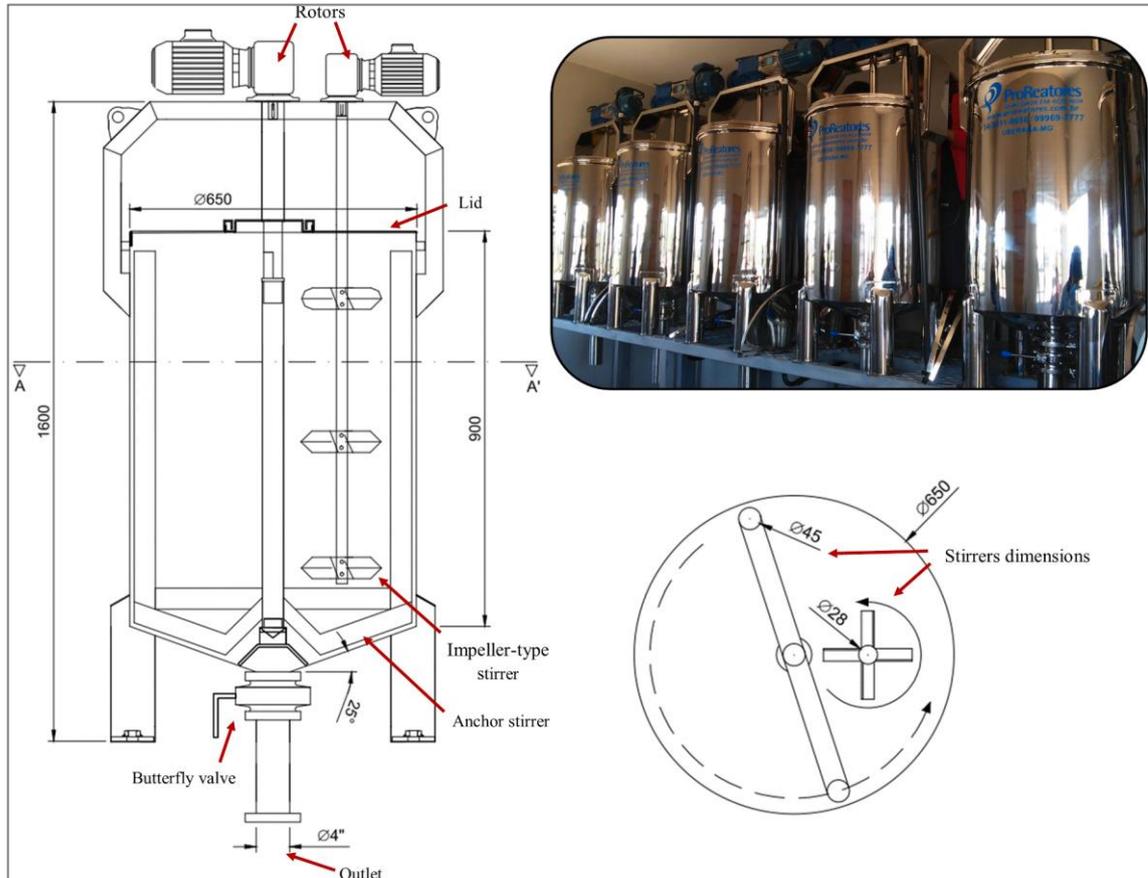
A fermentação anaeróbia induzida é um processo no qual, logo após a colheita, os frutos do café (inteiros ou descascados) são colocados em um recipiente fechado que funciona como um biorreator. No biorreator, o ar é impedido de entrar (através de um *airlock*) e o gás carbônico produzido pela fermentação expelle o oxigênio presente (KORNMAN, 2019).

A presença de oxigênio pode ser desfavorável para o processo de fermentação, porque os microrganismos podem ter várias funções ao mesmo tempo, como a respiração e a reprodução, ao invés de realizar a fermentação e produção de metabólitos secundários, que é o que ocorre na ausência de oxigênio. Dependendo da pressão do CO<sub>2</sub> presente, se atingir 40 psi, a divisão celular de microrganismos passa a ser inibida, mas eles continuam realizando os processos fermentativos (LI et al., 2015).

Uma alternativa acessível de biorreator para os produtores fazerem a fermentação de cafés pelo processo anaeróbio induzido é o uso de tambores de polietileno de alta densidade. Fermentar através desse método permite com que os produtores obtenham um produto final de alta qualidade (DA MOTA et al., 2022).

Martinez et al. (2021a) propôs um modelo de biorreator (Figura 4) com capacidade de 300L fabricado em aço inoxidável para a fermentação anaeróbia induzida. Esse biorreator foi desenhado de forma a permitir uma ótima higienização entre os processos, permitir uma ótima homogeneização durante o processo, facilitar a retirada do líquido formado durante a fermentação e facilitar o escoamento do café após o processo.

**Figura 4:** Biorreator de aço inoxidável desenvolvido para a fermentação anaeróbia de café



Fonte: Martinez et al. (2021a).

Uma grande vantagem nesse processo é não precisar usar água durante a fermentação, já que que no processo de fermentação tradicional (via úmida) gera um resíduo altamente contaminado e um problema de tratamento de efluentes para a fazenda, além de não haver perda de peso e lixiviação dos compostos do café para a água (WINTGENS, 2012).

O tempo em que o café é deixado no biorreator é variável, podendo ser de algumas horas até vários dias, seguido do processo de secagem. Utilizando o café descascado, uma quantidade menor de compostos voláteis é formada, o que gera uma bebida mais suave, mas também encorpado, com menor acidez e doçura persistente. Já o café fermentado natural (furto inteiro) apresenta acidez mais intensa, alta doçura e corpo médio (DA MOTA et al., 2022).

Esse processo pós-colheita é aplicado ao café com o objetivo de padronizar a fermentação e melhorar a qualidade da bebida, sendo conhecido por gerar bebidas de alta complexidade, intensificando especialmente o sabor frutado, além de criar outros atributos relacionados a sabores como vinho, madeira e herbal (BRESSANI et al., 2021b; DA MOTA et al., 2020; MARTINEZ et al., 2021a; PEREIRA; MOREIRA, 2020; PEREIRA et al., 2022).

### 3.5.7 Fermentação por maceração carbônica

O processo de fermentação de café por maceração carbônica foi idealizado a partir do processo aplicado a uvas, em especial na obtenção do vinho francês *Beaujolais Nouveau*. O processo é feito colocando as bagas de uva em um recipiente totalmente fechado e o espaço livre é preenchido com gás carbônico. A temperatura é mantida entre 33 e 35°C por 8-14 dias. Nessa primeira etapa, as enzimas do interior das bagas de uva são ativadas e fazem a fermentação intracelular, transformando parte do açúcar presente em álcool com a formação de gás carbônico. A partir daí, ocorre a ruptura das cascas e se inicia a fermentação por leveduras. Após essa primeira etapa, o sistema é aberto e a fermentação por leveduras continua a 20°C na presença de oxigênio até atingir o grau alcoólico desejado (AMARANTE, 2015; BORGES, 2005; SOUSA, 2005).

Para realizar o processo de fermentação de café por maceração carbônica, o tanque utilizado deve permitir a injeção de CO<sub>2</sub> dentro do sistema e ter controle de temperatura. Os frutos inteiros do café absorvem então o CO<sub>2</sub> e na ausência de oxigênio começam o processo fermentativo. A temperatura deve ser controlada de forma a manter condições ideais para a ação dos microrganismos presentes (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O processo de fermentação de cafés por maceração carbônica tem sido utilizado a pouco tempo e por isso são necessários novos estudos para compreender todas as transformações químicas que ocorre no grão. Mas o processo é uma alternativa interessante para criar sabores e diversificar o perfil sensorial de cafés (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.5.8 Processamento em tratos digestórios de animais

Embora esse tipo de processamento não seja utilizado em grandes escalas, ele chama atenção devido ao caráter exótico. Nesse processo, diferentes animais consomem o fruto do café e durante o processo de digestão ocorre o despulpamento, a desmucilagem e a interação da semente com microrganismos e enzimas presentes (FARAH, 2019; MUZAIFA et al., 2019).

O processamento mais popular que ocorre em tratos digestórios de animais, é o chamado *kopi-luwak*, que é processado pela civeta na Indonésia. No Brasil um processo parecido ocorre através do consumo de cafés por uma ave chamada de Jacú e na Tailândia há a comercialização de cafés que são ingeridos por elefantes. Para esses 3 tipos de processo, o café é expelido pelos animais em suas fezes, e eles são coletados, limpos, secos e torrados (FARAH, 2019).

Outro processo realizado por animais ocorre na Índia onde macacos coletam os

frutos, retiram as cascas e cospem as sementes, não passando por todo o trato digestório, e tendo contato somente com a saliva do animal (FARAH, 2019).

### **3.6 Secagem do café**

O processo de secagem do café tem o objetivo de reduzir a umidade dos grãos de 60% para entre 11-13%. Manter as sementes dentro dessa faixa de umidade garante a estabilidade do café, evitando o crescimento de bactérias e fungos e a oxidação durante o armazenamento e garantindo que não vai haver alterações físico-químicas e sensoriais no café (BORÉM, 2015; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

A secagem do café pode ser realizada pela exposição ao sol, através secadores mecânicos ou iniciando por uma secagem ao sol e finalizando nos secadores mecânicos. A maneira mais comum de secar o café ao sol é espalhando o em terreiro feito de concreto ou de tijolos. Outro método de secagem ao sol é o uso de terreiros suspensos, onde o café é colocado em cima de telas que ficam suspensas e assim permite um maior contato do fruto com o ar, acelerando o processo. O café pode ser seco também dentro de estufas, que permite a secagem em locais onde há maiores chances de chuva (BORÉM, 2015; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os secadores mecânicos aceleram a secagem por injetar ar quente no café. Esse método de secagem é muito utilizado para terminar a secagem e liberar espaço do terreiro em plantações muito grandes (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### **3.7 Qualidade do café**

O café é um dos poucos produtos agrícolas cujo preço varia de acordo com a qualidade. Sua qualidade está relacionada com as seguintes características do grão do café: aparência, presença de defeitos, cor, aroma e sabor da bebida produzida após a torra (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

As características de qualidade e perfil sensorial de um café é resultado de todas as etapas pelas quais a semente passa, da planta à xícara, desde a genética da planta, altitude, condições climáticas, características do solo, práticas agrícolas, e incluindo a métodos de colheita, processamento pós-colheita, método de secagem e propriedades químicas do grão (PEREIRA; MOREIRA, 2020; YERETZIAN et al., 2019).

De um modo geral a sensação percebida ao experimentar a bebida do café é uma soma de todos os estímulos no momento da prova, somando a percepção do sabor, aroma, sensação tátil da própria bebida, que é consequência do balanço entre compostos

voláteis e não voláteis presentes no grão do café, além de fatores ambientais como o som, visão e temperatura no momento da prova (FARAH, 2019).

### 3.7.1 *Cupping* para avaliação da qualidade de *C. arabica* – metodologia SCA

O processo de *cupping* ou prova do café verde é um método de avaliação sensorial de amostras que segue padrões oficiais visando eliminar diferentes variáveis durante a prova como diferenças entre graus de torra, tamanho das partículas de café durante a moagem, tempo de infusão, tempo entre torra e prova, temperatura da água durante infusão, e diversas outras variáveis que podem influenciar a percepção do provador quanto a qualidade da bebida (FARAH, 2019).

Esse processo de prova é realizado para pontuar o café segundo a sua qualidade, determinar seu preço e tomar decisões quanto a negociação de lotes de café (FARAH, 2019).

A Associação dos Cafés Especiais (Specialty Coffee Association – SCA) é uma instituição norte americana, que entre outras atividades, determina os protocolos mais utilizados para a avaliações de qualidade de cafés da espécie *C. arabica* para classificação segundo sua qualidade, treina e certifica avaliadores de café (*Q-graders*), e auxilia produtores e compradores a avaliar e precificar seus produtos (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SCAA, 2015).

Após receber o café a ser avaliado, um assistente codifica as amostras para o provador não ter acesso às informações do café a ser avaliado, como origem, produtor e processos a que foi ou não submetido. O protocolo de avaliação é composto pelas etapas de torra, preparação do *cupping*, adição de água, procedimento de avaliação sensorial pelo provador, determinação da nota final e de atributos sensoriais (SCAA, 2015).

O café deve ser torrado dentro de 24 horas antes da avaliação e deixado em repouso por pelo menos 8 horas. A torra deve ocorrer até o ponto ideal levando entre 8 e 12 minutos, e sendo resfriada logo em seguida. O grau da torra deve ser estar dentro do padrão determinado pela SCA e deve ser medido entre 30 minutos e 4 horas após a torra. Os grãos devem ser armazenados em embalagens fechadas, sem contato com o ar para evitar perda de aroma e contaminação, sempre a temperatura ambiente, até o momento da prova (SCAA, 2015).

Para a preparação do *cupping*, o café deve ser moído no máximo 15 minutos antes de ser levado a infusão. Ele deve ser colocado em um recipiente de vidro ou cerâmica (que é chamado de xícara) em uma proporção de  $8,25 \pm 0,25$  g de café para cada 150ml de água. Para cada amostra, 5 xícaras devem ser preparadas. A água deve ser adicionada ao

café moído a 93°C e deixado em repouso por 3 a 5 minutos antes de iniciar a avaliação (SCAA, 2015).

O processo de avaliação das amostras é realizado dando notas de 0 a 10 (escala em intervalos de 0,25) para cada um dos seguintes parâmetros:

- fragrância – é avaliada em dois momentos, no café moído em até 15 minutos após a moagem da amostra e após o tempo de descanso da infusão do café com a água, quando, utilizando a colher de prova é feita a quebra da espuma que forma na superfície de xícara;
- sabor, finalização, acidez, corpo e equilíbrio – utilizando a colher de prova, o café deve ser aspirado para que cubra toda a área da boca e todos os parâmetros possam ser percebidos. São avaliados alguns minutos após a infusão, quando a amostra atinge uma temperatura agradável para prova (em torno de 71°C) e deve ser provado pelo menos outras duas vezes, em diferentes temperaturas até esfriar completamente (em torno de 21°C). O equilíbrio se refere a como a característica do sabor, da finalização, da acidez e do corpo desse café se combinam;
- doçura, uniformidade e ausência/defeitos – essa avaliação é feita com o café em uma temperatura mais fria, onde, se houver falta de doçura, se houver xícaras que apresentem características de bebida não uniformes e/ou se houver presença de defeitos em alguma delas, há a redução das notas para os respectivos atributos;
- final – uma nota final é dada para a bebida do café como um todo, em todas as temperaturas;
- total – é a soma de todas as notas avaliadas (FARAH, 2019; SCAA, 2015).

A SCA disponibiliza uma ficha de avaliação (figura 5) aos provadores para padronizar e facilitar os registros de notas. Na ficha, além das notas para os parâmetros que compõe a avaliação total, o provador tem um espaço para anotar a percepções dos aromas e sabores percebidos em todas as etapas da avaliação do café (SCAA, 2015).

**Figura 5:** Ficha de avaliação da qualidade do café verde utilizada na metodologia da *Specialty Coffee Association* (SCA)

Amostra No	Fragrância Aroma	Uniformi- dade	Ausência Defeitos	Doçura	Sabor	Acidez	Corpo	Finalização	Equilíbrio	Final	Total
	Seco 10 9 8 Quebra 7 6	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	10 9 8 7 6	10 9 8 7 6	10 9 8 7 6	10 9 8 7 6	10 9 8 7 6	10 9 8 7 6	<input type="text"/>
Ponto de Torra		2 pontos-xicara	2 pontos-xicara	2 pontos-xicara		Intensidade Baixo Alta	Nível Diluído Denso				Defeitos (subtrair) Leve=2 Forte=4 Qtd Intensd <input type="text"/> X <input type="text"/> = <input type="text"/> Pontuação Final <input type="text"/>
Notas:											

Fonte: SCAA (2015).



O café é classificado de acordo com sua nota total, aonde um café com menos de 80 pontos, é classificado como um café não especial e cafés com notas acima de 80 pontos são classificados como cafés especiais. Além disso, dentro da classificação de cafés especiais, cafés com notas acima de 85 pontos são classificados como excelentes, e acima de 90 pontos são classificados como excepcionais (SCAA, 2015).

Além disso, além de atingir os 80 pontos, para ser classificado como especial, o café não pode apresentar nenhum defeito na bebida e precisa apresentar alta qualidade, ser agradável ao paladar e chamar a atenção pelo do aroma e sabor, que devem, ao mesmo tempo, complexos e agradáveis (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O provador oficial treinado e certificado pela SCA, é chamado de *Q-grader*. Para obter a certificação para atuar como provador, o profissional passa por diversos treinamentos e rigorosos exames. Para desenvolver a habilidade de prova, é necessário muito treino e experiência com outros provadores mais experientes. O provador deve desenvolver muito bem seu vocabulário de percepções, calibrar seus parâmetros para cada atributo avaliado e ter consistência em seus resultados (FARAH, 2019).

Para avaliar a qualidade do café, além da avaliação sensorial, diversas análises químicas podem ser feitas (como quantificar açúcares, ácidos clorogênicos, ácidos orgânicos, compostos voláteis), mas esses estudos não serão tão precisos para avaliar a qualidade sensorial da bebida já que, a qualidade final e as características de aroma da bebida são formadas pela interação de todos esses compostos (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### **3.8 Composição química do café verde**

A composição química do café verde, e conseqüentemente a composição dos precursores de sabor, dependem de todos os processos que o café passa, desde a característica genética da planta, os manejos agrícolas, condições climáticas e topográficas, e todos os manejos de colheita e é muito influenciada pelo método pós-colheita que o café é submetido (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

#### **3.8.1 Carboidratos**

Em torno de 50 a 54% do peso do café verde seco é composto por polissacarídeos, que também são os carboidratos predominantes, principalmente: mananas ou galactomanas (em torno de 22%); arabinogalactanas (14-17%); celulose (8%) e pectina (5%) (BORÉM, 2015; FARAH, 2019).

Dentre os carboidratos de cadeia curtas, a sacarose é o que está presente em maior quantidade (entre 4 e 12%). Em menor quantidade, estão presentes também outros açúcares como glicose, frutose, galactose, arabinose, rafinose e estaquiose (FARAH, 2019).

Os açúcares livres (carboidratos de cadeia curta) estão presentes em maior quantidade na espécie *C. arabica* do que na espécie *C. canephora*, sendo que a quantidade de sacarose, *corresponde a 5 a 12% e entre 4 a 6% respectivamente* (BORÉM, 2015; FARAH, 2019).

### 3.8.2 Proteínas

As proteínas presentes no café verde têm função importante no desenvolvimento de aromas na bebida, já que, junto com os peptídeos e amino ácidos reagem com açúcares durante a reação de Maillard na torra formando diversos compostos de aroma característicos do café torrado (FARAH, 2019).

No café verde tanto da espécie *C. arabica* quanto da espécie *C. canephora*, em torno de 11,5% corresponde a proteínas. Um terço dessas proteínas se ligam a arabinogalactanas presentes nas paredes celulares da semente do café e parte delas são enzimas como polifenoloxidase, peroxidases, cisteína proteases (FARAH, 2019).

A proteína presente em maior quantidade como reserva na semente do café verde é a 11S-globulina, que é responsável por aproximadamente 45% do total de proteínas solúveis no endosperma do café. Existem variações de características dessa proteína de acordo com espécies e variedades de café, onde algumas tem mais ou menos  $\alpha$ - e  $\beta$ -subunidades (FARAH, 2019).

Outra proteína encontrada em diversas regiões do pé de café, incluindo o fruto é a proteína 2S, com duas isoformas já descritas. Essa proteína foi descrita por ter função que envolve a resistência da semente a broca de café, e a baixa concentração nos cafés das espécies *C. arabica* e *C. canephora* explicam a susceptibilidade a esse parasita (FARAH, 2019).

Os peptídeos correspondem a 0,59% da massa seca da semente de café verde da espécie *C. arabica* e 0,43% para a espécie *C. canephora*. Para ambas as espécies, os aminoácidos mais abundantes identificados nos peptídeos são ácido glutâmico/glutamina, ácido aspártico/asparagina e glicina e o menos abundante foi a metionina. A porcentagem referente aos aminoácidos varia entre 0,15 e 2,5% no café verde (FARAH, 2019).

### 3.8.3 Lipídeos

Os lipídeos representam em torno de 15% do peso seco do café verde da

espécie *C. arabica* e 10% da espécie *C. canephora* (FARAH, 2019).

Os óleos presentes nos tecidos do interior da semente do café (endosperma) correspondem a maior parte dos seus lipídeos. Nas camadas externas, existe uma cera que recobre o grão, mas que corresponde a uma pequena porcentagem dos lipídeos totais. Essa fração lipídica é formada por trigliceróis, esteróis, tocoferóis e diterpenos. Os ácidos graxos presentes no café estão normalmente combinados a um desses lipídeos (BORÉM, 2015; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.8.4 Ácidos orgânicos

Os ácidos representam 7% da composição do café verde para a espécie *C. arabica* e 10% para a espécie *C. canephora*. Dentre os 18 ácidos alifáticos já identificados no café, os que tem maior importância para o sabor da bebida são os ácidos cítrico, málico, acético, láctico e fórmico. Os ácidos cítrico e málico correspondem a mais de 50% dos ácidos presentes no café verde e por isso tem grande importância para o processo de desenvolvimento de sabores e percepção da acidez da bebida (FARAH, 2019).

O grau de maturação dos frutos influencia muito a quantidade de ácidos presentes na semente de café, já que a degradação de açúcares que ocorre durante a maturação, incluindo a sacarose, forma ácidos alifáticos, como ácido fórmico, acético, glicólico e láctico (FARAH, 2019).

A quantidade e o tipo de ácido presentes no café verde é relacionado ao aroma que será percebido no café torrado. A presença de ácido málico gera um sabor de maçã, o ácido cítrico gera sabor de limão e a presença de ácido láctico gera um sabor amanteigado a bebida (LINGLE, 2011).

### 3.8.5 Ácidos clorogênicos (CGAs) e ácidos hidroxicinâmicos

Os ácidos hidroxicinâmicos também são metabólitos secundários da mesma classe dos ácidos clorogênicos e são encontrados em diversas plantas em sua forma livre como os ácidos cafêico, ferrúlico, sinapínico e p-cumárico. Em sua forma conjugada com outros compostos, são encontrados como os ácidos clorogênicos, ácido tartárico, ácido málico, ácido láctico, glicosídeos, ésteres de carboidratos e muitas outras formas (BORÉM, 2015; FARAH, 2019).

Os ácidos clorogênicos (CGAs) pertencem a família dos ésteres e são o maior grupo de compostos fenólicos encontrados na semente do café. Eles são formados por ácidos trans-cinâmicos e ácidos quínicos (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os ácidos clorogênicos são importantes metabólitos secundários que se

acumulam na semente do café, representando entre 7-14% do peso seco de *C. canephora* e entre 2-8% para o *C. arabica*. A maior quantidade de ácido clorogênico presente no café da espécie *C. canephora* tende a contribuir para a maior adstringência na bebida (BORÉM, 2015; FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Três diferentes grupos desses ácidos são encontrados no café: ácidos cafeoilquínicos (CQAs), que correspondem a 70-85% dos CGAs presentes no café; ácidos di-cafeoilquínicos (diCQAs), que correspondem a 10-20% do total de CGAs; e ácidos feruloilquínicos (FQAs), que corresponde a 5-10% dentre os CGAs (FARAH, 2019).

O ácido clorogênico mais encontrado no café verde é o 5-O-ácido cafeoilquínico (5-CQA) que corresponde a em torno de 60% do total de ácidos clorogênicos presentes no café, seguido de 3-CQA e 4-CQA que correspondem a em torno de 10% dos CGAs cada. Dentre os FQAs, 5-FQA corresponde a 5% dos CGAs enquanto 3-FQA e 4-FQA correspondem a 2% do total, cada. Dentre isômeros de diCQAs, 3,5-diCQA representa em torno de 7% do total de CGA, enquanto 3,4- diCQA e 4,5- diCQA juntos representam 6% dos CGAs. Outros ácidos clorogênicos presentes em menor quantidade, somados, correspondem a 1% do total de ácidos clorogênicos (FARAH, 2019).

A quantidade de ácidos clorogênicos depende principalmente da espécie e variedade do café e grau de maturação do fruto (aumenta até o fruto estar completamente formado e reduz conforme amadurece) e varia pouco de acordo com o clima, solo e práticas agrícolas. A grande quantidade de CGAs no café ainda imaturo, reflete em um defeito intrínseco do café, chamado café verde, quando ele é colhido em meio a cafés cereja no ponto de colheita (FARAH, 2019).

### **3.8.6 Cafeína e outras metilxantanas**

A cafeína é a metilxantina presente em maior quantidade no café, correspondendo a 99% do total, seguida pela teobromina. Além delas, a teofilina também já foi identificada no café, mas somente na espécie *C. canephora* (FARAH, 2019).

A quantidade de cafeína varia entre 0 e 3% no café verde seco dependendo da espécie e variedade, sendo maior na espécie *C. canephora* (entre 1,7 e 3,0%) do que na espécie *C. arabica* (entre 0,53 e 1,45%) (BORÉM, 2015; FARAH, 2019).

A quantidade de cafeína presente no café depende principalmente de suas características genéticas. Algumas variedades de *C. arabica* apresentam menor quantidade de cafeína, como a variedade Laurina, que tem em torno de 0,5% e as variedades AC1, AC2 e AC3 que tem em torno de 0,08% (FARAH, 2019).

A concentração mais baixa de cafeína presente no *C. arabica* é um dos

importantes fatores que levam essa espécie a ser mais sensíveis a fitopatógenos e estresses biológicos (FARAH, 2019).

### **3.8.7 Trigonelina**

A quantidade de trigonelina presente no café verde seco varia de acordo com a espécie e variedade da planta, podendo ter entre 0,8 e 2,9 % para a espécie *C. arabica* e 0,5 e 3,1% para a espécie *C. canephora*. Outras variáveis como local de cultivo do café e práticas agrícolas também interferem na quantidade de trigonelina presente (FARAH, 2019).

### **3.8.8 Minerais**

Os minerais presentes no café verde correspondem a em torno de 4% do peso do café verde e são compostos principalmente por magnésio, potássio, fósforo e cálcio (BORÉM, 2015).

### **3.8.9 Compostos voláteis**

No café verde já foram identificados em torno de 300 compostos voláteis diferentes. A composição dos compostos voláteis intrínsecos do café verde é importante porque podem indicar defeitos e características de qualidade que influenciarão o perfil da xícara e além de serem precursores do aroma final do café após a etapa de torra (FLAMENT, 2002; PEREIRA; MOREIRA, 2020; YERETZIAN et al., 2019).

A composição dos compostos voláteis presentes no café verde é muito diferente dos presentes no café torrado. Grande parte dos compostos responsáveis pelos aromas característicos da bebida do café não estão presentes no café verde, já que eles são desenvolvidos durante o processo de torra. Apesar disso, alguns desses compostos permanecem no café mesmo após a torra e contribui para a formação de sabor da bebida (FARAH, 2019; FLAMENT, 2002).

Os compostos voláteis encontrados em maior quantidade no café verde são dos grupos dos álcoois, aldeídos, ésteres e hidrocarbonetos. Além disso, também são encontrados em menor quantidade os grupos de ácidos, cetonas, furanos, compostos sulfurados, lactonas, piridinas, pirazinas e alquilpirazinas. Já os compostos dos grupos dos tiofenos, oxazoles e tiazoles não são encontrados no café verde e são formados durante a torra (FARAH, 2019; FLAMENT, 2002).

### 3.9 Processo de torra do café e composição química

Em torno de 50% dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor de uma bebida de café são compostos que já estavam presentes no café verde e os outros 50% são formados durante a torra a partir de compostos chamados de precursores de sabor (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

#### 3.9.1 Carboidratos

Os açúcares, principalmente a sacarose, que é o açúcar presente em maior quantidade no café, são importantes precursores de sabor, gerando vários compostos durante a torra, como os furanos, aldeídos e ácidos carboxílicos. Quase toda a sacarose presente no café verde é hidrolisada em glicose e frutose durante a torra, com redução chegando a mais de 98%. Com o aumento da temperatura, esse açúcar tem papel importante nas reações de pirólise, caramelização e reação de Maillard. Além disso, parte desse açúcar degradado forma diferentes ácidos orgânicos no café torrado (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Durante a torra, a sacarose e os carboidratos de cadeia longa (galactomananas e arabinogalactanas), participam da formação de compostos no café torrado chamados de melanoidinas. As melanoidinas são compostos de coloração marrom, que além de conferir cor ao café torrado, são descritos por terem impacto positivo a saúde do consumidor da bebida (FARAH, 2019).

Dentre os polissacarídeos, a arabinogalactanas são as mais sensíveis ao processo de torra, tendo a maior degradação nas moléculas de arabinose. As galactomananas são mais resistentes ao processo de torra, mas também sofrem um certo nível de despolimerização e degradação (caramelização, isomerização, oxidação, descarboxilação e reação de Maillard) (FARAH, 2019).

Devido a modificações na parede das células, durante o processo de torra e a modificação na estrutura dos polissacarídeos, sua solubilidade é alterada e a galactomanana passa a ser o polissacarídeo mais extraído por água quente. Por causa de características da espécie, os grãos de café da espécie *C. arabica* tem maior degradação da parede celular durante a torra e conseqüentemente maior extração de polissacarídeos em contato com a água quente (FARAH, 2019).

### 3.9.2 Proteínas

As proteínas e aminoácidos tem função muito importante durante a torra do café. A proteína 11S, que é a proteína de reserva presente no café verde em maior quantidade, sofre quebra durante o processo de torra e os peptídeos que a compõe são liberados, deixando-os livres para participarem de diversas reações, como a reação e Maillard e degradação de Strecker (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Na reação de Maillard, o grupo amino dos aminoácidos se liga ao grupo carbonil dos açúcares redutores formando uma grande diversidade de compostos que são responsáveis pelo aroma, sabor e cor do café torrado, entre eles: alquilpirazinas, oxazoles, oxazolinas, tiazoles, tiazolininas, pirroles, pirrolinas, piridinas, pirrolizinas e furfuralpirróis (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Na degradação de Strecker esses aminoácidos se juntam com compostos formados a partir da oxidação de açúcares, liberando CO<sub>2</sub>, amino cetonas e aldeídos. As alquilpirazinas formadas a partir dessa reação tem grande importância para compor as características sensoriais típicas da bebida do café, já que é o segundo maior grupo de compostos aromáticos, apenas atrás dos furanos (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.9.3 Lipídeos

A quantidade de lipídeos presentes no café torrado é maior do que no café verde. Isso ocorre porque quase não há perda nesse grupo de compostos durante a torra, e como há perda de massa do grão em geral, a porção de lipídeos passa a corresponder a uma porcentagem maior do grão (FARAH, 2019).

### 3.9.4 Ácidos orgânicos

Os ácidos presentes no café torrado são responsáveis por uma das principais características percebidas na bebida no momento da degustação, que é a acidez. Essa percepção pode ser agradável quando em quantidade equilibrada com outras características da bebida, ou pode ser desagradável, quando intensa demais ou quando tem características que remetem a alimentos estragados. A percepção de acidez na bebida é gerada principalmente por ácidos orgânicos não voláteis, e em menor proporção pelos ácidos orgânicos voláteis (que contribuem também para o aroma) (FARAH, 2019).

A acidez percebida na bebida do café é influenciada por características de espécie e variedade da planta, manejo agrícola, altitude em que o café é cultivado,

condições climáticas, método de colheita, processos pós-colheita, método de secagem, grau de torra, método de extração, já que é formado durante a o desenvolvimento e maturação dos frutos de café e durante a torra a partir da sacarose e outros carboidratos presentes no café verde (FARAH, 2019).

A torra do café é sempre feita em altas temperaturas (200-250°C) com o tempo variando entre 8 a 30 minutos, dependendo do equipamento, do grau de torra e do processo desejado. O perfil de torra influencia o desenvolvimento de sabor do café de uma forma geral, e através dele pode se atingir o melhor equilíbrio entre a acidez e o amargor da bebida (FARAH, 2019).

Parte dos ácidos presentes no café verde são degradados durante a torra: parte do ácido málico pode formar ácido maleico e ácido fumárico; parte do ácido cítrico pode formar os ácidos citracômico, glutárico, itacônico, mecacônico e succínico; o ácido ascórbico é completamente degradado (FARAH, 2019).

No início da torra, a partir dos açúcares presentes no café verde, outros ácidos são formados, e se a torra for prolongada, eles passam a ser degradados também. Até o grau de torra média, há o aumento dos ácidos acético e fórmico, que aumentam a acidez da bebida preparada a partir de grãos com torra mais clara até média. Em torras mais prolongadas, com os grãos mais escuros, há a redução desses ácidos e as bebidas geradas apresentam menor acidez (FARAH, 2019).

A degradação da sacarose, que é o açúcar livre presente em maior quantidade no café verde, gera a formação de diferentes ácidos orgânicos no café torrado. Devido a maior concentração de sacarose no café da espécie *C. arabica*, há a maior formação de ácidos durante a torra e por isso a bebida apresenta maior acidez (FARAH, 2019).

### **3.9.5 Ácidos clorogênicos (CGAs) e ácidos hidroxicinâmicos**

Os CGAs têm papel muito importante durante a torra. Como são instáveis a mudança de temperatura, os ácidos clorogênicos são degradados e envolvidos em diversas reações formando produtos que participam da modificação da cor, sabor e aroma do café (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Durante a torra, os CGAs participam das reações de Maillard e de pirólise, onde sofrem a degradação e formação de ácidos quínicos e ácido cafêico livres. Parte desses ácidos permanecem no café torrado e são geralmente relacionados com características de adstringências, além de influenciar na percepção de acidez da bebida. Parte desses ácidos reagem com produtos formados pela reação de Maillard, formando principalmente compostos voláteis, e parte participa da formação de melanoidinas (FARAH, 2019;

PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os ácidos clorogênicos também são quebrados e formam compostos aromáticos como guaiacol, 4-vinil guaiacol e compostos fenólicos, que são compostos voláteis que tem grande importância para o desenvolvimento do aroma da bebida (FARAH, 2019).

No café já torrado, os CQAs correspondem a em torno de 78% de todos os CGAs, seguido de di-CQA (5-8%) e de FQA (5-7%). Assim como no café verde, o 5-CQA continua sendo o isômero de ácido clorogênico mais abundante, representando 40% do total de CGA, seguido de 3-CQA (16%) e 4-CQA (20%). 5-FQA continua sendo o isômero de FQA presente em maior quantidade (4%) no café torrado, seguido de 3-FQA (3%) e 4-FQA (3%). Entre os isômeros do grupo diCQA, 3,4-diCQA corresponde a 3% do total de CGAs, 3,5-diCQA em torno de 2% e 4,5-diCQA a 2,5% (FARAH, 2019).

Durante uma torra média, a perda média de ácidos clorogênicos é em torno de 60%, chegando a uma maior degradação em graus mais intensos de torra, mas nesse caso também ocorre uma maior degradação dos compostos voláteis formados por esses ácidos (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### **3.9.6 Cafeína e outras metilxantanas**

Durante o processo de torra, a quantidade de cafeína e de outras metilxantanas permanecem praticamente inalterada, exceto por uma pequena perda por sublimação, já que essas substâncias são resistentes a altas temperaturas. Mas, como há perda de massa no grão do café durante a torra, a quantidade dessas substâncias passa a representar uma porcentagem maior da massa total (FARAH, 2019).

A cafeína possui sabor amargo, mas não há relação direta entre a quantidade de cafeína presente em um café e sua qualidade sensorial (FARAH, 2019).

### **3.9.7 Trigonelina**

Por ser sensível a temperatura, parte da trigonelina presente no café verde é degradada durante a torra, gerando compostos voláteis (em torno de 46%) e não voláteis. Os compostos não voláteis formados são principalmente N-metilpiridínio e ácido nicotínico. Sua degradação está ligada ao tempo que permanece em alta temperatura, assim, quanto maior o grau de torra do café, maior a degradação de trigonelina (FARAH, 2019).

No café torrado ainda permanece entre 0,03 e 1,1% de trigonelina em base seca para cafés da espécie *C. arabica* e entre 0,06 e 0,68% para cafés da espécie *C. canephora* (FARAH, 2019).

### 3.9.8 Melanoidinas

As melanoidinas são compostos nitrogenados de alto peso molecular, e apresentam coloração marrom, característica do café torrado. São formadas através da reação de Maillard no processo de torra, a partir de galactomananas, arabinogalactanas, sacarose, proteínas e ácidos clorogênicos (FARAH, 2019).

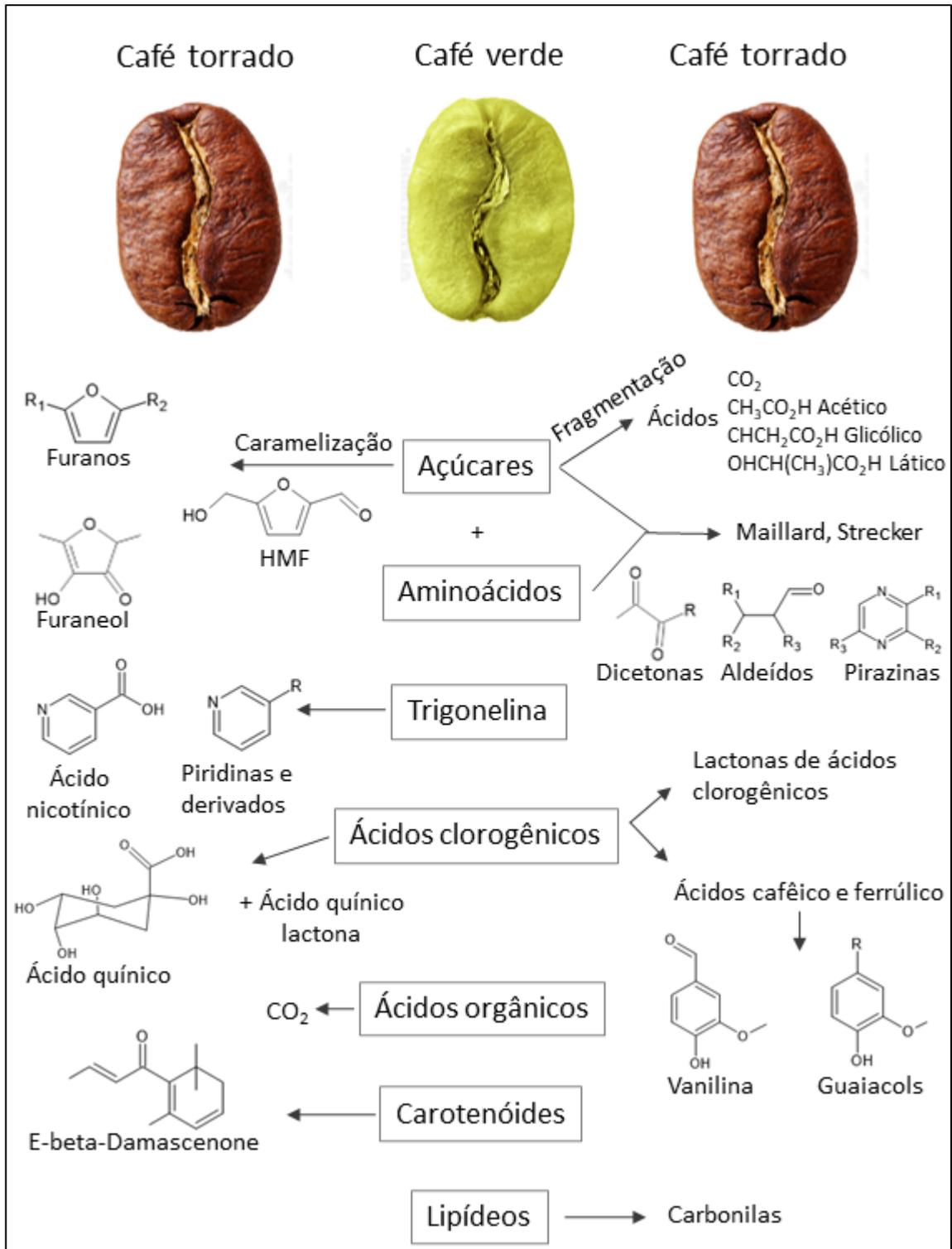
### 3.9.9 Compostos voláteis

Mais de 1000 compostos voláteis já foram identificados no café torrado, que é conhecido como um dos alimentos mais aromáticos. Dentre esses compostos, entre 38-45% pertencem ao grupo dos furanos, 25-30% pertencem ao grupo das pirazinas, 3-7% ao grupo das piridinas, 2-3% ao grupo dos pirroles e uma menor porcentagem compreende compostos de diversos grupos, como ácidos, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, compostos sulfurados e outros (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os compostos voláteis presentes no café são formados durante a torra através: da reação de Maillard; degradação de Strecker; degradação de aminoácidos; degradação da trigonelina; caramelização de açúcares, degradação de ácidos clorogênicos; degradação de lipídeos, e a interação de produtos formados durante as reações de degradação (COFFEE RESEARCH INSTITUTE, 2006).

A figura 7 mostra os principais precursores de sabor presentes no café verde, as principais rotas de formação de compostos e os compostos voláteis com maior importância para a formação de sabor do café torrado (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

**Figura 7:** Principais reações químicas que ocorrem durante a torra do café que levam a formação dos principais compostos responsáveis pelo sabor e aroma da bebida



Fonte: adaptado de Pereira, Moreira (2020).

No café torrado, já foram catalogados mais de 80 compostos voláteis do grupo dos fenóis, derivados de ácidos clorogênicos, principalmente através da degradação dos

ácidos p-coumarico, ferrulico e cafêico. Quando presentes em baixas concentrações, os principais compostos voláteis do grupo dos fenóis são descritos por ter notas agradáveis como de baunilha, cravo, anis, balsâmico, floral, mas quando presentes em alta concentração podem ter impactos negativos à bebida, trazendo adstringência, picância, amargor e notas de madeira, fumaça e medicinal a bebida (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os compostos fenol, methoxifenól, metilfenóis (cresóis), guaiacol, 4-vinil-guaiacol são os compostos voláteis do grupo dos fenóis presentes em maior quantidade. Além disso esses compostos possuem grande impacto no aroma do café já possuem baixo limite de detecção, aroma muito intenso e são importantes para a formação do aroma típico de café torrado (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os compostos do grupo pirróis derivados da trigonelina são relacionados a bebidas de baixa qualidade e descritos por estarem presentes em cafés com defeitos (FARAH, 2019).

As pirazinas e os pirróis são formados principalmente pela degradação dos ácidos cítrico, málico e acético durante a torra. Esses compostos geralmente conferem nota de nozes a bebida do café (PEREIRA et al., 2018).

As pirazinas também são formadas através da condensação e oxidação de  $\alpha$ -aminocetonas, que são derivadas da degradação de Strecker, além de também ser um produto formado pela reação de Maillard. As principais pirazinas encontradas no café torrado são: 2-etilpirazina, 2-etil-5-dimetilpirazina, 2-etil-5metilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, 2-etil-6-metilpirazina, 2,5-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-metilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 3-isopropil-2-metoxipirazina, 3,5-dimetil-2-vinilpirazina, 6,7-dihidro-5-metil-5H-ciclopentapirazina. Os aromas mais comuns desses compostos são manteiga, torrado, terra, nozes e amêndoas (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os furanos são formados principalmente a partir da caramelização (pirólise) de açúcares durante a torra, mas podem ser formados também a partir de ácidos orgânicos e ácidos graxos. Esse grupo de compostos voláteis é o grupo presente em maior quantidade no café torrado e são responsáveis por aromas como caramelo e malte. Os compostos precursores para o desenvolvimento de furanos no café torrado são a sacarose, glicose e ácidos linoleico e linolênico, que estão presentes em grande quantidade no café verde. Compostos dos grupos furanos formam aromas cítricos e herbáceos na bebida do café. Os compostos 2-metilfurano, 3-metilfurano, 2,3-dimetilfurano e 2,5-dimetilfurano, 2-etilfurano, 2-vinilfurano são importantes compostos desse grupo que apresentam principalmente aromas doces que lembram cacau e caramelo (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os principais compostos voláteis formados através da degradação da trigonelina são dos grupos das piridinas e pirroles, entre eles: metilpiridinas, etilpiridinas, 3-

propilpiridina, 3-butilpiridina, dimetilpiridinas, 3-fenilpiridina, acetilpiridinas, 2-propilpiridina, metilpiperidinas, e 2-fenetilpiperidina, N-metilpirrol, etilpirróis, pentilpirróis, isobutilpirróis, isopentilpirróis e dimetilpirróis (FARAH, 2019).

Além de ser o principal grupo de composto volátil formado pela degradação da trigonellina, as piridinas também são formadas pela pirólise de aminoácidos, degradação de Strecker e pela reação de Maillard. Os principais compostos voláteis do grupo das piridinas são piridina, 2-metilpiridina, 2,3-dimetilpiridina e 2-acetilpiridina. Os compostos desse grupo são geralmente relacionados a sabores e aromas desagradáveis na bebida do café como aroma de torrado, queimado, borracha, milho, amargor, além de ser relacionados com a sensação de adstringência (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os ácidos carboxílicos são formados a partir da quebra de carboidratos, da degradação de ácidos graxos ou da degradação de ácidos clorogênicos. Eles estão presentes em pequena quantidade no café torrado e tem como principais representantes os ácidos butanóico, octanóico, hexadecanóico e quáinico. Dependendo da concentração no café torrado, esses ácidos podem gerar um aroma rançoso, de queijo, desagradável na bebida. Mas quando presente em concentrações baixas, tendem a não ter interferência no aroma da bebida (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Os aldeídos e furanaldeídos são formados pela reação de Maillard e degradação de Strecker. Os principais compostos desse grupo são furfural, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal e hexanal. Os aromas desses compostos remetem a malte, amêndoa, grama e fruta verde e pode trazer um sabor rançoso para a bebida (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Cafés da espécie *C. canephora* possuem maior concentração de compostos voláteis do grupo das pirazinas, como: pirazina, etilpirazina, 2-etil-2-dimetilpirazina, 3-etil-2-dimetilpirazina, 1-metilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina. Além disso, outros compostos com maior quantidade nessa espécie de café foram descritos, como: 2-etenil-6-metil-pirazina, guaiacol, metiltiazol, metanotiol e tiazol (COLZI et al., 2017; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Cafés da espécie *C. arabica* possuem maior concentração de compostos do grupo dos furfurais, como: 1-(acetiloxi)-2-propanona, 2-acetilfurano, etil-6-propanoato de metilpirazina, 2-etil-5-metilpirazina, furanol, 2,3-butanodiol, acetoína e 1-hidroxi-2-butanona. Além disso, já foi descrita também a maior concentração de: 3-metilbutanal, 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, álcool furfúrico, acetato de furfurilo, furano, 2(5H)-furanona, acetaldeído e ácido 2-metilbutanóico (CAPORASO et al., 2018; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Apesar de os compostos e os grupos de compostos voláteis serem descritos por apresentarem aromas específicos, sabe-se que na maioria dos casos, os compostos individuais não são os únicos responsáveis pelo aroma da bebida e há um há um efeito

sinérgico entre diferentes compostos para a formação do aroma de maneira geral (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SUNARHARUM; WILLIAMS; SMYTH, 2014; TOLEDO et al., 2016).

### **3.10 Modificações químicas durante a fermentação do café**

A fermentação do café é um processo muito complexo devido à grande quantidade de microrganismos e enzimas envolvidos e a complexidade da composição do fruto. Diferentes processos pós-colheita e diferentes condições (como tempo e temperatura) em que são realizados, influenciam a atividade e composição da comunidade de microrganismos e enzimas presentes e como ocorre a migração de metabólitos para o endosperma do café (BRUYN et al., 2017; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

#### **3.10.1 Carboidratos**

Durante a fermentação, os microrganismos começam consumindo os compostos mais simples, que são os açúcares de cadeia curta que estão livres no substrato (monossacarídeos), principalmente na mucilagem. Depois eles passam a quebrar e consumir os carboidratos de cadeias mais longas, que são os polissacarídeos (AVALLONE et al., 2001).

Os açúcares presentes no café verde são os principais precursores de sabor e aroma, já que são degradados formando ácidos orgânicos e participam da caramelização e reação de Maillard durante a torra. Durante a fermentação, microrganismos degradam polissacarídeos presentes na polpa e na mucilagem do café, aumentando a concentração de açúcares, como a sacarose, presentes na semente, e gerando assim mais substrato para o desenvolvimento de compostos aromáticos durante a torra (PEREIRA et al., 2018; PEREIRA; MOREIRA, 2020; RIBEIRO et al., 2018).

Dependendo do tipo de fermentação e de como é conduzida, pode haver a redução da quantidade de açúcar presente nas sementes, e isso se dá: pela perda osmótica de açúcar, principalmente monossacarídeos, para a água de fermentação; pelo consumo dos açúcares pelos microrganismos; ou pelo consumo pelo próprio metabolismo da semente (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; PEREIRA; MOREIRA, 2020). No café processado por via natural, De Bruyn et al. (2017) identificou que a concentração de monossacarídeos e sacarose reduziu no endosperma durante a fermentação/secagem.

Se, durante o processo fermentativo, a semente do café ficar em ambiente com ausência de oxigênio, como ocorre quando é submerso em água, no processo de

fermentação anaeróbia induzida ou de maceração carbônica, ela entra em um metabolismo de anoxia, passando para fermentação alcoólica ou láctica no lugar da respiração, e passa a consumir carboidratos através de um processo chamado de glicólise, reduzindo a quantidade de açúcar presente (incluindo da sacarose) (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Após a fermentação por via úmida, especialmente quando realizada por um tempo mais longo, De Bruyn et al., (2017) e Elhalis; Cox; Zhao (2020) descreveram uma redução significativa na quantidade de sacarose, glicose, frutose no endosperma do café.

A redução da quantidade de açúcar no endosperma do café pode levar a redução da formação de alguns compostos durante a torra, principalmente os ácidos orgânicos (ácido fórmico, ácido acético, ácido glicólico e ácido láctico), que são importantes para o desenvolvimento do sabor da bebida, podendo assim comprometer sua qualidade (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

A quantidade de açúcares redutores presentes no café verde é relacionada com a quantidade de furanos (principalmente furfural) formados durante a torra. A redução desses açúcares durante a fermentação foi relacionada também a redução desse grupo de compostos na bebida. Mesmo com a sacarose presente em grande quantidade, a formação desse grupo de compostos ocorre em uma quantidade muito menor (NIE et al., 2013). Após a torra, uma grande redução na quantidade de furfural (20%) e de furanones (50%) no café descascado e fermentado foi descrita por Evangelista et al. (2014a) e por Lee et al. (2016b), respectivamente. Apesar de esses compostos apresentarem sabor que remetem a caramelo e açúcar queimado, que são aromas comuns da bebida do café e que podem ser positivos para a qualidade sensorial, dependendo de sua concentração, a redução desses compostos pode fazer com que outros aromas no café sejam percebidos (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

De um modo geral quando há um excesso de açúcares redutores, como a glicose e frutose no café verde, ocorre a aceleração da reação de Maillard. Se durante a fermentação, a microbiota presente tiver um metabolismo que consome uma quantidade muito maior de glicose em relação a frutose, o processo de secagem será afetado, podendo haver o desenvolvimento de microrganismos indesejados (JUNQUEIRA et al., 2022). Já se durante a fermentação ocorrer uma maior concentração de frutose na semente, vai ocorrer um escurecimento mais rápido do grão durante a torra, além da maior formação de furfural. Já se houver maior concentração de glicose na semente, há a maior produção de hidroximetilfurfural (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### **3.10.2 Proteínas**

Durante a fermentação do café ocorrem mudanças na composição dos

aminoácidos presentes no café verde. Parte dessa mudança se dá porque o desenvolvimento de microrganismos presentes na fermentação leva a degradação de proteínas, além do consumo e produção de diferentes aminoácidos (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O uso de diferentes microrganismos como culturas iniciadoras em processos de fermentação pode alterar a composição de aminoácidos livres na semente do café, aumentando (LEE et al., 2016a) ou reduzindo (LEE et al., 2017) sua quantidade, e assim impactar o desenvolvimento de sabores durante a torra (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O processo de fermentação de café pode alterar a quantidade de pirazinas presentes no café torrado, aumentando a quantidade ou reduzindo. A quantidade de pirazinas formadas no café durante a torra, é relacionada a quantidade de açúcares redutores e aminoácidos (como a fenilamina, e ácidos aspártico e glutâmico) presentes no café verde (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Lee et al. (2016a) fez um processo em que o café verde foi reidratado e fermentado (sem ser imerso na água) com a adição de um fungo filamentosos, e descreveu que para esse processo, houve um aumento na quantidade de pirazinas após a torra que foi correlacionada ao aumento de aminoácidos e açúcares redutores no café verde. Já Wang et al. (2018) fez um processo de fermentação de café por via úmida inoculando a bactéria láctica *L. rhamnosus* e notou a redução de diferentes aminoácidos no café verde, e grande redução das pirazinas no café torrado.

No processo de fermentação do café no trato digestório da civeta (café *Kopi Luwak*), foi detectada a hidrólise de proteínas do café verde, que provavelmente ocorreu pelo contato com o conteúdo gástrico e enzimas digestivas do animal com a semente do café (MARCONE, 2004).

### 3.10.3 Ácidos orgânicos

Vários ácidos são produzidos durante a fermentação do café, sendo os principais o ácido acético e o ácido láctico. Esses ácidos produzidos externamente a semente, podem penetrar e mudar sua composição química, abaixando seu pH e impactando a qualidade da bebida. O ácido láctico é muito importante no processo de redução do pH do ambiente de fermentação, que tem papel fundamental na degradação da mucilagem. O aumento na concentração desse ácido não causa impacto negativo a bebida. Já a alta produção de ácido acético, e dos ácidos butírico e propiônicos, que são produzidos quando há fermentação excessiva, podem levar ao desenvolvimento de sabores desagradáveis e até gerar uma redução na qualidade da bebida, quando produzidos em grande quantidade (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Em processo de fermentação via úmida, De Bruyn et al. (2017), Elhalis; Cox;

Zhao, (2020) e Ribeiro et al. (2018a) detectaram o aumento na concentração de ácido acético, ácido glucurônico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico e ácido succínico no café verde.

O processo de fermentação anaeróbia induzida quando realizado com o fruto inteiro (natural), levou a um aumento na quantidade de ácido acético e ácido láctico presente no café verde, e quando realizado com o café despulpado gerou um aumento na quantidade de ácido cítrico (DA MOTA et al., 2022)

A presença de CO<sub>2</sub> no ambiente de fermentação anaeróbia induzida tem efeito em algumas vias de metabolismo dos microrganismos, influenciando a produção de ácido succínico e ácido acético (DA MOTA et al., 2022; PEREIRA; MOREIRA, 2020)

#### **3.10.4 Ácidos clorogênicos**

A quantidade e composição dos ácidos clorogênicos e derivados presentes no café verde são influenciados pelo método de pós-colheita. Cafés que foram submetidos ao processo de fermentação foram descritos por terem menor quantidade de ácido clorogênico nos grãos verdes, mas ao mesmo tempo terem maior quantidade de compostos voláteis do grupo dos fenóis, como o fenol, guaiacol e vinilguaiacol. Essa redução durante a fermentação é relacionada ao metabolismo de microrganismos que produzem algumas enzimas que degradam esse grupo de compostos (LEE et al., 2016b, 2017; PEREIRA; MOREIRA, 2020; WANG et al., 2018).

Durante o processo de fermentação, bactérias lácticas tem o potencial de decompor compostos fenólicos, alterando a quantidade de ácidos clorogênicos e seus derivados do café verde. Fungos e leveduras foram descritos por degradar o ácido cafêico presente no café verde produzindo grande quantidade de compostos fenólicos voláteis mesmo antes do processo de torra (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

A quantidade de ácido ferrúlico no café verde também é alterada através do metabolismo de microrganismos (principalmente de fungos) durante a fermentação do café. A partir desse composto são formados compostos orgânicos voláteis como guaiacol, p-vinilguaiacol e vanilina (MATHEW; ABRAHAM, 2006).

No processo via úmida, geralmente ocorre há aumento na concentração de ácidos clorogênicos quando comparados com o processo via seca. Esse aumento se deve a perda de outros compostos solúveis na água da fermentação e assim a concentração dos CGAs (FARAH, 2019).

### 3.10.5 Compostos voláteis

Em estudo realizado por DA MOTA et al. (2022), os compostos voláteis ácido 3-metilbutanóico; acetato 2-furanometanol; 5-metil-2-furanocarboxaldeído; 2-furanometanol; maltol; 3-metil-1,2-ciclopentanodiona; acetona de furfural; e 1-(2-furanil)-etanona foram identificados por serem produzidos durante o processo de fermentação que ocorre durante a secagem. Mas esses mesmos compostos foram produzidos em maiores quantidades durante processo de fermentação anaeróbia induzida utilizando o fruto inteiro do café, o que provavelmente contribuiu para o aumento na qualidade que ocorreu no café através desse processo.

Em processo via úmida na Colômbia, realizado por Junqueira et al. (2019) com microbiota naturalmente presente do café, houve aumento na quantidade dos compostos voláteis aldeídos, acetaldeído, benzaldeído, benzeneacetaldeído, nonanal e octanal no café torrado e do composto 1-octen-3-ol, no café verde.

## 3.11 Microrganismos presentes no café

### 3.11.1 Microrganismos endofíticos dos frutos

Microrganismos endofíticos são fungos e bactérias que vivem naturalmente em plantas, podendo estar presentes em seus tecidos ou órgãos. Além de não causarem doenças ou nenhum prejuízo a planta em que vivem, eles possuem papel muito importante na manutenção de sua saúde, já que atuam evitando a presença de microrganismos patogênicos. Existe uma grande variedade de microrganismos endofíticos no fruto do café. Esses microrganismos apresentam grande potencial em contribuir com o desenvolvimento da qualidade sensorial da bebida do café (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Duong et al. (2021) isolou e identificou bactérias endofíticas da semente de cafés da espécie *C. canephora* em plantação no Vietnã. Os gêneros identificados foram: *Brachybacterium* sp., *Caballeronia* sp., *Curtobacterium* sp., *Methylobacterium* sp., *Mycobacterium* sp., *Nakamurella* sp. e *Paracoccus* sp.

Em análise genética da comunidade microbiana realizada por De Bruyn et al. (2017) no café cereja logo após a colheita, foram identificados principalmente bactérias da família *Enterobacteriaceae* (principalmente *Klebsiella pneumoniae*), bactérias acéticas (principalmente *Gluconobacter* sp.), bactérias relacionadas a microbiota do solo, como *Dyella kyungheensis* e poucas sequências de bactérias lácticas (principalmente *Leuconostoc mesenteroides* e *Leuconostoc pseudomesenteroides*). Em relação aos fungos, a leveduras

*Pichia kluyveri* e *Pichia fermentans* corresponderam a quase totalidade das sequencias identificadas.

### 3.11.2 Microrganismos identificados durante o processo pós-colheita

O processo de fermentação do café é um processo muito complexo que envolve uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos e enzimas. A ação desses microrganismos e enzimas pode ser positiva para a qualidade da bebida, aumentando a pontuação geral do café e criando complexidade de aromas e sabores ou pode ser negativa, gerando perda na qualidade da bebida ao criar sabores desagradáveis. Por isso é de grande importância entender quais microrganismos e enzimas estão presentes e como atuam durante os diferentes tipos de fermentação para conduzir processos que vão agregar valor ao produto (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

As mudanças químicas que ocorrem na polpa e mucilagem do café durante a fermentação, com grande formação de metabólitos microbianos como ácido acético, etanol, ácido láctico, glicerol, manitol e difusão para o interior da semente, altera a qualidade da bebida (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SILVA et al., 2008).

Diversas variáveis na produção do café como a microbiota do solo, a variedade do café, os métodos agrícolas aplicados, o período da colheita, a temperatura da região e o método pós-colheita influenciam significativamente a comunidade de microrganismos que vão se desenvolver nos frutos. Essa comunidade impacta diretamente a formação de compostos durante a fermentação, o que gera mudanças na composição química do café verde, e cafés com diferentes características sensoriais (BRUYN et al., 2017; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O metabolismo de carboidratos e de aminoácidos de microrganismos presentes na mucilagem do café é alterado durante o processo de fermentação de maneira diferente dependendo da temperatura e condições de fermentação a que é submetido, incluindo a presença ou ausência de oxigênio. Essa alteração afeta o sabor e qualidade da bebida produzida (PACHECO et al., 2018).

A interação entre leveduras-bactérias, bactérias-bactérias e leveduras-leveduras que ocorre durante a fermentação é muito complexa e ocorre através das etapas: bactérias produzem ácidos e abaixam o pH do ambiente de fermentação tornando-o mais susceptível para o desenvolvimento de leveduras; e leveduras produzem enzimas pectinolíticas e metabólitos que aumentam a capacidade antioxidante que favorecem o desenvolvimento de alguns grupos de bactérias (PEREIRA et al., 2022; SCHWAN; FLEET, 2014).

No final da fermentação, as principais bactérias encontradas pertencem ao grupo

de bactérias ácido lácticas (LAB), principalmente *Leuconostoc* sp. e *Lactococcus* sp. A presença desse grupo de bactérias é relacionada a alta produção de ácido láctico durante a fermentação (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.11.2.1 Processamento via seca – natural

Quando o café é processado via seca, ele é colhido, pode ser levado para limpeza e pode haver uma etapa de separação dos grãos por densidade. Após esse processo, o fruto é levado inteiro, com a polpa e casca para secagem. Durante o processo de secagem, como o fruto ainda tem uma alta quantidade de água (em torno de 68% no início), ocorre um processo de fermentação natural (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SILVA et al., 2008).

A microbiota presente nessa etapa de fermentação/secagem do café é composta por uma grande variedade de bactérias, leveduras e fungos filamentosos (SILVA et al., 2008). Silva et al. (2008) avaliou a população de microrganismos durante esse processo de secagem/fermentação e identificou que as bactérias encontradas em maior quantidade foram dos gêneros *Bacillus* sp., *Serratia* sp., *Enterobacter* sp. e *Acinetobacter* sp.. As leveduras corresponderam a 22% dos microrganismos isolados, e os gêneros com maior prevalência foram *Debaromyces* sp., *Pichia* sp. e *Candida* sp..

Através de análise genética da comunidade microbiana realizada por De Bruyn et al. (2017) em um processo via seca, foi identificado que bactérias acéticas são as mais abundantes, como as dos gêneros *Acetobacter* sp. e *Gluconobacter* sp., além da presença de bactérias lácticas como *Leuconostoc mesenteroides* e *Leuconostoc pseudomesenteroides*. A quantidade de sequências de fungos identificados no processo via seca foi maior do que no processo via úmida, com predominância da levedura *Pichia* sp, seguido de espécies de *Candida* sp. e *Starmerella bacillaris*.

### 3.11.2.2 Processamento do café despulpado

A fermentação que ocorre no café despulpado durante a secagem tem a tendência de gerar melhor qualidade sensorial quando ocorre com a microbiota naturalmente presente no café em maiores altitudes. Já em altitudes menores, a adição de microrganismos no café no início da etapa de secagem, pode aumentar a qualidade da bebida (PEREIRA et al., 2020).

### 3.11.2.3 Processamento por via úmida (wet-processing)

Durante a fermentação do café via úmida, a população de fungos filamentosos é sempre muito menor do que a população de bactérias e leveduras. Isso ocorre devido a um efeito de inibição de seu crescimento causado pelas leveduras. Esse efeito é muito importante para garantir a segurança do processo (FENG et al., 2016).

Em avaliação da microbiota durante um processo natural de fermentação via úmida, Nasanit; Satyawut (2015) identificou que as bactérias foram os microrganismos mais abundantes durante todo o processo, sendo encontradas com grande frequência as espécies *Enterobacter agglomerans*, *Erwinia dissolvens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus plantarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Bacillus subtilis* e *B. cereus*. A quantidade de leveduras aumentou após 24 horas de processo e os gêneros mais comuns foram *Candida* sp., *Pichia* sp, *Debaryomyces* sp., *Kluyveromyces* sp. e *Saccharomyces* sp.. O fungo filamentoso que apareceu em maior quantidade foi *Penicillium* sp., embora tenha permanecido com baixa população durante todo o processo.

Pereira et al. (2014) coletou material durante diferentes momentos da fermentação via úmida, isolou, e identificou as leveduras presentes. A população de leveduras no início da fermentação foi de 2,7 log UFC/ml, atingindo a quantidade máxima em 40 horas de fermentação com 7,15 log UFC/ml e a partir de então reduzindo até atingir 5,8 log UFC/ml no tempo final de 48 horas. As leveduras encontradas em maior quantidade durante o processo de fermentação foram: *P. fermentans*, *P. kluyveri*, *Candida glabrata* e *C. quercitrusa*. *Saccharomyces* sp. foi isolada nos tempos de 24 e 32 horas de fermentação e as espécies *P. guilliermondii*, *Pichia caribbica* e *Hanseniaspora opuntiae* foram isoladas no início do processo.

Em processo de fermentação avaliado por De Bruyn et al. (2017) no Equador, após o café ser despulpado, a bactérias *Leuconostoc* sp. passou a aumentar em quantidade e foi a predominante em todo o processo. Mas enquanto em um processo com fermentação mais curta, *Leuconostoc* sp., *Lactococcus* sp e *Weissella* sp. foram predominantes, em uma fermentação por tempo prolongado, houve um aumento na identificação e bactérias do gênero dos *Lactobacillus* sp. Isso se deve a esse último ser mais tolerante a ambientes ácidos, se desenvolvendo mais quando há maior redução no pH. A levedura *Pichia* sp. se manteve prevalente durante todo o processo, mas também houve aumento na quantidade das leveduras *Starmerella* sp. e *Candida* sp.

Pothakos et al. (2020) analisou a comunidade de microrganismos presentes na fermentação de café via úmida (*wet-processing*) no Equador através de análise da informação genética da amostra. Três fases da comunidade microbiana foram descritas: a

primeira no início da fermentação (0-8 horas) com predominância de enterobactérias (*Tatumella* sp., *Pectobacterium* sp., *Klebsiella* sp., *Pantoea* sp., *Enterobacter* sp. e *Rahnella* sp.), bactérias acéticas (*Acetobacter* sp. e *Gluconobacter* sp.), microrganismos relacionados a microbiota do solo (*Cellulosimicrobium* sp. e *Frateuria* sp.) e leveduras (*Hanseniaspora* sp., *Candida* sp., *Pichia* sp. e *Wickerhamomyces* sp.); a segunda fase (8-24 horas) com predominância de bactérias lácticas (*Leuc. pseudomesenteroides*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *hordniae*, *Leuconostoc fallax*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc inhae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella* sp., *Enterococcus* sp., e *Lactobacillus* sp.); e a terceira fase (24-64 horas) com predominância de bactérias lácticas ácido-tolerantes no final da fermentação (*Leuc. pseudomesenteroides*, *Lactobacillus vaccinoferus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Weissella* sp. e *Oenococcus* sp.). *Leuconostoc pseudomesenteroides* foi a sequência de bactéria mais abundante durante todo o processo de fermentação.

Elhalis; Cox; Zhao (2020) avaliou a microbiota presente durante processos de fermentação via úmida realizados em laboratório. As bactérias identificadas foram: *Acinetobacter lwoffii*, *Enterobacter ludwigii*, *Citrobacter koseri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Erwinia soli*, *Serratia marcescens*, *Brevibacillus parabrevis*, *Anabaena* sp., *Salmonella enterica*, *Asaia* sp., *Acetobacter persici*, *Gluconobacter cerinus*, *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactococcus lactis*. As leveduras identificadas foram: *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida xyloperis*, *Candida railenensis*, *Pichia fermentans* e *Wickerhamomyces anomalus*. No início da fermentação, as bactérias dominantes foram *Acinetobacter* sp. e *Enterobacter* sp.. Do meio para o final da fermentação, a bactéria dominante passou a ser *Citrobacter* sp.. Dentre as leveduras, *Hanseniaspora uvarum* e *Pichia kudriavzevii* foram as predominantes durante todo o processo. Já avaliando a população através de identificação genética, as bactérias da família Enterobacteriaceae foi dominante nas primeiras 24 horas de fermentação, que depois passou a ser dominada por bactérias da família do *Leuconostoc* sp. e *Lactococcus* sp.. Dentre os fungos, a família Nectriaceae foi dominante no início da fermentação, com o passar do tempo, houve o aumento na população das leveduras *Hanseniaspora uvarum*, *Candida railenensis* e *Wickerhamomyces anomalus*.

Feng et al. (2016) avaliou a microbiota naturalmente presente em um processo de fermentação via úmida realizado na província de Yunnan na China. As bactérias predominantes foram *Enterobacter cowanii*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacteriaceae bacterium*, *Rahnella aquatilis*, *Bacillus* sp. e as leveduras predominantes foram *Pichia kluyveri*, *Hanseniaspora uvarum* e *Pichia fermentans*.

Junqueira et al., (2019) avaliou a microbiota presente em um processo de fermentação via úmida na Colômbia através da análise de identificação genética da

comunidade microbiana. As bactérias lácticas do gênero *Leuconostoc* sp., foram as que tiveram maior prevalência em todo o processo, com importante contribuição no aumento de ácido láctico na amostra final. A levedura *Pichia nakasei* foi a espécie do grupo dos fungos mais abundante durante toda a fermentação, contribuindo para a formação de acetaldeídos no café.

O'byrne; Gambasica; Forero (2021) avaliou a microbiota durante 36 horas de fermentação por via úmida na Colômbia. A população de bactérias encontrada foi maior do que a de fungos durante todo o processo. A bactéria do gênero *Leuconostoc* sp., e a levedura do gênero *Kazachstania* sp., principalmente dos gêneros *K. gamospora* e *K. humilis* foram as predominantes durante o processo de fermentação. Nesse trabalho foi identificada uma relação positiva entre a presença de bactérias lácticas e bactérias acéticas e entre bactérias lácticas e leveduras durante o processo de fermentação.

Ribeiro et al. (2018a) avaliou a diversidade de bactérias durante processos de fermentação via úmida de cafés de diferentes variedades no Brasil. *Lactobacillus plantarum* e *Leuconostoc mesenteroides* foram as bactérias encontradas em maior quantidade. As bactérias mesófilas *Enterobacter* sp., *Cellulosimicrobium* sp., *Pantoea* sp. e *Bacillus* sp. também foram encontradas em grande quantidade.

#### **3.11.2.4 Processamento natural despulpado (*honey*)**

No início da fermentação que ocorre no processo *honey*, há o aumento da população e prevalência de bactérias. Conforme o café vai secando, as leveduras passam a ser dominantes (VILELA et al., 2010).

Em maiores altitudes, o café fermentado através do processo *honey* tende a ter maior qualidade quando é realizado de forma espontânea, utilizando a microbiota naturalmente presente no café do que quando é feito utilizando a inoculação de *starters* (bactérias ou leveduras). Já para cafés processados por esse método em locais com altitude menor, podem ter melhor qualidade utilizando a inoculação de microrganismos (PEREIRA et al., 2020).

#### **3.11.2.5 Fermentação anaeróbia induzida**

Quando há ausência de oxigênio no ambiente de fermentação, os microrganismos alteram seu metabolismo para realizar fermentação intracelular, transformando os açúcares presentes no meio em energia e produzindo metabólitos secundários (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Martinez et al. (2021b) avaliou a microbiota de diferentes processos de

fermentação anaeróbia induzida em diferentes altitudes, através da análise de identificação genética da comunidade microbiana. As bactérias prevalentes foram: *Gluconobacter* sp. (19,8%), *Novosphingobium* sp. (18,9%) e *Sphingomonas* sp. (12,2%) na altitude de 800m; *Weissella* sp. (32,7%) na altitude de 1000m; *Sphingomonas* sp. (36,2%) na altitude de 1200m; e *Methylobacterium* sp. (39,4%) na altitude de 1400m. As espécies de fungos mais abundantes foram: *Cystofilobasidium infirmominiatum* (15,83%), *Cystofilobasidium ferigula* (15,70%) e *Papiliotrema flavescens* (6,57%) na altitude de 800 m; *Cystofilobasidium infirmominiatum* (38,22%), *Meyerozyma caribbica* (11,45%) e *Papiliotrema flavescens* (10,27%) na altitude de 1000m; *Cystofilobasidium ferigula* (83,86%), *Wickerhamomyces anomalus* (3,22%) e *Cladosporium delicatulum* (2,54%) na altitude de 1200m; e *Cystofilobasidium infirmominiatum* (26,19%), *Cladosporium delicatulum* (10,82%) e *Meyerozyma caribbica* (10,22%) na altitude de 1400m.

Martins et al. (2020) avaliou a microbiota durante a fermentação anaeróbica induzida de cafés fermentados inteiros (natural) e descascados, cultivados em diferentes altitudes. A população de bactérias mesófilas teve comportamento diferente nos dois tipos de cafés avaliados, tendo redução no processo de café descascado e aumento no café natural, em todas as altitudes. A população de bactérias lácticas variou nos cafés despulpados, mas aumentou durante o processo de fermentação para todos as altitudes no processo do café natural. A quantidade de leveduras aumentou durante o processo de fermentação para todas as amostras. Apesar de o café de todas as altitudes ter comportamento semelhante em relação aos grupos de microrganismos, a altitude em que o café é cultivado influenciou a população de microrganismos e sua permanência durante os processos. As bactérias encontradas com maior abundância para todos os processos foram *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella paramesenteroides* e *Pantoea agglomerans*. As leveduras encontradas com maior abundância em todos os processos foram *Cystofilobasidium ferigula*, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Meyerozyma caribbica*.

Pereira et al. (2022) avaliou a microbiota naturalmente presente no processo de fermentação anaeróbica induzida utilizando o fruto inteiro do café (natural) e o café despulpado, em 4 diferentes cidades no estado de Minas Gerais (Brasil). Na análise dos microrganismos isolados durante a fermentação, os principais microrganismos identificados foram: *Arthrobacter koreensis*, *Cellulosimicrobium* sp, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei* e *Zymomonas mobilis* no café natural, e *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter oryzae*, *Bacillus cereus* e *Leuconostoc lactis* no café descascado. As espécies de bactérias lácticas mais identificadas nos dois processos foram: *Levilactobacillus brevis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus* e *Weissella cibaria*. A levedura *Torulaspora delbrueckii* foi isolada no café natural e *Hanseniaspora opuntiae* e *Pichia kluyveri* foram detectadas no café descascado. Na análise

de identificação genética da comunidade microbiana, as sequências de bactérias mais identificadas foram: *Acetobacter* sp. (28,77%), *Methylobacterium* sp. (23,15%), *Sphingomonas* sp. (9,96%), *Gluconobacter* sp. (8,12%), *Rhizobium* sp. (7,12%), e *Novosphingobium* sp. (4,96%). As sequências de fungos com maior abundância foram das espécies *Cystofilobasidium infirmominiatum* (55,89%), *Wickerhamomyces anomalus* (9,32%), *Vishniacozyma taibaiensis* (7,60%), *Udeniomyces pyricola* (4,02%), *Cladosporium sphaerospermum* (3,44%) e *Candida quercitrusa* (2,45%).

O processo de fermentação anaeróbia induzida intensifica a percepção de aromas relacionados a atributos frutados, independente se for realizado com o fruto inteiro ou despulpado e da região que foi realizado. Esse aumento na percepção é relacionado ao metabolismo de leveduras devido a sua grande capacidade na produção de compostos voláteis do grupo dos ésteres (PEREIRA et al., 2022).

As características sensoriais do café que são peculiares de cada região são evidenciadas quando o processo de fermentação anaeróbia induzida é aplicado (PEREIRA et al., 2022).

### 3.11.3 Microrganismos inoculados durante o processo de fermentação

A inoculação de microrganismos para serem utilizados como culturas iniciadoras (*starter cultures*) nos processos de fermentação de café tem a função principal de aumentar a qualidade sensorial, reduzir o tempo de processo e padronizar a qualidade e características sensoriais do café. Essa inoculação é um método economicamente viável e interessante para produzir café com características sensoriais diferentes, mas padronizando os processos, além de adicionar valor ao produto. Outro objetivo do uso de culturas iniciadoras é a inibição do crescimento de fungos filamentosos produtores de micotoxinas, evitando assim a contaminação do café (EVANGELISTA et al., 2014a; HAILE; KANG, 2019; PEREIRA et al., 2017; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Uma característica importante para a aplicação de *starters* na fermentação é que a cepa, ou a combinação de cepas, seja inoculada no café em uma alta concentração de células para que ela se sobreponha a quantidade de microrganismos já presentes no café e se torne dominante na fermentação (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

A inoculação de um tipo de microrganismo, especialmente as leveduras, para a fermentação de café, vai gerar o consumo de compostos presentes na polpa, casca e mucilagem e vai produzir metabólitos que vão permanecer no ambiente de fermentação. Esses metabólitos podem promover o rápido desenvolvimento de outro grupo de microrganismos naturalmente presentes no café, sejam outras leveduras ou bactérias. Então, o café resultante desse processo de fermentação não é gerado apenas pela cultura

inoculada, e sim pela combinação da interação desse *starter* com os microrganismos naturalmente presentes no café (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Apesar disso, a inoculação de leveduras e bactérias que funcionam como *starters* para a fermentação de café reduz a riqueza das comunidades de bactérias e fungos e a diversidade de bactérias presentes naturalmente no café (DA SILVA et al., 2022).

As culturas *starters* atuam principalmente através do consumo dos açúcares presentes na polpa/mucilagem do café, assim, é de grande importância que o café utilizado para a fermentação tenha bastante quantidade desse substrato para gerar metabólitos que aumentem a qualidade da bebida. Assim, uma etapa muito importante da fermentação do café é a colheita seletiva de frutos no ponto de maturação ideal (cereja) ou a seleção desses frutos através de seletoras ou através de equipamentos de beneficiamento que retirem os frutos verdes (imaturos), os frutos muito maduros e mal granados (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### 3.11.3.1 Leveduras

Diversos autores (ELHALIS et al., 2021; PEREIRA et al., 2014; SILVA et al., 2013) selecionaram leveduras isoladas de processos pós-colheita do café e fizeram sua propagação para inoculação em diversos tipos de processos de fermentação de café. Essa seleção foi feita avaliando a tolerância ao crescimento em diferentes temperaturas, pressão osmótica, concentração de álcool, açúcares e ácidos (acético e láctico), a capacidade de produção de enzimas que quebram pectina (como a poligalaturonase, pectina liase e pectina metilesterase), proteína, celulose e amido, a produção de álcool, a produção de ácidos orgânicos e a capacidade de produção de compostos voláteis que afetam positivamente a qualidade da bebida do café e a menor produção de compostos que afetam negativamente. Alguns compostos voláteis avaliados como positivos quando produzidos pelas leveduras foram: álcool isoamílico, álcool 2-feniletílico, etanol, acetato de etila, acetato de isoamila, acetaldeído e 2-propanona.

Dentre as cepas avaliadas por Elhalis et al. (2021), as espécies *H. uvarum* e *P. kudriavzevii* apresentaram o maior potencial para ser usadas como *starter cultures* para a fermentação de café. Dentre as cepas avaliadas por Silva et al. (2013), as cepas *S. cerevisiae* UFLACN727, *P. guilliermondii* UFLACN731 e *C. parapsilosis* UFLACN448 foram as mais promissoras, devido à grande produção de enzimas pectinolíticas, alta produção de compostos voláteis descritos como agradáveis para a bebida como acetaldeído, acetoína, furfural, ácido butírico, ácido isobutírico e 2-feniletanol. Dentre as cepas isoladas e avaliadas, *P. fermentans* YC5.2 e *Saccharomyces* sp. YC9.15 apresentaram o maior potencial para serem usadas como *starters* por produzirem a maior quantidade de

compostos voláteis do grupo dos ésteres (acetato de etila e acetato de isoamila) e por ser a levedura que teve maior produção de enzima poligalacturonase, respectivamente (PEREIRA et al., 2014).

O processo de fermentação a ser aplicado a um café e a cepa de levedura ou bactéria a ser inoculada depende da região a que será realizado, já que em cafés de diferentes altitudes elas tendem a dar resultados variados (DA MOTA et al., 2020).

Evangelista et al. (2014a, 2014b) avaliou a viabilidade da inoculação de leveduras selecionadas para fermentação de café processado via seca (natural) e observou que as leveduras permanecem no café durante todo o processo de secagem e gerou um café com qualidade sensorial agradável com notas de caramelo e frutadas. Devido a grande quantidade de microrganismos utilizada na inoculação, quando é feita utilizando leveduras da espécie *S. cerevisiae*, há um aumento considerável dessa espécie em relação aos microrganismos naturalmente presentes no café (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Bressani et al. (2018b) fizeram dois métodos de inoculação, em forma de spray direto nos frutos no terreiro e inoculando nos frutos dentro de baldes e deixando repousar por 16 horas antes de levar para secagem. Foram utilizadas 3 diferentes leveduras separadamente: *S. cerevisiae* CCMA 0543, *C. parapsilosis* CCMA 0544 e *T. delbrueckii* CCMA 0684. Fazendo a inoculação por spray, não houve diferença significativa entre a nota total do café fermentando com inoculação das leveduras e o processo controle (sem inoculação de leveduras). Já fazendo a inoculação nos baldes, as 3 leveduras apresentaram nota total maior que o controle, tendo a maior nota, o café fermentado com *S. cerevisiae*, gerando um ganho de 4 pontos na escala SCA e notas sensoriais de banana e caju. Essa amostra se diferenciou das demais principalmente por apresentar maior quantidade de pirazinas e cetonas na análise de compostos voláteis do café torrado.

Pereira et al. (2014) isolaram leveduras do processo de fermentação via úmida e selecionaram essas cepas quanto ao crescimento em diferentes concentrações de glicose e frutose, crescimento na presença de etanol, ácido acético e ácido lático, caracterizaram a atividade da enzima poligalacturonase e avaliaram a produção de compostos voláteis. Em seguida fizeram processos de fermentação via úmida em laboratório com a levedura selecionada *P. fermentans* YC5.2 pura e em combinação com *Saccharomyces* sp. YC9.15 e fez a avaliação sensorial dos cafés produzidos. A inoculação das leveduras, tanto pura quanto em combinação, aumentou a produção dos compostos voláteis etanol, acetaldeído, acetato de etila, acetato de isoamila, 2,3-butanodiona e hexanal. Comparando com o processo controle (em que não foi feita a inoculação de microrganismos), houve um aumento nas notas sensoriais de aroma frutado, amanteigado e fermentado.

O uso da levedura *Pichia fermentans* YC5.2 no processo de fermentação via úmida como cultura iniciadora gerou um café fermentado com menor produção de ácido

lático e maior pH no final do processo. Esse processo apresentou aumento na produção de etanol, acetaldeído, acetato de etila e acetato de isoamila no café torrado, que são compostos voláteis importantes para a percepção de sabores. A bebida produzida apresentou características sensoriais agradáveis como sabor de caramelo, corpo aveludado, intensa percepção de acidez láctica, cítrica e fosfórica (PEREIRA et al., 2015b).

As espécies de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543, *Torulaspota delbrueckii* CCMA 0684 e *Candida parapsilosis* CCMA 0544 foram inoculadas (individualmente e combinadas) em processos de fermentação anaeróbia induzidas por 72 horas em cafés em baixa altitude (600m). Nesse processo, a inoculação com *S. cerevisiae* reduziu a nota sensorial do café em relação ao controle (fermentação sem inoculação de microrganismos). A levedura utilizada individualmente que teve melhor avaliação sensorial foi a *C. parapsilosis*, mas ainda com avaliação muito próxima ao processo controle. A combinação de microrganismos *C. parapsilosis* e *T. delbrueckii* deu origem ao café que apresentou a melhor avaliação sensorial (85 pontos), com diferença significativa em relação ao controle (84,4 pontos) (BRESSANI et al., 2021b).

Em outro estudo, as leveduras *M. caribbica* CCMA 0198, *S. cerevisiae* CCMA 0543, *C. parapsilosis* CCMA 0544 e *T. delbrueckii* CCMA 0684 foram inoculadas em processo de fermentação anaeróbia induzida, por 27 horas, utilizando o café inteiro e o café despulpado. Para os dois tipos de processo, os cafés fermentados com a levedura *S. cerevisiae* CCMA 0543 apresentou a maior nota total na avaliação sensorial. A inoculação de leveduras produziu cafés com mais doçura, maior retrogosto e mais complexidade, embora alguns processos com inoculação de leveduras tenham gerado cafés com notas sensoriais menores ou iguais ao controle (levedura *M. caribbica* 0198 e *C. parapsilosis* 0544 no café natural e levedura *M. caribbica* 0198 no café despulpado). No processo natural, os ácidos cítrico e málico reduziram ao final da fermentação, enquanto no processo despulpado, houve a produção desse metabólito quando foi inoculado com *M. caribbica* CCMA0198 e *S. cerevisiae* CCMA0543. Nos processos de fermentação com inoculação de levedura houve aumento na quantidade de ácido succínico. A inoculação de leveduras influenciou na quantidade de compostos voláteis presentes, com menor quantidade nas amostras controle (BRESSANI et al., 2021a).

Da Mota et al. (2020) fizeram processos de fermentação anaeróbia induzida de café com o fruto inteiro e com o fruto despulpado, utilizando cafés de diferentes variedades, em diferentes altitudes, com a microbiota naturalmente presente nos frutos e com a inoculação de *S. cerevisiae* CCMA 0543 e *T. delbrueckii* CCMA 0684. Para todos os processos avaliados, o uso de leveduras inoculadas, aumentou a qualidade sensorial dos cafés produzidos em relação ao café fermentado com a microbiota natural do café. *T. delbrueckii* teve melhor ação na fermentação do café natural (fruto inteiro), em que o

processo fermentado com microbiota espontânea apresentou nota 79,25 e com o uso da levedura chegou a 85 pontos, apresentando melhora nas características de finalização doçura e acidez. *S. cerevisiae* teve melhor performance na fermentação do café despulpado, aumentando as notas para os parâmetros de corpo, acidez, doçura e finalização.

Martinez et al. (2021a) fizeram a inoculação das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* CCMA0543 e *Saccharomyces cerevisiae* CCMA0535 em processos de fermentação anaeróbia induzida utilizando o fruto inteiro do café (natural) e o café despulpado. Nas condições de fermentação (tempo de 16 horas para o café natural e 8 horas para o café descascado), os processos de fermentação com a inoculação de leveduras gerou cafés com maior nota na avaliação sensorial, com melhor desempenho da levedura *S. cerevisiae* CCMA0535, que aumentou a pontuação do café natural de 82,69 para 84 pontos e desenvolveu sabores como ameixa seca, pêssego, cítrico e floral, e o café descascado de 82,6 para 84,33 pontos e desenvolveu sabores florais e de caramelo. Esse trabalho mostrou que o uso de *starters* permite a redução no tempo de fermentação e ainda assim pode gerar um ganho na qualidade da bebida, além de aumentar o valor comercial do café.

Para Da Mota et al., (2020), de acordo com os testes realizados, o processo de fermentação anaeróbia induzida garante a melhor performance na aplicação de leveduras como *starter cultures*.

### 3.11.3.2 Bactérias

O uso de bactérias lácticas como culturas iniciadoras no processo de fermentação de café, mantém o pH do café próximo ao pH que chegaria em uma fermentação natural, já que esse grupo de microrganismo está presente naturalmente no café e tem grande desenvolvimento, especialmente nos estágios mais avançados de fermentação (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

A grande população de bactérias lácticas em diferentes tipos de fermentação de café indica que esse grupo de microrganismo é muito bem adaptado às condições ambientais e é resistente aos fatores de estresse durante o processo de fermentação como a competição com outros microrganismos, a disponibilidade de açúcares e o baixo pH (JUNQUEIRA et al., 2019).

No geral, a fermentação de diferentes produtos por bactérias lácticas é segura do ponto de vista microbiológico, já que essas bactérias produzem ácido láctico e reduzem o pH, evitando o crescimento e até reduzindo a população de microrganismos patogênicos e produtores de micotoxinas (ADESULU-DAHUNSI; DAHUNSI; OLAYANJU, 2020).

Uma importante característica desejada na seleção de bactérias lácticas para serem utilizadas como *starters* é a capacidade de consumir preferencialmente frutose no lugar de glicose. Isso ocorre porque normalmente, a glicose é consumida mais rápido durante o processo fermentativo e a maior quantidade de frutose no café, pode levar a uma demora no processo de secagem e ao crescimento de microrganismos indesejados (JUNQUEIRA et al., 2022).

O uso de *Lactobacillus plantarum* LPBR01 como *starter* em um processo de fermentação via úmida gerou um aumento na formação de compostos voláteis aromáticos como acetato de etila, isobutirato de etila e acetaldeído. Esse processo ainda gerou um café com maior qualidade e diferente perfil sensorial do que o fermentado sem a inoculação da cepa de bactéria (PEREIRA et al., 2016).

Junqueira et al. (2022) avaliou 26 cepas de bactérias lácticas isoladas de processos de fermentação de café e selecionou 8 cepas de *Levilactobacillus brevis* e 2 cepas de *Pediococcus pentosaceus* com alta capacidade de fermentar frutose. Uma das cepas de *Levilactobacillus brevis* (LPBF03) se destacou por também produzir alta quantidade de compostos aromáticos como os ésteres 1-butanol, benzaldeído, 2-nonenal e 2-pentatona.

Ribeiro et al. (2020) avaliou características de 86 cepas de bactérias mesófilas e bactérias lácticas para usar como *starters* no processo de fermentação via úmida do café. Os parâmetros redução de pH, aumento na população da bactéria, atividade pectinolítica e produção de ácidos orgânicos (lático, málico, succínico, cítrico e propiônico) foram avaliadas em meio de cultura que simula a polpa do café. Além disso algumas bactérias selecionadas foram testadas no processo de fermentação do café via úmida, onde foi avaliada a produção de ácidos orgânicos e compostos voláteis no café verde e no café torrado. Dentre as bactérias avaliadas, *Leuconostoc mesenteroides* CCMA 1105 e *Lactobacillus plantarum* CCMA 1065 apresentaram maior potencial para aumentar a qualidade do café quando usadas como *starters*, devido a formação de ácidos e compostos voláteis importantes para o desenvolvimento de aroma da bebida.

### 3.12 Enzimas presentes no café

Durante a fermentação, todas as partes dos frutos, como casca, mucilagem (polpa) e sementes, sofrem ação de diferentes tipos de enzimas. Essas enzimas estão presentes naturalmente nos frutos e no ambiente, e/ou são produzidas pelos microrganismos que se desenvolvem durante a fermentação. Elas atuam degradando diversas classes de compostos como açúcares, lipídeos, proteínas e ácidos e produzindo

álcoois, ácidos, ésteres e cetonas, que contribuem para a formação do sabor da bebida (HAILE; KANG, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020).

### **3.12.1 Enzimas envolvidas na formação e degradação de sacarose**

Ribeiro et al. (2018a) descreveu o aumento na concentração de sacarose durante o processo de fermentação via úmida, que foi relacionado à produção por enzimas presentes no endosperma do café, como a sacarose fosfato sintase. As enzimas invertase ácida e sacarose sintase também estão presentes na semente do café. A sacarose fosfato sintase tem a importante função de acumular a sacarose no endosperma durante o desenvolvimento do fruto, enquanto a invertase e a sacarose sintase tem função de quebra desse açúcar em glicose e frutose (FARAH, 2019).

A invertase é a enzima que tem maior atuação no catabolismo, ou seja, quebra, da sacarose e liberação de moléculas de glicose e frutose, que passam a ficar livres para participarem de diferentes reações (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Carvalho Neto et al. (2018) avaliaram o aumento na concentração de glicose e frutose na polpa do café durante um processo de fermentação via úmida e atribuiu esse aumento a atividade da enzima invertase produzida principalmente por leveduras.

### **3.12.2 Proteases**

RODARTE et al. (2011) isolou 144 microrganismos da superfície de frutos de café durante a secagem e armazenamento e avaliou essas culturas quanto a sua produção de proteases. Em torno de 50% dos fungos filamentosos e bactérias e algumas leveduras, foram capazes de secretar proteases, mostrando que esses microrganismos provavelmente têm essa ação proteolítica nos frutos, que tem influenciam do desenvolvimento de sabor da bebida.

Durante o processamento do café *Kopi Luwak* que ocorre no interior do trato gastrointestinal da civeta, as enzimas digestivas do animal migram para a semente, levando a hidrólise de proteínas (MARCONE, 2004).

### **3.12.3 Pectinases**

Muitos microrganismos que se desenvolvem durante a fermentação do café produzem enzimas pectinolíticas como as poligalacturonases, pectinametilesterases e as pectina liases, que despolimerizam e hidrolisam a pectina presente na mucilagem e polpa. Além disso, parte da mucilagem também é degradada por enzimas já presentes no fruto e

uma importante degradação também ocorre devido a acidificação do meio causada por metabólitos produzidos pelos microrganismos (SCHWAN; FLEET, 2014).

A enzima pectina liase catalisa a degradação da pectina pela trans-eliminação liberando ácidos galacturônicos insaturados. A enzima pectinametilesterase de-esterifica os grupos metoxils da pectina formando ácido péctico e metanol. E a enzima poligalacturonase, que é a principal enzima envolvida na fermentação do café, catalisa a hidrólise das ligações  $\alpha$ -1,4 glicosídicas liberando ácido poligalacturônico (HAILE; KANG, 2019).

Feng et al. (2016) avaliaram a atividade da enzima pectinase durante o processo de fermentação via úmida do café. Houve alta atividade dessa enzima durante todo o processo, com o máximo de atividade após 18 horas de fermentação, que coincidiu com o momento com maior população de microrganismos. Essa intensa atividade foi relacionada ao metabolismo desses microrganismos durante a fermentação, já que a maioria das bactérias e leveduras encontradas no estudo, são descritas por produzir pectinases.

Diversas bactérias e leveduras isoladas de processos de fermentação foram avaliadas quanto à produção de enzimas pectinolíticas, principalmente com a intenção de selecionar microrganismos para serem usados como *starters*. Algumas leveduras descritas por ter alta produção de enzimas pectinolíticas foram: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia fermentans*, *Pichia anomala*, *Pichia kluyveri*, *Pichia kudriavzevii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Torulaspora delbrueckii* e *Meyerozyma caribbica* (BRESSANI et al., 2018, 2021b; ELHALIS et al., 2021; HAILE; KANG, 2019; MASOUD et al., 2004; PEREIRA et al., 2014; SILVA et al., 2013). E as bactérias descritas foram: *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus konsidensis*, *Pantoea agglomerans*, *Pantoea dispersa* e *Arthrobacter korensis* (RIBEIRO et al., 2020).

Embora não sejam utilizados como *starters*, os fungos filamentosos também estão presentes, em menor quantidade, no processo de fermentação e secagem do café. O fungo da espécie *Cladosporium cladosporioides* foi isolado de grãos de café e foi avaliado quanto a produção das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase. O fungo produziu as duas enzimas em condições específicas de tempo e pH, indicando que esse grupo de microrganismos também atuam na fermentação liberando esse grupo de enzimas (BASTOS et al., 2013a).

#### 3.12.4 Polifenoloxidase

Polifenol oxidase é uma enzima presente no café verde que são liberadas e começam a agir quando as membranas celulares são danificadas. Elas oxidam os compostos fenólicos em quinonas, que reagem com proteínas formando uma serie de compostos que modificam o sabor da bebida (FARAH, 2019; SAATH et al., 2014).

### 3.12.5 Endo- $\beta$ -mannanase

A enzima endo- $\beta$ -mannanase é a principal enzima responsável pela hidrólise de mananas e galactomananas na semente do café durante a germinação. Essa enzima atua através da degradação hidrolítica da parede celular e no enfraquecimento das estruturas do endosperma ao redor do embrião. A ação dessa enzima então, permite a liberação da raiz. Além disso, essa enzima atua também no processo de deterioração da semente (FERREIRA et al., 2018; FREITAS et al., 2017).

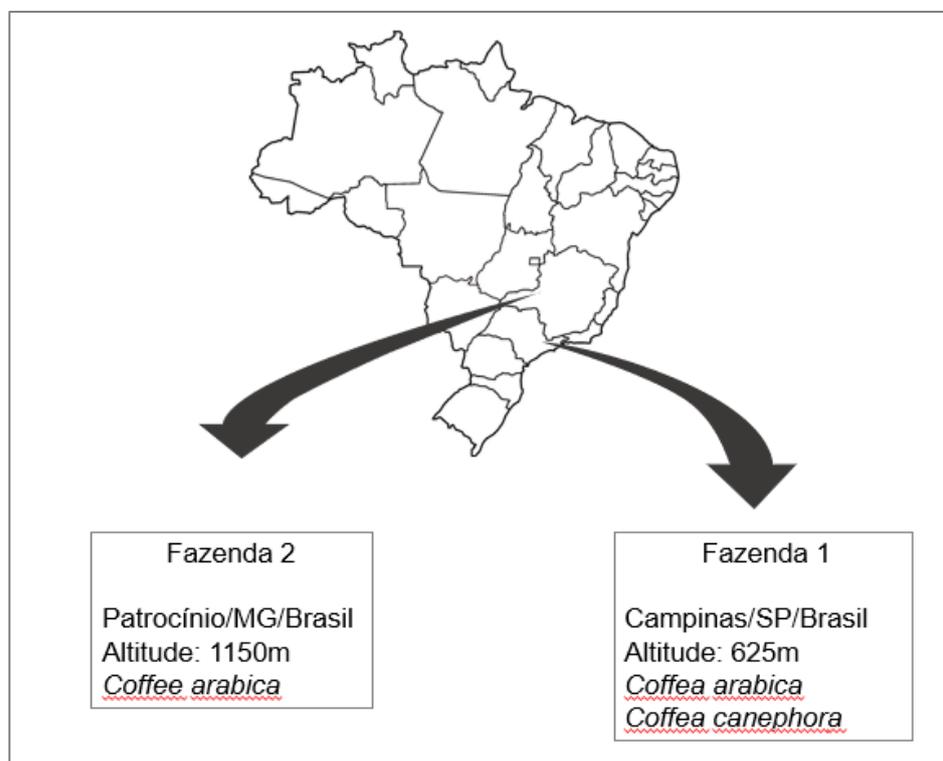
Ferreira et al. (2018) avaliaram a quantidade da enzima endo- $\beta$ -mannanase na semente no café submetido a diferentes processos pós-colheita: via seca, via úmida e despulpado. O café natural (via seca) apresentou maior atividade dessa enzima, seguido do café fermentado via úmida. O café despulpado apresentou menor atividade dessa enzima. Freitas et al. (2017) também identificaram uma maior atividade dessa enzima no café processado por via seca em relação ao café despulpado e via úmida. Esse autor fez também um teste de viabilidade das sementes após o processo e houve uma correlação inversa entre a atividade da enzima e a qualidade fisiológica do embrião. Nesse caso, o processo de fermentação via úmida gerou sementes de café com menor expressão da enzima e ainda assim maior capacidade de germinação (FREITAS et al., 2017).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Locais de coleta de amostras de café

Os processos de fermentação do café foram realizados em duas fazendas brasileiras: a Fazenda 1, produtora de café (*C. arabica*) e proprietária de uma coleção de cafés da espécie *C. canephora*, localizada em Campinas/SP/Brasil, altitude 625m (22°47'10,2"S 47°01'52,5"W); e a Fazenda 2, produtora de cafés especiais (*C. arabica*), localizada em Patrocínio/MG/Brasil, altitude 1150m (18°45'17,8"S 46°58'16,9"W) (Figura 8).

**Figura 8:** Localização das fazendas onde foram feitos os processos de fermentação anaeróbia de café

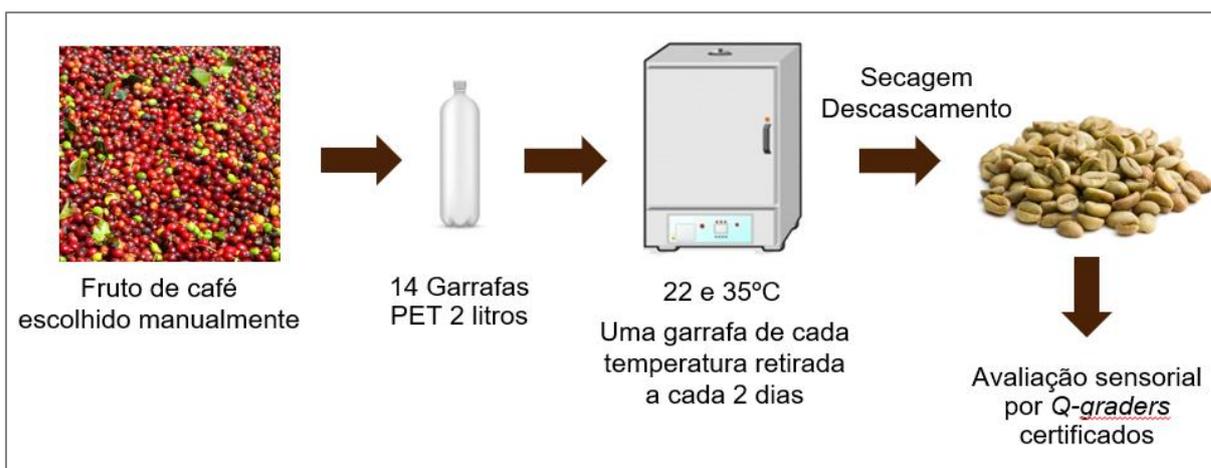


### 4.2 Teste de fermentação anaeróbia induzida de café

Na safra de 2017 foram feitos dois processos de fermentação de café para avaliação da viabilidade do processo de anaerobiose induzida e de seu potencial para o aumento de qualidade sensorial do café. Para esse teste, frutos de café da espécie arábica (*Coffea arabica*) variedade catuaí vermelho foram coletados na Fazenda 1, logo após a colheita e colocados em 14 garrafas PET de 2 litros, ocupando o maior espaço possível. Foi

coletada também uma amostra de café que não foi submetida ao processo de fermentação para ser a amostra controle. 7 garrafas cheias de frutos de café foram colocadas em estufa BOD a  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  (marca Tecnal, modelo TE-371) e outras 7 foram colocadas em estufa a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  (marca Tecnal, modelo TE-371). Uma vez ao dia a tampa das garrafas eram ligeiramente abertas somente para liberação de excesso de gás, não permitindo a entrada de oxigênio. A cada 2 dias uma garrafa incubada em cada temperatura foi aberta e o café foi colocado para secar em estufa com circulação forçada a  $40^\circ\text{C}$  até atingir umidade de 11% (marca Marconi, modelo MA035). As amostras de café foram então descascadas utilizando descascador Pinhalense DRC-2 e enviadas para avaliação sensorial por duas provadoras certificadas pela SCA (*Q-graders*) no Sindicato das Indústrias de café do Estado de São Paulo (Sindicafé). A figura 9 resume a metodologia utilizada nesse teste do processo de fermentação anaeróbia induzida.

**Figura 9:** Fluxograma da metodologia utilizada para fermentação anaeróbia induzida do café na etapa de teste



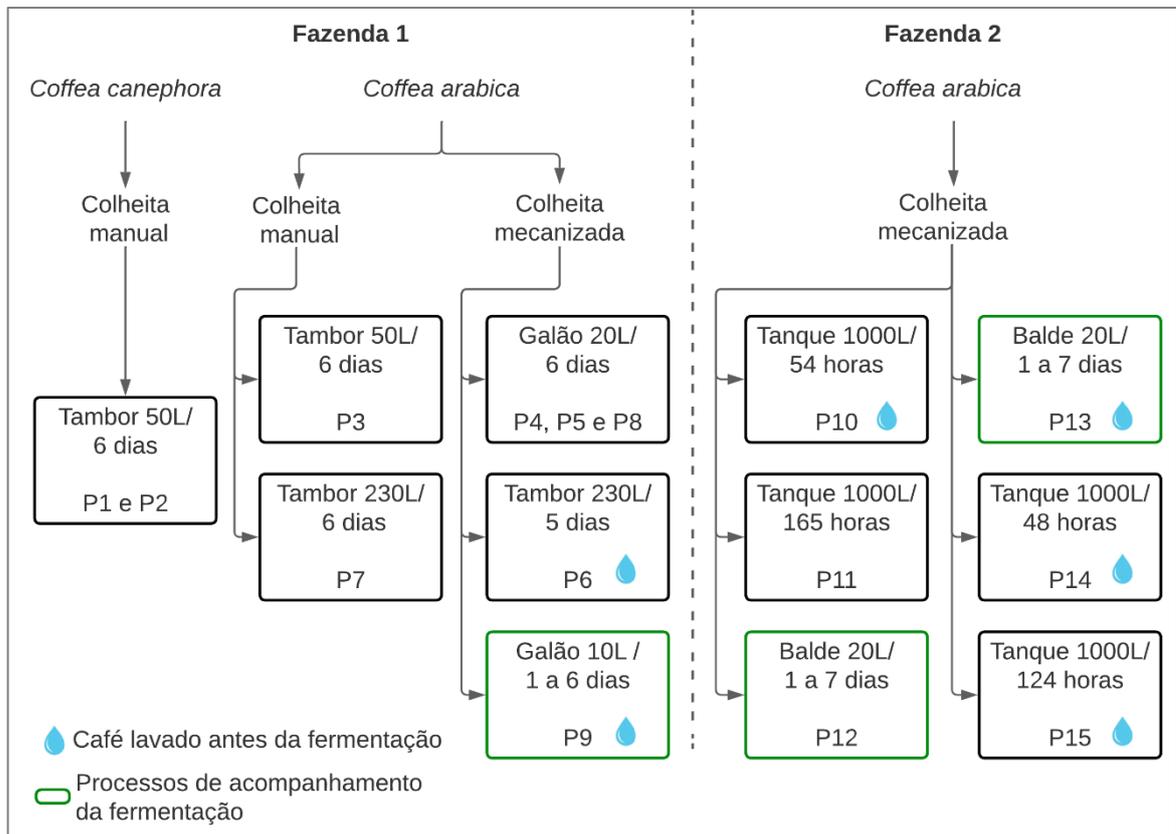
#### 4.3 Estudo do processo de fermentação anaeróbia induzida de café

A partir dos resultados do teste preliminar e do ganho de qualidade observado, vários processos foram realizados para o estudo desse tipo de fermentação de café (Figura 10). Esses processos foram conduzidos diretamente em temperatura ambiente nas fazendas, para obter as condições de processo que são utilizadas na realidade dos produtores.

Foram realizados 15 processos de fermentação anaeróbia induzida, sendo 9 na fazenda 1 e 6 na fazenda 2, utilizando diferentes espécies de café, métodos de colheita, recipientes de tamanhos diferentes, tempos de fermentação variados, além de que em

alguns processos foi utilizado o café seco, logo após a colheita e em outros, o café foi coletado após passar pela etapa de lavagem durante o benefício úmido.

**Figura 10:** Fluxograma que mostra os processos conduzidos nas Fazendas 1 e 2 para o estudo da fermentação anaeróbia induzida



P1 a P15 – Processos de fermentação anaeróbia induzida; Processos P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P10, P11, P14 e P15 foram processos realizados em uma única batelada, gerando as amostras controle (coletada antes da fermentação) e fermentada. Os processos P9, P12 e P13 foram realizados para o acompanhamento da fermentação (utilizando vários galões ou baldes), gerando a amostra controle (nesse caso chamada de tempo = 0) e uma amostra fermentada para cada dia de processo.

Para os processos de fermentação, os frutos do café foram colhidos, lavados (para retirada do café bóia por densidade) ou não, e colocados dentro dos recipientes: baldes e galões de 10L ou 20L, tambores de 50 ou 230L ou tanques de 1000L (Figura 11). Além do café, não foi adicionada água ou nenhum outro meio para fermentação dentro dos recipientes. Os recipientes foram tampados, vedados com fita adesiva 48 mm Adelbras®, e foi colocada uma mangueira de silicone Inversa® 10 mm x 6 mm na tampa, com saída mergulhada num recipiente de água para escape e observação do gás produzido (Figura 12).

**Figura 11:** Recipientes utilizados para processos de fermentação de café

Galão 10L (P9)



Galão 20L (P4, P5 e P8)



Balde 20L (P12)



Balde 20L (P13)



Tambor 50L (P1, P2 e P3)



Tambor 230L (P6 e P7)



Tanque 1000L (P10 e P11)



Tanque 1000L (P14 e P15)



**Figura 12:** Mangueira que permite a liberação de ar do recipiente de fermentação



Os processos P9, P12, P13 foram realizados para acompanhar o processo de fermentação. Para isso, um lote de café foi homogeneizado, uma amostra controle foi retirada (e nesse caso foi chamada de tempo = zero), e em cada processo, vários galões ou baldes foram fermentados com a mesma amostra de café e, a cada dia, um recipiente foi aberto no mesmo horário, para coletar amostras para análises.

Para monitorar a temperatura durante a fermentação em alguns processos foram colocados, através da mangueira de saída de ar, pelo menos 1 termopar tipo T dentro do recipiente de fermentação e outro no ambiente, próximo do recipiente em fermentação. Os dados de temperatura dos termopares foram adquiridos a cada 10 segundos e salvos em registrador de dados (modelo Almemo 2890-9, marca Alborn, Alemanha). A planilha com a história térmica da fermentação foi depois transferida através de uma interface serial a um computador e analisada utilizando o Microsoft Excel.

Antes do processo (controle) e logo após a abertura do recipiente de fermentação, amostras do fruto do café (em torno de 500g) foram coletadas em sacos estéreis e congeladas. Essas amostras foram utilizadas para as análises de pH e acidez, análises microbiológicas e análises enzimáticas.

Logo após o processo, todos os cafés foram secos com casca, sempre nas mesmas condições do controle, em terreiro ou terreiro suspenso. Após atingir a umidade adequada ( $11 \pm 1\%$ ), foram descascados em descascador de amostras (modelo DRC-2, marca Pinhalense, Brasil), separados por peneiras padrão (utilizando peneiras de separação de café da marca Pinhalense) e escolhidos à mão para retirada de defeitos (como grãos verdes, pretos, concha). Os cafés foram todos embalados em embalagem Grain-Pro® para o tamanho da amostra e foram enviados para análise sensorial.

A partir do resultado da análise sensorial, 5 processos foram escolhidos, dos quais amostras de cafés verdes e torrados foram utilizados para diferentes análises físico-químicas e comparação com os cafés controle e fermentados.

Para identificação de cada amostra, os processos foram nomeados com a letra P (processo) e um número (exemplo P1), e com a letra C ou F, indicando se é amostra controle ou fermentada, respectivamente. P1\_C se refere então a amostra do processo 1 controle. Para os processos de acompanhamento (P9, P12 e P13), os processos foram identificados também com um número, referente ao dia de fermentação, por exemplo: P12\_0 se refere ao processo P12 e dia 0, que é a amostra controle, sem ser fermentada; e a amostra P12\_4 se refere ao processo P12, no dia 4 de fermentação.

#### **4.3.1 Análise sensorial**

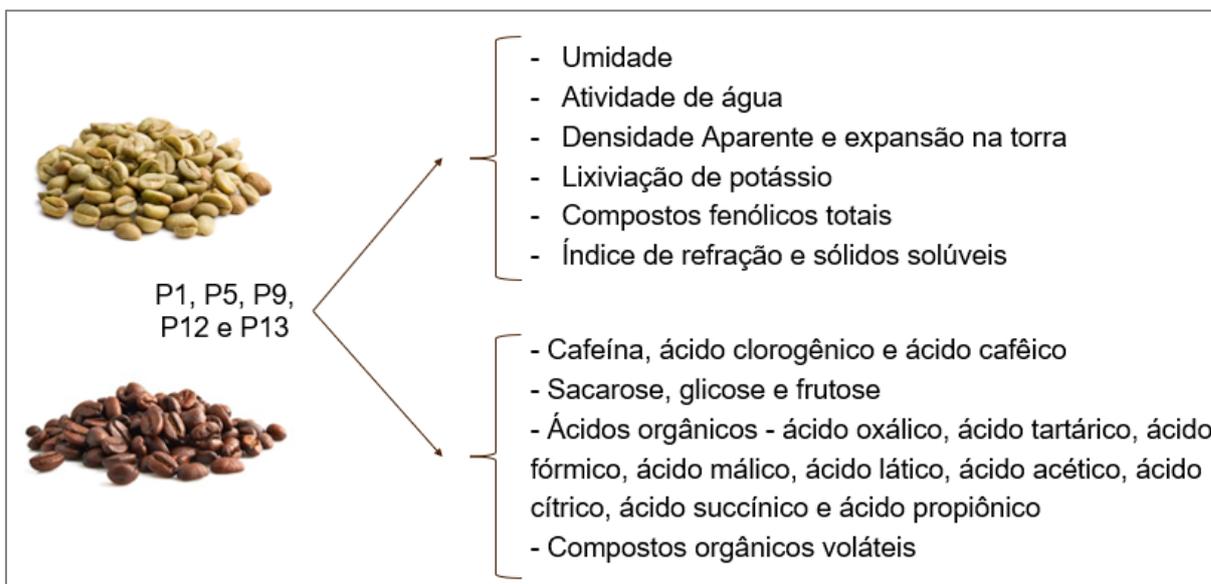
Todas as amostras de café verde seco foram torradas em torrador Probatino (Probat, Alemanha) de 8 a 12 minutos atingindo a temperatura máxima de 200 °C. As amostras foram moídas em moinho de amostras (modelo G3A HD, marca BUNN, EUA) de acordo com especificações da SCA (2015). A avaliação sensorial foi realizada em laboratório com certificação internacional no Sindicato das Indústrias de Café do Estado de São Paulo por três provadores de café também certificados (*Q-Graders*) utilizando a metodologia oficial da SCA (SCAA, 2015). Foram avaliadas a fragrância, o sabor, a acidez, o corpo, a uniformidade, a ausência/defeitos, a doçura, a finalização, o equilíbrio, a impressão geral, a nota total, além da descrição dos atributos sensoriais percebidos nos cafés.

Esse projeto foi enviado e a análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP, de acordo com CAAE nº 87548718.2.0000.5404.

#### **4.3.2 Análises físico-químicas**

A partir do resultado da análise sensorial, os 5 processos que tiveram maior ganho de qualidade através da fermentação anaeróbia induzida (P1, P5, P9, P12 e P13) foram escolhidos para serem avaliados quanto a sua composição físico-química. As análises foram feitas nas amostras controle e fermentadas. A Figura 13 mostra as análises realizadas, que são descritas a seguir.

**Figura 13:** Análises físico-químicas realizadas em amostras (controle e fermentadas) dos 5 processos de fermentação anaeróbia induzida que apresentaram maior ganho de qualidade sensorial



#### 4.3.2.1 Umidade

A análise de umidade do café verde foi realizada de acordo com metodologia ISO 6673 (ISO, 2003), que consiste em secar 5g de amostra, em cadinho de alumínio previamente tarado, em estufa com ventilação forçada (modelo TE-394-2, marca Tecnal, Brasil) a 105°C/16horas.

#### 4.3.2.2 Atividade de água

A atividade de água ( $A_w$ ) do café verde foi determinada utilizando equipamento de ponto de orvalho (modelo Aqualab 4TE, marca Decagon, USA).

#### 4.3.2.3 Densidade aparente e expansão na torra

A densidade dos grãos verdes e torrados foi calculada a partir da pesagem de 50 g do grão e medida do volume em proveta de 100 ml. Os grãos foram colocados na proveta aos poucos e foram colocados sobre mesa agitadora para acomodação dos grãos durante 1 minuto. Após esse período foi anotado o volume ocupado. A expansão do volume

que ocorreu durante a torra do café foi calculada utilizando a equação (1), descrita por (SHOLZ et al., 2013):

$$\text{Exp (\%)} = ((V_{\text{tor}} - V_{\text{ver}}) \times 100) / V_{\text{tor}}, \quad (1)$$

Onde,

Exp = expansão de volume (%)

V<sub>tor</sub>: volume do café torrado;

V<sub>ver</sub>: volume do café verde.

#### **4.3.2.4 Condutividade elétrica e Lixiviação de Potássio**

A análise de condutividade do café verde foi realizada utilizando condutímetro MS Tecnopon de acordo com metodologia descrita por (PRETE, 1992).

Utilizando o mesmo líquido da leitura da condutividade, foi realizada a análise de lixiviação de potássio através de espectrometria de absorção atômica em chama (equipamento modelo NovAA 300, marca Analytik Jena, Alemanha).

#### **4.3.2.5 Compostos fenólicos totais**

A determinação dos compostos fenólicos totais em café verde e em café torrado foi realizada utilizando metodologia de extração descrita por (JESZKA-SKOWRON; STANISZ; DE PEÑA, 2016) e determinação utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e ácido gálico como padrão, conforme descrito por (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999) utilizando espectrofotômetro UV (modelo Cirrus 80, marca Femto, Brasil).

#### **4.3.2.6 Índice de Refração e sólidos solúveis**

O índice de refração foi determinado através de metodologia descrita em (AOAC, 2016) utilizando refratômetro de bancada (modelo R2I300, marca Reichert Technologies, USA). A quantidade de sólidos solúveis foi calculada através da correlação (2) (CONTADOR, BRAGA, SCHMIDT, 2019 não publicado):

$$y = 1,201x + 0,0847 \quad (2)$$

onde,

$y = \text{°Brix } (\%)$ ;

$x = \text{concentração de sólidos solúveis } \%$ .

#### **4.3.2.7 Melanoidinas**

A análise de melanoidinas nos cafés torrados foi feita através de quantificação em espectrofotômetro (modelo Cirrus 80, marca Femto, Brasil), de acordo com metodologia descrita por (PÉREZ-HERNÁNDEZ et al., 2013).

#### **4.3.2.8 Cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico**

As quantidades de cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico foram determinadas para o café verde e para o café torrado, através de cromatografia líquida de alta eficiência. Essa análise foi realizada no laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciência e Qualidade dos Alimentos (CCQA) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). O equipamento utilizado foi HPLC Shimadzu equipado com bomba quaternária LC-20AT com degasser; Injetor Rheodyne 7725i injector (20  $\mu\text{L}$  sample loop) e Detector Arranjo de Diodos (DAD) SPD-M20A, com coluna cromatográfica Merck Lichrocart 250-4 – 150833.001 (5 $\mu\text{m}$ ) 4,0x250 mm, com coluna cromatográfica Merck Lichrocart 250-4 – 150833.001 (5  $\mu\text{m}$ ) 4,0x250 mm, de acordo com metodologia descrita por (TFOUNI et al., 2012). A extração foi feita pesando 0,50 g da amostra em 70 ml de Metanol:Água (80:20) e colocado em banho de ultrassom por 10 min. A solução foi filtrada em um balão volumétrico e o volume foi completado para 100 ml. A amostra foi clarificada utilizando solução de ferrocianeto de potássio e solução de acetato de zinco. O sobrenadante foi filtrado em membrana de PVDF 0,45  $\mu\text{m}$  e foi feita a injeção. Foram utilizadas 2 fases móveis, uma composta de água (pH 2,7) + 1 g/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ; e a segunda de acetonitrila com gradiente variando durante a análise (8% entre 0 e 25 min; rampa até 80% entre 25 e 30 min; 80% entre 30 e 35 min; rampa até 8% entre 35 e 40 min; e 8% entre 40 e 45 min), com fluxo constante de 1,0 mL/min. A detecção do ácido clorogênico e ácido cafêico foi feita no comprimento de onda de 324 nm e 272 nm para cafeína.

#### **4.3.2.9 Sacarose, glicose e frutose**

As quantidades de sacarose, glicose e frutose foram determinadas nos grãos verdes e nos grãos torrados. Essa análise foi realizada no laboratório de Química de

Alimentos do Centro de Ciência e Qualidade dos Alimentos (CCQA) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). Foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência (YL9100 HPLC System) com detector de índice de refração, bomba isocrática e forno de coluna equipado com coluna de NH<sub>2</sub> (250 x 4,6 mm, 5 µm) Luna Phenomenex.

A extração dos açúcares da amostra foi feita de acordo com metodologia descrita por (BURGNER; FEINBERG, 1992), em que 5 g da amostra foram diluídas em 50 ml de água deionizada e, em seguida, homogeneizadas em agitador orbital por 2 horas. A amostra foi clarificada utilizando 2 mL de solução de ferrocianeto de potássio 15% e 2 mL de solução de sulfato de zinco 30%, e mantida em repouso por 60 min. Em seguida foi filtrada em filtro qualitativa e utilizando filtro de seringa diretamente em vial de 2 ml para a injeção.

A fase móvel utilizada foi acetonitrila:água deionizada (80:20, v/v), filtrada e degaseificada com vazão de 1 mL/min (constante). A temperatura do forno da coluna e do detector de índice de refração foi de 30 a 40 °C e a válvula de injeção foi do tipo Reodyne com loop de 20 µL.

A identificação dos picos dos compostos foi feita através de comparação com os tempos de retenção obtidos nos padrões injetados. Os teores de cada um dos açúcares foram expressos em g/100 g de amostra.

#### **4.3.2.10 Ácidos orgânicos**

As quantidades de ácido oxálico, ácido tartárico, ácido fórmico, ácido málico, ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico, ácido succínico e ácido propiônico foram determinados no café verde e no café torrado, através de cromatografia líquida. Essa análise foi realizada no laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciência e Qualidade dos Alimentos (CCQA) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). O equipamento utilizado foi HPLC Shimadzu equipado com bomba quaternária LC-20AT com degasser; Injetor Rheodyne 7725i injector (20 µL sample loop) e Detector Arranjo de Diodos (DAD) SPD-M20A, com coluna cromatográfica Merck Lichrocart 250-4 – 150833.001 (5 µm) 4,0x250 mm, seguindo metodologia descrita por (KORDIŠ-KRAPEŽ et al., 2001). Para a extração, pesou-se 1,00 g da amostra e adicionado 70 ml de água, colocado em banho de ultrassom por 10 min. A solução foi filtrada em um balão volumétrico. A amostra foi clarificada utilizando solução de ferrocianeto de potássio e solução de acetato de zinco e o volume foi completado para 100 ml. O sobrenadante foi filtrado em membrana de PVDF 0,45 µm e foi feita a injeção. A fase móvel utilizada foi água pH 2,5: Metanol (95:5) em um fluxo constante de 1,0 mL/min. A detecção foi feita no comprimento de onda de 210 nm.

#### 4.3.2.11 Análise de compostos orgânicos voláteis (VOCs) por HS-SPME/GC-MS

A análise de compostos orgânicos voláteis foi realizada no laboratório de Bioaromas, no departamento de Ciência de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

As amostras de café verde e café torrado foram trituradas em moinho de amostras (modelo IKA A11, marca IKA-Werke GmbH & Co., Alemanha) adicionando nitrogênio líquido para uma pulverização homogênea. Imediatamente após a moagem, 1,5 g do café foi pesado em um vial de 20 mL e foi selado com tampa magnética com septo de PTFE/Silicone. A microextração em fase sólida (SPME) foi realizada em banho de 50 ± 1 °C. Após 10 minutos de equilíbrio, a fibra DVB/CAR/PDMS (Sigma-Aldrich) foi exposta ao *headspace* por 30 minutos. A dessorção dos compostos voláteis da fibra foi feita no injetor do equipamento em *splitless* modo a 230 °C por 5 minutos.

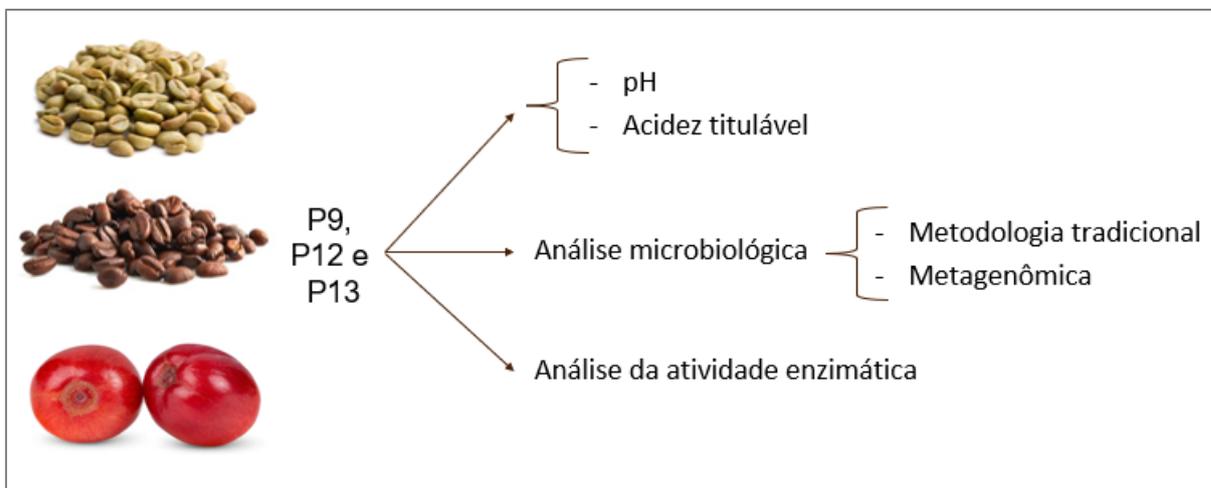
Os compostos voláteis que foram dessorvidos da fibra, foram separados em um sistema de cromatografia gasosa em equipamento (modelo 7890A, marca Agilent Technologies) equipado com coluna GC DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,15 µm) e com detector Agilent 5975C inert MSD com Triple-Axis Detector, usando gás hélio como gás carreador. A temperatura do forno do GC foi programada para se manter a 50 °C por 5 minutos, aumentar até 190°C (com velocidade de 3 °C/minuto) e se manter nessa temperatura por 10 minutos. As temperaturas do injetor e detector se mantiveram a 230 e 240 °C, respectivamente. O gás carreador foi mantido a uma taxa de vazão de 1 mL/min. A temperatura da fonte de íons e a temperatura de interface foram definidas em 230 °C. O MS foi escaneado entre 45-650 unidades de massa atômica em 70 eV. O tempo total da corrida foi de 61,6 minutos. Os compostos voláteis foram identificados utilizando a base de dados NIST 14.0 e o Índice de Retenção Linear (LRI) calculado através da injeção de um padrão de n-alcanos (C7-C40, marca Merck) com as mesmas condições de corrida.

Os picos de compostos foram identificados tentativamente utilizando a biblioteca NIST, comparando o espectro de massa e o índice de retenção linear (LRI) com a literatura e verificando se os compostos já foram descritos na literatura como presentes em amostras de café.

#### 4.3.3 Acompanhamento da fermentação

A partir dos 3 processos que foram conduzidos para o acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P13), em que 1 recipiente foi aberto em cada dia, foram feitas as análises mostradas na Figura 14 e que são descritas a seguir.

**Figura 14:** Análises realizadas nas amostras dos processos de acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P13)



#### 4.3.3.1 pH e acidez titulável

A acidez titulável das amostras de café verde e torrado foi realizada de acordo com metodologia (AOAC, 2016) e para a casca/polpa do fruto do café foi utilizada metodologia (IAL, 2008). As análises foram feitas utilizando pHmetro digital de bancada (modelo DM-20, marca DIGIMED, Brasil) e solução de NaOH 0,01 mol.L<sup>-1</sup> até atingir o pH = 8,2.

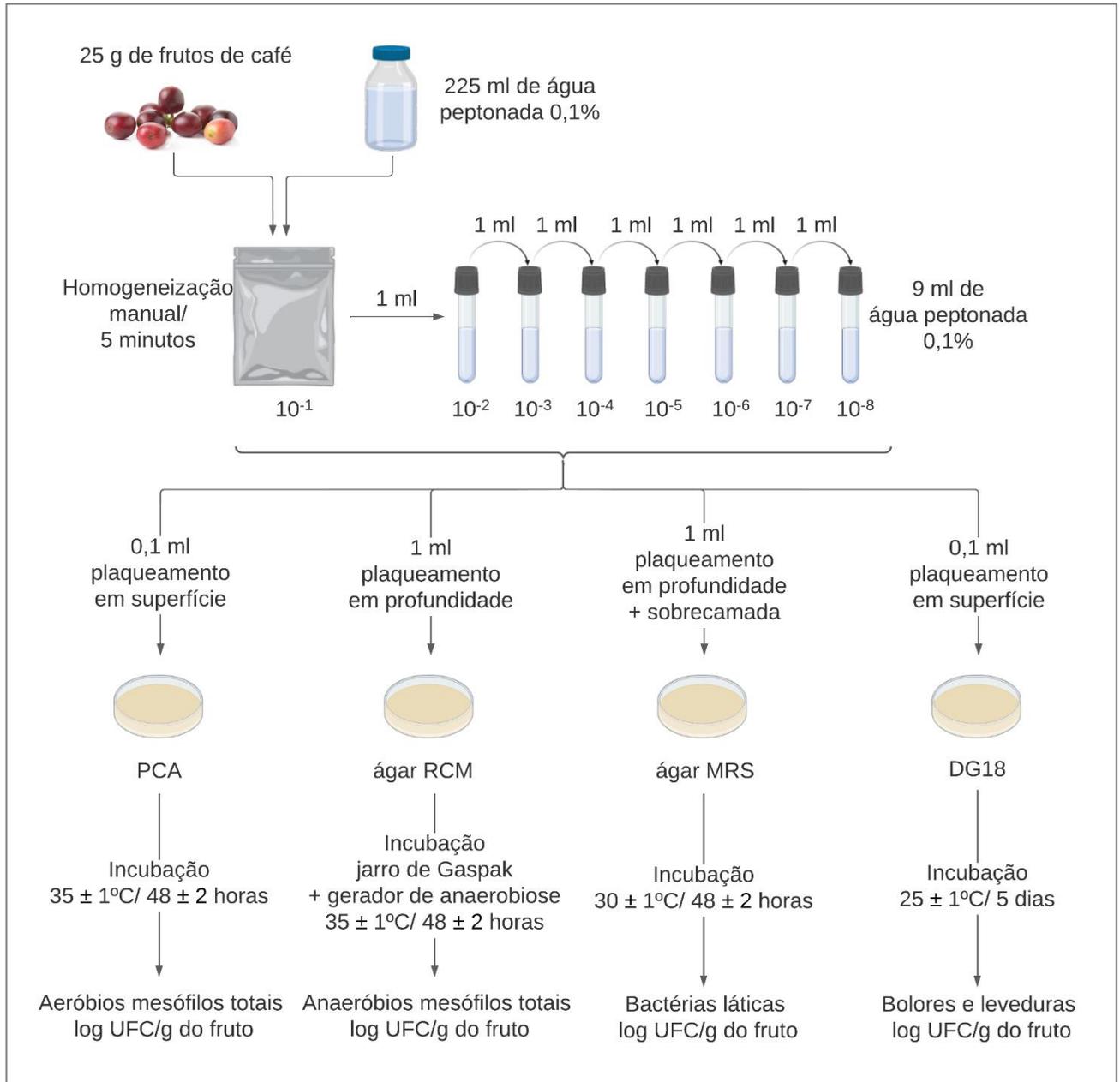
O pH do extrato foi determinado utilizando o mesmo pHmetro (modelo DM-20, marca DIGIMED, Brasil). O volume de 25 ml do filtrado foi diluído em 75 ml de água deionizada e foi feita a titulação com NaOH 0,01 mol.L<sup>-1</sup> até atingir o pH = 8,2.

#### 4.3.3.2 Análises microbiológicas

##### 4.3.3.2.1 Análise microbiológica tradicional

Todas as amostras de fruto de café do teste de avaliação do processo de fermentação (P9, P12 e P13) foram submetidas às análises microbiológicas tradicionais (Figura 15) descritas por Silva et al. (2010).

**Figura 15:** Análises microbiológicas tradicionais realizadas com amostras dos frutos de café dos processos de acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P13)



Para o preparo das amostras, 25 g de frutos do café foram pesados em bolsa estéril e foi adicionado 225ml de água peptonada 0,1%. As amostras foram homogeneizadas manualmente por 5 minutos, garantindo o rompimento da casca de todos os frutos e exposição das sementes. A partir da bolsa, foram feitas diluições seriadas até 10<sup>8</sup> (SILVA et al., 2010).

Para a análise de bactérias aeróbias mesófilas totais, o plaqueamento foi feito

colocando 0,1ml de cada diluição na superfície de uma placa contendo o meio de cultura PCA. Essa placa foi incubada invertida em estufa bacteriológica a  $35 \pm 1^\circ\text{C}/48 \pm 2$  horas. Em seguida foi feita a contagem e o resultado foi expresso em log de unidades formadoras de colônias (UFC)/ g do fruto de café (SILVA et al., 2010).

Para a análise de bactérias anaeróbias mesófilas totais, o plaqueamento foi feito em profundidade colocando 1ml de cada diluição em uma placa de petri vazia, em seguida foi colocado o meio de cultura ágar RCM. As placas foram colocadas, invertidas, dentro de jarro de Gaspak e foi colocado um gerador de anaerobiose. O jarro com as placas foi incubado em estufa bacteriológica a  $35 \pm 1^\circ\text{C}/48 \pm 2$  horas. Após a contagem, o resultado foi expresso em log de unidades formadoras de colônias (UFC)/ g do fruto de café (SILVA et al., 2010).

Para a análise de bactérias lácticas, 1ml de cada diluição foi colocada em placa de petri vazia e o plaqueamento foi feito em profundidade com sobrecamada utilizando o meio de cultura ágar MRS. As placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica a  $30 \pm 1^\circ\text{C}/48 \pm 2$  horas. Após a contagem, o resultado foi expresso em log de unidades formadoras de colônias (UFC)/ g do fruto de café (SILVA et al., 2010).

Para a análise de bolores e leveduras, foi feita a inoculação de 0,1ml de cada diluição na superfície de em placa de petri contendo o meio de cultura DG18. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a  $25 \pm 1^\circ\text{C}/ 5$  dias. Após a contagem, o resultado foi expresso em log de unidades formadoras de colônias (UFC)/ g do fruto de café (SILVA et al., 2010).

#### **4.3.3.2.2 Identificação genética da comunidade microbiana**

As mesmas amostras de café utilizadas para contagem de microrganismos através de metodologia tradicional foram enviadas congeladas em gelo seco para análise de identificação genética da comunidade microbiana pela empresa Neopropecta (Av. Luiz Boiteux Piazza, 1302 - Canasvieiras, Florianópolis - SC, 88056-000).

##### **4.3.3.2.2.1 Enriquecimento e extração de DNA**

Utilizando um saco estéril, 25 g de amostra do fruto de café foi homogeneizadas manualmente com 225 mL de solução salina triptonada 0,1%, durante 5 minutos, rompendo a casca do fruto e expondo a semente. Para análise de bactérias, as bolsas foram incubadas em estufa bacteriológica a  $35 \pm 1^\circ\text{C}/24$  horas e para a análise de fungos, as bolsas foram incubadas na mesma temperatura por 48 horas. Em seguida, foi realizada a

extração do DNA da solução utilizando a técnica de *beads* magnéticas, com protocolo próprio da empresa (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil).

#### **4.3.3.2.2 Sequenciamento de alto desempenho de genes das regiões 16S (bactérias) e ITS (fungos)**

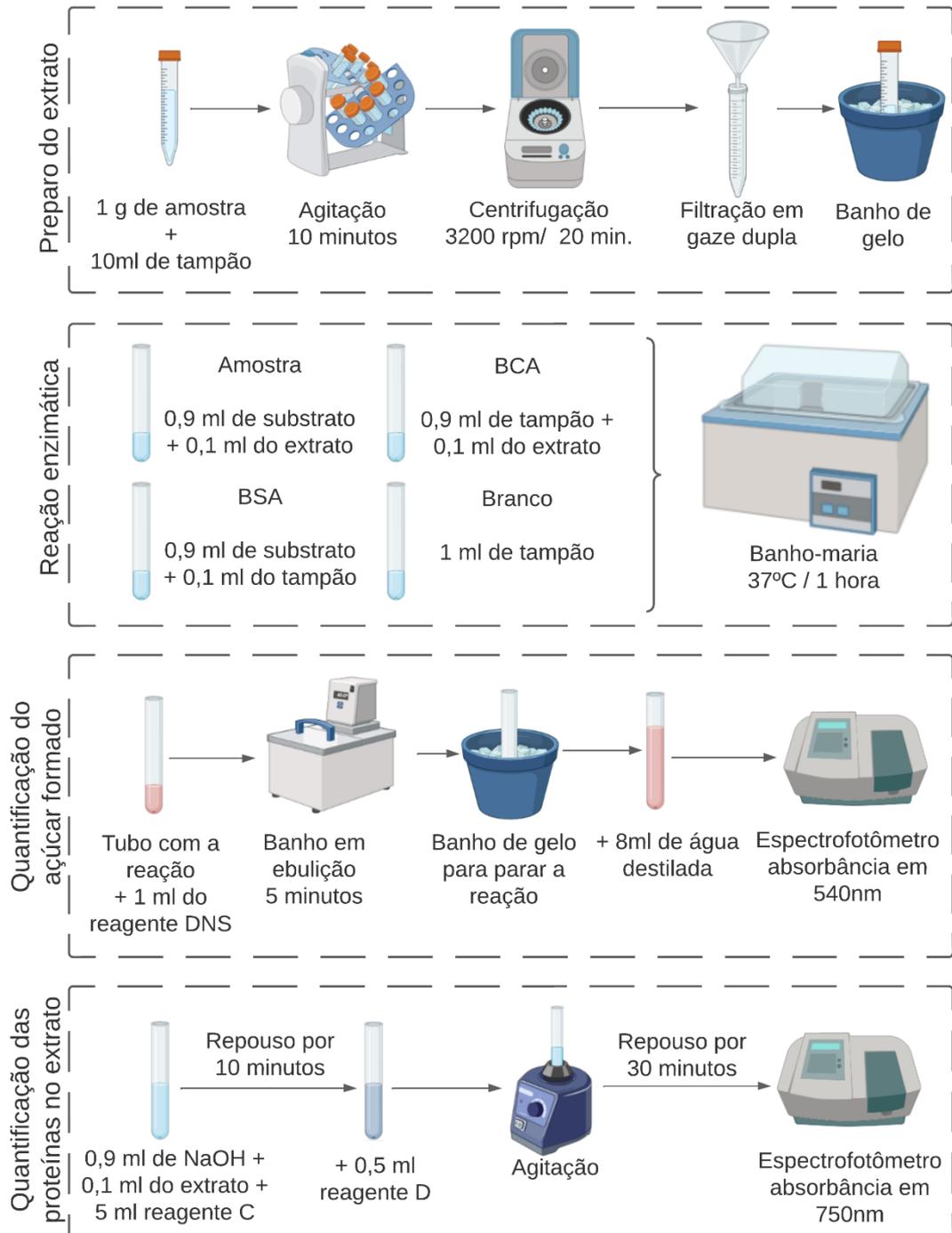
Os microrganismos foram identificados através do sequenciamento de alto desempenho das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA para bactérias (CHRISTOFF et al., 2017) e ITS 1 e 2 para fungos. O preparo das bibliotecas seguiu um protocolo proprietário (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). A amplificação foi realizada utilizando os primers: 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG, WANG; QIAN, 2009) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT, CAPORASO et al., 2012) para a região 16S rRNA V3/V4; e ITS1 (GAACCGCGGARGGATCA, SCHMIDT et al., 2013) e ITS2 (GCTGCGTTCTTCATCGATGC, WHITE et al., 1990) para a região ITS1. As bibliotecas foram sequenciadas utilizando-se o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., USA) e o kit V2, com 300 ciclos e sequenciamento single-end. As sequências foram analisadas por meio de um pipeline proprietário (Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil), onde todas as sequências de DNA resultantes, passaram individualmente, por um filtro de qualidade, utilizando como base o somatório das probabilidades de erro de suas bases, permitindo no máximo 1% de erro acumulado. Posteriormente, foram removidas as sequências de DNA correspondentes aos adaptadores da tecnologia Illumina. As sequências que passaram pelos procedimentos iniciais e que tiveram 99% de identidade foram agrupadas em filotipos/clusters e foram utilizadas para identificação taxonômica, por comparação com banco de dados preciso de sequências das regiões 16S rRNA e ITS1 (NeoRef, Neopropecta Microbiome Technologies, Brasil). A base de dados (própria da empresa Neopropecta Microbiome Technologies), que foi utilizada para identificação dos microrganismos é muito robusta o que permitiu a identificação dos microrganismos, incluindo a maioria das bactérias (região 16S) a nível de espécie (NEOPROSPECTA MICROBIOME TECHNOLOGIES, 2018).

#### **4.3.3.3 Análises enzimáticas**

A figura 16 mostra a metodologia utilizada para avaliar a atividade enzimática das enzimas invertase, poligalacturonase e endo- $\beta$ -mannanase na casca/polpa e semente do café. Para as diferentes enzimas avaliadas foram utilizados diferentes tampões e substratos, que são descritos a seguir. As análises enzimáticas foram realizadas com

parceria e orientação de professores do laboratório de Enzimologia, do Instituto de Biologia, da UNICAMP.

**Figura 16:** Metodologia utilizada para a avaliação da atividade enzimática na casca/polpa e/ou semente do café durante o processo de fermentação anaeróbia induzida



BCA - branco com amostra; BSA - branco sem amostra.

#### **4.3.3.3.1 Preparo de amostra**

Para avaliar a atividade enzimática na semente e na casca/polpa do café, os frutos do café (controle e fermentados por tempos diferentes) foram mantidos congelados até o momento da análise.

Cinquenta gramas de frutos foram descascados e a casca/polpa/pergamínio foram separadas manualmente das sementes, as frações foram trituradas com nitrogênio líquido em moinho de amostra (modelo IKA A11, marca IKA-Werke GmbH & Co., Alemanha). As amostras foram homogeneizadas e pesadas para análises enzimáticas.

#### **4.3.3.3.2 Atividade da enzima invertase**

A 1 g de semente ou casca/polpa de café foi adicionado 10 ml de tampão acetato de sódio 100 mM pH 5,0 que foi homogeneizado em agitador por 10 minutos (MOURA; PINTO; RODRIGUES, 2007). Em seguida os tubos foram centrifugados (centrífuga modelo ômega LL7160, marca Labor Cine, Brasil) a 3200 rpm/20 minutos (força  $g = 2100$ ). O extrato foi filtrado em gaze dupla e foi mantido em banho gelado até o momento da análise.

O substrato utilizado para as reações foi um tampão acetato 100mM, pH=5 com 100 mM de sacarose (MOURA; PINTO; RODRIGUES, 2007). Em tubo de ensaio foi colocado 0,9ml de substrato e 0,1ml do extrato. Para cada amostra a análise foi feita em quintuplicata. Foram feitos 3 tubos de ensaio com diferentes controles: um tubo BCA (branco com amostra) com 0,9ml do tampão e 0,1ml do extrato; o tubo BSA (branco sem amostra) com 0,9ml do substrato + 0,1 ml do tampão; e o Branco, com 1 ml do tampão acetato. Todos os tubos foram levados para banho-maria a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ / 1 hora.

A quantidade de açúcar presente nos tubos foi medida através de reação DNS (item 4.7.5). A absorbância dos 3 tubos de branco (BCA, BSA e Branco) foram subtraídas do resultado das amostras de café.

Para calcular a quantidade de açúcar formado, uma curva padrão foi feita utilizando glicose (diluições a partir de solução mãe de 1500mg de glicose/L) e fazendo a reação DNS. No extrato bruto também foi feita a quantificação da proteína presente (item 4.7.6). O resultado foi expresso em glicose formada (mg/L)/ proteína (mg/L).

#### **4.3.3.3.3 Atividade da enzima poligalacturonase**

A 1 g de casca/polpa de café foi adicionado 10 ml de tampão NaCl 0,5 M e 1%

de polivinilpirrolidona, depois homogeneizado em agitador por 10 minutos. Em seguida os tubos foram centrifugados (centrífuga modelo ômega LL7160, marca Labor Cine, Brasil) a 3200 rpm/20 minutos (força  $g = 2100$ ). O extrato foi filtrado em gaze dupla e foi mantido em banho gelado até o momento da análise (BUESCHER; FURMANSKI, 1978).

O substrato utilizado para as reações foi um tampão acetato 100mM, pH=5 com 0,1% de ácido poligalacturônico (SANTI, 2005). Em tubo de ensaio foi colocado 0,9ml de substrato e 0,1ml do extrato. Para cada amostra a análise foi feita em quintuplicata. Foram feitos 3 tubos de ensaio com diferentes controles: um tubo BCA (branco com amostra) com 0,9ml do tampão e 0,1ml do extrato; o tubo BSA (branco sem amostra) com 0,9ml do substrato + 0,1 ml do tampão; e o Branco, com 1 ml do tampão acetato. Todos os tubos foram levados para banho-maria a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ / 1 hora.

A quantidade de açúcar presente nos tubos foi medida através de reação DNS (item 4.7.5). A absorbância dos 3 tubos de branco (BCA, BSA e Branco) foram subtraídas do resultado das amostras de café.

Para calcular a quantidade de açúcar formado, uma curva padrão foi feita utilizando ácido galacturônico (diluições a partir de solução mãe de 1500mg de ácido galacturônico/L) e fazendo a reação DNS. No extrato bruto também foi feita a quantificação da proteína presente (item 4.7.6). O resultado foi expresso em ácido galacturônico formado (mg/L)/ proteína (mg/L).

#### **4.3.3.3.4 Atividade da enzima endo- $\beta$ -mannanase**

A 1 g de semente de café foi adicionado 10 ml de tampão acetato de sódio 100 mM pH = 5,0 que foi homogeneizado em agitador por 10 minutos (MOURA; PINTO; RODRIGUES, 2007). Em seguida os tubos foram centrifugados (centrífuga modelo ômega LL7160, marca Labor Cine, Brasil) a 3200 rpm/20 minutos (força  $g = 2100$ ). O extrato foi filtrado em gaze dupla e foi mantido em banho gelado até o momento da análise.

O substrato utilizado para as reações foi um tampão fosfato de sódio 50mM, pH = 6,0 com 0,5% de LBG (*locust bean gum*) (PUCHART et al., 2004). Em tubo de ensaio foi colocado 0,9ml de substrato e 0,1ml do extrato. Para cada amostra a análise foi feita em quintuplicata. Foram feitos 3 tubos de ensaio com diferentes controles: um tubo BCA (branco com amostra) com 0,9ml do tampão e 0,1ml do extrato; o tubo BSA (branco sem amostra) com 0,9ml do substrato + 0,1 ml do tampão; e o Branco, com 1 ml do tampão acetato. Todos os tubos foram levados para banho-maria a  $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ / 1 hora.

A quantidade de açúcar presente nos tubos foi medida através de reação DNS (item 4.7.5). A absorbância dos 3 tubos de branco (BCA, BSA e Branco) foram subtraídas do

resultado das amostras de café.

Para calcular a quantidade de açúcar formado, uma curva padrão foi feita utilizando manose (diluições a partir de solução mãe de 1500 mg de manose/L) e fazendo a reação DNS. No extrato bruto também foi feita a quantificação da proteína presente (item 4.7.6). O resultado foi expresso em manose formada (mg/L)/ proteína (mg/L).

#### **4.3.3.3.5 Quantificação do açúcar formado**

Para todas as análises enzimáticas, imediatamente após o tempo de reação foi feita a análise de açúcares pelo método DNS (MOURA; PINTO; RODRIGUES, 2007). A reação enzimática foi interrompida colocando 1ml do reagente DNS. O tubo foi levado para banho em ebulição por 5 minutos, em seguida foi colocado em banho de gelo para parar a reação. Foi adicionado 8ml de água destilada e a absorbância foi lida em espectrofotômetro (modelo Cirrus 80, marca Femto, Brasil) em 540nm (MOURA; PINTO; RODRIGUES, 2007).

#### **4.3.3.3.6 Quantificação de proteínas no extrato**

A quantidade de proteínas no extrato utilizado nas análises enzimáticas foi quantificada utilizando metodologia descrita por (LOWRY et al., 1951).

Em tubo de ensaio foi colocado 0,9 ml de NaOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup> e 0,1 ml do extrato. Em cada tubo foi colocado 5ml do reagente C recém preparado e a amostra repousou por 10 minutos. Em seguida foi adicionado 0,5 ml do reagente D o tubo foi agitado em vórtex e a amostra repousou por 30 minutos. A absorbância foi lida em espectrofotômetro em 750 nm (modelo Cirrus 80, marca Femto, Brasil) (LOWRY et al., 1951).

A curva padrão foi feita utilizando proteína albumina de soro bovino (BSA), a partir de diluições de uma solução mãe de 100 mg/ L

#### **4.3.4 Análises estatísticas**

Todas as análises estatísticas e gráficos, exceto o a rede microbiana (*microbial network*), foram feitos utilizando software R com interface RStudio (R Core Team, 2013).

Os gráficos de pontos e barra foram gerados utilizando o pacote “ggplot2”.

A análise de variância ANOVA e o teste de Tukey foram feitos usando o pacote “stats”, e função “TukeyHSD” considerando um valor de  $p < 0,05$ . As letras que indicam se há ou não diferença significativa no teste de Tukey, foram geradas utilizando pacote “agricolae”, função HDS.test.

As notas da avaliação da análise sensorial e a quantidade de compostos voláteis identificados do café verde e torrado foram analisadas através da Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando o pacote “factoshiny”.

Para os dados da análise de identificação genética da comunidade microbiana, a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Cuttis, foram feitas usando os pacotes “vegan” e “ape”. O *heatmap* da abundância das espécies foi feito com a função “ComplexHeatMap” (GU; EILS; SCHLESNER, 2016), considerando as espécies com 5% de abundância em pelo menos uma amostra. A co-ocorrência e co-exclusão para a correlação de Spearman foi feita com o pacote “corrplot”, usando as mesmas espécies apresentadas do *heatmap*. Os valores positivos e maiores que 0,7 foram extraídos da matriz de correlação de Spearman e utilizados na plataforma Gephi versão 0.9.2 para construir a rede microbiana (*microbial network*) (BASTIAN; HEYMANN; JACOMY, 2009) baseado na análise de comunidades feita por (POTHAKOS et al., 2020). O número de co-ocorrências entre as espécies foi utilizado para determinar o tamanho dos nós (espécies), os traços representaram as interações positivas entre as espécies de microrganismos, e a intensidade desses traços foram utilizadas para indicar a intensidade da correlação.

Os índices de riqueza (Chao1), equabilidade (Pielou), e a diversidade (Shannon) de bactérias e fungos nas sequencias identificadas na identificação genética da comunidade microbiana foram calculadas utilizando o pacote “vegan”.

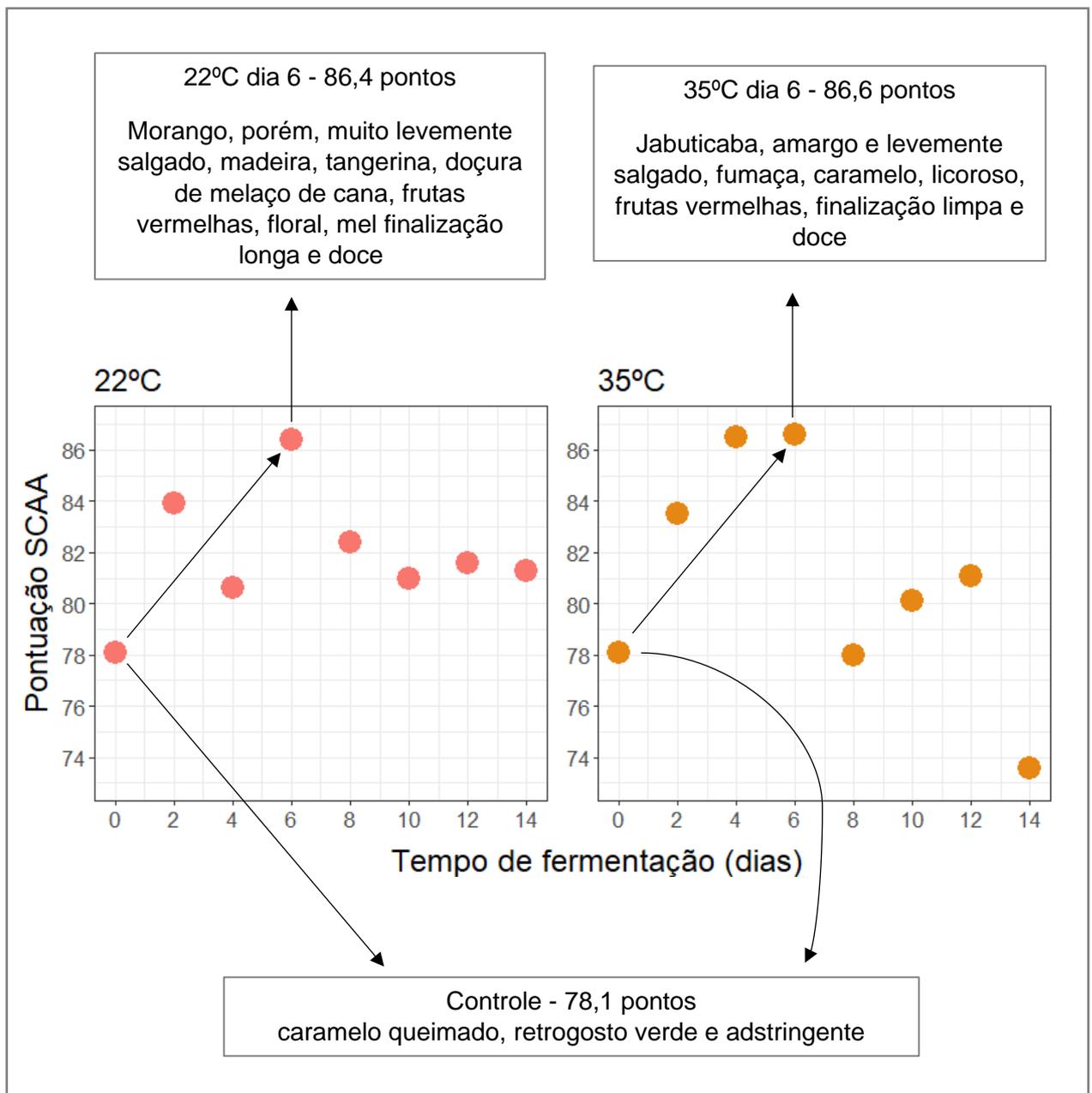
A análise do índice de Pearson ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) foi feita para verificar a correlação entre: a quantidade de ácidos orgânicos do café verde e torrado e o resultado da avaliação sensorial; a quantidade de compostos orgânicos voláteis do café verde e torrado e o resultado da avaliação sensorial; os gêneros de bactérias e fungos e o resultado da avaliação sensorial; os gêneros de bactérias e fungos e a quantidade de ácidos orgânicos do café verde e torrado; os gêneros de bactérias e fungos e a quantidade de ácidos orgânicos; e os gêneros de bactérias e fungos e o resultado da atividade enzimática. Esse índice foi calculado usando o pacote “corrplot”. Os resultados foram extraídos e o *heatmap* foi gerado utilizando o pacote “ComplexHeatMap” (GU; EILS; SCHLESNER, 2016). As correlações foram consideradas positivas e negativas quando apresentam valores maiores que 0.5 ou 0.7 ou menores que -0.5 ou 0.7, dependendo da análise.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Teste preliminar

Os resultados da avaliação sensorial dos cafés fermentados no teste preliminar estão descritos na Figura 17 e, mais detalhadamente na Tabela 1. O processo de fermentação aumentou a pontuação do café na escala de avaliação SCA, nas duas temperaturas de fermentação (22 e 35°C) mais de 8 pontos em relação ao controle.

**Figura 17:** Notas totais da avaliação sensorial (escala SCA) das amostras de café do teste preliminar de fermentação anaeróbia induzida.



O café controle, que foi o mesmo para os dois processos, teve uma nota total média de 78,1 na escala de avaliação SCA. Para ambas as temperaturas, a maior nota foi atingida no 6º dia de fermentação chegando ao total de 86,4 e 86,6. Com o passar do tempo de fermentação, além do aumento das notas de fragrância, sabor, acidez, corpo, finalização, equilíbrio, final e avaliação total, houve um aumento na quantidade de descritivos de sabor percebidos pelo avaliador. O café que apresentava notas desagradáveis como queimado, retrogosto verde e adstringente, passou a apresentar sabores agradáveis com notas de frutas, florais e de doçura. Após atingir a maior nota na avaliação (6º dia de processo), a fermentação prolongada passou a reduzir novamente a nota total da bebida e gerar atributos negativos ao café (como salgado, acidez acentuada, amendoim assado, retrogosto amargo, fumaça, metálica, verde, shoyu, missô e amendoim estragado) (Tabela 1).

Assim, foi possível perceber que o método de fermentação teve grande potencial de aplicação com o objetivo de aumento de qualidade da bebida do café, mas com cuidado em relação ao tempo de processo para evitar o desenvolvimento de sabores desagradáveis.

**Tabela 1:** Resultado da avaliação sensorial realizada por provadores certificados (Q-Graders) seguindo metodologia SCA para as amostras de café controle e fermentadas a 22 e 35°C

Temperatura	Tempo de fermentação	Fragrância	Sabor	Acidez	Corpo	Uniformidade	Ausência/Defeitos	Doçura	Finalização	Equilíbrio	Final	Total	Atributos
22°C	0	7,0	6,6	6,9	7,1	10,0	10,0	10,0	7,1	6,5	6,9	78,1	Caramelo queimado, retrogosto verde e adstringente
	2	8,0	7,8	7,4	7,9	10,0	10,0	10,0	7,9	7,5	7,5	83,9	Caramelo, amendoim, finalização suja, cremosa, retrogosto curto.
	4	7,5	7,1	7,3	7,1	10,0	10,0	10,0	7,3	7,3	7,1	80,6	Frutado, melão de cana, finalização longa, porém levemente seco.
	6	8,0	8,0	8,0	8,1	10,0	10,0	10,0	8,0	8,1	8,1	86,4	Morango, muito levemente salgado, madeira, tangerina, doçura de melão de cana, frutas vermelhas, floral, mel finalização longa e doce.
	8	7,9	7,1	7,1	7,6	10,0	10,0	10,0	8,1	7,3	7,3	82,4	Frutado, tostado, amargo e salgado, dureza na bebida, amêndoas, levemente verde, finalização suja e amarga
	10	7,6	7,1	7,1	7,3	10,0	10,0	10,0	7,5	7,3	7,1	81,0	Chocolate, falta doçura, corpo aveludado, retrogosto curto.
	12	7,8	7,4	7,1	7,6	10,0	10,0	10,0	7,4	7,1	7,3	81,6	Avelã, amendoim assado, corpo leve e curto, retrogosto amargo.
14	7,4	7,4	7,4	7,5	10,0	10,0	10,0	7,3	7,1	7,3	81,3	Sem muitos atributos, fermentado, porém doce, salgado, melão de cana, acidez acentuada, finalização longa e agradável	
35°C	0	7,0	6,6	6,9	7,1	10,0	10,0	10,0	7,1	6,5	6,9	78,1	Caramelo queimado, retrogosto verde e adstringente.
	2	7,9	7,8	7,6	7,8	10,0	10,0	10,0	7,6	7,4	7,5	83,5	Maracujá, mel, porém adstringente, caramelo, levemente defumado, corpo amanteigado, finalização verde e amarga.
	4	8,3	8,3	8,0	8,0	10,0	10,0	10,0	8,3	8,0	7,8	86,5	Morango, mas uma nota levemente acética, muito doce, levemente fermentado, própolis, acidez brilhante, finalização curta, chá de hibiscos.
	6	8,0	8,3	8,0	8,4	10,0	10,0	10,0	8,1	8,0	7,9	86,6	Jabuticaba, amargo e levemente salgado, fumaça, caramelo, licoroso, frutas vermelhas, finalização limpa e doce.
	8	7,1	6,9	6,8	7,0	10,0	10,0	10,0	6,8	6,8	6,8	78,0	Verde e amargo, fumaça, finalização amarga, metálica, verde
	10	7,4	7,3	7,1	6,5	10,0	10,0	10,0	7,3	7,4	7,3	80,1	Melão, chocolate belga, amêndoa, shoyu, exótico, missô (pasta de soja fermentada).
	12	7,6	7,3	7,3	7,5	10,0	10,0	10,0	7,1	7,0	7,4	81,1	Licor de cacau e shoyu, amendoim estragado.
14	7,0	6,0	6,0	6,1	10,0	10,0	10,0	6,1	6,1	6,3	73,6	Amendoim estragado.	

## 5.2 Estudo do processo de fermentação anaeróbia induzida de café

### 5.2.1 Processos

Todos os processos de fermentação dos cafés foram conduzidos nas fazendas de acordo com as condições descritas na Figura 10 do item 4.3.

Sobre o processo de fermentação, algumas observações gerais, mesmo que com algum caráter subjetivo, puderam ser notadas:

- os recipientes em que os cafés foram fermentados, logo ao serem abertos, apresentaram um intenso odor frutado, alcoólico, e algumas vezes acético;
- durante a fermentação os frutos do café tornam-se amarronzados, ocorre perda considerável de sua firmeza ao toque, ficam mais melados e a semente se solta com maior facilidade ao ser apertado (Figura 18);
- nas mesmas condições meteorológicas (dias ensolarados e secos), o café fermentado demora em média 5 dias a menos para secar no terreiro do que o café controle, até umidades correspondentes, devido à perda de água dentro do recipiente tanto por exsudação como em forma de vapor (MARTINEZ et al., 2021a).

**Figura 18:** Mudança de aparência do café fermentado por 7 dias em relação ao seu controle



Café seco - sem passar por etapa de lavagem no benefício úmido. Café lavado – café coletado após a lavagem no benefício úmido

### 5.2.2 Acompanhamento da temperatura

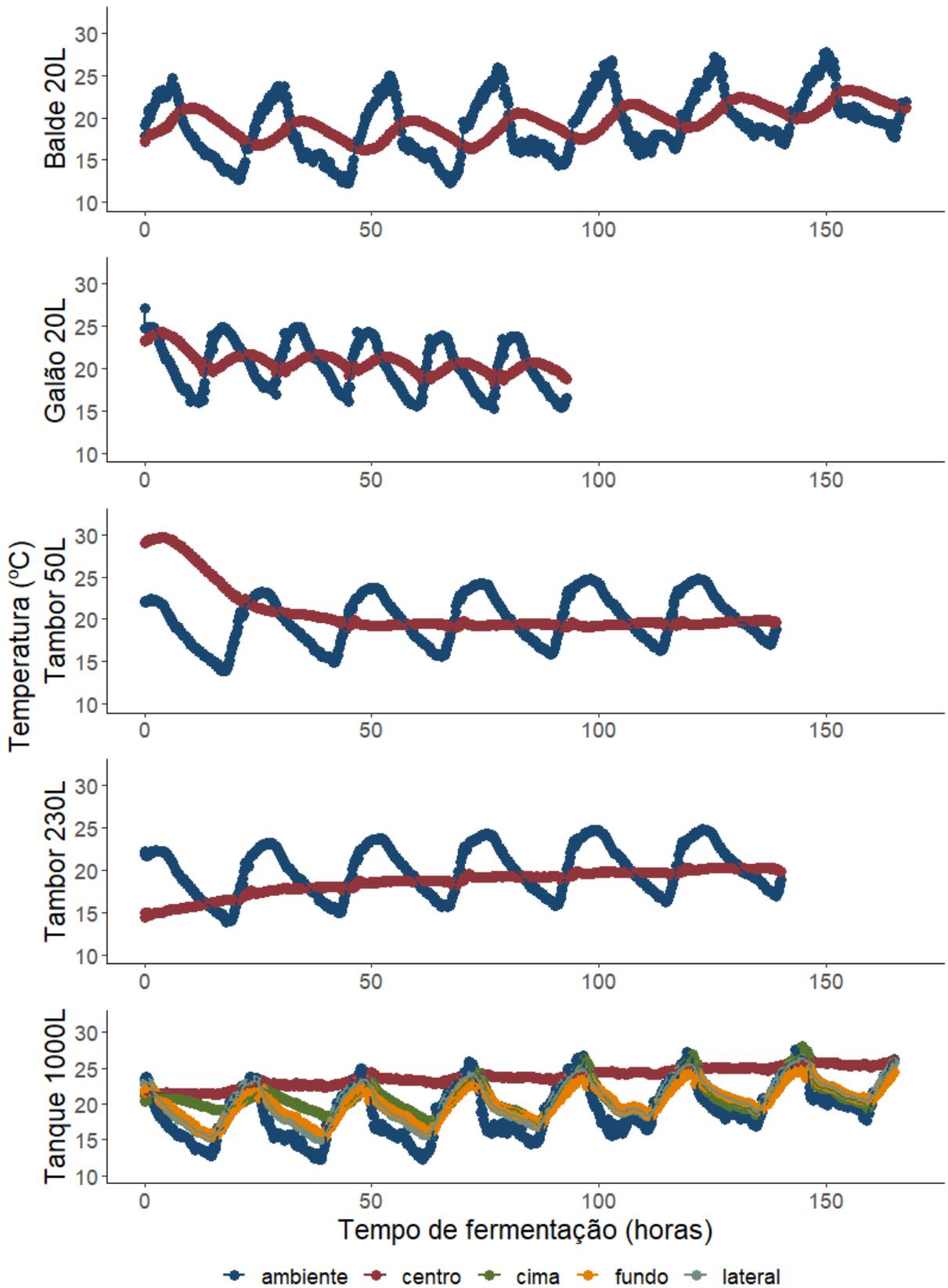
A Figura 19 mostra a variação de temperatura dos diferentes processos de fermentação monitorados. Os recipientes menores (20 L) respondem mais rapidamente às variações da temperatura ambiente, enquanto os de maior capacidade, como os tambores de 50 L, 230 L e 1000 L, a variação da temperatura em relação ao ambiente torna-se menor no centro dos fermentadores. Nas laterais, na parte de cima e no fundo do tanque de 1000L, a variação da temperatura também tendeu a acompanhar a temperatura ambiente.

O monitoramento da temperatura indicou que nos tanques maiores que 50 L a variação de temperatura pode gerar diferenças significativas na fermentação dos grãos dentro do tanque, apesar deste tópico não ter sido explorado nesse estudo, pois independente desta heterogeneidade na temperatura, as amostras foram sempre homogeneizadas para análises e para as próximas etapas do estudo. De qualquer forma, nos tanques acima de 50 L existe a possibilidade de que algumas reações ocorram em velocidades diferentes em cada região do fermentador e que até exista diferenças quanto ao crescimento de microrganismos e atuação de enzimas devido a variação de temperatura.

Apesar da variação de temperatura nas laterais, no centro dos tanques de 1000L, além de não haver variação da temperatura em relação ao ambiente e a maior dificuldade de dissipação do calor, houve aumento da temperatura ao longo do processo. No processo P11 houve um aumento de 1,4°C nas primeiras 24 horas e menos de 1°C para cada dia seguinte, chegando a um aumento de 4,7°C após 165 horas. No processo P15, houve um aumento de 1,5, 3,2, 2,2 e 2°C em cada um dos 4 primeiros dias e seguindo com menos de 1°C para os dias seguintes, atingindo um aumento de 9,8°C após 125 horas de fermentação.

Por ser conduzida em tanques fechados, a fermentação anaeróbia induzida apresenta maior aumento na temperatura do que processos de fermentação em tanques abertos, como o processo via úmida que tem maior perda de temperatura para o ambiente. Esse aumento na temperatura é gerado principalmente pela intensa atividade metabólica dos microrganismos envolvidos na fermentação (DA MOTA et al., 2022).

**Figura 19:** Variação de temperatura no interior de recipientes de diferentes volumes (20 a 1000L) utilizados para fermentação de café



### 5.2.3 Análise sensorial

A Tabela 2 e Figura 20 mostram os resultados das análises sensoriais dos cafés das espécies *C. canephora*, e *C. arabica* das Fazendas 1 e 2.

**Tabela 2:** Resultado da avaliação sensorial realizada por provadores certificados (Q-Graders) seguindo metodologia SCA para as amostras dos cafés *C. canephora* e *C. arabica* fermentados nas fazendas 1 e 2

Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total	Notas
<b><i>C. canephora</i> fermentados na fazenda 1</b>												
P1_C*	7,1 ± 0,29 ab	7,33 ± 0,14 cdef	7,0 ± 0,5 cdef	7,17 ± 0,52 defgh	7,08 ± 0,52 de	10 ± 0,0 a	6,92 ± 0,52 ef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	6,75 ± 0,43 i	79,42 ± 1,46 ij	Cereal, pipoca, especiaria, flor branca, cacau, mel, amargo, cereja, pesado, retrogosto desagradável, terra, terroso, borracha, medicinal leve, doçura e amargor leve no final
P1_F*	7,33 ± 0,29 ab	7,5 ± 0,00 bcdef	7,33 ± 0,29 abcdef	7,42 ± 0,14 cdefgh	7,42 ± 0,14 bcde	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,25 cdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,17 ± 0,14 efghi	81,42 ± 0,29 efghij	Cereal, mel, rosas, rapadura, melaço, mel, cacau, corpo cremoso, leve adstringência, acidez cítrica suave, madeira, tabaco, terroso, muito limpo
P2_C	7,08 ± 0,72 b	7,0 ± 0,66 ef	7,0 ± 0,90 cdef	7,08 ± 0,52 efgh	7,42 ± 0,38 bcde	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,25 cdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,43 defghi	80,08 ± 3,71 ghij	Cereal, madeira, groselha, limpo, chocolate amargo, leve salgado, picante, acidez málica, riado uniforme em todas as xícaras, picante, ervas, muito amargo
P2_F	7,0 ± 0,5 b	7,25 ± 0,43 def	7,17 ± 0,80 bcdef	7,42 ± 0,38 cdefgh	7,42 ± 0,14 bcde	10 ± 0,0 a	7,33 ± 0,14 bcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,25 defghi	80,83 ± 2,47 fghij	Cereal, frutado, fundo chocolate branco, quaker, cereal, cerejas, amanteigado, leve cítrico, retrogosto longo e marcante, leve riado em todas as xícaras, mofo, noz moscada, amargor médio
<b><i>C. arabica</i> fermentados na fazenda 1</b>												
P3_C	7,42 ± 0,38 ab	7,75 ± 0,25 abcdef	7,67 ± 0,38 abcdef	7,75 ± 0,50 abcdef gh	7,58 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,50 ± 0,50 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,38 abcdef ghi	83,25 ± 2,50 abcdef ghi	Amendoado, cítrico, cacau, melaço, tangerina, rapadura, corpo arredondado, finalização limpa e super doce, equilibrado, terroso, chocolate
P3_F	7,67 ± 0,14 ab	7,58 ± 0,14 abcdef	7,67 ± 0,29 abcdef	7,75 ± 0,25 abcdef gh	7,58 ± 0,29 abcde	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,29 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,29 abcdef ghi	83,67 ± 1,53 abcdef ghi	Frutado, acidez brilhante, chocolate ao leite, rapadura, uva vermelha, cítrico, caramelo, corpo aveludado, retrogosto longo e agradável, amendoado, chocolate
P4_C	7,17 ± 0,14 ab	7,25 ± 0,00 def	7,25 ± 0,43 abcdef	7,00 ± 0,25 fgh	7,42 ± 0,38 bcde	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,43 cdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,08 ± 0,38 fghi	80,42 ± 1,51 fghij	Sabor diferente, acidez cítrica, permanece + tempo áspero, farinhento, amargo, caramelo, chocolate ao leite, corpo viscoso, retrogosto, Borracha, muito amargo

Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total	Notas
P4_F	7,50 ± 0,25 ab	7,50 ± 0,50 bcdef	7,25 ± 0,25 abcdef	7,67 ± 0,38 bcdefg h	7,67 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,14ab cdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,33 ± 0,38 cdefghi	82,58 ± 2,01 bcdefg hij	Melaço, chocolate amargo, limpo, ameixa, maracujá, chocolate ao leite, sedoso, finalização longa e perfumada no paladar, acidez brilhante cítrica, fruta passa, azeitona, leve alcoólico
P5_C*	7,25 ± 0,25 ab	7,08 ± 0,14 def	6,83 ± 0,29 ef	7,08 ± 0,14 efgh	7,17 ± 0,29 cde	10 ± 0,0 a	7,08 ± 0,14 def	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	6,92 ± 0,14 ghi	79,42 ± 0,88 lj	Tostado, amargo, cacau, amêndoas, leve amargor, oleoso, retrogosto largo, chocolate, leve queimado, borracha
P5_F*	7,92 ± 0,14 ab	7,92 ± 0,14 abcde	7,75 ± 0,00 abcdef	7,67 ± 0,14 bcdefg h	7,92 ± 0,14 abcd	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,38 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,29 abcdef ghi	84,42 ± 0,52 abcdef ghi	Frutado, ameixa, corpo sedoso, retrogosto largo e doce, acidez cítrica e málica, frutado, cítrico, amanteigado
P6_C	7,08 ± 0,38 b	6,83 ± 0,29 f	6,75 ± 0,25 f	6,83 ± 0,29 h	7,00 ± 0,25 e	10 ± 0,0 a	6,83 ± 0,38 f	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	6,75 ± 0,25 i	78,08 ± 0,88 j	Amargo, áspero, chocolate amargo, fumaça, borracha, oleoso, fumaça, queimado, amadeirado, leve amargo, mais limpo e claro
P6_F	7,42 ± 0,63 ab	7,25 ± 0,90 def	6,92 ± 0,80 def	7,25 ± 0,87 cdefgh	7,33 ± 0,29 bcde	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,43 cdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,17 ± 0,38 efghi	80,58 ± 4,25 fghij	Maracujá, banana, abacaxi, salada de fruta, vinho rosê, vinho, licoroso, super doce, retrogosto curto, fermentado no limite, fermentado, azedo no nariz, fermentado ruim, azedo
P7_C	7,83 ± 0,29 ab	7,67 ± 0,29 abcdef	7,67 ± 0,52 abcdef	7,50 ± 0,25 bcdefg h	7,50 ± 0,50 bcde	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,29 bcdefg hi	83,1 ± 2,08 abcdef ghij	Caramelo, lima, Caramelo intenso, toffee, caramelo, chocolate ao leite, leve frutas amarelas, corpo viscoso, finalização longa e leve áspero, Cacau, nibs, avelã, licoroso, finalização prolongada
P7_F com gás	7,75 ± 0,43 ab	7,83 ± 0,14 abcde	7,67 ± 0,14 abcdef	7,92 ± 0,14 abcdef	7,83 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,14 abcdef g	84,42 ± 0,38 abcdef ghi	Cítrico, caramelo, macio, Ameixa, laranja, acidez cítrica brilhante, corpo sedoso, Amendoim torrado, leve batata (xicara 3), doce, cítrico
P8_C	7,33 ± 0,14 ab	7,17 ± 0,38 def	6,92 ± 0,14 def	7,08 ± 0,14 efgh	7,17 ± 0,14 cde	10 ± 0,0 a	7,17 ± 0,14 def	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,00 ± 0,25 ghi	79,83 ± 0,76 hij	Cacau, caramelo, amêndoas, corpo áspero, retrogosto longo, áspero, Pipoca, milho, leve queimado, corpo leve, acidez cítrica, especiarias
P8_F	7,75 ± 0,00 ab	7,67 ± 0,14 abcdef	7,67 ± 0,14 abcdef	7,50 ± 0,00 bcdefg h	7,92 ± 0,14 abcd	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,14 abcdef ghi	83,83 ± 0,72 abcdef ghi	Chocolate ao leite, licoroso, cereja, chocolate amargo, corpo viscoso, finalização longa e pesada, Chocolate, amêndoa, corpo presente, sugere açúcar mascavo

Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total	Notas
P9_0*	7,50 ± 0,25 ab	7,25 ± 0,25 def	7,25 ± 0,00 abcdef	7,42 ± 0,14 cdefgh	7,42 ± 0,14 bcde	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,14 bcdefg hi	81,67 ± 0,80 defghij	Tostado, amendoado, caramelo, muito encorpado, leve amargo, Chocolate amargo, melaço, fumaça, corpo cremoso, finalização longa e amargo.
P9_1	7,58 ± 0,14 ab	7,33 ± 0,29 cdef	7,08 ± 0,29 bcdef	7,25 ± 0,25 cdefgh	7,58 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,29 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	6,83 ± 0,72 hi	81,08 ± 0,95 efghij	Tostado, levemente frutado (morango), floral, corpo macio, leve amargo (-), caramelo, frutas amarelas, corpo sedoso, picante, retrogosto longo, acidez leve cítrica, chocolate muito amargo, cacau (chocolate/doçura baixa)
P9_2	7,75 ± 0,25 ab	7,58 ± 0,14 abcdef	7,67 ± 0,38 abcdef	7,50 ± 0,25 a bcdefg h	7,67 ± 0,38 abcde	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,38 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,29 abcdef ghi	83,42 ± 1,89 abcdef ghi	Vinhoso, frutas negras, corpo macio, fino, Rapadura agradável, limpo, melaço de cana, corpo sedoso, finalização limpa e agradável, frutado, cítrico, caramelo, doce, equilibrado, finalização limpa, macio.
P9_3	7,67 ± 0,58 ab	7,67 ± 0,29 abcdef	7,75 ± 0,25 abcdef	7,58 ± 0,14 bcdefg h	7,50 ± 0,25 bcde	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,38 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,50 abcdef gh	83,58 ± 2,25 abcdef ghi	Herbal, chocolate, frutado quebra, morango, lima, frutado, mel, chocolate ao leite, retrogosto longo e leve amargo, corpo cremoso, carambola, acidez brilhante, baunilha, doce de leite, muito cremoso e agradável, chocolate ao leite, acidez láctica, corpo médio
P9_4*	7,67 ± 0,58 ab	7,75 ± 0,25 abcdef	7,75 ± 0,43 abcdef	7,75 ± 0,25 abcdef gh	7,75 ± 0,00 abcde	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,38 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,29 abcdef g	84,17 ± 1,94 abcdef ghi	Herbal, frutado suave (casca de maracujá), chocolate, corpo sedoso porém fino, frutas amarelas, limpo, caramelo, melaço de cana, retrogosto longo, corpo viscoso, floral (jasmim), acidez cítrica suave, floral, fruta passa, limpo, corpo baixo, boa acidez, herbal, elegante, acidez cítrica
P9_5	7,75 ± 0,25 ab	7,67 ± 0,14 abcdef	7,67 ± 0,14 abcdef	7,33 ± 0,29 cdefgh	7,67 ± 0,29 abcde	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef ghi	83,25 ± 1,09 abcdef ghi	Frutado (jammy), doce, geleia, cereja, lima, leve e macio, Doce de leite, caramelo, amargo, corpo áspero, retro gosto longo e intenso, chocolate amargo, amêndoas, frutado, exótico, rapadura, leve fumaça
P9_6	7,83 ± 0,52 ab	7,75 ± 0,50 abcdef	7,58 ± 0,38 abcdef	7,75 ± 0,43 abcdef	7,42 ± 0,29 bcde	10 ± 0,0 a	7,50 ± 0,25 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,50 abcdef	83,58 ± 2,67 abcdef	Frutado (melão), lima, caramelo, pouca doçura, leve, residual sabão, sedoso, chocolate ao leite, melaço de cana, vinho branco, fermentado, retrogosto curto,

Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total	Notas
				gh						gh	ghi	corpo aveludado, acidez málica, amora, limpo, rapadura, frutas vermelhas, fermentado, morango, finalização lembra mate
<b>C. arabica fermentados na fazenda 2</b>												
P10_C	8,25 ± 0,25 a	8,5 ± 0,00 a	8,08 ± 0,14 abc	8,67 ± 0,14 a	8,00 ± 0,00 abc	10 ± 0,0 a	8,08 ± 0,14 abcd	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8,50 ± 0,25 a	88,08 ± 0,38 a	Nêspera, carambola, hibiscos, amora, framboesa, succulenta, abacaxi, acidez cítrica/málica brilhante, retrogosto longo e doce, equilibrado, Chá, floral, licoroso, frutas vermelhas, muito floral, chá preto
P10_F	7,42 ± 0,14 ab	7,75 ± 0,25 abcdef	7,92 ± 0,29 abcde	7,83 ± 0,14 abcdef g	8,00 ± 0,25 abc	10 ± 0,0 a	7,92 ± 0,52 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,14 abcdef g	84,58 ± 0,88 abcdef gh	Maracujá, amêndoa (nozes), uva vermelha, melão, hibiscos, bergamota, kinkan, cremoso, refrescante, mel, finalização delicada e brilhante, leve batata, amendoim, muito doce e equilibrada
P11_C e P14 C	7,75 ± 0,25 ab	8,42 ± 0,14 ab	8,17 ± 0,14 ab	8,17 ± 0,14 abc	8,17 ± 0,29 ab	10 ± 0,0 a	8,42 ± 0,14 ab	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8,33 ± 0,38 ab	87,42 ± 0,63 ab	Frutas amarelas, amêndoa, extremamente macio, frutado, cacau, guaraná, manda, pêssego, corpo sedoso, finalização longa e doce, jasmim, delicado, refrescante, frutado, ameixa, fruta negra (uva), acidez brilhante
P11_F	8,00 ± 0,50 ab	8,25 ± 0,25 abc	8,00 ± 0,00 abcd	8,42 ± 0,14 ab	8,42 ± 0,38 a	10 ± 0,0 a	8,00 ± 0,00 abcde	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8,08 ± 0,14 abcde	87,17 ± 0,63 abc	Bolo de chocolate, melão, maracujá, hibiscos, cremoso, corpo intenso, finalização longa e super doce, equilibrado, acidez cítrica brilhante, floral, chá, complexo, uva, acidez brilhante
P12_0*	7,75 ± 0,25 ab	7,33 ± 0,14 cdef	7,50 ± 0,00 abcdef	7,50 ± 0,25 bcdefg h	7,42 ± 0,29 bcde	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,29 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,25 abcdef gh	82,83 ± 0,88 bcdefg hij	Frutado, tostado, mel, pêssego, caramelo, frutas amarelas, limpo, retrogosto longo e suave, corpo sedoso, castanhas, nozes, leve adstringente
P12_1	7,58 ± 0,14 ab	7,42 ± 0,29 cdef	7,25 ± 0,00 abcdef	7,42 ± 0,14 cdefgh	7,50 ± 0,25 bcde	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,14 bcdefg hi	82,00 ± 0,90 defghij	Frutado, mel, chocolate amargo, melão, caramelo, corpo leve áspero, finalização amarga, acidez suave, cacau, chocolate, cítrico, prazeroso e limpo
P12_2	7,75 ± 0,25 ab	7,58 ± 0,14 abcdef	7,75 ± 0,25 abcdef	7,67 ± 0,29 bcdefg	7,67 ± 0,14 bcde	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,00 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef	83,75 ± 0,90 abcdef	Amendoado, caramelo, doce de leite, caramelo, acidez cítrica, melão de cana, chocolate amargo, corpo, chocolate ao leite, muito limpo, herbal

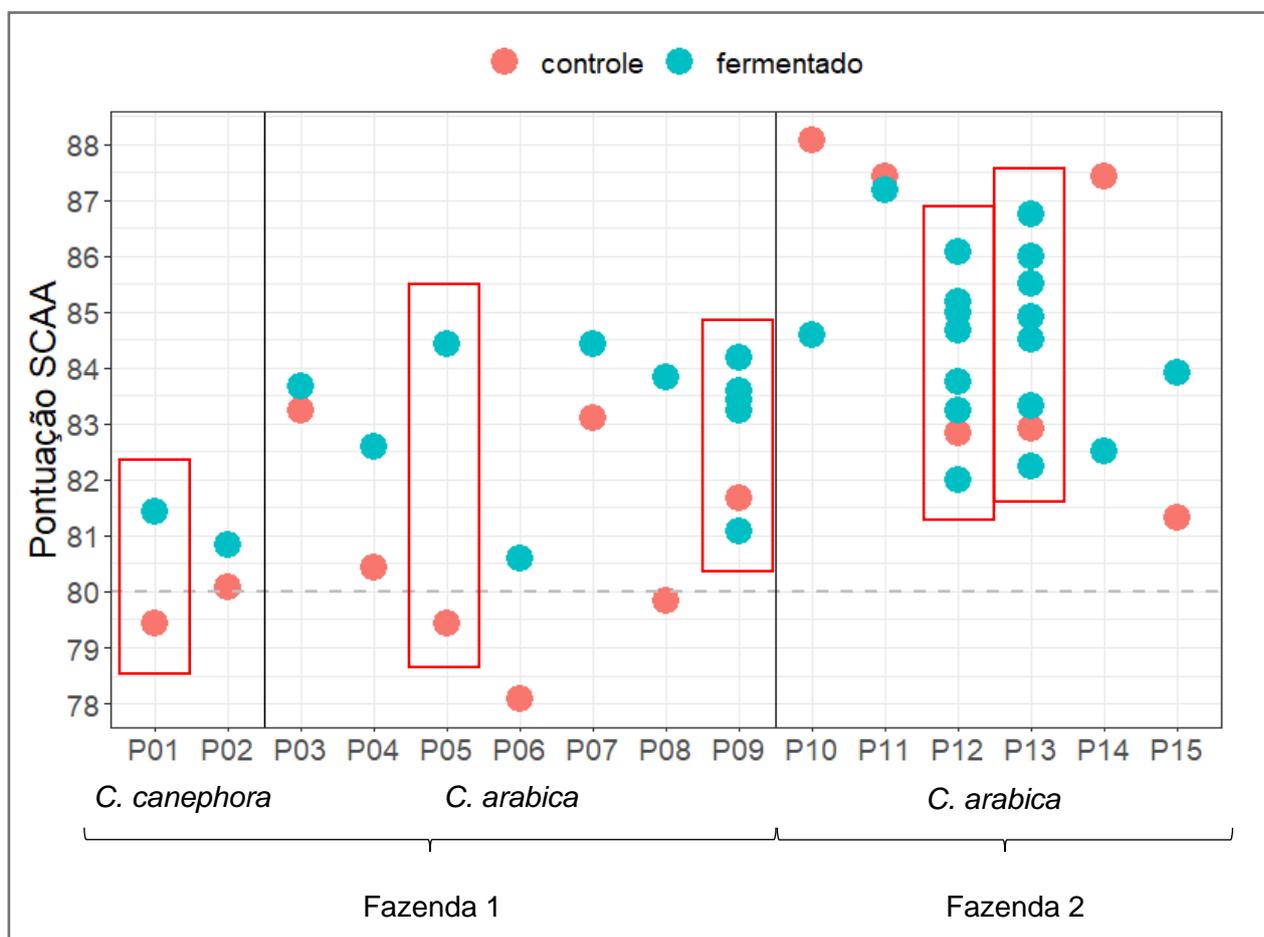
Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	h						ghi		Total	Notas
				Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total		
P12_3	7,75 ± 0,25 ab	8,00 ± 0,25 abcd	7,92 ± 0,38 abcde	7,67 ± 0,38 bcdefg h	7,75 ± 0,25 abcde	10 ± 0,0 a	8,50 ± 1,32 a	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,38 abcdef ghi	85,17 ± 1,44 abcdef g	Doce de leite, pêssego, amanteigado, macio, melaço, floral, laranja, casca de laranja, rapadura, retrogosto longo, salgado e especiarias, herbal, fruta madura, cítrico (lima), mel, acidez cítrica	
P12_4	7,83 ± 0,14 ab	7,58 ± 0,52 abcdef	7,67 ± 0,14 abcdef	7,50 ± 0,50 bcdefg h	7,67 ± 0,38 abcde	10 ± 0,0 a	7,50 ± 0,43 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,50 ± 0,50 bcdefg hi	83,25 ± 1,89 abcdef ghi	Caramelo, doce de leite, pêssego, chocolate amargo, rapadura, limpo, retrogosto leve amargo, picante, borracha, oleoso, caramelo, marrom glacê, leve queimado	
P12_5	7,92 ± 0,14 ab	7,83 ± 0,14 abcde	7,75 ± 0,00 abcdef	8,00 ± 0,00 abcde	7,75 ± 0,00 abcde	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,25 abcdef gh	84,67 ± 0,63 abcdef gh	Rapadura, laranja, cereja negra, melancia, corpo sedoso, açúcar mascavo, leve fermentado, finalização longa e limpa, amêndoa torrada, acidez maçã vermelha, pera	
P12_6	7,67 ± 0,14 ab	7,92 ± 0,14 abcde	7,83 ± 0,38 abcdef	7,92 ± 0,38 abcdef	7,92 ± 0,14 abcd	10 ± 0,0 a	7,92 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,14 abcdef g	85,00 ± 1,39 abcdef g	Caramelo, doce de leite, pêssego, caramelo, melaço, frutas amarelas, chocolate amargo, retrogosto longo, corpo cheio e redondo, baunilha, frutas cítricas, chá preto	
P12_7*	7,75 ± 0,00 ab	8,00 ± 0,00 abcd	8,08 ± 0,14 ab	7,92 ± 0,14 abc	8,00 ± 0,00 abc	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8,17 ± 0,29 ab	86,08 ± 0,58 abcde	Caramelo, pêssego, laranja, muito macio, amanteigado, frutado (maçã), rapadura, tangerina, hibiscos, manga, limpo, retrogosto longo e doce, acidez cítrica/málica, fruta amarela, ameixa amarela	
P13_0*	7,75 ± 0,25 ab	7,58 ± 0,14 abcdef	7,33 ± 0,14 abcdef	7,50 ± 0,00 bcdefg h	7,58 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef ghi	82,92 ± 0,63 bcdefg hij	Floral, mel, chocolate amargo, frutado, caramelo, corpo leve e sedoso, retrogosto curto, acidez cítrica leve, fruta passa, ameixa, melaço, cítrico leve, leve amargor	
P13_1	7,42 ± 0,14 ab	7,5 ± 0,00 bcdef	7,5 ± 0,25 abcdef	7,25 ± 0,43 cdefgh	7,67 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,33 ± 0,29 bcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,14 abcdef ghi	82,25 ± 0,66 cdefghi j	Floral, mel, amendoado, corpo macio, acidez lática, chocolate ao leite, chá mate, melaço de cana, retrogosto longo, acidez cítrica, leve queimado, cacau	
P13_2	7,75 ± 0,25 ab	7,75 ± 0,25 abcdef	7,75 ± 0,00 abcdef	7,83 ± 0,38 abcdef	8 ± 0,25 abc	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,29 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,29 abcdef	84,92 ± 1,01 abcdef	Floral, melaço, rapadura, muito macio, doce, chocolate ao leite, melaço, corpo aveludado, limpo, Caramelo, manga, fruta amarela	

Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	g							gh		Notas
				Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total		
P13_3*	7,67 ± 0,29 ab	8 ± 0,25 abcd	8,33 ± 0,38 a	8,17 ± 0,29 abc	8 ± 0,25 abc	10 ± 0,0 a	8,33 ± 0,38 abc	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8 ± 0,25 abc	86,75 ± 1,09 abcd	Mel, muito macio, acidez delicada, cremoso, adocicado, amêndoas, tangerina, suculenta, rapadura, corpo aveludado, finalização limpa e agradável, nozes, avelã, grapefruit, acidez brilhante, limão siciliano, caramelo	
P13_4	7,75 ± 0,25 ab	7,92 ± 0,14 abcde	7,83 ± 0,29 abcdef	8 ± 0,0 abcde	7,75 ± 0,25 abcde	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,14 abcdef g	84,92 ± 0,63 abcd gh	Mel, cremoso, amanteigado, mais ácido, melaço, floral leve, ameixa, acidez málica, mel, corpo viscoso, finalização longa, brilhante, Frutado, cítrico leve, refrescante, herbal, menta	
P13_5	7,75 ± 0,25 ab	8 ± 0,0 abcd	7,92 ± 0,14 abcde	8 ± 0,0 abcde	8,17 ± 0,14 ab	10 ± 0,0 a	8 ± 0,0 abcde	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8,17 ± 0,14 abcd	86,00 ± 0,00 abcde	Morango, cremoso, amanteigado, menos doçura, amora (geleia), rosas, goiaba, chocolate branco, corpo sedoso e agradável, refrescante, limpo, acidez cítrica, brilhante, floral, Chocolate ao leite, azeitona, oliva, untuoso, especiarias	
P13_6	7,67 ± 0,38 ab	7,50 ± 0,25 bcdef	7,50 ± 0,25 abcdef	7,67 ± 0,29 bcdefg h	7,67 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,14 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,67 ± 0,38 abcdef ghi	83,33 ± 1,63 abcdef ghi	Azeitona, chocolate, leve amargor, muito encorpado, caramelo, vinho, fermentado, vinho, licoroso, corpo leve áspero, finalização agradável, cheio, Fruta passa, fermentada, manga, canela	
P13_7	7,75 ± 0,50 ab	7,92 ± 0,14 abcde	8,00 ± 0,00 abcd	8,08 ± 0,14 abcd	7,67 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	8,00 ± 0,25 abcde	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	8,08 ± 0,14 abcde	85,50 ± 0,66 abcdef	Melaço, pêssego, amêndoas, corpo aveludado, limpo, suculento, acidez cítrica (limão), finalização longa, equilibrada, cítrico, floral, laranja, cítrico, elegante, mel	
P13_8	7,75 ± 0,25 ab	7,92 ± 0,14 abcde	7,75 ± 0,25 abcdef	8,00 ± 0,00 abcde	7,58 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,25 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,75 ± 0,00 abcdef gh	84,50 ± 0,43 abcdef ghi	Cacau, castanhas, capim cidreira, limão, retrogosto longo e doce, fermentado, abacaxi, fruta branca, falta balanço	
P14_F	7,67 ± 0,29 ab	7,58 ± 0,38 abcdef	7,42 ± 0,29 abcdef	7,42 ± 0,38 cdefgh	7,50 ± 0,25 bcde	10 ± 0,0 a	7,50 ± 0,43 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,42 ± 0,29 bcdefg hi	82,50 ± 2,17 bcdefg hij	Frutado, leve amargor, herbal, cacau, chocolate amargo, laranja, suculento, melaço de cana, limpo, corpo sedoso, retrogosto longo e doce, cheio, acidez cítrica, leve madeira, fermentado, doce (calda de açúcar), finalização limpa	

Amostra	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Uniformidade	Equilíbrio	Ausência/ Defeitos	Doçura	Final	Total	Notas
P15_C	7,25 ± 0,00 ab	7,42 ± 0,14 cdef	7,25 ± 0,25 abcdef	7,50 ± 0,00 bcdefg h	7,42 ± 0,14 bcde	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,00 cdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,25 ± 0,25 defghi	81,33 ± 0,58 efghij	Herbal, caramelo, mais corpo, chocolate amargo, corpo sedoso, retrogosto longo
P15_F	7,67 ± 0,14 ab	7,92 ± 0,14 abcde	7,50 ± 0,25 abcdef	7,83 ± 0,14 abcdef g	7,58 ± 0,14 abcde	10 ± 0,0 a	7,58 ± 0,29 abcdef	10 ± 0,0 a	10 ± 0,0 a	7,83 ± 0,14 abcdef g	83,92 ± 0,88 abcdef ghi	Rapadura, vinho branco, melão, abacaxi, corpo viscoso, retrogosto, lúpulo, fermentado, herbal, frutado, banana, passa, caju

Valores expressos em média ± DP (n = 3). Para os mesmos processos, valores seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (ANOVA p < 0,05). \* amostras selecionadas para as análises físico-químicas.

**Figura 20:** Nota total da avaliação sensorial (metodologia SCA) das amostras de cafés fermentados e seus controles na etapa de estudo do processo de fermentação



A linha pontilhada se refere a pontuação da escala SCA de 80 pontos. Abaixo de 80 pontos o café é classificado como tradicional e acima de 80 pontos o café é classificado como especial. Os quadros vermelhos mostram os processos que tiveram maior ganho de qualidade e foram escolhidos para serem avaliados quanto a composição físico-química. Os processos P9, P12 e P13 foram os processos utilizados para acompanhamento da fermentação e por isso cada ponto azul representa um recipiente aberto em cada dia de processo.

Dos 15 processos de fermentação anaeróbia induzida, em 12 foi possível observar o aumento na média da nota total na avaliação sensorial em pelo menos uma das amostras fermentadas (Tabela 2 e Figura 20). Nesses 12 processos, as amostras fermentadas, quando comparadas as amostras controle, apresentaram média total maior e tiveram um enriquecimento no perfil descritivo sensorial, com notas mais frutadas, doces e atributos mais complexos.

Em 3 processos (P10, P11 e P14), houve a redução dessas médias após a fermentação (Figura 20), embora ainda exista descrição de notas sensoriais complexas. Uma observação importante é que para esses 3 processos, o café utilizado sempre foi de muita alta qualidade (88 e 87,5 pontos SCA para as amostras controle). Quando o café já

tem alta qualidade, o processo de fermentação deve ser conduzido de forma muito cuidadosa porque poucos defeitos gerados são suficientes para reduzir a nota total. Já quando um café inicia a fermentação com uma qualidade inferior, é mais fácil computar ganhos na nota da avaliação sensorial, e se passar do tempo ideal de fermentação e começar a produzir sabores menos agradáveis, ainda assim vai permanecer com nota total maior do que o valor inicial.

Como esperado, a avaliação sensorial dos cafés controle da Fazenda 2 (P10 a P15), em geral, foi superior às amostras produzidas pela Fazenda 1 utilizando o café *C. arabica* (P3 a P9). Todos esses cafés da fazenda 2 já foram classificados como cafés especiais mesmo antes de passar pelo processo de fermentação. Essa maior pontuação se deve a diferenças na altitude, clima, radiação solar e manejo da lavoura entre as fazendas, o que afeta a qualidade do café (FARAH, 2019).

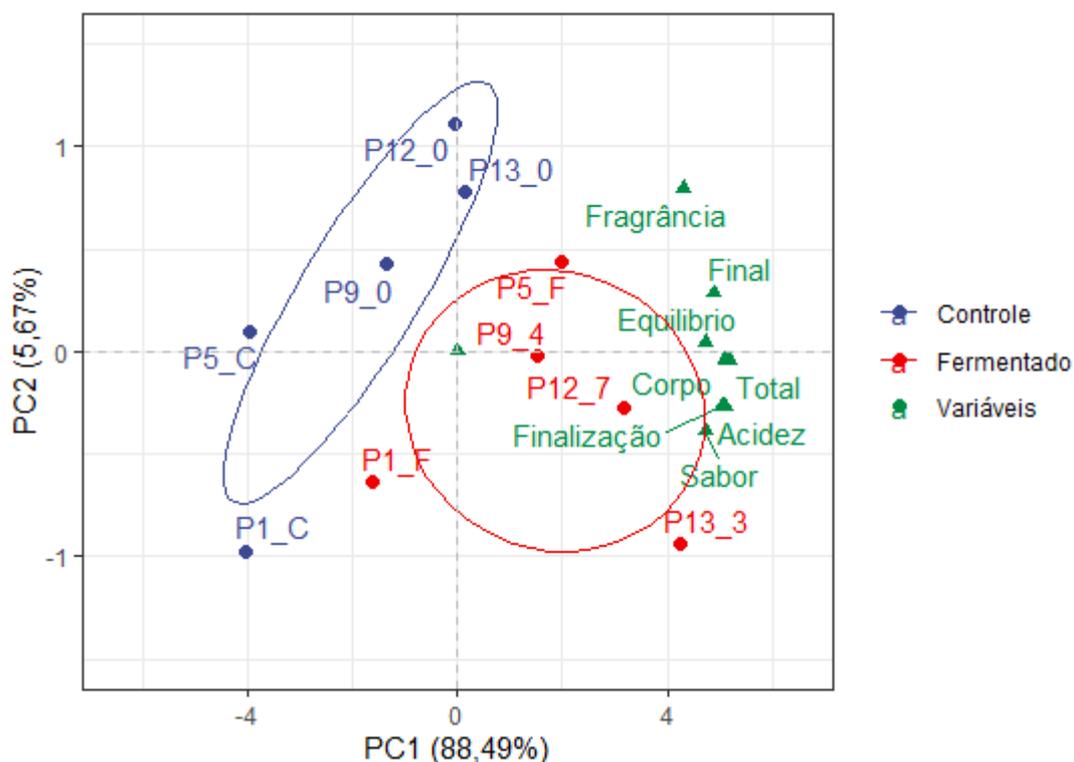
Na Fazenda 1, em geral, o café controle teve menor nota que na Fazenda 2. Nesse caso, o processo de fermentação levou a uma grande melhora na qualidade da bebida, chegando a classificar 3 cafés antes não especiais (P1, P5 e P6) para especiais (mais de 80 pontos na escala SCA). No processo P5, houve o maior aumento na qualidade sensorial entre todos os processos, que foi de 5,08 na média da avaliação total, saindo de 79,42 pontos e chegando a 84,50 pontos. Esse ganho na qualidade faz com que o processo de fermentação anaeróbia induzida seja muito interessante como forma de agregar valor ao café produzido, além de diversificar as características sensoriais de um mesmo café.

Apesar de os processos serem conduzidos nas diferentes fazendas, a Análise de Componentes Principais (PCA) dos resultados da análise sensorial não permitiu o agrupamento de amostras em relação a sua altitude. Isso aconteceu porque em vários processos, os cafés da fazenda 1 tiveram um grande aumento na nota sensorial se aproximando das notas do café da fazenda 2, além de algumas amostras da fazenda 2 terem redução em suas notas após a fermentação.

### **5.2.3.1 Amostras selecionadas para análises físico-químicas**

Observando as notas de cada parâmetro sensorial avaliado, notas totais e atributos sensoriais descritos pelos provadores, 5 amostras (controle e fermentados) foram escolhidas para as análises físico-químicas. Foram as amostras de *C. canephora* - P1 Controle e Fermentado; e de *C. arabica* - P5 Controle e Fermentado; P9 dia 0 (controle) e dia 4; P12 dia 0 (controle) e dia 7; P13 dia 0 (controle) e dia 3. Para essas amostras, as notas dos parâmetros da análise sensorial foram aplicadas a uma análise de componentes principais (PCA) (Figura 21).

**Figura 21:** Análise de Componentes Principais (PCA) da avaliação sensorial das amostras de café controle e fermentados escolhidas para as análises físico-químicas (P1, P5, P9, P12 e P13)



PC1 é explicado pelo aumento nas notas de fragrância, sabor, finalização, acidez, corpo, equilíbrio, final e nota total. Os atributos de uniformidade, ausência/defeitos e doçura não tiveram influência no PCA.

A análise de componentes principais pôde separar estatisticamente os cafés fermentados de seus controles, já que todas as amostras controles ficam agrupadas nos quadrantes a esquerda e as amostras fermentadas foram agrupadas nos quadrantes a direita. Todas essas amostras de café fermentado tiveram maiores notas para fragrância, sabor, finalização, acidez, corpo, equilíbrio e final do que seus controles. A fermentação de cafés pelo método anaeróbico induzido, dentro de biorreatores impactam positivamente a qualidade da bebida gerada, principalmente em relação aos atributos de doçura, acidez e corpo (DA MOTA et al., 2022).

No PCA (Figura 21), a amostra P1\_F está mais próxima das amostras controle, pois, após o processo de fermentação, a nota sensorial total é menor que as demais amostras fermentadas, estando mais próxima das notas sensoriais das amostras controle de alguns processos, como P5\_C. Esse comportamento era esperado, pois o processo P1 foi feito com a espécie *C. canephora*, que possui composição química diferente e, portanto, perfil sensorial diferente (geralmente de baixa qualidade) das espécies de café arábica (processos P5, P9, P12 e P13). Mas, além disso, esta amostra fermentada (P1\_F) está mais

na posição mais à direita do que seu controle (P1\_C), mostrando que o processo de fermentação levou a uma melhora nas notas sensoriais para esta amostra. Essa amostra de café da espécie *C. canephora* não obteve pontuação sensorial tão alta quanto alguns dos cafés *C. arabica* (chegando a mais de 86 pontos), mas a melhora sensorial desta amostra foi positiva para esta espécie com pontuação atingindo mais de 80 pontos e sendo classificado como café especial. Nos descritores sensoriais, após a fermentação, este café apresentou atributos mais agradáveis, como rapadura, melão, corpo cremoso, muito limpo e não apresentou atributos desagradáveis que apareceram no controle, como amargo, pesado, retrogosto desagradável, borracha, levemente medicinal e leve amargor no final, mostrando que para este café, mesmo não tendo um grande aumento no valor total da avaliação sensorial como os demais, houve uma considerável melhora na qualidade.

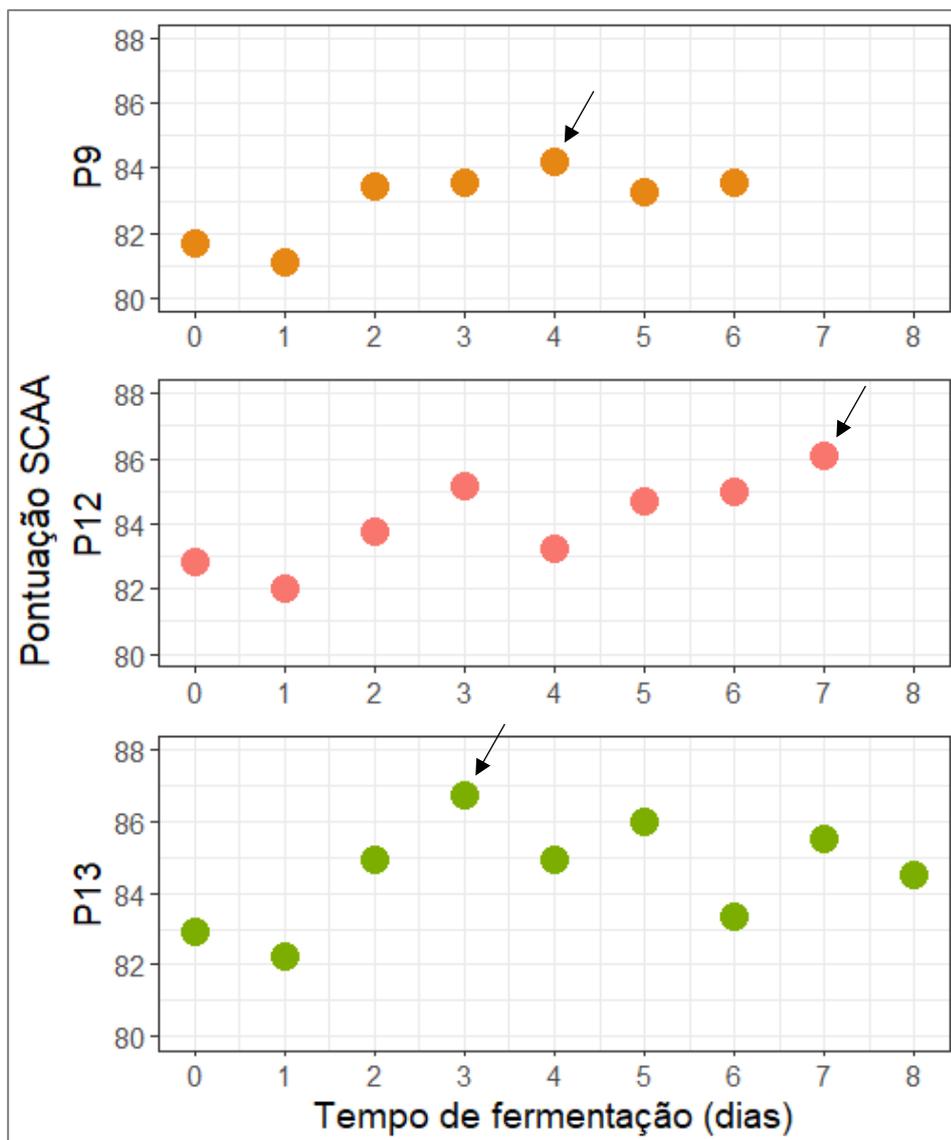
Da mesma forma, as amostras controle dos processos P12 e P13 estão mais próximas das amostras fermentadas, pois são cafés especiais com notas iniciais mais altas (82,58 e 82,92 respectivamente), mesmo antes do processo de fermentação. Suas amostras fermentadas também estão na posição mais à direita, mostrando que houve melhora na qualidade sensorial.

Nesse PCA (Figura 21), não foi possível observar um agrupamento das amostras das diferentes fazendas. Assim, houve uma maior diferenciação sensorial das amostras em relação ao processo pós-colheita aplicado do que em relação a altitude e região em que os processos foram conduzidos.

### **5.2.3.2 Amostras para acompanhamento do processo de fermentação**

A Figura 22 mostra o resultado da nota total da avaliação sensorial das amostras dos processos P9, P12 e P13, que são os processos em que foi feito o acompanhamento da fermentação. Nesses processos, foi possível perceber que apenas no primeiro dia de fermentação houve uma ligeira queda na nota total da avaliação sensorial, e nos outros dias de fermentação nenhuma outra nota foi menor que a nota do controle. Nos três processos foi possível notar que a fermentação aumentou significativamente a nota sensorial das bebidas e criou mais complexidade na bebida conforme descrito nos atributos, agregando sabores mais frutados e agradáveis. Na amostra de café P9, a maior avaliação ocorreu para o café fermentado por 4 dias, com aumento de 2,42 pontos na pontuação média total. Na amostra P12, a maior pontuação sensorial ocorreu no 7º dia de fermentação, com aumento de 3,5 pontos na escala SCA. E nas amostras P13, a maior pontuação sensorial foi alcançada no 3º dia com acréscimo de 3,83 pontos na média das avaliações.

**Figura 22:** Notas totais da avaliação sensorial (escala SCA) das amostras dos processos de acompanhamento da fermentação (P9, P12 e P3)



As setas indicam a amostra que apresentou a melhor nota total na avaliação sensorial de cada processo.

No processo P9, o café utilizado foi previamente lavado (para retirada do café boia por densidade) e apresentou notas descritivas de doçura (caramelo, melaço), corpo (muito encorpado e corpo cremoso) e amargor (chocolate amargo, leve amargo). Com o passar dos dias de fermentação, o café começou a apresentar notas mais frutadas, menos notas de amargor, mais notas de doçura e maior complexidade. No dia 4 de fermentação, que é quando apresentou nota total mais alta, o café apresentou notas frutadas suave, casca de maracujá, frutas amarelas, fruta passa, além de notas florais, herbal, de doçura, além de corpo e retrogosto agradável. No dia 6 de fermentação o café começou a apresentar características de café fermentado como duas descrições de fermentado e de

vinho.

Os processos P12 e P13 foram feitos utilizando o mesmo café, porém o primeiro não foi lavado (café cereja escolhido a mão, sem contato com água) e o segundo foi lavado antes do processo para separação do café boia por densidade. O processo controle P12 apresentou notas de frutas e notas doces, como pêssego e frutas amarelas, e com o passar dos dias de fermentação, até chegar ao dia 7, quando apresentou maior nota, as notas de frutas aumentaram, como pêssego, laranja, maçã, tangerina, manga, fruta amarela e ameixa amarela, além de outras características, mostrando que a bebida adquiriu complexidade de sabores como tempo.

Apesar de ser o mesmo lote de café utilizado no processo P12, a avaliação sensorial do café controle do processo P13 apresentou notas descritivas um pouco diferentes. Isso pode ter acontecido porque quando um café é molhado e levado para secar, ele permanece úmido por mais tempo, o que pode levar a várias reações químicas e microbiológicas que alteram o sabor da bebida (FARAH, 2019). Assim, o controle desse café apresentou notas de frutas, de frutas passas, e notas doces como mel e caramelo. No terceiro dia de fermentação o café já alcançou a maior nota total, com descrições mais complexas, com mais notas doces como o mel, rapadura, caramelo, adocicado, notas de amêndoa, nozes, avelã e outras características positivas da bebida como corpo cremoso, acidez delicada, macio, finalização limpa e agradável. A partir do dia 5, porém, começaram a aparecer algumas notas sensoriais ligadas a fermentação considerada excessiva, como azeitona, oliva e fermentado. Como no processo P12 essas notas sensoriais não apareceram, uma hipótese é que a lavagem do café acelera o processo fermentativo, de forma que o mesmo tenha que ser interrompido antes para evitar o desenvolvimento de sabores não tão positivos na bebida do café.

## **5.2.4 Análises físico-químicas**

### **5.2.4.1 Umidade e atividade de água**

A Tabela 3 mostra o resultado das análises de umidade e atividade de água das amostras de café verde, após o procedimento de secagem em terreiro ou terreiro suspenso.

**Tabela 3:** Resultado das análises de umidade e atividade de água das amostras de café verde controle e fermentadas

Amostra	Umidade (ISO, 2003)	Atividade de água
P1_C	11,50 ± 0,05 a	0,6042 ± 0,0009 a
P1_F	11,27 ± 0,10 b	0,6128 ± 0,0030 a
P5_C	11,40 ± 0,04 ab	0,5900 ± 0,0038 b
P5_F	11,31 ± 0,06 b	0,5896 ± 0,0084 b
P9_0	9,48 ± 0,03 d	0,5035 ± 0,0031 e
P9_4	9,02 ± 0,06 e	0,5217 ± 0,0028 d
P12_0	9,43 ± 0,03 d	0,4905 ± 0,0018 f
P12_7	10,22 ± 0,05 c	0,5347 ± 0,0020 c
P13_0	9,42 ± 0,03 d	0,4927 ± 0,0011 f
P13_3	9,13 ± 0,02 e	0,4847 ± 0,0008 f

Letras iguais na mesma coluna, significa que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

A umidade de todas as amostras de café estava dentro dos valores recomendados pela Organização Internacional do Café (*International Coffee Organization – ICO*) (FAO, 2006), que determina que o intervalo entre 8 e 12,5% de umidade para o café verde quando medido utilizando o método ISO 6673.

A atividade de água de todas as amostras de café foi inferior a 0,76, que é o valor limite para a segurança microbiológica do café verde. Acima desse valor, pode haver o crescimento de fungos produtores de ocratoxina A (OTA) que podem comprometer a segurança do café verde (FAO, 2006).

#### 5.2.4.2 Densidade aparente e expansão na torra

A Tabela 4 mostra o resultado da densidade aparente dos cafés crus e torrados e a expansão na torra.

**Tabela 4:** Resultado das análises de umidade e atividade de água das amostras de café verde controle e fermentadas

Amostra	Densidade aparente café cru (g/ml)	Densidade aparente café torrado (g/ml)	Expansão na torra (%)
P1_C	0,72 ± 0,01 b	0,35 ± 0,00 c	51,78 ± 0,77 bc
P1_F	0,74 ± 0,01 ab	0,38 ± 0,00 b	48,96 ± 0,45 de
P5_C	0,68 ± 0,01 c	0,34 ± 0,00 c	50,24 ± 0,01 bcd
P5_F	0,69 ± 0,00 c	0,35 ± 0,00 c	49,30 ± 0,35 cd
P9_0	0,67 ± 0,01 c	0,30 ± 0,00 e	55,50 ± 0,39 a
P9_4	0,68 ± 0,01 c	0,32 ± 0,00 d	52,95 ± 0,69 ab
P12_0	0,73 ± 0,01 ab	0,43 ± 0,00 a	41,35 ± 0,90 g
P12_7	0,74 ± 0,01 ab	0,41 ± 0,01 a	43,72 ± 2,07 fg
P13_0	0,73 ± 0,01 ab	0,39 ± 0,01 b	46,20 ± 1,45 ef
P13_3	0,74 ± 0,01 a	0,42 ± 0,01 a	43,88 ± 0,62 fg

Letras iguais na mesma coluna, da mesma amostra, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

Observando a Tabela 4, é possível perceber que a densidade do café cru não apresentou diferença significativa entre as amostras controle e fermentados para todos os processos.

Para os cafés torrados, é possível perceber que houve diferença significativa entre os cafés controle e fermentados para os processos P1, P9 e P13 que apresentou maior densidade aparente no café fermentado do que no controle. Mas como as amostras P5 e P12 não apresentaram diferenças significativas, não se pode relacionar esse aumento exclusivamente ao processo de fermentação.

A expansão da torra só apresentou diferença significativa para a amostra P1 com menor expansão para o café fermentado do que o controle e por ocorrer nessa única amostra, não podemos relacionar essa diferença exclusivamente ao processo de fermentação.

#### 5.2.4.3 Índice de refração e sólidos solúveis

O resultado das análises de índice de refração ( $^{\circ}$ Brix) e sólidos solúveis dos cafés verdes e torrados estão descritos na Tabela 5.

**Tabela 5:** Valores de Índice de refração ( $^{\circ}$ Brix) e sólidos solúveis das amostras de café verde e café torrado controle e fermentadas

Amostra	Café verde		Café torrado	
	Índice de Refração ( $^{\circ}$ Brix)	Sólidos solúveis (%)	Índice de Refração ( $^{\circ}$ Brix)	Sólidos solúveis (%)
P1_C	2,07 $\pm$ 0,06 ab	1,65 $\pm$ 0,05 ab	2,07 $\pm$ 0,06 a	1,65 $\pm$ 0,05 a
P1_F	1,50 $\pm$ 0,00 d	1,18 $\pm$ 0,00 d	2,00 $\pm$ 0,00 ab	1,59 $\pm$ 0,00 ab
P5_C	1,93 $\pm$ 0,06 b	1,54 $\pm$ 0,05 b	1,80 $\pm$ 0,00 cd	1,43 $\pm$ 0,00cd
P5_F	1,97 $\pm$ 0,06 b	1,57 $\pm$ 0,05 b	1,80 $\pm$ 0,00 cd	1,43 $\pm$ 0,00 cd
P9_0	1,10 $\pm$ 0,10 e	0,85 $\pm$ 0,08 e	2,03 $\pm$ 0,06 a	1,62 $\pm$ 0,05 a
P9_4	2,17 $\pm$ 0,06 a	1,73 $\pm$ 0,05 a	2,07 $\pm$ 0,06 a	1,65 $\pm$ 0,05 a
P12_0	1,63 $\pm$ 0,06 cd	1,29 $\pm$ 0,05 cd	1,80 $\pm$ 0,00 cd	1,43 $\pm$ 0,00 cd
P12_7	1,70 $\pm$ 0,00 c	1,34 $\pm$ 0,00 c	1,77 $\pm$ 0,06 d	1,40 $\pm$ 0,05 d
P13_0	1,93 $\pm$ 0,06 b	1,54 $\pm$ 0,05 b	1,90 $\pm$ 0,00 bc	1,51 $\pm$ 0,00 bc
P13_3	2,00 $\pm$ 0,00 b	1,59 $\pm$ 0,00 b	1,80 $\pm$ 0,00 cd	1,43 $\pm$ 0,00 cd

Letras iguais na mesma coluna, da mesma amostra, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

Não foi encontrada nenhuma relação entre o índice de refração e quantidade de sólidos solúveis do café verde e do café torrado com o processo de fermentação dos cafés.

#### 5.2.4.4 Condutividade elétrica e Lixiviação de Potássio

Os resultados das análises de condutividade elétrica e lixiviação de potássio dos cafés verdes estão descritos na Tabela 6.

A condutividade elétrica reduziu nas amostras de café fermentados nos processos P1, P5 e P12, que não foram lavados antes de serem colocados nos recipientes de fermentação. Para os processos que foram lavados antes de fermentar, P9 e P13, houve aumento na condutividade elétrica após a fermentação.

Apesar de existir uma correlação linear razoável ( $r^2 = 0,9005$ ) entre os resultados da condutividade elétrica e da lixiviação de potássio, não foi encontrada nenhuma relação entre a lixiviação de potássio com o processo de fermentação dos cafés.

A condutividade elétrica e a lixiviação de potássio são análises que indicam a integridade das membranas celulares do endosperma do café. Cafés de baixa qualidade geralmente apresentam maiores valores para essas duas análises (PEREIRA; MOREIRA, 2020; PRETE, 1992). Como somente os processos P9 e P13, que passaram por lavagem antes da fermentação apresentaram aumento na condutividade elétrica, é possível indicar

que o processo fermentativo mais intenso alterou mais intensamente a composição do grão iniciando um processo de alteração na permeabilidade das membranas celulares. Apesar disso, esse resultado não pode ser relacionado a baixa qualidade da bebida, já que nesses dois processos houve um aumento na condutividade elétrica, mas também houve um aumento na nota da avaliação sensorial da bebida (Tabela 2 e Figura 20).

**Tabela 6:** Resultado das análises de condutividade elétrica e lixiviação de potássio nas amostras de café verde controle e fermentadas

Amostra	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Lixiviação de potássio (mg/L/g de café)
P1_C	234,62 $\pm$ 6,98 bcd	95,22 $\pm$ 8,04 cd
P1_F	202,10 $\pm$ 3,17 de	76,25 $\pm$ 3,32 e
P5_C	263,13 $\pm$ 19,74 b	98,43 $\pm$ 3,43 c
P5_F	250,26 $\pm$ 3,78 bc	99,17 $\pm$ 4,95 c
P9_0	342,40 $\pm$ 27,49 a	117,79 $\pm$ 3,56 b
P9_4	348,05 $\pm$ 8,69 a	146,99 $\pm$ 5,84 a
P12_0	214,72 $\pm$ 16,57 cd	83,41 $\pm$ 3,69 de
P12_7	176,50 $\pm$ 5,88 e	75,39 $\pm$ 4,15 e
P13_0	203,10 $\pm$ 2,06 de	81,52 $\pm$ 4,25 de
P13_3	220,27 $\pm$ 6,65 cd	85,93 $\pm$ 6,11 cde

Letras iguais na mesma coluna significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

#### 5.2.4.5 Compostos fenólicos totais

Os resultados da análise de compostos fenólicos totais estão descritos na Tabela 7.

**Tabela 7:** Resultado das análises de compostos fenólicos totais nas amostras de café verde e café torrado controle e fermentadas

Amostra	Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico/100g de café)	
	Café verde	Café torrado
P1_C	254,8 ± 2,7 a	271,0 ± 4,5 a
P1_F	237,7 ± 2,6 b	261,3 ± 6,0 a
P5_C	122,4 ± 5,7 f	164,3 ± 7,9 d
P5_F	151,6 ± 3,8 e	191,9 ± 2,5 bc
P9_0	198,3 ± 8,1 c	207,7 ± 9,9 b
P9_4	199,0 ± 2,2 c	203,4 ± 9,2 bc
P12_0	186,2 ± 9,3 cd	183,0 ± 7,2 cd
P12_7	186,9 ± 7,5 cd	197,7 ± 7,8 bc
P13_0	179,6 ± 2,0 d	193,3 ± 8,8 bc
P13_3	191,2 ± 2,2 cd	190,8 ± 6,0 bc

Letras iguais na mesma coluna, da mesma amostra, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

Não foi encontrada nenhuma relação entre a quantidade de compostos fenólicos nas amostras com o processo de fermentação dos cafés.

#### 5.2.4.6 Melanoidinas

Os resultados da análise de compostos fenólicos totais estão descritos na Tabela 8.

**Tabela 8:** Resultado da análise de melanoidinas no café torrado controle e fermentadas

Amostra	Melanoidinas (g/100g)
P1_C	9,28 ± 0,09 c
P1_F	10,18 ± 0,11c
P5_C	13,47 ± 0,78 ab
P5_F	12,54 ± 0,34 b
P9_0	13,18 ± 0,38 ab
P9_4	13,32 ± 0,12 ab
P12_0	13,10 ± 0,34 b
P12_7	12,85 ± 0,15 b
P13_0	14,13 ± 0,23 a
P13_3	12,63 ± 0,20 b

Letras iguais na mesma coluna, da mesma amostra, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

Não foi encontrada nenhuma relação entre a quantidade de melanoidinas no café torrado com o processo de fermentação dos cafés.

#### 5.2.4.8 Cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico

Os resultados da análise de ácido clorogênico, cafeína e ácido cafêico estão descritos na Tabela 9.

Todas as amostras de café verde controle tiveram quantidade de ácido clorogênico significativamente diferentes de todas as amostras fermentadas. Em 4 processos (P1, P5, P9 e P12), houve o aumento desse ácido nas amostras após o processo de fermentação, e em apenas uma (P13) houve a redução após o processo.

Alguns autores (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010) descrevem o aumento e outros (WANG et al., 2018) descrevem a redução na quantidade de ácido clorogênico no café verde utilizando fermentação via úmida, aonde o café já descascado é submerso em água. Utilizando a fermentação anaeróbia induzida, Pereira et al. (2022) descreve o aumento na quantidade de ácido clorogênico nas amostras de café verde, assim como a maioria dos processos descritos na Tabela 9.

**Tabela 9:** Resultado das análises de cafeína, ácido clorogênico e ácido cafêico em amostras de café verde e café torrado controle e fermentadas

Amostra	Café verde			Café torrado		
	Ácido clorogênico (g/100g)	Cafeína (g/100g)	Ácido Cafêico (g/100g)	Ácido clorogênico (g/100g)	Cafeína (g/100g)	Ácido Cafêico (g/100g)
P1_C	2,67 ± 0,04 ef	1,71 ± 0,05 a	ND < 0,02 a	1,40 ± 0,12 a	2,67 ± 0,09 a	ND < 0,02 a
P1_F	3,19 ± 0,00 b	1,60 ± 0,00 ab	ND < 0,02 a	1,14 ± 0,09 ab	1,46 ± 0,10 b	ND < 0,02 a
P5_C	1,72 ± 0,03 h	0,56 ± 0,01 c	ND < 0,02 a	1,00 ± 0,13 b	1,25 ± 0,02 b	ND < 0,02 a
P5_F	2,82 ± 0,02 def	0,88 ± 0,00 abc	ND < 0,02 a	1,38 ± 0,05 a	1,35 ± 0,00 b	ND < 0,02 a
P9_0	2,62 ± 0,12 fg	0,89 ± 0,01 abc	ND < 0,02 a	1,19 ± 0,04 ab	1,47 ± 0,04 b	ND < 0,02 a
P9_4	2,98 ± 0,02 bcd	1,05 ± 0,01 abc	ND < 0,02 a	1,39 ± 0,01 a	1,43 ± 0,01 b	ND < 0,02 a
P12_0	2,90 ± 0,01 cde	1,38 ± 0,01 abc	ND < 0,02 a	1,20 ± 0,00 ab	1,51 ± 0,00 b	ND < 0,02 a
P12_7	3,61 ± 0,01 a	1,31 ± 0,01 bc	ND < 0,02 a	1,31 ± 0,03 ab	1,41 ± 0,01 b	ND < 0,02 a
P13_0	3,06 ± 0,00 bc	1,36 ± 0,00 abc	ND < 0,02 a	1,06 ± 0,01 ab	1,30 ± 0,08 b	ND < 0,02 a
P13_3	2,42 ± 0,00 g	1,14 ± 0,00 abc	ND < 0,02 a	1,32 ± 0,01 ab	1,45 ± 0,01 b	ND < 0,02 a

ND = Não detectado. Letras iguais na mesma coluna, da mesma amostra, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

No café torrado, não houve diferença significativa entre a quantidade de ácido clorogênico para as amostras controle e fermentadas.

Não foi encontrada nenhuma relação entre a quantidade de cafeína nas amostras de café verde e café torrado com o processo de fermentação dos cafés. Outros autores também descrevem que não houve alteração na quantidade de cafeína presente nos grãos de café após diferentes processos de fermentação, como o processo via-úmida (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010). Esse efeito é relacionado a alta termo estabilidade dessa substância, dificultando seu consumo e quebra durante as reações que ocorrem na fermentação (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010).

Purwoko et al., (2022) e Wang et al., (2020) descrevem um processo de fermentação de café específico com a esterilização das sementes e inoculação de microrganismos isolados (*Rhizopus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus casei* e *Leuconostoc mesenteroides* - PURWOKO et al. (2022); e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* - WANG et al., (2020)). Nos dois processos houve a degradação do ácido clorogênico e no primeiro houve também a degradação da cafeína presentes nas sementes de café, causando uma significativa redução na quantidade inicial. Porém, essa redução pode ter acontecido porque a inoculação desses microrganismos foi feita em uma alta quantidade ( $10^7$  e  $10^9$ UFC/g, respectivamente), diretamente nas sementes dos frutos e em

condições ideais para seu desenvolvimento.

#### 5.2.4.7 Sacarose, glicose e frutose

Os resultados da análise de sacarose, glicose e frutose estão descritos na Tabela 10.

**Tabela 10:** Resultado das análises de sacarose, glicose e frutose presente nas amostras de café verde controle e fermentadas

Amostra	Café verde			Café torrado		
	Frutose (g/100g)	Glicose (g/100g)	Sacarose (g/100g)	Frutose (g/100g)	Glicose (g/100g)	Sacarose (g/100g)
P1_C	ND < 0,20 d	ND < 0,20 a	3,13 ± 0,01 j	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	0,45 ± 0,00 e
P1_F	ND < 0,20 d	ND < 0,20 a	3,33 ± 0,02 i	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	ND < 0,20 f
P5_C	0,41 ± 0,02 c	ND < 0,20 a	7,35 ± 0,04 c	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	ND < 0,20 f
P5_F	0,56 ± 0,01 b	ND < 0,20 a	6,94 ± 0,00 d	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	ND < 0,20 f
P9_0	ND < 0,20 d	ND < 0,20 a	9,05 ± 0,12 b	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	0,91 ± 0,01 a
P9_4	ND < 0,20 d	ND < 0,20 a	9,62 ± 0,08 a	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	0,78 ± 0,01 b
P12_0	0,43 ± 0,00 c	ND < 0,20 a	6,00 ± 0,03 e	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	0,63 ± 0,02 d
P12_7	0,65 ± 0,01 a	ND < 0,20 a	5,18 ± 0,02 h	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	0,69 ± 0,00 c
P13_0	0,45 ± 0,00 c	ND < 0,20 a	5,47 ± 0,01 f	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	ND < 0,20 f
P13_3	0,57 ± 0,00 b	ND < 0,20 a	5,25 ± 0,02 g	ND < 0,20 a	ND < 0,20 a	ND < 0,20 f

ND = Não detectado. Letras iguais na mesma coluna, da mesma amostra, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

A quantidade de frutose presente no café verde aumentou para as 3 amostras (P5, P12 e P13) em que esse monossacarídeo foi detectado. O aumento na quantidade de frutose também foi descrito por (RIBEIRO et al., 2018) no café verde após o processo de fermentação (processo via-úmida).

A sacarose foi o açúcar detectado em maior quantidade tanto para o café verde quanto para o café torrado e é o principal açúcar presente nos grãos de café (RIBEIRO et al., 2018). Esse açúcar teve redução significativa após a fermentação em 3 processos, que foram os mesmos que tiveram aumento na quantidade de frutose, que são os processos P5, P12 e P13. Os outros 2 processos (P1 e P9) apresentaram aumento na quantidade de

sacarose presente no café verde após a fermentação.

#### 5.2.4.8 Ácidos orgânicos

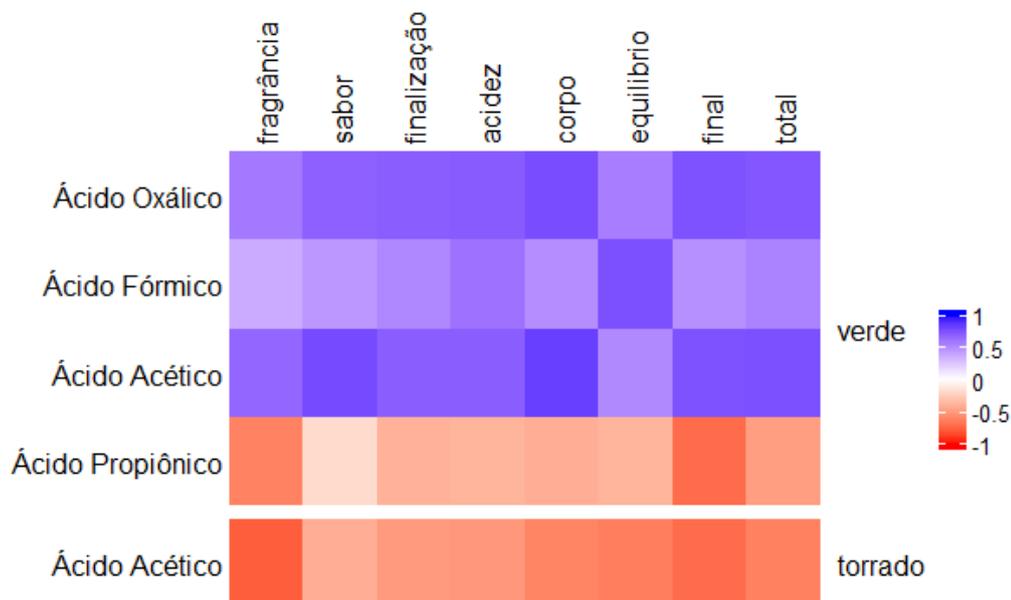
Os resultados das análises de ácidos orgânicos no café verde estão descritos na Tabelas 11. A Figura 23 mostra o resultado da correlação de Pearson entre a análise sensorial e o resultado da análise dos ácidos orgânicos do café verde e fermentado. Na figura, são mostrados os resultados que apresentaram pelo menos um valor acima de 0,7 no índice de correlação.

**Tabela 11:** Resultado das análises de ácidos orgânicos presentes nas amostras de café verde controle e fermentadas

Amostra	Ácido Oxálico (g/100g)	Ácido Tartárico (g/100g)	Ácido Fórmico (g/100g)	Ácido Málico (g/100g)	Ácido Lático (g/100g)	Ácido Acético (g/100g)	Ácido Cítrico (g/100g)	Ácido Succínico (g/100g)	Ácido Propiônico (g/100g)
P1_C	0,12 ± 0,01 f	0,00 ± 0,00 a	0,10 ± 0,01 f	0,21 ± 0,00 g	0,23 ± 0,00 f	0,00 ± 0,00 f	0,94 ± 0,02 g	0,00 ± 0,00 a	0,53 ± 0,01 a
	0,20 ± 0,00 e	0,00 ± 0,00 a	0,12 ± 0,00 ef	0,24 ± 0,00 f	0,22 ± 0,00 f	0,00 ± 0,00 f	1,04 ± 0,01 ef	0,00 ± 0,00 a	0,46 ± 0,00 b
P5_C	0,21 ± 0,00 e	0,00 ± 0,00 a	0,14 ± 0,00 de	0,41 ± 0,00 b	0,30 ± 0,01 d	0,00 ± 0,00 f	1,45 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 a	0,24 ± 0,01 e
	0,34 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 a	0,17 ± 0,00 d	0,42 ± 0,00 b	0,46 ± 0,01 b	0,25 ± 0,00 c	1,50 ± 0,01 a	0,00 ± 0,00 a	0,32 ± 0,01 c
P9_0	0,27 ± 0,01 d	0,00 ± 0,00 a	0,24 ± 0,00 c	0,47 ± 0,00 a	0,36 ± 0,00 c	0,15 ± 0,00 de	1,02 ± 0,01 f	0,00 ± 0,00 a	0,24 ± 0,00 e
	0,54 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,47 ± 0,01 b	0,41 ± 0,01 b	0,74 ± 0,01 a	0,30 ± 0,01 b	1,06 ± 0,01 e	0,00 ± 0,00 a	0,20 ± 0,00 f
P12_0	0,21 ± 0,00 e	0,00 ± 0,00 a	0,13 ± 0,00 ef	0,31 ± 0,00 d	0,26 ± 0,00 e	0,00 ± 0,00 f	1,20 ± 0,01 d	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 g
	0,44 ± 0,01 b	0,00 ± 0,00 a	0,12 ± 0,01 ef	0,28 ± 0,00 e	0,35 ± 0,00 c	0,37 ± 0,01 a	1,03 ± 0,00 ef	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 g
P13_0	0,22 ± 0,01 e	0,00 ± 0,00 a	0,47 ± 0,01 b	0,35 ± 0,00 c	0,31 ± 0,01 d	0,14 ± 0,01 e	1,27 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 a	0,23 ± 0,00 ef
	0,34 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 a	0,65 ± 0,02 a	0,35 ± 0,01 c	0,36 ± 0,00 c	0,16 ± 0,00 d	1,24 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 a	0,27 ± 0,00 d

ND = Não detectado. Letras iguais na mesma coluna, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

**Figura 23:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre as análises de ácidos orgânicos presentes no café verde e a análise sensorial dos cafés controle e fermentados



Os resultados dos ácidos orgânicos apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) com pelo menos uma das avaliações sensoriais.

Foi possível encontrar uma correlação entre a quantidade de ácido oxálico presente no café verde e o processo de fermentação, já que a quantidade desse ácido aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) em todas as amostras de café fermentado em relação aos seus controles. O índice de Pearson (Figura 23) mostrou que houve uma correlação positiva entre a presença desse ácido no café verde e os atributos sensoriais avaliados. Em estudo realizado por Borém et al. (2016), foi encontrada a relação inversa entre a presença desse ácido no café verde e características sensoriais, onde a quantidade de ácido oxálico presente em diferentes amostras de cafés especiais foi correlacionada negativamente com a qualidade da bebida.

Os ácidos tartárico e succínico não foram detectados no café verde.

Ácido fórmico foi detectado em todas as amostras de café verde, com aumento significativo em duas amostras fermentadas em relação aos seus controles (P9 e P13). Em duas outras amostras houve um pequeno aumento (P1 e P5) e na outra uma pequena redução (P12), mas que não foi estatisticamente significativa. No índice de Pearson (Figura 23), a presença de ácido fórmico nas amostras de café verde foi positivamente correlacionada com a avaliação sensorial, indicando que nessas amostras esse ácido causou aumento na qualidade da bebida.

O ácido málico aumentou em uma amostra de café verde após a fermentação

(P1), reduziu em duas (P9 e P12) e se manteve sem diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em outras duas amostras (P5 e P13). Evangelista et al., (2015) avaliou a quantidade de ácido málico presente nos grãos de café durante a fermentação (via úmida) e observou uma redução na quantidade desse ácido durante o processo.

A quantidade de ácido láctico presente no café verde aumentou significativamente em todas as amostras, exceto para P1 que não apresentou diferença significativa. Esse ácido é muito importante para o processo de fermentação de café, já que atua na acidificação da polpa e leva a algumas quebras na mucilagem, sem impactar a qualidade do produto final (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Em processo de fermentação realizado por Da Mota et al., (2022), também houve aumento na quantidade de ácido láctico no café verde fermentado, que ocorreu no final do processo.

A quantidade de ácido acético aumentou significativamente em todas as amostras de café verde fermentadas, exceto para P1, em que não foi detectada. O ácido acético presente no café verde foi positivamente correlacionado com a avaliação sensorial através do índice de Pearson (Figura 23), o que indica que os processos fermentativos foram bem conduzidos e interrompidos no momento certo, já que um indicativo de fermentação excessiva é a alta produção de ácido acético, que impacta negativamente a qualidade sensorial do café (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Em processo de fermentação anaeróbia induzida realizada por Da Mota et al., (2022), também foi detectado um aumento expressivo na quantidade de ácido acético presente no café verde fermentado, que também apresentou maior qualidade sensorial do que o café que não foi submetido ao processo fermentativo, indicando que a quantidade de ácido acético presente foi positiva para a qualidade da bebida. O ácido acético é formado durante a fermentação de café através da fermentação heterofermentativa de bactérias lácticas, que transformam ácido láctico em ácido acético (DA MOTA et al., 2022).

A acidez resultante da presença de ácido cítrico no café verde é responsável por desenvolver atributos de sabor agradáveis bebida (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Esse ácido aumentou em 3 processos de fermentação (P1, P5 e P9), reduziu em um (P12) e se manteve sem diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em outro (P13). Na literatura também foi descrito o aumento (RIBEIRO et al., 2018) e a redução (EVANGELISTA et al., 2015) desse ácido durante processos de fermentação (via úmida). Durante a fermentação, o ácido cítrico é formado principalmente como resultado do metabolismo de carboidratos por leveduras (DA MOTA et al., 2022).

O ácido propiônico apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre 4 amostras controle e seus fermentados, com redução em duas (P1 e P9) e aumento nas outras duas amostras (P5 e P13). Esse ácido é produzido em fermentações mais prolongadas e se em quantidade excessiva, pode gerar sabor e aroma desagradáveis na bebida (geralmente que

remetem a cebola) (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Esse ácido foi correlacionado negativamente com a qualidade da bebida através do índice de Pearson (Figura 23), indicando que as amostras que tiveram a redução desse composto durante a fermentação, foram melhor avaliadas quanto a qualidade sensorial.

Os resultados das análises de ácidos orgânicos no café torrado estão descritos nas Tabelas 12.

**Tabela 12:** Resultado da análise de ácidos orgânicos das amostras de café torrados controle e fermentadas

Amostra	Ácido Oxálico (g/100g)	Ácido Tartárico (g/100g)	Ácido Fórmico (g/100g)	Ácido Málico (g/100g)	Ácido Láctico (g/100g)	Ácido Acético (g/100g)	Ácido Cítrico (g/100g)	Ácido Succínico (g/100g)	Ácido Propiônico (g/100g)
P1_C	0,11 ± 0,00 e	0,00 ± 0,00 d	1,43 ± 0,02 abc	0,26 ± 0,00 c	2,02 ± 0,00 a	1,23 ± 0,02 a	0,70 ± 0,01 b	0,00 ± 0,00 a	0,86 ± 0,01 e
P1_F	0,21 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 d	1,24 ± 0,02 cd	0,23 ± 0,00 e	1,02 ± 0,05 ef	1,06 ± 0,11 a	0,68 ± 0,02 b	0,00 ± 0,00 a	0,63 ± 0,00 f
P5_C	0,21 ± 0,01 b	0,20 ± 0,01 a	1,53 ± 0,19 ab	0,39 ± 0,00 a	1,56 ± 0,01 bc	0,43 ± 0,00 c	0,79 ± 0,04 ab	0,00 ± 0,00 a	1,24 ± 0,01 c
P5_F	0,33 ± 0,00 a	0,16 ± 0,00 b	1,23 ± 0,01 cd	0,38 ± 0,00 a	1,08 ± 0,00 e	0,39 ± 0,01 c	0,90 ± 0,12 a	0,00 ± 0,00 a	0,96 ± 0,05 d
P9_0	0,14 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00 d	0,65 ± 0,07 e	0,09 ± 0,01 g	0,90 ± 0,09 fg	0,76 ± 0,05 b	0,02 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 a	0,13 ± 0,03 i
P9_4	0,20 ± 0,00 bc	0,00 ± 0,00 d	0,80 ± 0,01 e	0,15 ± 0,00 f	0,54 ± 0,03 h	0,42 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 a	0,27 ± 0,00 h
P12_0	0,20 ± 0,00 bc	0,11 ± 0,00 c	1,36 ± 0,01 bcd	0,25 ± 0,00 cd	1,29 ± 0,01 d	0,32 ± 0,02 c	0,91 ± 0,02 a	0,00 ± 0,00 a	1,04 ± 0,03 d
P12_7	0,14 ± 0,00 d	0,00 ± 0,00	1,12 ± 0,02 d	0,23 ± 0,00 de	0,81 ± 0,00 g	0,32 ± 0,01 c	0,83 ± 0,07 ab	0,00 ± 0,00 a	0,52 ± 0,00 g
P13_0	0,12 ± 0,00 e	0,00 ± 0,00 d	1,59 ± 0,01 ab	0,29 ± 0,00 b	1,70 ± 0,01 b	0,36 ± 0,00 c	0,93 ± 0,02 a	0,00 ± 0,00 a	2,16 ± 0,01 a
P13_3	0,19 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 d	1,68 ± 0,01 a	0,28 ± 0,00 b	1,53 ± 0,05 c	0,36 ± 0,07 c	0,97 ± 0,01 a	0,00 ± 0,00 a	1,45 ± 0,03 b

ND = Não detectado. Letras iguais na mesma coluna, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%. O número após o nome do processo se refere ao tempo de fermentação, e o tempo 0 é correspondente a amostra controle.

A sacarose, glicose e frutose presentes no café verde são consumidas em várias reações durante a torra (como a caramelização e reação de Maillard) e levam a formação de

alguns ácidos orgânicos, principalmente os ácidos fórmico, acético e láctico (PEREIRA; MOREIRA, 2020), o que explica o aumento nas quantidades na Tabela 12 em relação aos resultados no café verde (Tabela 11).

Para o café torrado, a quantidade de ácido oxálico foi significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) para as amostras controle e fermentadas, com o aumento do em 4 processos (P1, P5, P9 e P13) e a redução em um deles (P12).

No café torrado, o ácido tartárico foi detectado em duas amostras controle (P5\_C e P12\_0), nas duas houve redução desse ácido após o processo de fermentação. Além de aumentar a percepção sensorial de acidez, a presença desse ácido no café torrado tem a característica evidenciar os sabores já presente na bebida (YEAGER et al., 2021).

No café torrado, embora tenha sido detectado em todas as amostras, o ácido fórmico só apresentou diferença significativa para uma amostra (P5), em que houve a redução com o processo de fermentação. Esse ácido apresenta sabor pungente e de aroma de fermentado para a bebida do café (YEAGER et al., 2021). Assim, a concentração desse ácido se manter sem diferença significativa ( $P < 0,05$ ) após a fermentação, é um fator positivo para a bebida, evitando assim o aparecimento de sabores relacionados a produtos fermentados e redução da qualidade sensorial.

A quantidade de ácido málico no café torrado reduziu significativamente em uma amostra (P1), não houve diferença em outras três (P5, P12 e P13) e aumentou em uma delas (P9). Esse ácido é descrito por apresentar atributos agradáveis a bebida do café (PEREIRA; MOREIRA, 2020) e por isso se manter sem diferença na maioria das amostras e aumentar em uma delas (P9) pode ter contribuído positivamente para a qualidade sensorial.

Como esperado, houve um aumento na concentração de ácido láctico nas amostras de café torrado em relação ao café verde, já que esse ácido é formado durante a torra pela quebra de carboidratos e ácidos clorogênicos (YEAGER et al., 2021). No café torrado, a quantidade desse ácido reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) em todas as amostras fermentadas em relação aos seus controles. Esse ácido pode trazer uma percepção sensorial de adstringência a bebida (YEAGER et al., 2021) e por isso a sua diminuição após a fermentação pode ser positiva para a qualidade da bebida.

Para o café torrado, a quantidade de ácido acético teve menor média para o café fermentado em 3 processos (sendo que só um processo (P9) apresentou diferença estatística) e em duas não houve alteração com o processo de fermentação. Quando presente em pequenas quantidades, o ácido acético pode trazer um sabor agradável e impactar positivamente a qualidade do café, mas quando presente em maior quantidade, tem um impacto negativo para a sensorial da bebida (FARAH, 2019). Para café torrado, o ácido acético foi correlacionado negativamente com todos os atributos da avaliação sensorial segundo o índice de Pearson (Figura 23), assim, o fato de o processo fermentativo

gerar uma redução desse composto em algumas amostras, e não haver o aumento em outras, trouxe um impacto positivo para a qualidade sensorial da bebida.

Para o café torrado, não houve diferença significativa na quantidade de ácido cítrico para as amostras controle e fermentadas. Esse ácido geralmente é relacionado a sabores agradáveis a bebida e por isso sua presença é desejável no café torrado (FARAH, 2019).

O ácido succínico não foi detectado em nenhuma amostra de café torrado.

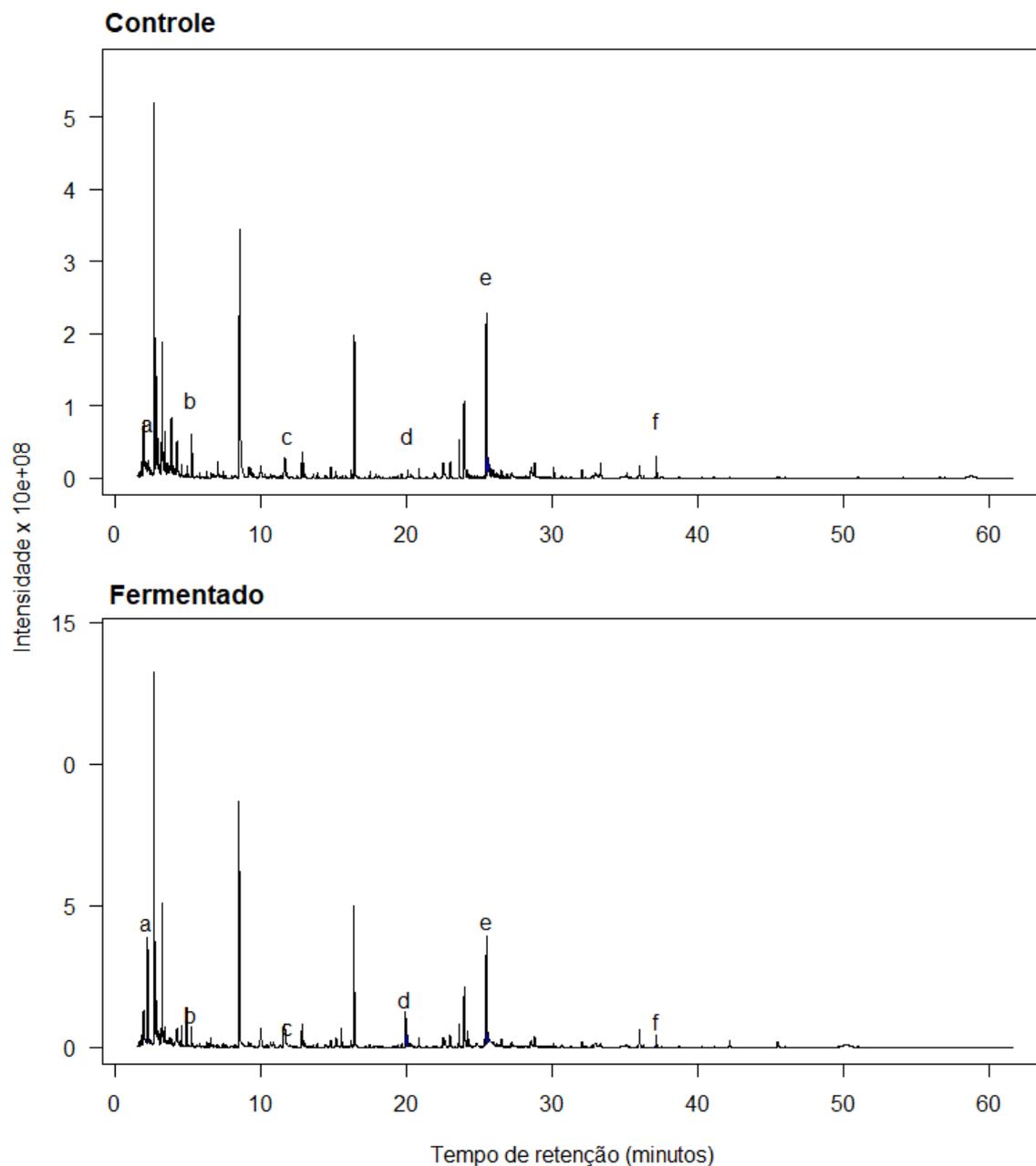
O ácido propiônico teve redução significativa em 4 amostras de café torrado (P1, P5, P12 e P13) após o processo de fermentação, e aumento em 1 amostra (P9). Como a presença desse ácido no café torrado tende a afetar sua qualidade negativamente (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020), sua redução nas amostras impactou positivamente a qualidade do café fermentado. Além disso, mesmo após o aumento gerado na amostra P9 fermentada, o ácido ainda estava em menor concentração (0,27g/100g) do que as demais amostras e assim a percepção de sabor desagradável também deve ser menor.

#### **5.2.4.9 Análise de compostos orgânicos voláteis (VOCs)**

##### **5.2.4.9.1 Café verde**

Os cromatogramas das amostras de café verde (exemplo na Figura 24), apresentaram, no total, 126 picos de compostos orgânicos voláteis (*Volatile organic compounds* - VOCs) com diferentes tempos de retenção. Entre eles, 55 foram identificados tentativamente. O nome de cada composto, o tempo de retenção, o índice de retenção linear e a quantidade presente em cada amostra está descrito na Tabela 13.

**Figura 24:** Cromatograma de compostos voláteis do café verde analisados por HS-SPME/GC-MS



Para os dois cromatogramas, as letras se referem aos compostos: a – acetato de etila; b - hexanal; c - 1-pentanol; d - ácido acético; e - 2,3-butanodiol; f – álcool fenilético.

Observando os cromatogramas (Figura 24), é possível perceber que os mesmos picos, ou seja, os mesmos compostos voláteis, estão presentes tanto na amostra controle como na amostra fermentada, mas a intensidade desses picos é diferente entre os processos. Esse mesmo efeito foi observado por Pereira; Moreira (2020), que observou que o aparecimento ou o aumento desses compostos podem ser provenientes do metabolismo de microrganismos presentes na fermentação.

A quantidade de cada grupo de compostos voláteis identificado nas amostras está representada na Figura 25. O grupo dos álcoois foi o grupo de compostos orgânicos voláteis mais abundante em todas as amostras, incluindo as amostras controle.

Os compostos voláteis do grupo dos fenóis tiveram aumento na quantidade total para 4 processos (P1, P2, P3 e P5) e redução em apenas 1 processo (P4) (Figura 25). O aumento na quantidade desse grupo se dar pela ação do metabolismo de microrganismos durante a fermentação que convertem o ácido cafêico presente no café verde em compostos fenólicos voláteis (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

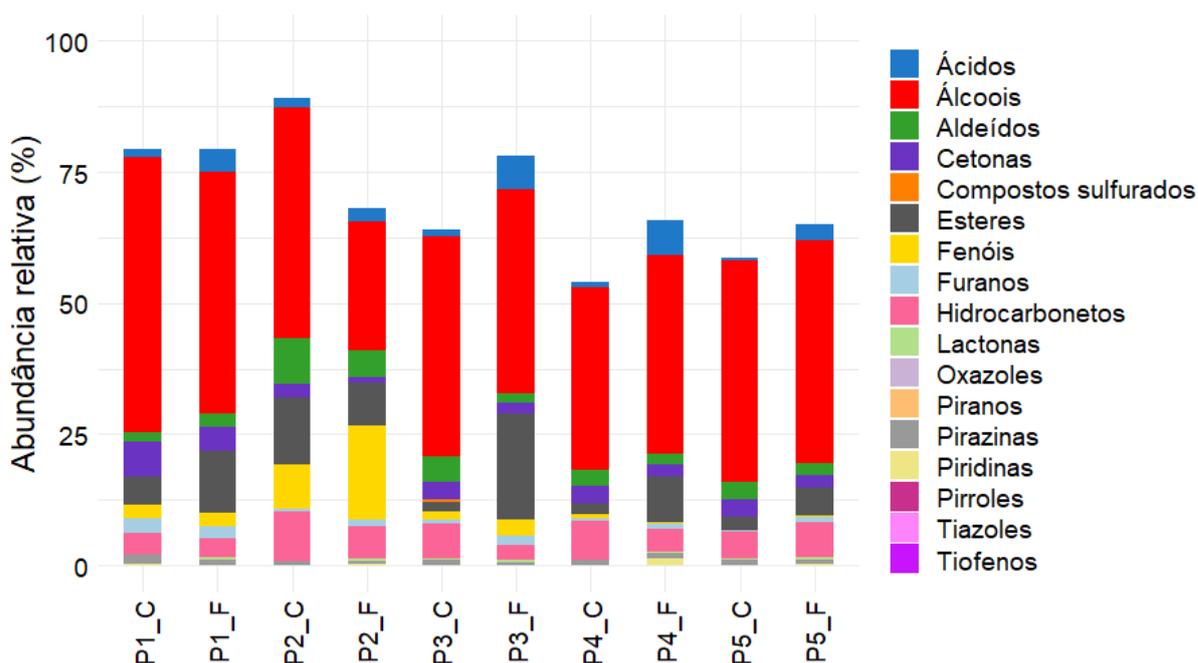
Durante o processo, considerando todos os VOCs, os ácidos e lactonas aumentaram em todas as amostras fermentadas. Os ácidos são formados como produto do metabolismo microbiano e as lactonas são formadas pela degradação enzimática de lipídios durante o processo de fermentação (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

Tabela 13: Compostos orgânicos voláteis totais identificados nas amostras de café verde controle e fermentadas

R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13	
				Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado
<b>Ácidos</b>													
20,14	ácido acético	1443	1439	-	0,20 ± 0,02 c	-	1,70 ± 0,11 b	0,29 ± 0,01 c	4,64 ± 0,23 a	-	4,53 ± 0,29 a	0,11 ± 0,00 c	2,10 ± 0,10 b
28,82	ácido 3-metil-butanóico	1671	1671	1,85 ± 0,21 ab	2,21 ± 0,55 a	1,55 ± 0,08 bc	1,70 ± 0,3 ab	0,83 ± 0,07 d	0,68 ± 0,01 d	1,00 ± 0,06 cd	0,87 ± 0,09 d	0,51 ± 0,03 d	0,63 ± 0,05 d
42,23	ácido octanóico	2065	2060	-	0,19 ± 0,00 ab	-	0,37 ± 0,04 b	-	0,47 ± 0,04 ab	-	0,57 ± 0,10 a	-	0,42 ± 0,04 b
45,53	ácido nonanóico	2168	2168	-	-	-	0,45 ± 0,03 a	-	0,60 ± 0,07 a	-	0,53 ± 0,12 a	-	-
<b>Álcoois</b>													
2,72	etanol	931	934	26,50 ± 2,51 a	9,14 ± 1,10 f	21,66 ± 0,83 bc	20,16 ± 1,29 cd	7,26 ± 0,51 f	22,29 ± 1,17 bc	15,90 ± 1,18 e	17,74 ± 1,03 de	24,04 ± 1,25 ab	23,28 ± 0,94 abc
6,34	3-pentanol	1107	1106	0,89 ± 0,11 a	0,39 ± 0,04 c	-	-	0,63 ± 0,01 b	0,11 ± 0,00 e	-	0,26 ± 0,02 cd	0,24 ± 0,01 de	0,37 ± 0,04 cd
6,78	2-pentanol	1118	1116	0,57 ± 0,01 b	0,34 ± 0,01 cd	1,12 ± 0,08 a	0,37 ± 0,01 c	0,33 ± 0,00 cd	-	-	-	0,30 ± 0,01 cd	0,26 ± 0,00 d
7,62	1-butanol	1140	1137	-	0,15 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
10,01	2-metil-1-butanol	1202	1200	2,65 ± 0,24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10,06	3-metil-1-butanol	1203	1201	1,56 ± 0,04 e	6,20 ± 0,38 a	4,55 ± 0,35 b	3,39 ± 0,10 c	2,34 ± 0,04 d	1,80 ± 0,02 e	0,87 ± 0,09 f	1,46 ± 0,11 e	1,44 ± 0,02 e	1,29 ± 0,09 ef
11,84	1-pentanol	1245	1246	0,45 ± 0,00 b	0,33 ± 0,00 d	0,62 ± 0,02 a	0,33 ± 0,00 d	0,35 ± 0,00 c	-	-	-	0,32 ± 0,00 d	-
14,87	2-heptanol	1315	1313	2,47 ± 0,52 c	-	6,54 ± 0,82 a	4,85 ± 0,18 b	0,99 ± 0,03 d	0,06 ± 0,00 d	-	0,50 ± 0,04 d	0,49 ± 0,04 d	0,77 ± 0,01 d
16,25	1-hexanol	1348	1341	1,33 ± 0,07 b	0,97 ± 0,04 c	2,15 ± 0,13 a	0,99 ± 0,03 c	0,98 ± 0,03 c	0,37 ± 0,01 e	0,44 ± 0,01 de	0,35 ± 0,01 e	0,55 ± 0,01 d	0,40 ± 0,01 e
18,03	3-octanol	1390	1384	-	-	-	0,23 ± 0,02 a	-	0,22 ± 0,01 a	-	-	-	-
20,34	1-octen-3-ol	1448	1450	-	0,44 ± 0,03 a	-	-	0,40 ± 0,02 ab	0,35 ± 0,01 b	-	-	-	0,28 ± 0,00 c
24,26	linalol	1549	1546	-	0,43 ± 0,02 e	2,50 ± 0,13 c	4,18 ± 0,18 a	0,67 ± 0,03 e	3,70 ± 0,11 b	-	0,99 ± 0,08 d	0,42 ± 0,02 e	0,65 ± 0,03 e
25,52	2,3-butanodiol	1585	1582	0,91 ± 0,25 f	1,60 ± 0,20 f	9,33 ± 0,92 d	8,32 ± 0,73 de	26,10 ± 0,77 a	6,55 ± 0,17 e	15,82 ± 1,33 b	14,94 ± 1,03 bc	13,07 ± 0,97 c	13,37 ± 1,17 bc
36,05	álcool benzílico	1876	1879	3,93 ± 0,16 a	2,08 ± 0,19 b	2,35 ± 0,18 b	2,29 ± 0,04 b	0,62 ± 0,05 de	2,11 ± 0,06 b	0,63 ± 0,01 de	1,04 ± 0,13 c	0,39 ± 0,03 e	0,86 ± 0,03 cd
37,19	álcool feniletílico	1910	1906	2,80 ± 0,25 a	2,31 ± 0,23 b	1,51 ± 0,12 c	0,95 ± 0,01 def	1,34 ± 0,12 cd	1,19 ± 0,04 cde	1,10 ± 0,09 def	0,75 ± 0,10 f	0,87 ± 0,06 ef	1,00 ± 0,04 def
<b>Aldeídos</b>													
5,29	hexanal	1069	1073	2,10 ± 0,01 c	2,07 ± 0,01 c	0,67 ± 0,00 f	0,65 ± 0,00 f	3,82 ± 0,06 a	0,67 ± 0,02 f	2,15 ± 0,02 c	0,98 ± 0,01 e	2,57 ± 0,05 b	1,34 ± 0,06 d
5,65	2-methyl-2-butenal	1083	1087	-	0,20 ± 0,00	-	-	-	-	-	-	-	-
8,82	heptanal	1171	1178	-	0,24 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
17,55	nonanal	1379	1381	-	-	-	-	0,34 ± 0,01 a	0,20 ± 0,00 c	-	-	0,33 ± 0,01 a	0,26 ± 0,00 b
22,56	benzaldehyde	1504	1501	2,53 ± 0,24 a	1,63 ± 0,22 b	1,23 ± 0,20 bc	1,54 ± 0,04 b	0,71 ± 0,05 d	0,93 ± 0,03 cd	0,98 ± 0,18 cd	0,79 ± 0,09 d	0,62 ± 0,04 d	0,72 ± 0,02 d
27,23	benzeneacetaldehyde	1627	1631	3,88 ± 0,26 a	0,98 ± 0,13 b	-	0,40 ± 0,00 c	-	0,22 ± 0,03 c	-	0,32 ± 0,02 c	-	-
<b>Ésteres</b>													
2,27	acetato de etila	886	883	0,23 ± 0,03 f	0,21 ± 0,01 f	0,42 ± 0,06 ef	1,84 ± 0,12 d	0,27 ± 0,00 ef	8,61 ± 0,03 a	0,56 ± 0,03 e	4,44 ± 0,21 b	0,58 ± 0,05 e	2,95 ± 0,23 c
3,75	acetato de isobutil	1008	1010	-	-	-	0,27 ± 0,04 b	-	0,57 ± 0,02 a	-	0,34 ± 0,06 b	-	-
3,86	isovalerato de metila	1012	1021	-	-	1,07 ± 0,08 a	0,47 ± 0,02 b	-	-	-	-	-	-
4,20	butirato de etila	1026	1026	-	-	-	0,32 ± 0,02 d	0,35 ± 0,01 cd	0,75 ± 0,06 a	0,53 ± 0,01 b	0,53 ± 0,06 b	0,30 ± 0,02 d	0,42 ± 0,03 d
4,59	etil 2-metilbutanoato	1041	1045	0,38 ± 0,02 ef	0,85 ± 0,06 cd	0,94 ± 0,07 bc	1,55 ± 0,07 a	0,31 ± 0,01 f	1,05 ± 0,03 b	0,49 ± 0,05 e	0,85 ± 0,06 cd	0,88 ± 0,03 cd	0,70 ± 0,05 d
4,96	isovalerato de etila	1056	1060	1,76 ± 0,11 e	6,75 ± 0,40 a	2,51 ± 0,15 d	5,18 ± 0,29 b	0,43 ± 0,00 g	4,24 ± 0,07 c	0,36 ± 0,05 g	1,50 ± 0,04 e	0,96 ± 0,06 f	0,74 ± 0,05 fg

R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13	
				Controle	Fermentado								
6,60	acetato de 3-metilbutila	1114	1113	0,26 ± 0,00 d	0,27 ± 0,00 d	-	0,73 ± 0,02 b	-	1,40 ± 0,04 a	-	0,53 ± 0,03 c	-	0,25 ± 0,03 d
10,47	isobutenoato de etila	1213	1219	0,38 ± 0,02 c	10,06 ± 0,10 a	-	0,50 ± 0,01 bc	-	0,53 ± 0,02 b	-	-	-	-
10,89	hexanoato de etila	1223	1223	-	-	-	0,69 ± 0,03 b	-	1,27 ± 0,04 a	-	0,42 ± 0,02 c	-	0,36 ± 0,02 c
32,77	fenilacetato de etila	1781	1781	-	-	-	0,40 ± 0,00 b	-	2,23 ± 0,12 a	-	-	-	-
<b>Furanos</b>													
10,71	2-pentilfurano	1218	1215	0,52 ± 0,03 bc	0,91 ± 0,03 a	0,60 ± 0,07 b	0,61 ± 0,03 b	0,44 ± 0,00 cd	0,25 ± 0,01 e	-	0,47 ± 0,03 c	-	0,35 ± 0,02 d
19,72	óxido trans-linalol	1432	1439	-	-	0,50 ± 0,01 b	0,56 ± 0,02 a	-	0,43 ± 0,01 c	-	-	-	0,20 ± 0,01 d
20,89	óxido de cis-linalol	1462	1466	-	0,26 ± 0,02	1,00 ± 0,10	0,93 ± 0,03	0,37 ± 0,00	0,85 ± 0,02	0,43 ± 0,00	0,42 ± 0,03	0,32 ± 0,01	0,48 ± 0,00
24,80	5-metilfuran-2-carbaldeído	1563	1566	-	-	0,67 ± 0,00 a	-	-	0,17 ± 0,01 b	-	-	-	-
<b>Hidrocarbonetos</b>													
3,47	decano	994	1000	1,37 ± 0,07 c	0,38 ± 0,01 e	1,70 ± 0,09 b	0,85 ± 0,05 d	1,87 ± 0,12 b	0,89 ± 0,01 d	2,17 ± 0,17 a	1,00 ± 0,06 d	1,86 ± 0,11 b	1,30 ± 0,07 c
4,28	tolueno	1029	1028	0,93 ± 0,10 d	1,15 ± 0,09 d	1,16 ± 0,12 d	1,02 ± 0,03 d	3,14 ± 0,24 a	0,85 ± 0,06 d	2,12 ± 0,23 b	1,56 ± 0,09 c	1,00 ± 0,08 d	1,13 ± 0,13 d
7,07	p-xileno	1126	1129	-	0,18 ± 0,01 c	-	-	-	0,38 ± 0,03 b	0,68 ± 0,04 a	-	-	-
7,29	3-careno	1113	1113	-	0,46 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
9,28	limoneno	1183	1188	6,51 ± 0,53 a	3,08 ± 0,18 b	-	-	0,69 ± 0,09 cd	-	1,06 ± 0,04 c	0,21 ± 0,02 d	1,22 ± 0,09 c	2,78 ± 0,21 b
11,68	estireno	1241	1248	0,78 ± 0,04 f	0,98 ± 0,03 d	1,32 ± 0,05 c	1,81 ± 0,04 a	0,78 ± 0,02 f	0,83 ± 0,02 ef	1,34 ± 0,06 c	1,53 ± 0,07 b	0,96 ± 0,03 de	1,45 ± 0,09 bc
<b>Cetonas</b>													
1,88	acetona	815	816	0,26 ± 0,01 d	0,15 ± 0,00 ef	0,41 ± 0,02 b	0,15 ± 0,01 ef	-	0,64 ± 0,00 a	0,43 ± 0,01 b	0,13 ± 0,00 f	0,38 ± 0,01 c	0,17 ± 0,01 e
3,21	3-pentanona	972	971	1,85 ± 0,09 b	0,92 ± 0,03 e	1,30 ± 0,08 cd	0,78 ± 0,03 e	2,20 ± 0,16 a	0,37 ± 0,02 f	1,42 ± 0,09 c	0,85 ± 0,04 e	1,72 ± 0,08 b	1,15 ± 0,06 d
8,74	2-heptanona	1169	1174	0,58 ± 0,01 c	-	4,96 ± 0,18 a	3,33 ± 0,15 b	0,42 ± 0,01 c	0,07 ± 0,00 d	0,52 ± 0,01 c	-	0,15 ± 0,00 d	0,14 ± 0,00 d
12,86	acetoina	1268	1270	-	-	-	0,34 ± 0,06 d	0,62 ± 0,01 c	0,95 ± 0,07 a	1,13 ± 0,18 a	1,16 ± 0,11 a	0,91 ± 0,05 ab	0,69 ± 0,04 bc
<b>Lactonas</b>													
26,57	butirolactona	1610	1613	-	0,36 ± 0,02 c	-	0,50 ± 0,02 b	0,27 ± 0,01 d	0,34 ± 0,02 c	-	0,50 ± 0,05 b	0,31 ± 0,01 cd	0,59 ± 0,02 a
<b>Fenóis</b>													
32,08	salicilato de metila	1761	1765	6,27 ± 0,54 a	4,15 ± 0,42 b	1,81 ± 0,19 cd	1,84 ± 0,12 cd	1,18 ± 0,09 d	2,47 ± 0,13 c	-	0,35 ± 0,04 e	-	0,24 ± 0,01 e
33,36	salicilato de etila	1798	1786	2,16 ± 0,29 b	13,93 ± 0,94 a	0,70 ± 0,05 c	0,85 ± 0,03 c	0,38 ± 0,02 c	0,65 ± 0,03 c	0,83 ± 0,01 c	-	-	-
<b>Pirazinas</b>													
23,04	2-metoxi-3-(2-metilpropil)-pirazina	1517	1517	0,77 ± 0,03 ef	0,46 ± 0,02 h	1,56 ± 0,11 a	1,07 ± 0,09 bc	1,15 ± 0,06 b	0,61 ± 0,01 gh	1,11 ± 0,07 bc	0,89 ± 0,03 de	0,95 ± 0,03 cd	0,63 ± 0,04 fg
<b>Piridinas</b>													
11,61	2,4-dimetilpiridina	1239	1241	-	0,38 ± 0,03 b	0,40 ± 0,03 b	-	-	-	-	1,31 ± 0,09 a	-	0,39 ± 0,01 b
<b>Compostos sulfurados</b>													
1,67	sulfureto de dimetilo	776	772	-	0,12 ± 0,01 b	-	-	0,49 ± 0,03 a	-	-	0,14 ± 0,00 b	-	-

<sup>a</sup> Tempo de retenção; <sup>b</sup> Índice de retenção linear calculado utilizando padrão de alcanos na coluna Agilent-DBWAX; <sup>c</sup> Índice de retenção linear de referência encontrado na biblioteca NIST. Letras iguais na mesma linha, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%.

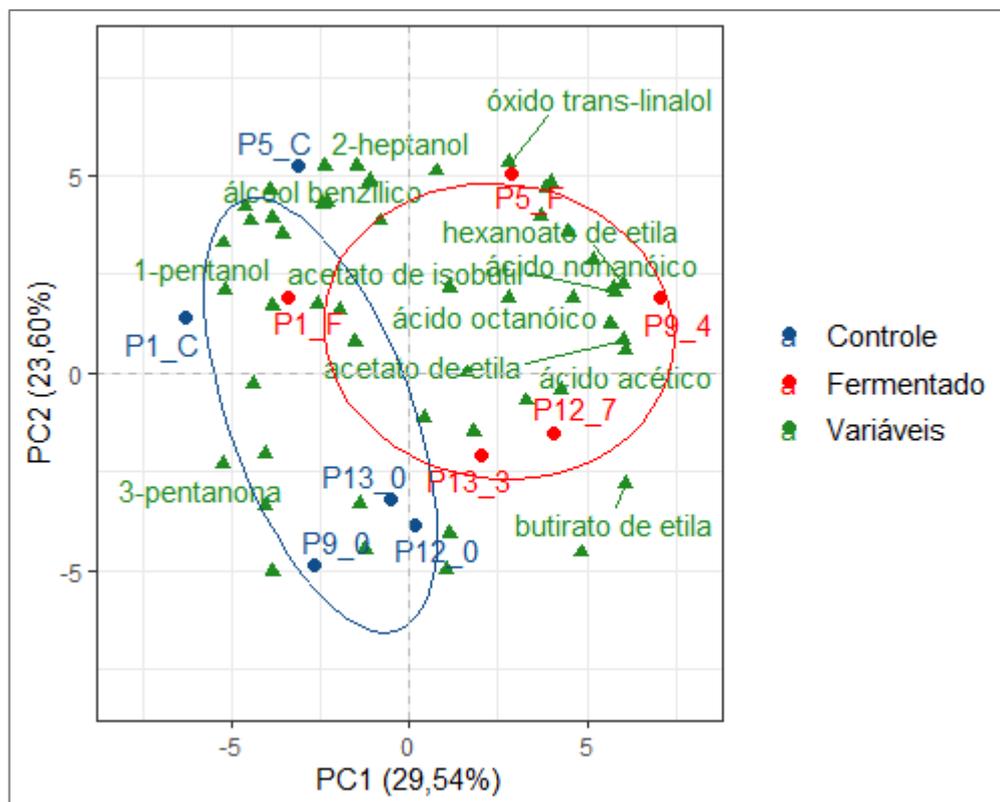
**Figura 25:** Grupos totais de compostos orgânicos voláteis do café verde

A Figura 26 mostra a Análise de Componentes Principais (PCA) dos compostos orgânicos voláteis das amostras de café verde. No PCA, foi possível diferenciar as amostras de café controle e fermentado, pois todas as amostras fermentadas estão na posição mais à direita do que as amostras controle.

A Figura 27 mostra os compostos com mais de 0,5 de correlação no índice de Pearson ( $p < 0,05$ ) em relação aos VOCs do café verde e os atributos sensoriais da bebida. Nove VOCs tiveram mais de 0,5 de correlação com pelo menos uma nota da avaliação sensorial, sendo 2 com correlação positiva e 7 com correlação negativa.

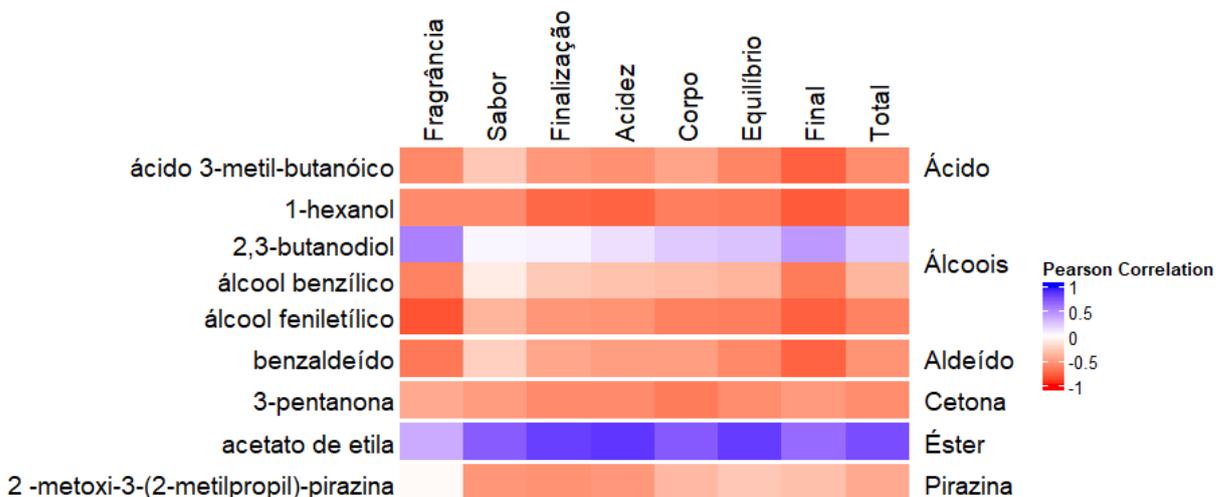
Entre os VOCs totais, 43 tiveram aumento e 23 tiveram redução nas amostras de café fermentado em relação ao controle. 24 desses VOCs foram identificados tentativamente e estão descritos na Tabela 14. Os compostos que aumentaram no processo de fermentação são dos grupos: ácidos, álcoois, ésteres, furanos, hidrocarbonetos e lactonas; e os que diminuíram pertenciam aos grupos: álcoois, aldeídos, ésteres, hidrocarbonetos, cetonas e pirazinas.

**Figura 26:** Análise de Componentes Principais (PCA) de compostos orgânicos voláteis identificados no café verde em amostras controle e fermentadas



O PC1 foi explicado principalmente: positivamente pelo acetato de etila, acetato de isobutil, butirato de etila, hexanoato de etila, ácido acético, ácido octanóico e ácido nonanóico; e negativamente por 3-pentanona, 1-pentanol e álcool feniletílico. O PC2 foi explicado principalmente: positivamente pelo isovalerato de etila, 2-heptanona, 2-heptanol, óxido trans-linalol, álcool benzílico; e negativamente por hexanal e 2,3-butanodiol.

**Figura 27:** Mapa de calor da correlação de Pearson entre a avaliação sensorial e VOCs de café verde



Os VOCs apresentados no mapa de calor tiveram mais de 0,5 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) com pelo menos uma avaliação sensorial.

**Tabela 14:** Compostos orgânicos voláteis que apresentaram aumento ou redução em todas as amostras de café verde fermentado em relação ao seu controle

	R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13		Descrição de aroma/ sabor <sup>d</sup>
					Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	
<b>Ácidos</b>															
	20,14	ácido acético	1443	1439	-	0,20 ± 0,02 <sub>c</sub>	-	1,70 ± 0,11 b	0,29 ± 0,01 <sub>c</sub>	4,64 ± 0,23 a	-	4,53 ± 0,29 a	0,11 ± 0,00 <sub>c</sub>	2,10 ± 0,10 b	Ácido, pungente, vinagre, fruta madura, doce
	42,23	ácido octanóico	2065	2060	-	0,19 ± 0,00 <sub>c</sub>	-	0,37 ± 0,04 b	-	0,47 ± 0,04 <sub>ab</sub>	-	0,57 ± 0,10 a	-	0,42 ± 0,04 b	Doce, queijo, oleoso, ceroso, rançoso, gorduroso, vegetal, repulsivo, sabonete, conhaque
	45,53	ácido nonanóico	2168	2168	-	-	-	0,45 ± 0,03 a	-	0,60 ± 0,07 a	-	0,53 ± 0,12 a	-	-	Gorduroso, ceroso, queijo, doce
<b>Álcoois</b>															
	18,03	3-octanol	1390	1384	-	-	-	0,23 ± 0,02 a	-	0,22 ± 0,01 a	-	-	-	-	Terroso, cogumelo, laticínios, mofado, cremoso, ceroso, fermentado, verde, menta, doce, herbal potente, oleaginosas, gorduroso, queijo, cetônico
<b>Aumento</b>	24,26	linalol	1549	1546	-	0,43 ± 0,02 <sub>e</sub>	2,50 ± 0,13 <sub>c</sub>	4,18 ± 0,18 a	0,67 ± 0,03 <sub>e</sub>	3,70 ± 0,11 b	-	0,99 ± 0,08 d	0,42 ± 0,02 <sub>e</sub>	0,65 ± 0,03 e	Citrus, floral, doce, madeira, verde, mirtilo, floral amadeirado, laranja, limão, ceroso, aldeído, bergamota
<b>Ésteres</b>															
	3,75	acetato de isobutil	1008	1010	-	-	-	0,27 ± 0,04 b	-	0,57 ± 0,02 a	-	0,34 ± 0,06 b	-	-	Frutado, maçã, banana, doce tutti-frutti
	6,60	acetato de 3-metilbutila	1114	1113	0,26 ± 0,00 <sub>d</sub>	0,27 ± 0,00 <sub>d</sub>	-	0,73 ± 0,02 b	-	1,40 ± 0,04 a	-	0,53 ± 0,03 c	-	0,25 ± 0,03 d	Doce, banana, frutado, fruta fresca, maçã e banana maduras, pera, terroso
	10,47	isobutenoato de etila	1213	1219	0,38 ± 0,02 <sub>c</sub>	10,06 ± 0,10 <sub>a</sub>	-	0,50 ± 0,01 <sub>bc</sub>	-	0,53 ± 0,02 b	-	-	-	-	Frutado, abacaxi, verde, casca de maçã
	10,89	hexanoato de etila	1223	1223	-	-	-	0,69 ± 0,03 b	-	1,27 ± 0,04 a	-	0,42 ± 0,02 c	-	0,36 ± 0,02 c	Doce, frutado, abacaxi, ceroso, verde, banana
	32,77	fenilacetato de etila	1781	1781	-	-	-	0,40 ± 0,00 b	-	2,23 ± 0,12 a	-	-	-	-	Doce, rosas, mel, balsâmico, cacau, melação, levedura
<b>Furanos</b>															
	19,72	óxido trans-Linalol	1432	1439	-	-	0,50 ± 0,01 <sub>b</sub>	0,56 ± 0,02 a	-	0,43 ± 0,01 c	-	-	-	0,20 ± 0,01 d	Aroma complexo de café, floral
<b>Hidrocarbonetos</b>															

	11,68	estireno	1241	1248	0,78 ± 0,04 f	0,98 ± 0,03 d	1,32 ± 0,05 c	1,81 ± 0,04 a	0,78 ± 0,02 f	0,83 ± 0,02 ef	1,34 ± 0,06 c	1,53 ± 0,07 b	0,96 ± 0,03 de	1,45 ± 0,09 bc	Balsâmico, gasolina, doce-gasoso, floral, químico, doce, plástico, amêndoas
	<b>Lactonas</b>														
	26,57	butirolactona	1610	1613	-	0,36 ± 0,02 c	-	0,50 ± 0,02 b	0,27 ± 0,01 d	0,34 ± 0,02 c	-	0,50 ± 0,05 b	0,31 ± 0,01 cd	0,59 ± 0,02 a	Caramelo, doce, doce-aromático, amanteigado, acre, emborrachado, cremoso, gorduroso, leite, frutado, pêssego
	<b>Álcoois</b>														
	6,78	2-pentanol	1118	1116	0,57 ± 0,01 b	0,34 ± 0,01 cd	1,12 ± 0,08 a	0,37 ± 0,01 c	0,33 ± 0,00 cd	-	-	-	0,30 ± 0,01 cd	0,26 ± 0,00 d	Sabor fraco, verde, alcoólico, fermentado, mofado, doce, vinho, banana, maçã, solvente, frutado, banana madura, maçã, tropical, casca de melão
	11,84	1-pentanol	1245	1246	0,45 ± 0,00 b	0,33 ± 0,00 d	0,62 ± 0,02 a	0,33 ± 0,00 d	0,35 ± 0,00 c	-	-	-	0,32 ± 0,00 d	-	Pungente, fermentado, pão, levedura, vinho, solvente, químico, óleo, cereal, frutado
	16,25	1-hexanol	1348	1341	1,33 ± 0,07 b	0,97 ± 0,04 c	2,15 ± 0,13 a	0,99 ± 0,03 c	0,98 ± 0,03 c	0,37 ± 0,01 e	0,44 ± 0,01 de	0,35 ± 0,01 e	0,55 ± 0,01 d	0,40 ± 0,01 de	Pungente, óleo, frutado, alcoólico, doce, químico, vinho, grama, frutado, casca de maçã
	<b>Aldeídos</b>														
Redução	5,29	hexanal	1069	1073	2,10 ± 0,01 c	2,07 ± 0,01 c	0,67 ± 0,00 f	0,65 ± 0,00 f	3,82 ± 0,06 a	0,67 ± 0,02 f	2,15 ± 0,02 c	0,98 ± 0,01 e	2,57 ± 0,05 b	1,34 ± 0,06 d	Grama, gordura, fresco, verde, aldeído, folha, frutado, madeira acre, rançoso, manteiga, oleoso, vegetal, maçã, frutas cítricas, laranja
	17,55	nonanal	1379	1381	-	-	-	-	0,34 ± 0,01 a	0,20 ± 0,00 c	-	-	0,33 ± 0,01 a	0,26 ± 0,00 b	Gorduroso, cítrico, verde, ceroso, aldeído, cítrico, casca de limão, pepino, rosas, fresco lírio, casca de laranja, sabonete, metálico, casca de melão, batata crua, oleoso, oleaginosas, coco
	<b>Ésteres</b>														
	3,86	isovalerato de metila	1012	1021	-	-	1,07 ± 0,08 a	0,47 ± 0,02 b	-	-	-	-	-	-	Maçã, frutado, abacaxi, doce, tutti-frutti, pungente, éter
	<b>Hidrocarbonetos</b>														
	3,47	decano	994	1000	1,37 ± 0,07 c	0,38 ± 0,01 e	1,70 ± 0,09 b	0,85 ± 0,05 d	1,87 ± 0,12 b	0,89 ± 0,01 d	2,17 ± 0,17 a	1,00 ± 0,06 d	1,86 ± 0,11 b	1,30 ± 0,07 c	Alcanos

<b>Cetonas</b>														
1,88	acetona	815	816	0,26 ± 0,01 d	0,15 ± 0,00 ef	0,41 ± 0,02 b	0,15 ± 0,01 ef	-	0,64 ± 0,00 a	0,43 ± 0,01 b	0,13 ± 0,00 f	0,38 ± 0,01 c	0,17 ± 0,01 e	Solvente, casca de maçã, pera, éter, nauseante, forte e irritante
3,21	3-pentanona	972	971	1,85 ± 0,09 b	0,92 ± 0,03 e	1,30 ± 0,08 cd	0,78 ± 0,03 e	2,20 ± 0,16 a	0,37 ± 0,02 f	1,42 ± 0,09 c	0,85 ± 0,04 e	1,72 ± 0,08 b	1,15 ± 0,06 d	Etéreo, acetona, agradável, difuso
8,74	2-heptanona	1169	1174	0,58 ± 0,01 c	-	4,96 ± 0,18 a	3,33 ± 0,15 b	0,42 ± 0,01 c	0,07 ± 0,00 d	0,52 ± 0,01 c	-	0,15 ± 0,00 d	0,14 ± 0,00 d	Frutado, especiarias, doce, herbal, coco, madeira, queijo, frutado, cetônico, verde, banana, waxy
<b>Pirazinas</b>														
23,04	2-metoxi-3-(2-metilpropil)-pirazina	1517	1517	0,77 ± 0,03 ef	0,46 ± 0,02 h	1,56 ± 0,11 a	1,07 ± 0,09 bc	1,15 ± 0,06 b	0,61 ± 0,01 gh	1,11 ± 0,07 bc	0,89 ± 0,03 de	0,95 ± 0,03 cd	0,63 ± 0,04 fg	Ervilha, pimenta, gálbano, óleo de gálbano, pimento vermelha, páprica, pimento doce, pimentão, terroso, verde

<sup>a</sup> Tempo de retenção; <sup>b</sup> Índice de retenção linear calculado utilizando padrão de alcanos na coluna Agilent-DBWAX; <sup>c</sup> Índice de retenção linear de referência encontrado na biblioteca NIST. <sup>d</sup> Propriedades de aroma descritos em Flavornet (ACREE; ARN, 2004), The Good Scient database (LUEBKE, 2018) e (FLAMENT, 2002). Letras iguais na mesma linha, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%.

Dos 14 VOCs que aumentaram no café verde, 8 (57,1%) são descritos na literatura com notas sensoriais positivas como doce, frutado, floral e nozes; 4 (28,6%) podem ter impacto positivo ou negativo no odor da amostra dependendo da concentração presente; e apenas 2 (14,3%) são descritos na literatura como tendo impacto negativo no café. Dos 11 compostos que tiveram redução no café verde fermentado, 7(63,6%) são descritos com impacto negativo para o aroma, com notas sensoriais como éter, pungente, químico, medicinal, terra; e 4 (36,4%) dependem de sua concentração para impactar de forma positiva ou negativa nos atributos sensoriais. Esses resultados mostram que o aumento na quantidade de VOCs sensorialmente agradáveis e a diminuição de VOCs desagradáveis impactaram na melhora da qualidade sensorial dos cafés fermentados.

Os grupos químicos com maior aumento nas amostras de café fermentado foram ésteres, seguidos de ácidos e álcool, com média de aumento de 6,7%, 3,5% e 1,5%, respectivamente. No grupo dos ésteres que aumentaram nas amostras fermentadas, houve predominância dos compostos com o grupo éster etílico, que provavelmente é responsável por agregar odor e sabor frutado agradável às amostras, pois são os VOCs predominantes e responsáveis pelo aroma agradável nas frutas (BORDIGA; NOLLET, 2019). Compostos ésteres são importantes para a qualidade sensorial de bebidas fermentadas em geral e são o grupo de VOCs mais importante produzido por diferentes microrganismos como *Saccharomyces cerevisiae* (PEREIRA; MOREIRA, 2020).

O acetato de etila foi um dos principais compostos responsáveis pela separação das amostras controle e fermentadas no PCA (Figura 26) e teve uma importante correlação positiva com a avaliação sensorial pelo índice de Pearson (Figura 27), com 0,77 de correlação com a nota total. Este VOC aumentou significativamente em 4 amostras de cafés fermentados (exceto P1), atingindo um aumento de 32 vezes no processo P9 (Tabela 14). Este composto é descrito como tendo um odor agradável, etéreo-frutado, de abacaxi e conhaque (FLAMENT, 2002) e possivelmente é um dos VOCs responsáveis pelo aumento na avaliação sensorial do café. Já foi descrito anteriormente que o acetato de etila é produzido na fermentação do café utilizando culturas iniciadoras e, devido à sua complexidade aromática, é um dos compostos utilizados para selecionar as linhagens de microrganismos mais promissoras para serem utilizadas como culturas iniciadoras. Seu aumento na maioria dos processos fermentativos sugere que isso ocorre devido à difusão desse VOC para a semente, pois é um metabólito derivado de leveduras (PEREIRA et al., 2014).

Outros 3 ésteres tiveram grande influência na diferenciação das amostras fermentadas de PCA (Figura 26): acetato de isobutila, butirato de etila e hexanoato de etila. Eles foram detectados apenas em amostras fermentadas, com exceção do butirato de etila que também foi detectado em 3 amostra controle. Uma grande variedade de compostos de

ésteres etílicos é descrita por aparecer em grãos de café verde quando fermentados por longos períodos (ZHANG et al., 2019a).

Os ésteres 2-metilbutanoato de etila e isovalerato de etila são produzidos quando se excede o tempo de fermentação, e se presentes em concentrações acima de um determinado limite, impactam negativamente na qualidade sensorial do café (Pereira; Moreira, 2020). Esses compostos aumentaram significativamente nos 4 processos fermentativos, exceto para P13. Isso sugere que em todos os processos, o tempo de fermentação não foi ultrapassado e esses VOCs estavam presentes em pequenas quantidades (abaixo do limite), não sendo suficiente para impactar negativamente a qualidade do café. Mas se o café continuasse fermentando, a quantidade desses VOCs poderia aumentar e causar danos à qualidade da bebida. Esse efeito ocorreu nas amostras de acompanhamento da fermentação de café em P9 e P13, quando após atingir a maior nota sensorial no melhor tempo de fermentação (P9\_4 e P13\_3), a média da nota total passa a reduzir (Tabela 2 e Figura 20).

Nas primeiras 24 horas de fermentação do café, foi possível observar um intenso escape de gás pela mangueira, o que sugere que a maior parte do oxigênio presente no recipiente foi consumido pela atividade microbiana e/ou liberado do recipiente. Quando o café é exposto ao ambiente com ausência ou baixa quantidade de oxigênio, o tecido altera seu metabolismo da respiração para a fermentação alcoólica ou láctica (KNOPP; BYTOF; SELMAR, 2006). Esse processo de fermentação que ocorre no endosperma do café leva ao consumo de carboidratos (sacarose e outros açúcares) por meio da reação de glicólise, produzindo piruvato, que é convertido através do etanol pela enzima álcool desidrogenase (ZHANG et al., 2019a). O etanol foi o VOC mais abundante encontrado no café verde, mas em alguns processos esteve presente em maior quantidade no controle do que nas amostras fermentadas (P1, P5, P13). Isso pode acontecer porque neste estudo as amostras de café verde não foram analisadas quanto ao teor de VOCs em sementes frescas, e sim após a secagem, o que leva a uma perda na quantidade de alguns VOCs.

Os álcoois foram o grupo de VOCs mais abundante nas amostras de café verde. Além do etanol, 3-metil-1-butanol, 2-heptanol, linalol, 2,3-butanodiol e álcool benzílico também foram detectados em grande quantidade. 1-pentanol e álcool feniletílico foram VOCs importantes na diferenciação das amostras no PCA (Figura 26), influenciando as amostras controle. No índice de Pearson, o álcool foi o grupo que apresentou mais correlações com a avaliação sensorial, sendo 1-hexanol, álcool benzílico e álcool feniletílico negativamente correlacionados à avaliação sensorial e 2,3-butanodiol positivamente correlacionados.

2,3-butanodiol foi um dos VOCs mais abundantes encontrados nas amostras de café verde, chegando a 26,1% na amostra P9 Controle. Mas, como esperado, nas amostras

de *C. canephora* (P1) a quantidade desse composto foi menor (CAPORASO et al., 2018), chegando ao máximo de 1,6%. A quantidade deste VOC aumentou em 2 processos fermentativos (P1 e P13) e diminuiu nos outros 3 processos (P5, P9 e P12). Foi previamente relacionado a ser formado em fermentação indesejável e foi sugerido ser um marcador potencial para a presença de sementes pretas ou ardidas (que têm sabor desagradável) (TOCI; FARAH, 2014). Apesar disso, neste trabalho, este VOC foi positivamente correlacionado com os atributos sensoriais pelo índice de Pearson, o que pode estar relacionado com a concentração do composto nas amostras, pois dependendo da quantidade pode ter um sabor frutado, cremoso e amanteigado (LUEBKE, 2018).

O aumento de ácido acético em todas as amostras de café fermentado pode ter duas origens: microbiológica, como metabólito produzido por bactérias (principalmente por bactérias lácticas) ou produto da oxidação do etanol por leveduras presentes durante o processo; e formado pelo processo natural de maturação do fruto, como resultado da degradação natural dos açúcares do fruto do café (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020; SILVA et al., 2008, 2013). Essa reação do carboidrato ocorre também como resposta à germinação do endosperma do café desencadeada pela redução do teor de oxigênio durante o processo de fermentação (liberação de gás pela mangueira de escape) (BRUYN et al., 2017). Assim, o aumento de ácido acético em todas as amostras fermentadas, além de ser formado por microrganismos e absorvido pela semente, pode ser formado diretamente no endosperma e ser indicativo de maturação do fruto e germinação da semente de café. Seu aumento em amostras de café verde fermentado foi relatado anteriormente por outros autores (BRESSANI et al., 2018; BRUYN et al., 2017; LEE et al., 2016b; SILVA et al., 2008). Este VOC também foi um dos principais compostos responsáveis por diferenciar as amostras de café fermentado de café controle no PCA, mostrando que é um importante metabólito da fermentação.

Os compostos do grupo das lactonas são potentes aromatizantes de frutas e proporcionam um aroma desejável (BORDIGA; NOLLET, 2019). A butirolactona, que é um composto do grupo das lactonas, teve um aumento em todas as amostras fermentadas, o que pode ter contribuído para o aumento do o aroma frutado nessas amostras, como descrito na análise sensorial.

Os grupos com maior redução em todas as amostras após o processo de fermentação foram cetonas, aldeídos e álcoois, com média de 1,8%, 1,2% e 1,1% de redução, respectivamente. A redução no teor total de grupos cetonas e aldeídos já foi relatada anteriormente após o processo de fermentação em grãos de café verde, com grande queda de alguns compostos específicos como a 3-pentanona, que também foi identificada neste estudo (ELHALIS et al., 2020). A 3-pentanona é um importante VOC responsável pela diferenciação das amostras no PCA, diminuindo em todas as amostras

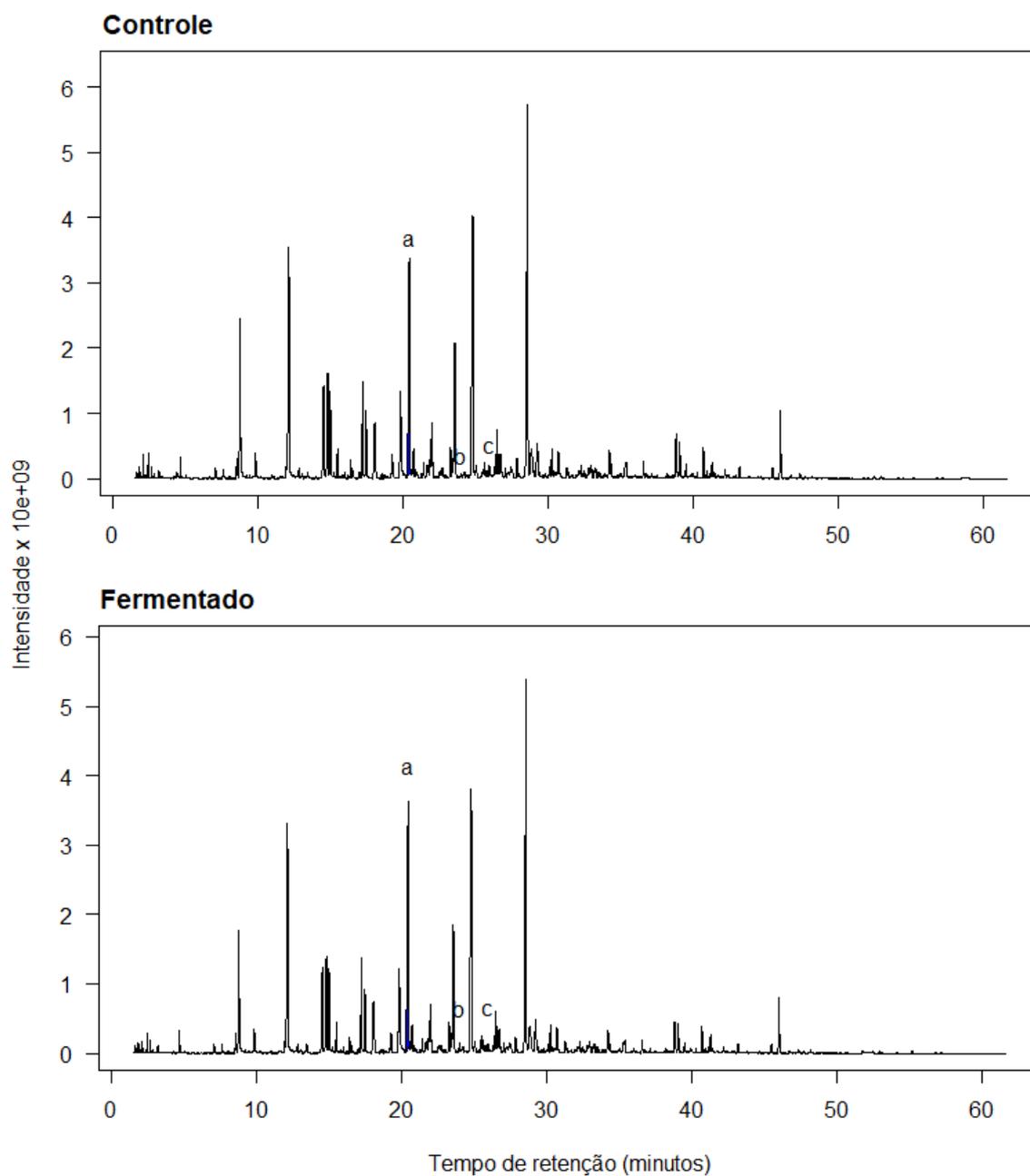
fermentadas, e correlacionou-se negativamente com a avaliação sensorial através do índice de Pearson. É descrito como etéreo, acetona, agradável e difuso (FLAMENT, 2002), e sua redução pode contribuir para o aumento da qualidade sensorial dos cafés fermentados.

O composto hexanal, que faz parte do grupo dos aldeídos, é descrito como um dos principais compostos voláteis do café verde (ERÖZ POYRAZ et al., 2016). A redução do hexanal está relacionada com a maturação de alguns frutos (ENGEL et al., 1988; OLIVEIRA et al., 2011). Como esse composto diminuiu em todas as amostras fermentadas, pode ser um indicativo de que durante o processo, o fruto do café continuou amadurecendo. A diminuição deste composto já foi relatada anteriormente por outros autores durante a fermentação do café (BRESSANI et al., 2018; EVANGELISTA et al., 2014b; LEE et al., 2016b).

#### **5.2.4.9.2 Café torrado**

Como esperado, o café torrado apresentou maior número de VOCs que o café verde (SOMPORN et al., 2012) com um total de 360 picos com diferentes tempos de retenção (exemplo na Figura 28). Entre eles, 106 foram identificados tentativamente (Tabela 15) e seus grupos estão descritos na Figura 29. Dentre os grupos, os álcoois tiveram aumento em todas as amostras após o processo de fermentação.

**Figura 28:** Cromatograma de compostos voláteis de café torrado analisados por HS-SPME/GC-MS



Para os dois cromatogramas, as letras se referem aos compostos: a - furfural; b - 2,3-butanodiol; c - 2-furanometanol propionato

Tabela 15: Compostos orgânicos voláteis totais identificados nas amostras de café torrado controle e fermentadas

R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13	
				Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado
<b>Ácidos</b>													
28,84	ácido 3-metil-butanóico	1672	1669	0,87 ± 0,06 d	1,90 ± 0,13 a	1,41 ± 0,07 c	1,69 ± 0,07 b	-	-	0,58 ± 0,01 e	0,58 ± 0,00 e	-	0,63 ± 0,00 e
33,32	ácido 3-metil-2-butenóico	1797	1804	0,64 ± 0,01 b	1,77 ± 0,13 a	0,36 ± 0,00 e	0,59 ± 0,01 b	0,26 ± 0,00 cd	0,37 ± 0,01 c	0,32 ± 0,00 cd	0,27 ± 0,01 cd	0,24 ± 0,00 d	0,26 ± 0,00 cd
42,23	ácido octanóico	2065	2060	0,18 ± 0,00 cd	0,17 ± 0,00 e	0,28 ± 0,01 a	0,18 ± 0,00 cd	0,15 ± 0,00 f	0,14 ± 0,00 g	0,22 ± 0,00 b	0,18 ± 0,00 d	0,22 ± 0,00 b	0,19 ± 0,00 c
45,52	ácido nonanóico	2167	2168	0,14 ± 0,04 a	0,26 ± 0,05 a	0,29 ± 0,07 a	0,28 ± 0,07 a	0,22 ± 0,08 a	0,26 ± 0,04 a	0,20 ± 0,04 a	0,21 ± 0,03 a	0,25 ± 0,04 a	0,21 ± 0,05 a
<b>Álcoois</b>													
2,71	etanol	930	934	0,20 ± 0,02 cd	0,18 ± 0,02 cd	0,20 ± 0,01 c	0,36 ± 0,03 b	0,06 ± 0,00 e	0,42 ± 0,03 a	0,16 ± 0,00 cd	0,18 ± 0,01 cd	0,14 ± 0,03 d	0,20 ± 0,02 c
24,03	2,3-butanodiol	1543	1542	-	0,03 ± 0,00 e	0,25 ± 0,02 b	0,23 ± 0,01 b	0,09 ± 0,00 d	0,07 ± 0,00 d	0,13 ± 0,00 c	0,36 ± 0,01 a	0,03 ± 0,00 e	0,14 ± 0,01 c
24,28	1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimetil	1549	1546	-	0,07 ± 0,00 g	0,13 ± 0,01 ef	0,27 ± 0,02 b	0,11 ± 0,01 f	0,38 ± 0,01 a	0,18 ± 0,00 d	0,22 ± 0,02 c	0,19 ± 0,00 cd	0,17 ± 0,00 de
25,53	2,3-butanodiol, [S-(R*,R*)]-	1582	1584	0,03 ± 0,00 g	0,08 ± 0,00 f	0,28 ± 0,02 b	0,26 ± 0,01 bc	0,26 ± 0,01 b	0,27 ± 0,01 b	0,21 ± 0,01 d	0,44 ± 0,01 a	0,12 ± 0,01 e	0,23 ± 0,01 cd
36,05	álcool benzílico	1876	1879	0,12 ± 0,01 c	0,14 ± 0,01 b	0,11 ± 0,00 c	0,17 ± 0,00 a	0,10 ± 0,01 c	0,19 ± 0,01 a	0,11 ± 0,00 c	0,11 ± 0,00 c	0,11 ± 0,00 c	0,12 ± 0,01 c
37,18	álcool feniletílico	1910	1906	0,18 ± 0,01 b	0,22 ± 0,01 a	0,17 ± 0,00 bc	0,17 ± 0,01 bc	0,16 ± 0,00 bcd	0,21 ± 0,02 a	0,15 ± 0,01 cd	0,14 ± 0,01 d	0,16 ± 0,01 cd	0,15 ± 0,01 cd
<b>Aldeídos</b>													
1,78	propanal	798	798	0,08 ± 0,01 a	0,07 ± 0,03 a	0,06 ± 0,00 a	0,06 ± 0,01 a	0,07 ± 0,00 a	0,06 ± 0,00 a	0,06 ± 0,01 a	0,06 ± 0,01 a	0,07 ± 0,02 a	0,07 ± 0,02 a
2,48	butanal, 2-metil	912	907	0,35 ± 0,12 ab	0,53 ± 0,08 a	0,25 ± 0,02 b	0,48 ± 0,14 ab	0,36 ± 0,07 ab	0,32 ± 0,04 ab	0,43 ± 0,13 ab	0,47 ± 0,09 ab	0,38 ± 0,03 ab	0,37 ± 0,05 ab
5,34	hexanal	1071	1073	0,03 ± 0,00 b	0,08 ± 0,00 a	-	-	-	-	-	-	-	-
5,63	2-metil-2-butenal	1083	1090	0,04 ± 0,00 ab	0,04 ± 0,00 ab	0,03 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 bc	-	0,04 ± 0,00 abc	0,04 ± 0,00 abc	0,04 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 abc
<b>Ésteres</b>													
1,69	formato de metila	779	779	0,06 ± 0,00 b	0,07 ± 0,00 a	0,06 ± 0,00 b	0,07 ± 0,00 a	0,06 ± 0,00 b	0,06 ± 0,00 b	0,05 ± 0,00 c	0,06 ± 0,00 b	0,05 ± 0,00 c	0,06 ± 0,00 b
1,93	ácido acético, éster metílico	824	822	0,10 ± 0,00 a	0,09 ± 0,00 b	0,06 ± 0,00 e	0,08 ± 0,00 bc	0,05 ± 0,00 f	0,09 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 g	0,05 ± 0,00 f	0,07 ± 0,00 d	0,08 ± 0,00 c
2,26	acetato de etila	885	883	0,04 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 a	-	0,04 ± 0,00 a	-	0,05 ± 0,00 a	-	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 ab	0,03 ± 0,00 bc
3,87	isovalerato de metila	1013	1021	0,03 ± 0,00 a	0,02 ± 0,00 b	-	-	-	-	-	-	-	-
4,97	isovalerato de etila	1056	1060	-	0,05 ± 0,00 b	-	0,06 ± 0,00 a	-	0,03 ± 0,00 c	-	-	-	-
20,76	1-acetoxi-2-propanona	1458	1469	0,73 ± 0,01 c	0,65 ± 0,02 d	0,77 ± 0,02 b	0,66 ± 0,01 d	0,76 ± 0,01 bc	0,66 ± 0,02 d	0,76 ± 0,00 bc	0,75 ± 0,00 bc	0,95 ± 0,02 a	0,73 ± 0,01 c
23,48	2-butanona, 1-(acetiloxi)-	1528	1526	0,42 ± 0,01 c	0,39 ± 0,01 c	-	-	-	-	0,54 ± 0,01 a	0,56 ± 0,01 a	0,46 ± 0,00 b	0,42 ± 0,03 c
<b>Furanos</b>													
2,16	2-metilfurano	866	866	0,23 ± 0,02 cde	0,21 ± 0,02 def	0,21 ± 0,00 ef	0,25 ± 0,01 cde	0,26 ± 0,02 cd	0,17 ± 0,01 f	0,28 ± 0,02 bc	0,22 ± 0,01 def	0,35 ± 0,03 a	0,32 ± 0,02 ab
2,88	2,5-dimetilfurano	945	943	0,06 ± 0,00 f	0,06 ± 0,00 f	0,07 ± 0,00 d	0,10 ± 0,00 a	0,07 ± 0,00 d	0,06 ± 0,00 f	0,07 ± 0,00 e	0,07 ± 0,00 d	0,08 ± 0,00 c	0,09 ± 0,00 b
3,08	2,4-dimetilfurano	961	958	-	-	-	0,04 ± 0,00 a	0,02 ± 0,00 c	-	-	-	0,02 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 b
5,11	2-vinilfurano	1061	1063	0,08 ± 0,00 b	0,07 ± 0,00 c	-	-	0,08 ± 0,00 b	0,06 ± 0,00 d	-	-	0,09 ± 0,00 a	0,07 ± 0,00 c
10,73	2-pentilfurano	1219	1222	0,04 ± 0,00 b	0,14 ± 0,01 a	0,02 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 bc	-	-	-	-	-	-
12,00	3(2H)-furanona, di-hidro-2-metil-	1248	1246	0,22 ± 0,02 e	0,26 ± 0,03 de	0,40 ± 0,02 bc	0,54 ± 0,04 a	0,57 ± 0,08 a	0,49 ± 0,06 ab	0,31 ± 0,01 cde	0,35 ± 0,03 cd	0,32 ± 0,02 cde	0,38 ± 0,03 bc
19,20	2-furfuriltiol	1419	1425	0,28 ± 0,01 a	0,20 ± 0,02 b	-	0,09 ± 0,00 de	-	0,07 ± 0,01 e	0,08 ± 0,01 e	0,12 ± 0,01 c	-	0,12 ± 0,01 cd
20,50	furfural	1452	1452	3,91 ± 0,39	4,97 ± 0,34	6,24 ± 0,43	7,63 ± 0,07	7,92 ± 0,23	6,21 ± 0,12	6,55 ± 0,16	8,45 ± 0,08	5,97 ± 0,16	6,00 ± 0,03
20,92	2-(tetra-hidro-t-5-metil-5-vinil-r-2-furil)propan-2-ol	1463	1465	-	-	0,11 ± 0,01 e	0,15 ± 0,01 d	0,10 ± 0,00 e	0,20 ± 0,01 c	0,23 ± 0,00 b	0,20 ± 0,00 bc	0,34 ± 0,01 a	0,21 ± 0,02 bc
21,33	furano, 2-[(metiltio)metil]-	1473	1480	0,14 ± 0,00 a	0,12 ± 0,01 b	0,11 ± 0,01 b	0,11 ± 0,00 b	0,10 ± 0,00 b	0,10 ± 0,01 b	0,11 ± 0,00 b	0,08 ± 0,01 c	0,14 ± 0,00 a	0,15 ± 0,00 a
21,93	formato de furfural	1488	1497	0,73 ± 0,02 f	0,69 ± 0,01 f	0,91 ± 0,01 bc	1,00 ± 0,01 a	0,98 ± 0,03 a	0,81 ± 0,01 e	0,87 ± 0,02 cd	0,84 ± 0,02 de	0,96 ± 0,02 ab	0,92 ± 0,01 bc

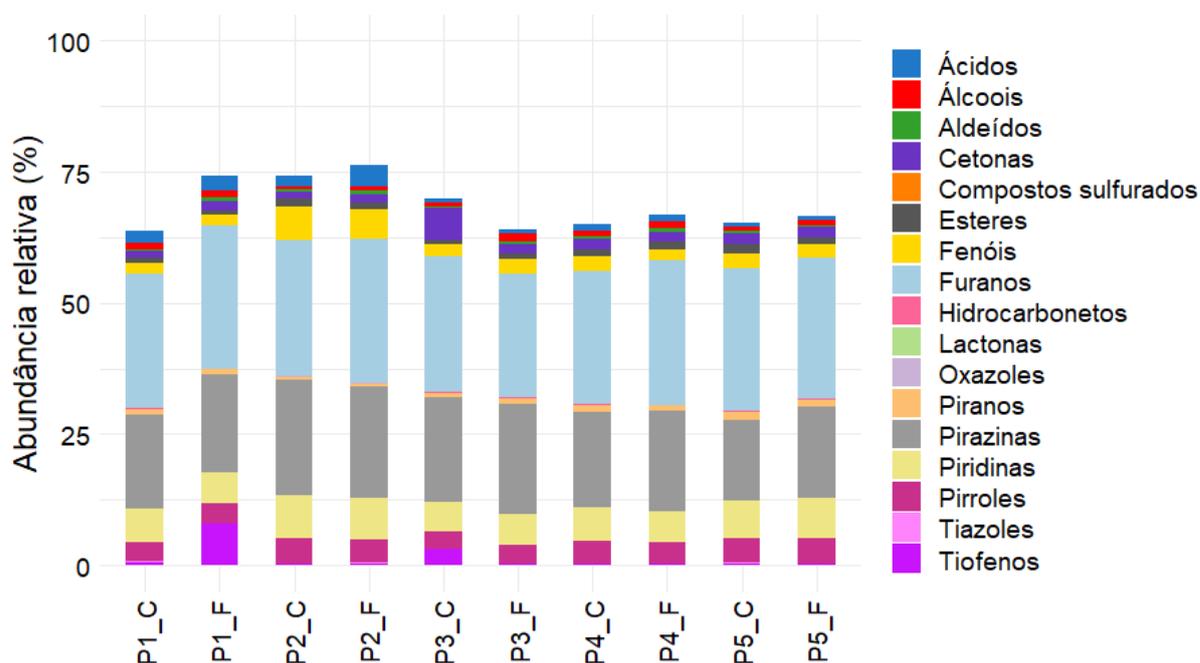
R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13	
				Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado
22,05	1-(2-furil)etan-1-ona	1491	1489	0,71 ± 0,01 f	0,72 ± 0,01 f	1,18 ± 0,00 cd	1,28 ± 0,02 a	1,20 ± 0,05 bc	0,99 ± 0,01 e	1,16 ± 0,03 cd	1,13 ± 0,02 d	1,18 ± 0,02 cd	1,26 ± 0,00 ab
23,61	acetato de furfurila	1532	1539	3,06 ± 0,14 ef	2,69 ± 0,07 f	4,36 ± 0,12 c	4,90 ± 0,06 a	4,47 ± 0,10 bc	4,77 ± 0,03 ab	3,03 ± 0,10 ef	3,16 ± 0,04 e	3,91 ± 0,26 d	4,10 ± 0,24 cd
24,81	5-metilfuran-2-carbaldeído	1563	1566	5,26 ± 0,17 b	5,77 ± 0,19 a	-	-	-	-	-	-	-	-
24,88	2-propanoil furano	1565	1563	0,17 ± 0,02 a	0,15 ± 0,01 a	-	-	-	-	-	-	-	-
25,98	propanoato de 2-furanometanol	1594	1599	0,38 ± 0,01 cd	0,37 ± 0,01 d	0,43 ± 0,02 bcd	0,56 ± 0,10 a	0,49 ± 0,02 abc	0,53 ± 0,00 ab	0,41 ± 0,01 cd	0,42 ± 0,03 cd	0,47 ± 0,03 abcd	0,47 ± 0,01 abcd
28,62	2-furanometanol	1666	1668	10,18 ± 0,55 e	10,54 ± 0,51 de	11,04 ± 0,11 cde	10,11 ± 0,23 e	9,07 ± 0,27 f	8,48 ± 0,45 f	11,49 ± 0,39 bcd	11,73 ± 0,20 bc	12,88 ± 0,29 a	12,32 ± 0,22 ab
35,09	3-(2-furanil)-2-propenal	1848	1851	0,13 ± 0,00 f	0,11 ± 0,00 g	0,16 ± 0,00 c	0,15 ± 0,00 d	0,18 ± 0,00 a	0,17 ± 0,00 b	0,18 ± 0,00 a	0,16 ± 0,00 c	0,17 ± 0,00 b	0,14 ± 0,00 e
41,34	2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona	2037	2041	0,18 ± 0,02 c	0,22 ± 0,01 c	0,32 ± 0,01 b	0,31 ± 0,02 b	0,40 ± 0,04 a	0,42 ± 0,01 a	0,40 ± 0,02 a	0,44 ± 0,02 a	0,33 ± 0,03 b	0,30 ± 0,02 b
55,23	5-hidroximetilfurfural	2481	2485	-	-	0,03 ± 0,00 bc	0,05 ± 0,02 abc	0,06 ± 0,01 a	0,05 ± 0,00 abc	0,04 ± 0,00 abc	0,06 ± 0,00 ab	0,03 ± 0,00 c	-
<b>Hidrocarbonetos</b>													
8,07	β-mirceno	1152	1157	-	-	0,01 ± 0,00 e	0,02 ± 0,00 d	0,02 ± 0,00 d	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 b	0,05 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 b
9,25	limoneno	1183	1188	0,16 ± 0,01 a	0,14 ± 0,01 bc	0,09 ± 0,00 f	0,07 ± 0,00 g	0,09 ± 0,00 f	0,09 ± 0,00 f	0,12 ± 0,01 de	0,11 ± 0,00 e	0,13 ± 0,01 cd	0,15 ± 0,00 ab
11,59	estireno	1239	1242	-	-	-	-	0,02 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 a	-	-	-	-
<b>Cetonas</b>													
2,37	2-butanona	902	901	0,05 ± 0,00 d	0,07 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 e	0,05 ± 0,00 d	0,05 ± 0,00 d	0,15 ± 0,01 a	0,06 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 e	0,06 ± 0,00 c	0,05 ± 0,00 d
3,16	2,3-butanodiona	968	968	0,11 ± 0,01 b	0,14 ± 0,01 b	0,10 ± 0,01 b	0,13 ± 0,00 b	4,06 ± 0,23 a	0,10 ± 0,02 b	0,11 ± 0,01 b	0,12 ± 0,00 b	0,24 ± 0,01 b	0,10 ± 0,00 b
4,74	2,3-pentanodiona	1046	1052	0,23 ± 0,02 d	0,26 ± 0,02 cd	-	0,50 ± 0,04 a	0,45 ± 0,03 a	0,36 ± 0,02 b	0,32 ± 0,02 bc	0,53 ± 0,04 a	0,33 ± 0,02 bc	0,31 ± 0,02 bc
6,67	3-penten-2-ona	1115	1120	0,04 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 a
12,86	acetoina	1268	1270	0,16 ± 0,01 d	0,24 ± 0,01 c	0,17 ± 0,01 d	0,18 ± 0,01 d	0,26 ± 0,01 bc	0,18 ± 0,01 d	0,32 ± 0,01 a	0,31 ± 0,01 a	0,28 ± 0,02 ab	0,30 ± 0,01 a
22,38	3-metil-2-ciclopent-1-ona	1499	1500	0,08 ± 0,00 d	0,07 ± 0,00 c	0,09 ± 0,00 d	0,08 ± 0,00 d	0,09 ± 0,00 bc	0,08 ± 0,00 d	0,09 ± 0,00 a	0,06 ± 0,00 a	0,09 ± 0,00 ab	0,08 ± 0,00 a
33,62	2-buten-1-ona, 1-(2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexadien-1-il)-	1814	1813	0,15 ± 0,01 b	0,12 ± 0,01 c	0,12 ± 0,00 c	0,10 ± 0,01 de	0,15 ± 0,00 b	0,17 ± 0,00 a	0,13 ± 0,01 c	0,09 ± 0,00 e	0,12 ± 0,01 c	0,11 ± 0,00 cd
34,35	2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona	1827	1829	0,35 ± 0,00 h	0,33 ± 0,00 i	0,51 ± 0,01 f	0,47 ± 0,00 g	0,57 ± 0,00 d	0,53 ± 0,00 e	0,60 ± 0,00 b	0,51 ± 0,00 f	0,62 ± 0,01 a	0,58 ± 0,01 c
36,62	3-etil-2-hidroxiciclopent-2-en-1-ona	1893	1894	0,24 ± 0,02 ef	0,19 ± 0,01 f	0,31 ± 0,00 bcd	0,29 ± 0,02 de	0,36 ± 0,04 abc	0,37 ± 0,01 ab	0,41 ± 0,02 a	0,31 ± 0,01 cd	0,41 ± 0,03 a	0,38 ± 0,02 a
<b>Oxazoles</b>													
9,47	oxazol, trimetil-	1189	1197	0,12 ± 0,01 a	0,10 ± 0,00 ab	0,07 ± 0,03 b	0,08 ± 0,04 ab	0,08 ± 0,00 ab	0,06 ± 0,00 b	0,09 ± 0,00 ab	0,07 ± 0,01 b	0,09 ± 0,00 ab	0,10 ± 0,00 ab
<b>Fenóis</b>													
32,07	salicilato de metila	1762	1762	0,29 ± 0,02 b	0,47 ± 0,03 a	0,12 ± 0,01 d	0,20 ± 0,02 c	0,19 ± 0,02 c	0,49 ± 0,01 a	0,10 ± 0,01 d	0,10 ± 0,00 d	0,10 ± 0,00 d	0,10 ± 0,01 d
35,35	2-metoxifenol	1856	1857	1,45 ± 0,06 a	1,20 ± 0,03 b	0,49 ± 0,01 d	0,35 ± 0,03 e	0,28 ± 0,01 ef	0,51 ± 0,02d	0,54 ± 0,01 cd	0,27 ± 0,01 f	0,60 ± 0,02 c	0,53 ± 0,02 d
40,32	fenol	2005	2008	0,30 ± 0,01 a	0,24 ± 0,01 b	0,17 ± 0,01 d	0,12 ± 0,01 fg	0,15 ± 0,00 de	0,14 ± 0,00 ef	0,16 ± 0,01 de	0,11 ± 0,01 g	0,21 ± 0,01 c	0,16 ± 0,01 de
40,98	4-etil-2-metoxifenol	2005	2024	0,68 ± 0,02	0,48 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,17 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,25 ± 0,02	0,15 ± 0,00	0,27 ± 0,01	0,22 ± 0,00
41,21	benzeno, 4-etenil-1,2-dimetoxi-	2033	2039	0,24 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01
42,98	fenol, 3-metil-	2088	2083	0,09 ± 0,01 a	0,09 ± 0,00 b	0,08 ± 0,00 de	0,05 ± 0,01 fg	0,08 ± 0,00 ef	0,10 ± 0,01 fg	0,09 ± 0,01 d	0,06 ± 0,00 g	0,10 ± 0,01 c	0,08 ± 0,01 de
45,08	2-metoxi-4-vinilfenol	2154	2156	3,49 ± 0,41 a	3,02 ± 0,21 a	1,02 ± 0,05 cd	0,97 ± 0,09 d	1,08 ± 0,12 cd	1,20 ± 0,04 bcd	1,57 ± 0,11 b	1,28 ± 0,07 bcd	1,49 ± 0,14 bc	1,24 ± 0,11 bcd
<b>Piranos</b>													
38,85	maltol	1960	1959	0,67 ± 0,05 e	0,72 ± 0,06 de	0,96 ± 0,03 bc	0,79 ± 0,08 cde	0,88 ± 0,09 bcde	1,05 ± 0,04 b	1,30 ± 0,08 a	0,94 ± 0,03 bcd	1,37 ± 0,13 a	1,39 ± 0,12 a
48,24	4H-piran-4-ona, 2,3-di-hidro-3,5-dihidroxy-6-methyl-	2253	2264	-	-	0,01 ± 0,00 e	0,03 ± 0,00 cd	0,04 ± 0,00 bcd	0,04 ± 0,00 bc	0,04 ± 0,00 b	0,06 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 d	-

R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13	
				Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado
<b>Pirazinas</b>													
9,88	pirazina	1198	1208	0,68 ± 0,03 a	0,55 ± 0,01 c	0,49 ± 0,02 d	0,44 ± 0,01 e	0,44 ± 0,02 e	0,36 ± 0,01 f	0,62 ± 0,00 b	0,61 ± 0,00 b	0,56 ± 0,02 c	0,49 ± 0,01 d
12,30	metilpirazina	1255	1262	-	-	-	-	0,17 ± 0,00 c	-	0,24 ± 0,01 a	-	0,23 ± 0,00 a	0,19 ± 0,00 b
14,56	2,5-dimetilpirazina	1308	1308	2,57 ± 0,04 a	2,54 ± 0,04 ab	2,25 ± 0,04 de	2,39 ± 0,02 cd	2,55 ± 0,11 ab	2,28 ± 0,04 cde	2,38 ± 0,05 cd	2,41 ± 0,04 bc	1,88 ± 0,04 f	2,19 ± 0,03 e
14,84	2,6-dimetilpirazina	1314	1314	2,62 ± 0,05 a	2,59 ± 0,05 a	2,26 ± 0,02 d	2,49 ± 0,03 abc	2,41 ± 0,09 c	2,22 ± 0,05 d	2,55 ± 0,05 ab	2,62 ± 0,06 a	2,12 ± 0,04 d	2,43 ± 0,02 bc
15,02	etilpirazina	1319	1325	2,48 ± 0,04 a	2,51 ± 0,08 a	1,64 ± 0,02 e	1,78 ± 0,02 cd	1,67 ± 0,08 de	1,66 ± 0,05 de	1,91 ± 0,04 c	2,09 ± 0,07 b	1,66 ± 0,04 de	1,84 ± 0,03 c
15,53	2,3-dimetilpirazina	1331	1338	0,79 ± 0,01 b	0,87 ± 0,02 a	0,57 ± 0,02 e	0,68 ± 0,03 c	0,57 ± 0,01 d	0,70 ± 0,02 c	0,62 ± 0,01 d	0,72 ± 0,02 c	0,54 ± 0,01 e	0,63 ± 0,01 d
17,49	2-etil-5-metilpirazina	1378	1380	2,28 ± 0,10 a	2,08 ± 0,02 b	1,44 ± 0,02 e	1,55 ± 0,03 cde	1,70 ± 0,10 c	1,68 ± 0,03 cd	1,51 ± 0,03 de	1,57 ± 0,06 cde	1,23 ± 0,07 f	1,49 ± 0,02 e
18,09	trimetilpirazina	1392	1397	2,47 ± 0,09 ab	2,55 ± 0,14 abc	2,11 ± 0,13 abcd	2,28 ± 0,14abc	2,44 ± 0,12 ab	2,60 ± 0,14 a	1,98 ± 0,10 bcd	2,28 ± 0,13 abc	1,66 ± 0,11 d	1,87 ± 0,10 cd
19,30	2,6-dietilpirazina	1422	1415	0,88 ± 0,02 a	0,76 ± 0,02 b	0,68 ± 0,02 cd	0,57 ± 0,01 g	0,65 ± 0,00 de	0,64 ± 0,00 e	0,63 ± 0,01 ef	0,59 ± 0,01 g	0,70 ± 0,01 c	0,59 ± 0,01 fg
19,89	3-etil-2,5-dimetilpirazina	1436	1439	2,93 ± 0,13 de	2,59 ± 0,14 ef	3,48 ± 0,19 bc	3,25 ± 0,17 cd	3,79 ± 0,23 b	4,48 ± 0,25 a	2,54 ± 0,17 ef	2,97 ± 0,16 cde	2,24 ± 0,18 f	2,46 ± 0,13 ef
20,15	2,3-dietilpirazina	1443	1449	0,16 ± 0,01 bcd	0,19 ± 0,02 ab	0,13 ± 0,02 d	0,21 ± 0,02 a	0,14 ± 0,02 cd	0,18 ± 0,02 abc	0,14 ± 0,00 cd	0,15 ± 0,00 bcd	0,13 ± 0,00 d	0,13 ± 0,01 cd
20,52	2-etil-3,5-dimetilpirazina	1452	1447	0,75 ± 0,01 a	0,67 ± 0,00 b	0,05 ± 0,00 c	-	-	-	-	-	-	-
21,46	2-vinil-6-metilpirazina	1476	1485	0,35 ± 0,01 a	0,31 ± 0,01 de	0,32 ± 0,01 cde	0,34 ± 0,02 ab	0,35 ± 0,01 a	0,30 ± 0,01 e	0,34 ± 0,01 ab	0,34 ± 0,01 abc	0,32 ± 0,00 bcd	0,31 ± 0,01 de
21,70	2-etenil-5-metilpirazina	1482	1485	0,33 ± 0,01 bc	0,28 ± 0,01 d	0,32 ± 0,02 bc	0,33 ± 0,01 bc	0,39 ± 0,00 a	0,31 ± 0,02 bcd	0,33 ± 0,00 b	0,30 ± 0,01 cd	0,31 ± 0,00 bcd	0,29 ± 0,01 d
21,80	3,5-dietil-2-metilpirazina	1485	1492	0,66 ± 0,03 b	0,49 ± 0,02 d	0,43 ± 0,01 e	0,37 ± 0,02 f	0,59 ± 0,02 c	0,77 ± 0,01 a	0,32 ± 0,01 g	0,29 ± 0,02 g	0,28 ± 0,01 g	0,30 ± 0,01 g
22,66	2,3,5-Trimetil-6-etilpirazina	1506	1491	-	-	-	-	0,08 ± 0,00 b	0,47 ± 0,02 a	-	-	-	-
26,64	5H-5-Metil-6,7-di- hidrociclopentapirazina	1612	1605	0,65 ± 0,02 cd	0,80 ± 0,03 a	0,62 ± 0,03 d	0,71 ± 0,02 bc	0,61 ± 0,02 de	0,82 ± 0,03 a	0,55 ± 0,01 e	0,77 ± 0,02 ab	0,39 ± 0,01 f	0,69 ± 0,02 c
29,28	1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	1684	1679	1,28 ± 0,07	1,16 ± 0,05	1,18 ± 0,06	1,18 ± 0,07	1,33 ± 0,07	1,46 ± 0,01	1,34 ± 0,04	1,25 ± 0,06	1,18 ± 0,05	1,24 ± 0,05
<b>Piridinas</b>													
8,81	piridina	1171	1169	4,98 ± 0,74 ab	4,94 ± 0,59 ab	3,92 ± 0,25 bc	3,49 ± 0,23 c	2,90 ± 0,39 c	3,12 ± 0,25 c	3,90 ± 0,22 bc	3,50 ± 0,29 c	4,86 ± 0,37 ab	5,18 ± 0,44 a
10,24	2-metilpiridina	1208	1214	0,09 ± 0,01 b	0,17 ± 0,02 a	0,07 ± 0,00 bc	0,08 ± 0,00 bc	0,07 ± 0,00 bc	0,09 ± 0,01 b	0,06 ± 0,00 c	0,07 ± 0,00 bc	0,06 ± 0,00 c	0,07 ± 0,00 bc
13,33	3-metilpiridina	1279	1289	0,05 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 b	0,05 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 b	0,04 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 c	0,05 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 b
17,04	3-etilpiridina	1367	1375	0,24 ± 0,01 a	0,22 ± 0,00 b	0,18 ± 0,01 d	0,15 ± 0,00 e	0,14 ± 0,01 ef	0,14 ± 0,00 ef	0,15 ± 0,00 e	0,13 ± 0,01 f	0,20 ± 0,01 cd	0,20 ± 0,01 c
17,26	2-etil-6-metilpirazina	1372	1375	2,72 ± 0,13 a	2,61 ± 0,01 a	1,98 ± 0,03 e	2,11 ± 0,02 bcde	2,25 ± 0,06 bc	2,27 ± 0,03 c	2,10 ± 0,05 cde	2,19 ± 0,06 bcd	1,78 ± 0,05 f	2,06 ± 0,03 de
18,64	5-etil-2-metilpiridina	1405	1413	-	-	-	-	-	0,05 ± 0,00	-	-	-	-
25,80	1-(2-piridil)etanona	1589	1587	0,22 ± 0,01 a	0,19 ± 0,01 a	0,20 ± 0,02 a	0,19 ± 0,01 a	0,22 ± 0,04 a	0,22 ± 0,01 a	0,18 ± 0,01 a	0,19 ± 0,01 a	0,19 ± 0,01 a	0,19 ± 0,01 a
<b>Pirroles</b>													
7,11	1-metil-1H-pirrol	1127	1139	0,40 ± 0,01 a	0,41 ± 0,02 a	0,25 ± 0,02 cd	0,29 ± 0,03 bc	0,26 ± 0,02 cd	0,21 ± 0,02 d	0,28 ± 0,03 bc	0,28 ± 0,02 bc	0,34 ± 0,02 b	0,31 ± 0,01bc
22,59	pirrol	1505	1509	0,51 ± 0,01 a	0,45 ± 0,01 b	0,33 ± 0,01 c	0,31 ± 0,01 cd	0,28 ± 0,01 e	-	0,29 ± 0,00 de	0,32 ± 0,02 cd	0,32 ± 0,01 c	0,31 ± 0,01 cd
26,50	1H-pirrol-2-carboxaldeído, 1-metil-	1608	1607	1,11 ± 0,05 c	1,19 ± 0,01 b	0,75 ± 0,03 g	0,83 ± 0,02 f	0,65 ± 0,01 h	0,77 ± 0,01 fg	1,04 ± 0,02 de	0,99 ± 0,01 e	1,09 ± 0,01 cd	1,36 ± 0,02 a
27,88	etanona, 1-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-	1646	1467	0,56 ± 0,02 ab	0,47 ± 0,02 cd	0,44 ± 0,03 d	0,51 ± 0,03 bc	0,42 ± 0,01 d	0,46 ± 0,01 cd	0,52 ± 0,03 bc	0,43 ± 0,02 d	0,62 ± 0,03 a	0,60 ± 0,02 a
34,23	1-H-pirrol, 1-(2-furanimetil)-	1823	1817	0,73 ± 0,05 a	0,60 ± 0,03 cd	0,53 ± 0,01 de	0,64 ± 0,03 bc	0,60 ± 0,04 cd	0,69 ± 0,00 ab	0,65 ± 0,03 bc	0,50 ± 0,02 e	0,65 ± 0,03 abc	0,63 ± 0,02 bc
39,11	1-(pirrol-2-il)etanona	1968	1966	0,76 ± 0,03 b	0,67 ± 0,03 bc	0,74 ± 0,01 b	0,74 ± 0,01 b	0,64 ± 0,05 c	0,74 ± 0,02 b	0,86 ± 0,04 a	0,70 ± 0,03 bc	0,92 ± 0,04 a	0,91 ± 0,05 a
40,74	1H-pirrol-2-carboxaldeído	2018	2019	0,53 ± 0,03 de	0,54 ± 0,02 de	0,53 ± 0,00 de	0,51 ± 0,03 de	0,46 ± 0,04 e	0,56 ± 0,02 cd	0,74 ± 0,03 a	0,64 ± 0,03 bc	0,70 ± 0,03 ab	0,77 ± 0,04 a

R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13	
				Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado
52,97	indole	2405	2414	0,06 ± 0,01 a	0,05 ± 0,00 ab	0,03 ± 0,00 d	0,03 ± 0,00 d	0,04 ± 0,00 cd	0,04 ± 0,00 bc	0,04 ± 0,00 bc	0,04 ± 0,00 cd	0,04 ± 0,00 bcd	0,04 ± 0,00 cd
<b>Tiazóis</b>													
12,80	4-metiltiazol	1267	1278	0,12 ± 0,01 a	0,12 ± 0,00 a	0,09 ± 0,01 bc	0,09 ± 0,01 b	-	0,07 ± 0,01 c	-	0,09 ± 0,00 b	0,08 ± 0,00 bc	-
<b>Tiofenos</b>													
3,91	tiofeno	1014	1022	0,05 ± 0,00 a	0,03 ± 0,01 cd	-	0,05 ± 0,00 a	0,02 ± 0,00 de	0,04 ± 0,00 ab	0,02 ± 0,00 de	0,02 ± 0,00 e	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 bc
5,61	tiofeno, 2-metil	1081	1093	-	-	-	0,01 ± 0,00	-	-	-	-	-	-
22,81	tetrahydro-2-metiltiofen-3-ona	1511	1506	-	0,08 ± 0,00 c	0,44 ± 0,02 b	7,63 ± 0,21 a	0,07 ± 0,00 c	0,08 ± 0,00 c	0,06 ± 0,00 c	0,07 ± 0,00 c	-	0,07 ± 0,00 c
24,08	di-hidro-3-(2H)-tiofenona	1544	1553	-	0,05 ± 0,01 b	-	-	-	-	-	-	0,08 ± 0,00 a	-
31,97	1-(2-tienil)etanona	1759	1762	0,10 ± 0,00 abc	0,08 ± 0,00 cd	0,11 ± 0,01 ab	0,09 ± 0,01 bcd	0,10 ± 0,01 abc	0,11 ± 0,01 ab	0,11 ± 0,01 ab	0,09 ± 0,01 bcd	0,12 ± 0,01 a	0,07 ± 0,0 d
38,26	2-tiofenometanol	1942	1937	0,11 ± 0,00 b	0,12 ± 0,01 b	0,10 ± 0,00 b	0,10 ± 0,00 b	2,86 ± 0,03 a	0,10 ± 0,01 b	0,12 ± 0,00 b	0,12 ± 0,00 b	0,13 ± 0,01 b	0,12 ± 0,01 b

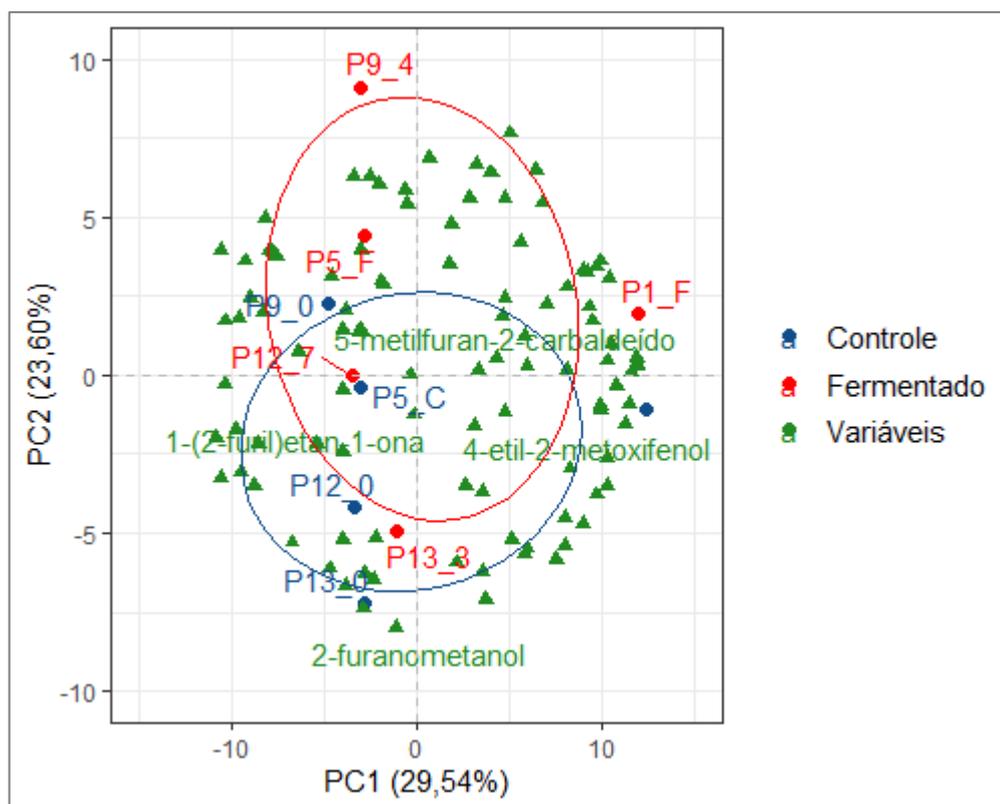
<sup>a</sup> Tempo de retenção; <sup>b</sup> Índice de retenção linear calculado utilizando padrão de alcanos na coluna Agilent-DBWAX; <sup>c</sup> Índice de retenção linear de referência encontrado na biblioteca NIST. Letras iguais na mesma linha, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%.

**Figura 29:** Grupos de compostos orgânicos voláteis identificados nas amostras de café torrado (amostras controle e fermentadas)



A Figura 30 mostra o PCA dos VOCs das amostras de café torrado. O segundo componente principal (PC2) explicou 19,90% da variação e foi capaz de separar as amostras fermentadas das amostras controle, pois todas as amostras fermentadas estão em posição mais acima (Figura 30). O primeiro componente principal (PC 1) explicou 36,33% da variação total e foi responsável por separar as amostras do processo P1 das demais.

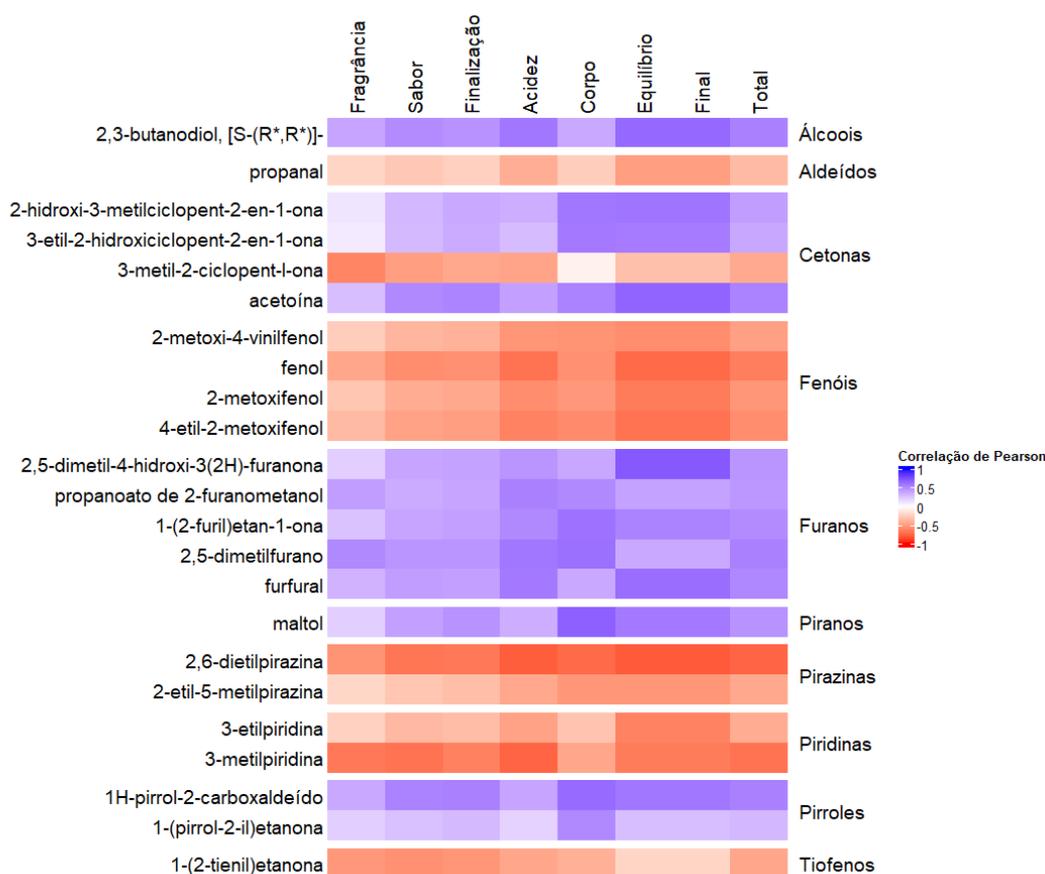
**Figura 30:** Análise de Componentes Principais de compostos orgânicos voláteis identificados no café torrado em amostras controle e fermentadas



O PC 1 foi explicado principalmente: positivamente por hexanal, metil isovalerato, 2-furfuriltiol, 5-metilfuran-2-carbaldeído, 2-propanoílfurano, 2-metoxifenol, fenol, 4-etil-2-metoxifenol, 2-metoxi-4-vinilfenol, etilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 2-etil-5-metilpirazina, 2,6-dietilpirazina, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, 2-etil-3,5-dimetilpirazina, 3-etilpiridina, 2-etil-6-metilpirazina, 1-metil-1H-pirrol, indole; e negativamente por furfural, formato de furfural, 1-(2-furil)etan-1-ona, 3-(2-furil)-2-propenal, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona e 3-etil-2,5-dimetilpirazina. O PC 2 foi explicado principalmente: positivamente por álcool benzílico, estireno, salicilato de metila, trimetilpirazina, salicilato de metila, 2,3-dietilpirazina, 3,5-dietil-2-metilpirazina, 2,3,5-trimetil-6-etilpirazina, 5H-5-metil-6,7-di-hidrociclopentapirazina; e negativamente por 2-metil-2-butenal, 1-acetoxi-2-propanona, 2-metilfurano, 2-furanometanol, 1-(pirrol-2-il) etanona, 1H-pirrol-2-carboxaldeído

Na figura 31 é mostrada a correlação do índice de Pearson entre o café torrado e a avaliação sensorial. 23 VOCs apresentaram correlação maior que 0,5 em pelo menos uma nota da avaliação sensorial, 12 deles com correlação positiva e 11 com correlação negativa.

**Figura 31:** Mapa de calor da correlação de Pearson entre avaliação sensorial e VOCs de café torrado



Os VOCs apresentados no mapa de calor tiveram mais de 0,5 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) em pelo menos uma avaliação sensorial.

O café utilizado em P1 foi a única amostra da espécie *C. canephora*. Os compostos 5-metilfuran-2-carbaldeído, 2-propanoilfuranol, isovalerato de metilo, hexanal; apareceu exclusivamente nessa amostra, e  $\beta$ -mirceno e 2-f tetrahydro-t-5-metil-5-vinil-r-2-furil)propan -2-ol esteve presente nas demais, mas não em P1. Os compostos responsáveis por diferenciar a amostra P1 das demais quanto aos VOCs no PCA do café torrado (figura 30) foram principalmente: positivamente, hexanal, isovalerato de metila, 2-furfuriltiol, 5-metilfuran-2-carbaldeído, 2-propanoilfuranol, 2-metoxifenol, fenol, 4-etil-2-metoxifenol, 2-metoxi-4-vinilfenol, etilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 2-etil-5-metilpirazina, 2,6-dietilpirazina, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, 2-etil-3,5-dimetilpirazina, 3-etilpiridina, 2-etil-6-metilpirazina, 1-metil-1H-pirrole, indole; e negativamente: furfural, formato de furfural, 1-(2-furil)etan-1-ona, 3-(2-furanil)-2-propenal, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona e 3-etil-2,5-dimetilpirazina. As diferenças na qualidade sensorial entre P1 e outras amostras (cafés da espécie *C. arabica*) que apareceram na Figura 21 (PCA de avaliação sensorial), pode ser explicado porque P1 apresentou: maiores quantidades de 2-metoxi-4-vinilfenol,

fenol, 2-metoxifenol, 4-etil-2-metoxifenol, 2,6-dietilpirazina, 2-etil-5-metilpirazina, e 3-etilpiridina, que foram correlacionados negativamente com a avaliação sensorial pelo índice de Pearson (Figura 31); e quantidades inferiores de 2,3-butanodiol, [S-(R\*,R\*)]-, 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, propanoato de 2-furanometanol, 1-(2-furil)etan-1-ona, furfural, 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona, 3-etil-2-hidroxíciclopent-2-en-1-ona e maltol, que foram correlacionados positivamente com a avaliação sensorial. Alguns desses VOCs (2-etil-5-metilpirazina, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, 4-etil-2-metoxifenol, 2-metoxi-4-vinilfenol, 2-metoxifenol) foram descritos anteriormente como relacionados a espécie de café *C. canephora* (TOLEDO et al., 2016). Essas diferenças no teor de VOCs podem ser usadas para identificar as espécies de um café ou de uma mistura.

Doze VOCs aumentaram e 15 diminuíram nas amostras fermentadas, em comparação com o respectivo controle (Tabela 16). Entre os compostos que aumentaram, 5 (38,6%) são descritos pela literatura com atributos sensoriais positivos; 7 (53,8%) podem influenciar positivamente ou negativamente as notas sensoriais dependendo da concentração; 1 (7,7%) é descrito como tendo atributos sensoriais negativos. Entre 15 compostos com diminuição do café torrado fermentado, 2 são descritos com atributos sensoriais positivos (13,3%), 9 (60%) dependem de sua concentração para impactar positiva ou negativamente nos atributos sensoriais da amostra, e 4 (26,6%) têm um impacto negativo no aroma, com notas sensoriais como éter, pungente, químico, medicinal e terra.

**Tabela 16:** Compostos orgânicos voláteis que apresentaram aumento ou redução em todas as amostras de café torrado fermentado em relação ao seu controle

R,T, <sup>a</sup> (min)	Composto	LRI <sup>b</sup>	LRI Ref <sup>c</sup>	P1		P5		P9		P12		P13		Descrição de aroma/ sabor <sup>d</sup>
				Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	Controle	Fermentado	
<b>Ácidos</b>														
33,32	ácido 3-metil-2-butenóico	1797	1804	0,64 ± 0,01 b	1,77 ± 0,13 a	0,36 ± 0,00 e	0,59 ± 0,01 b	0,26 ± 0,00 cd	0,37 ± 0,01 c	0,32 ± 0,00 cd	0,27 ± 0,01 cd	0,24 ± 0,00 d	0,26 ± 0,00 cd	Verde, fenólico, laticínios
<b>Aldeídos</b>														
5,34	hexanal	1071	1073	0,03 ± 0,00 b	0,08 ± 0,00 a	-	-	-	-	-	-	-	-	Gramma, gordura, verde, aldeído, frutado, vegetal, madeira, penetrante, fruta verde (maçã e ameixa) maçã, cítrico, laranja
<b>Ésteres</b>														
4,97	isovalerato de etila	1056	1060	-	0,05 ± 0,00 b	-	0,06 ± 0,00 a	-	0,03 ± 0,00 c	-	-	-	-	Frutado, doce, maçã, abacaxi, tutti-frutti, verde, laranja, especiarias, metálico, mirtilo, madeira, animal, sobre-fermentado
<b>Furanos</b>														
10,73	2-pentilfurano	1219	1222	0,04 ± 0,00 b	0,14 ± 0,01 a	0,02 ± 0,00 c	0,03 ± 0,00 bc	-	-	-	-	-	-	Frutado, verde, terroso, vegetativo, metálico, ceroso, mofado, caramelo
24,81	5-metilfuran-2-carbaldeído	1563	1566	5,26 ± 0,17 b	5,77 ± 0,19 a	-	-	-	-	-	-	-	-	Especiarias, caramelo, maçã, doce, pão, aroma de café, maple
<b>Hidrocarbonetos</b>														
8,07	β-mirceno	1152	1157	-	-	0,01 ± 0,00 e	0,02 ± 0,00 d	0,02 ± 0,00 d	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 b	0,05 ± 0,00 a	0,03 ± 0,00 c	0,04 ± 0,00 b	Apimentado, terpeno, especiarias, balsâmico, plástico, herbal, madeira, rosa, salsão, cenoura, goma, terroso, metálico, laranja, doce-etéreo, vegetal, cítrico, frutado, manga, menta
<b>Pirazinas</b>														
15,53	2,3-dimetilpirazina	1331	1338	0,79 ± 0,01 b	0,87 ± 0,02 a	0,57 ± 0,02 e	0,68 ± 0,03 c	0,57 ± 0,01 d	0,70 ± 0,02 c	0,62 ± 0,01 d	0,72 ± 0,02 c	0,54 ± 0,01 e	0,63 ± 0,01 d	Oleaginosas, cacau, manteiga de amendoim, noz, caramelo, queimado, mofado, cacau em pó, batata, verde, pungente, chocolate
18,09	trimetilpirazina	1392	1397	2,47 ± 0,09 ab	2,55 ± 0,14 abc	2,11 ± 0,13 abcd	2,28 ± 0,14abc	2,44 ± 0,12 ab	2,60 ± 0,14 a	1,98 ± 0,10 bcd	2,28 ± 0,13 abc	1,66 ± 0,11 d	1,87 ± 0,10 cd	Vegetativo, oleaginosas, terroso, cacau em pó, cacau, batata assada, amendoim torrado, aveiã, mofado, chocolate, aroma de café
22,66	23,5-Trimethyl-6-etilpirazina	1506	1491	-	-	-	-	0,08 ± 0,00 b	0,47 ± 0,02 a	-	-	-	-	Chocolate

Aumento

Redução	26,64	5H-5-Metil-6,7-di-hidrociclopentapirazina	1612	1605	0,65 ± 0,02 cd	0,80 ± 0,03 a	0,62 ± 0,03 d	0,71 ± 0,02 bc	0,61 ± 0,02 de	0,82 ± 0,03 a	0,55 ± 0,01 e	0,77 ± 0,02 ab	0,39 ± 0,01 f	0,69 ± 0,02 c	Terroso, batata assada, amendoim torrado, doce, oleaginoso, torrado, milho, mofado, aroma de café, amendoim
	<b>Piridinas</b>														
	10,24	2-metilpiridina	1208	1214	0,09 ± 0,01 b	0,17 ± 0,02 a	0,07 ± 0,00 bc	0,08 ± 0,00 bc	0,07 ± 0,00 bc	0,09 ± 0,01 b	0,06 ± 0,00 c	0,07 ± 0,00 bc	0,06 ± 0,00 c	0,07 ± 0,00 bc	Doce, adstringente, avelã, torrado, milho, oleaginoso
	<b>Tiofenos</b>														
	22,81	tetrahydro-2-metiltiofen-3-ona	1511	1506	-	0,08 ± 0,00 c	0,44 ± 0,02 b	7,63 ± 0,21 a	0,07 ± 0,00 c	0,08 ± 0,00 c	0,06 ± 0,00 c	0,07 ± 0,00 c	-	0,07 ± 0,00 c	Enxofre, frutado, frutas vermelhas, verde, aroma de café
	<b>Ácidos</b>														
	42,23	ácido octanóico	2065	2060	0,18 ± 0,00 cd	0,17 ± 0,00 e	0,28 ± 0,01 a	0,18 ± 0,00 cd	0,15 ± 0,00 f	0,14 ± 0,00 g	0,22 ± 0,00 b	0,18 ± 0,00 d	0,22 ± 0,00 b	0,19 ± 0,00 c	Doce, queijo, gordura, rançoso, oleoso, vegetativo, repulsivo, queimado, acidez láctica, sabonete, conhaque
	<b>Ésteres</b>														
	3,87	isovalerato de metila	1013	1021	0,03 ± 0,00 a	0,02 ± 0,00 b	-	-	-	-	-	-	-	-	Maçã, frutado, abacaxi, doce, éster, tutti-frutti, pungente, éter, suco de maçã
	20,76	1-acetoxi-2-propanona	1458	1469	0,73 ± 0,01 c	0,65 ± 0,02 d	0,77 ± 0,02 b	0,66 ± 0,01 d	0,76 ± 0,01 bc	0,66 ± 0,02 d	0,76 ± 0,00 bc	0,75 ± 0,00 bc	0,95 ± 0,02 a	0,73 ± 0,01 c	Frutado, amanteigado, laticínios, oleaginosas, ácido
	<b>Fenóis</b>														
	40,32	fenol	2005	2008	0,30 ± 0,01 a	0,24 ± 0,01 b	0,17 ± 0,01 d	0,12 ± 0,01 fg	0,15 ± 0,00 de	0,14 ± 0,00 ef	0,16 ± 0,01 de	0,11 ± 0,01 g	0,21 ± 0,01 c	0,16 ± 0,01 de	Fenólico, plástico, emborrachado, fumaça, medicinal, graxa de sapato
	40,98	4-etil-2-metoxifenol	2005	2024	0,09 ± 0,01 a	0,09 ± 0,00 b	0,08 ± 0,00 de	0,05 ± 0,01 fg	0,08 ± 0,00 ef	0,10 ± 0,01 fg	0,09 ± 0,01 d	0,06 ± 0,00 g	0,10 ± 0,01 c	0,08 ± 0,01 de	Especiarias, fumaça, bacon, fenólico, alho, medicinal, madeira, doce, baunilha, queimado, torrado, molho de soja
	<b>Furanos</b>														
	5,11	2-vinilfurano	1061	1063	0,08 ± 0,00 b	0,07 ± 0,00 c	-	-	0,08 ± 0,00 b	0,06 ± 0,00 d	-	-	0,09 ± 0,00 a	0,07 ± 0,00 c	Fenólico, cereal
24,88	2-propanoil furano	1565	1563	0,17 ± 0,02 a	0,15 ± 0,01 a	-	-	-	-	-	-	-	-	Doce, caramelo, frutado	
35,09	3-(2-furanyl)- 2-propenal	1848	1851	0,13 ± 0,00 f	0,11 ± 0,00 g	0,16 ± 0,00 c	0,15 ± 0,00 d	0,18 ± 0,00 a	0,17 ± 0,00 b	0,18 ± 0,00 a	0,16 ± 0,00 c	0,17 ± 0,00 b	0,14 ± 0,00 e	Doce, canela, verde, grama, frutado, especiarias, baunilha, oleaginosas	
<b>Cetonas</b>															
22,38	3-metil-2-ciclopent-1-ona	1499	1500	0,08 ± 0,00 d	0,07 ± 0,00 c	0,09 ± 0,00 d	0,08 ± 0,00 d	0,09 ± 0,00 bc	0,08 ± 0,00 d	0,09 ± 0,00 a	0,06 ± 0,00 a	0,09 ± 0,00 ab	0,08 ± 0,00 a	Doce, frutado, gorduroso, emborrachado, terroso	

34,35	2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona	1827	1829	0,35 ± 0,00 <sub>h</sub>	0,33 ± 0,00 <sub>i</sub>	0,51 ± 0,01 <sub>f</sub>	0,47 ± 0,00 <sub>g</sub>	0,57 ± 0,00 <sub>d</sub>	0,53 ± 0,00 <sub>e</sub>	0,60 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,51 ± 0,00 <sub>f</sub>	0,62 ± 0,01 <sub>a</sub>	0,58 ± 0,01 <sub>c</sub>	Doce, caramelo, maple, açúcar, madeira, queimado, pão, noz, alcaçuz, tabaco, oleaginosas
<b>Pirazinas</b>														
9,88	pirazina	1198	1208	0,68 ± 0,03 <sub>a</sub>	0,55 ± 0,01 <sub>c</sub>	0,49 ± 0,02 <sub>d</sub>	0,44 ± 0,01 <sub>e</sub>	0,44 ± 0,02 <sub>e</sub>	0,36 ± 0,01 <sub>f</sub>	0,62 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,61 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,56 ± 0,02 <sub>c</sub>	0,49 ± 0,01 <sub>d</sub>	Pungente, doce, milho, torrado, avelã, floral, amoníaco
12,30	metilpirazina	1255	1262	-	-	-	-	0,17 ± 0,00 <sub>c</sub>	-	0,24 ± 0,01 <sub>a</sub>	-	0,23 ± 0,00 <sub>a</sub>	0,19 ± 0,00 <sub>b</sub>	Oleaginosas, cacau, torrado, chocolate, amendoim, verde, mofado, terroso, adstringente, doce, ácido, amêndoas
19,30	2,6-dietilpirazina	1422	1415	0,88 ± 0,02 <sub>a</sub>	0,76 ± 0,02 <sub>b</sub>	0,68 ± 0,02 <sub>cd</sub>	0,57 ± 0,01 <sub>g</sub>	0,65 ± 0,00 <sub>de</sub>	0,64 ± 0,00 <sub>e</sub>	0,63 ± 0,01 <sub>ef</sub>	0,59 ± 0,01 <sub>g</sub>	0,70 ± 0,01 <sub>c</sub>	0,59 ± 0,01 <sub>fg</sub>	Oleaginosas, avelã
20,52	2-ethyl-2,5-dimetilpirazina	1452	1447	0,75 ± 0,01 <sub>a</sub>	0,67 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,05 ± 0,00 <sub>c</sub>	-	-	-	-	-	-	-	Queimado, amêndoas, noz torrada, amendoim, caramelo, mofado, cacau, torrado, terroso, doce, milho, batata
<b>Piridinas</b>														
13,33	3-metilpiridina	1279	1289	0,05 ± 0,00 <sub>a</sub>	0,04 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,05 ± 0,00 <sub>a</sub>	0,03 ± 0,00 <sub>c</sub>	0,04 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,04 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,04 ± 0,00 <sub>b</sub>	0,03 ± 0,00 <sub>c</sub>	0,05 ± 0,00 <sub>a</sub>	0,04 ± 0,00 <sub>b</sub>	Avelã, queimado, verde

<sup>a</sup> Tempo de retenção; <sup>b</sup> Índice de retenção linear calculado utilizando padrão de alcanos na coluna Agilent-DBWAX; <sup>c</sup> Índice de retenção linear de referência encontrado na biblioteca NIST. <sup>d</sup> Propriedades de aroma descritos em Flavornet (ACREE; ARN, 2004), The Good Scientist (LUEBKE, 2018) database e (FLAMENT, 2002). Letras iguais na mesma linha, significam que não há diferença significativa no nível de confiança de 0,95%.

As pirazinas e os furanos são os grupos de compostos químicos que mais contribuem para o aroma do café (FLAMENT, 2002). No presente estudo, as pirazinas e furanos tiveram aumento na amostra fermentadas, o que pode justificar o aumento dos descritores de aroma e sabor.

Os compostos mais abundantes nas amostras de café torrado foram 2-furanometanol, furfural e acetato de furfurila (Tabela 15), que pertencem ao grupo dos furanos. Esses compostos estiveram presentes nas amostras controle e fermentados de todos os processos por serem VOCs característicos do café torrado, com grande importância no sabor e odor básicos do café (KIM et al., 2019). Furfural, juntamente com outros 4 compostos do grupo dos furanos (2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, propanoato de 2-furanometanol, 1-(2-furil)etan-1-ona, 2,5-dimetilfurano) correlacionaram-se positivamente com a avaliação sensorial pelo índice de Pearson (Figura 31). Os compostos furanos são formados durante o processo de torra do café pela degradação da sacarose, glicose, ácidos linoleico e linolênico, nas reações de Maillard e Strecker (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Furanos que não possuem compostos de enxofre apresentam atributos sensoriais agradáveis como noz, adocicado e caramelo (OHLOFF; FLAMENT, 1978). Todos os compostos furanos identificados no café torrado não possuem enxofre em sua composição e os mesmos atributos são descritos pela literatura, o que confirma o fato do aumento da quantidade deste grupo ser importante para a melhoria sensorial da qualidade do café.

Na literatura, o furfural é descrito como aparecendo em menor concentração na bebida do café fermentado, e sua redução está relacionada à concentração de açúcares redutores no café verde (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Como neste estudo o furfural aumentou em 4 amostras de café fermentado e reduziu em apenas uma (P9), é possível sugerir que esse aumento foi relacionado com a presença de açúcares redutores na amostra. Nas amostras P5, P12 e P13 foi detectada a presença de frutose tanto nas amostras de café verde quanto fermentadas (Tabela 10). Na amostra P9 esse açúcar não foi detectado (Tabela 10) e pode ser o motivo da redução na concentração de furfural no café fermentado. A presença desse açúcar redutor e o aumento do furfural pode ter acontecido porque no processo utilizado, o fruto inteiro do café foi fermentado, permanecendo um maior teor de açúcar da polpa do café ao redor da semente, e por se tratar de um processo de fermentação a seco, praticamente não houve perda de açúcar para o ambiente, como acontece ao fermentar o café em um tanque cheio de água.

Em geral, a quantidade total de pirazinas foi ligeiramente reduzida em uma amostra (P1) e aumentada nas demais. Alguns compostos do grupo das pirazinas, como 2,3-dimetilpirazina, trimetilpirazina e 5H-5-Metil-6,7-dihidrociclopentapirazina,

aumentaram, e alguns, como pirazina e 2,6-dietilpirazina, diminuíram nas amostras fermentadas. Apesar de esse grupo de VOCs ser relacionados por contribuir para o aroma do café, 2 compostos foram negativamente correlacionados com a avaliação sensorial pelo índice de Pearson (2,6-dietilpirazina e 2-etil-5-metilpirazina – Figura 31) e nenhum deles apresentou mais de 0,5 de correlação positiva.

Considera-se que os compostos 2-etil-5-metilpirazina e a 3-etil-2,5-dimetilpirazina conferem sabor negativo de terra na bebida e estão presentes em grande quantidade na espécie *C. canephora* (TOLEDO et al., 2016). No presente estudo, esses compostos foram detectados em todas as amostras. A 3-etil-2,5-dimetilpirazina esteve presente com valores diferentes, não havendo maior quantidade nas amostras de *C. canephora*. Já a 2-etil-5-metilpirazina apresentou maiores quantidades nas amostras de *C. canephora* com redução após o processo de fermentação. Neste estudo, este composto também teve uma correlação negativa com a avaliação sensorial pelo índice de correlação de Pearson (Figura 31), e foi um composto importante para explicar a separação do café *C. canephora* (P1) dos demais no PCA dos VOCs no café torrado (Figura 30).

As piridinas são formadas pela decomposição da trigonelina durante a torra do café, através da reação de pirólise de aminoácidos, degradação de Strecker ou reação de Maillard. Em geral, esse grupo de VOCs está relacionado ao sabor desagradável no café torrado (FARAH, 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020). Nos processos fermentativos, 2 compostos de piridina, 3-metilpiridina e 3-etilpiridina, foram negativamente correlacionados à avaliação sensorial pela correlação de Pearson (Figura 31). A 3-metilpiridina reduziu em 4 processos fermentativos (P1, P5, P12 e P13), e a 3-etilpiridina reduziu em 3 deles (P1, P5 e P12), o que possivelmente contribuiu para a melhora na qualidade sensorial do café.

Compostos fenólicos voláteis são formados ao longo do processo de torra devido à degradação térmica dos ácidos clorogênicos presentes no café verde. O sabor e o odor dos VOCs fenólicos podem ser sentidos em concentrações muito baixas e, em geral, estão relacionados ao odor fenólico, de fumaça, queimado, amargo e adstringente (PEREIRA; MOREIRA, 2020). 4 VOCs do grupo dos fenóis foram correlacionados negativamente com a avaliação sensorial (Figura 31): 2-metoxifenol (guaiacol), 2-metoxi-4-vinilfenol (4-vinil-guaiacol), fenol e 4-etil-2-metoxifenol (4-etilguaiacol, um tipo de cresol). Esses VOCs são os principais compostos fenólicos responsáveis pelo atributo fumaça, queimado e amargo no café, devido ao alto poder odorizante e ao baixo limite de detecção (PEREIRA; MOREIRA, 2020; SUNARHARUM et al., 2014), mostrando que a redução do teor desses compostos pela fermentação do café tem um impacto positivo na bebida do café. Os compostos fenólicos, em geral,

também estiveram presentes em maior quantidade nas amostras de *C. canephora* do que nas espécies de arábica, o que impacta nas diferenças de sabores das bebidas entre as espécies (SENINDE; CHAMBERS, 2020).

Apesar de diferentes compostos orgânicos voláteis terem apresentado aumento ou redução após o processo de fermentação, o sabor e o aroma de um café que são sentidos durante uma prova de degustação podem não estar relacionados a apenas um VOC específico e são perceptíveis devido ao efeito sinérgico entre diferentes compostos. Além disso, cada composto, ou grupo, possui limiares, e somente quando presente nessa faixa de concentração é possível a percepção sensorial (PEREIRA; MOREIRA, 2020; TOLEDO et al., 2016). Mas o fato de que houve uma redução nos compostos descritos na literatura por terem percepção sensorial negativa e um aumento em outros descritos como tendo sabor e aroma agradáveis sugere que esses VOCs podem estar relacionados à melhora nos atributos sensoriais dos cafés fermentados.

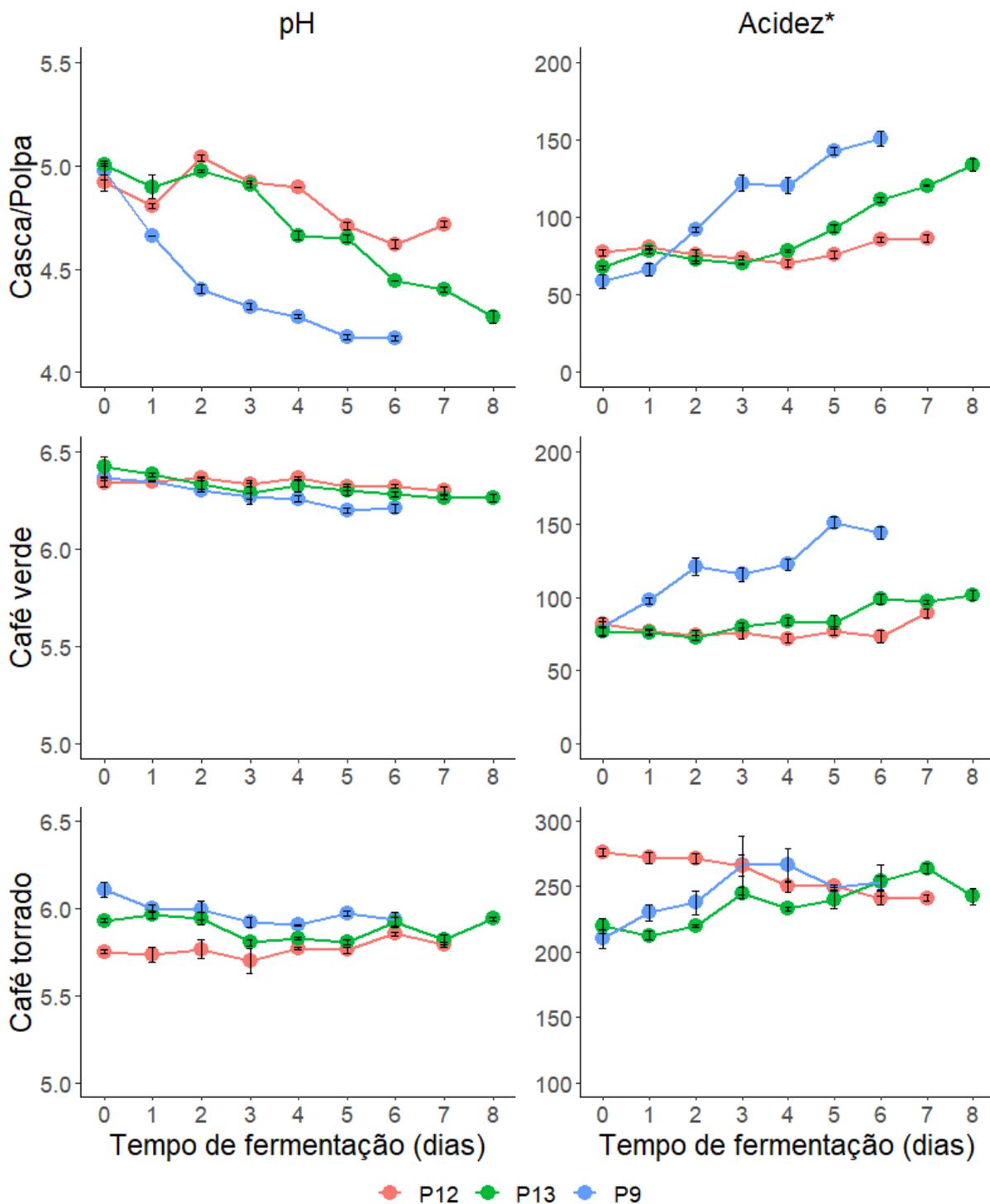
### **5.2.5 Acompanhamento dos processos de fermentação**

Os processos P9, P12 e P13 foram conduzidos utilizando uma amostra inicial que foi homogeneizada e dividida em galões ou baldes. Todos os recipientes foram fechados e iniciaram o processo ao mesmo tempo. A cada dia um recipiente foi aberto para avaliar as modificações que aconteceram durante o tempo de fermentação.

#### **5.2.5.1 pH e acidez titulável**

A Figura 32 mostra a variação de pH e acidez da casca/polpa do fruto de café fresco, do café verde e do café torrado para as amostras de acompanhamento de fermentação (P9, P12 e P13).

**Figura 32:** pH e acidez titulável das amostras de casca/polpa do fruto fresco, café verde e café torrado



\*Acidez titulável – Vol. NaOH 0,1 mol.L-1/100g de amostra

O pH da casca/polpa das amostras no início dos três processos foi praticamente o mesmo, em torno de 4,98. No processo P12, o pH manteve-se sem

diferença significativa até o 4º dia (em torno de 4,90), mas diminuiu nos últimos três dias (atingindo 4,72 no último dia). Nos processos P9 e P13, houve grande queda no pH durante o processo, chegando a 4,16 e 4,27 nos últimos dias, respectivamente.

O pH do café verde se manteve sem diferença significativa no processo P12 (de 6,36 até 6,30 ao final). Nos processos P9 e P13, houve diminuição do pH da semente (café verde), de 6,42 para 6,26, e de 6,36 para 6,21, respectivamente.

Esse efeito da diminuição mais significativa do pH, tanto para a semente quanto para a polpa, para os processos P9 e P13 pode estar relacionado ao processo de lavagem do café antes da fermentação.

Apesar de haver diferença no pH do café verde entre os processos, no café torrado não houve diferenças estatísticas entre o pH do início para o final da fermentação. O pH de todos os cafés reduziram com a torra e esse processo reduziu a diferença entre as amostras.

A acidez da polpa/casca do fruto do café aumentou para todos os processos, variando de:  $59 \pm 4$  a  $151 \pm 5$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P9;  $78 \pm 2$  a  $87 \pm 2$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P12; e  $68 \pm 1$  a  $134 \pm 4$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P13.

No processo P12, a acidez do café verde se manteve sem diferença significativa na maior parte do tempo em relação ao controle ( $82 \pm 2$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g), aumentando no 7º dia para  $89 \pm 3$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g. Os demais processos apresentaram maior aumento de acidez com o passar do tempo, variando de  $80 \pm 6$  até  $144 \pm 4$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P9 e  $77 \pm 3$  até  $102 \pm 4$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P13.

A acidez do café torrado reduziu com o passar do tempo de fermentação para o processo P12, saindo de  $276 \pm 3$  e chegando a  $241 \pm 2$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g. Para os demais processos, a acidez do café torrado aumentou com o tempo de fermentação, variando de  $210 \pm 7$  a  $253 \pm 5$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P9 e de  $220 \pm 6$  a  $242 \pm 6$  ml NaOH 0,1 mol.L-1/100g para o processo P13.

A redução de pH e o aumento da acidez do café verde e casca/polpa do fruto do café do processo P12, foi menor do que para os demais. Essa diferença é relacionada ao fato de que esse café foi fermentado sem ser lavado, o que sugere que molhar o café, ou seja, aumentar a umidade e disponibilidade de água, acelera o processo de fermentação, acelerando a redução de pH e aumentando a acidez na casca/polpa do fruto de café e no grão de café verde cru.

A acidificação do fruto de café durante a fermentação é causada pelo metabolismo de microrganismos, que participam da degradação de pectinas em ácidos orgânicos através da liberação de enzimas do grupo das pectinases. Essa

mudança de pH enfraquece os polissacarídeos presentes na polpa do café, mudando sua textura (FENG et al., 2016). Esse efeito foi observado nos frutos de café após a fermentação, quando uma mudança aparente na textura dos frutos pôde ser notada, principalmente quanto ao “amolecimento” da polpa dos frutos (Figura 18).

## **5.2.5.2 Análises microbiológicas**

### **5.2.5.2.1 Análises microbiológicas tradicionais**

A Figura 33 mostra os resultados da contagem de bactérias aeróbias mesófilas totais, bactérias anaeróbias mesófilas totais, bactérias lácticas, bolores e leveduras para os processos de fermentação P9, P12, P13. Os resultados estão descritos no anexo Tabela A1.

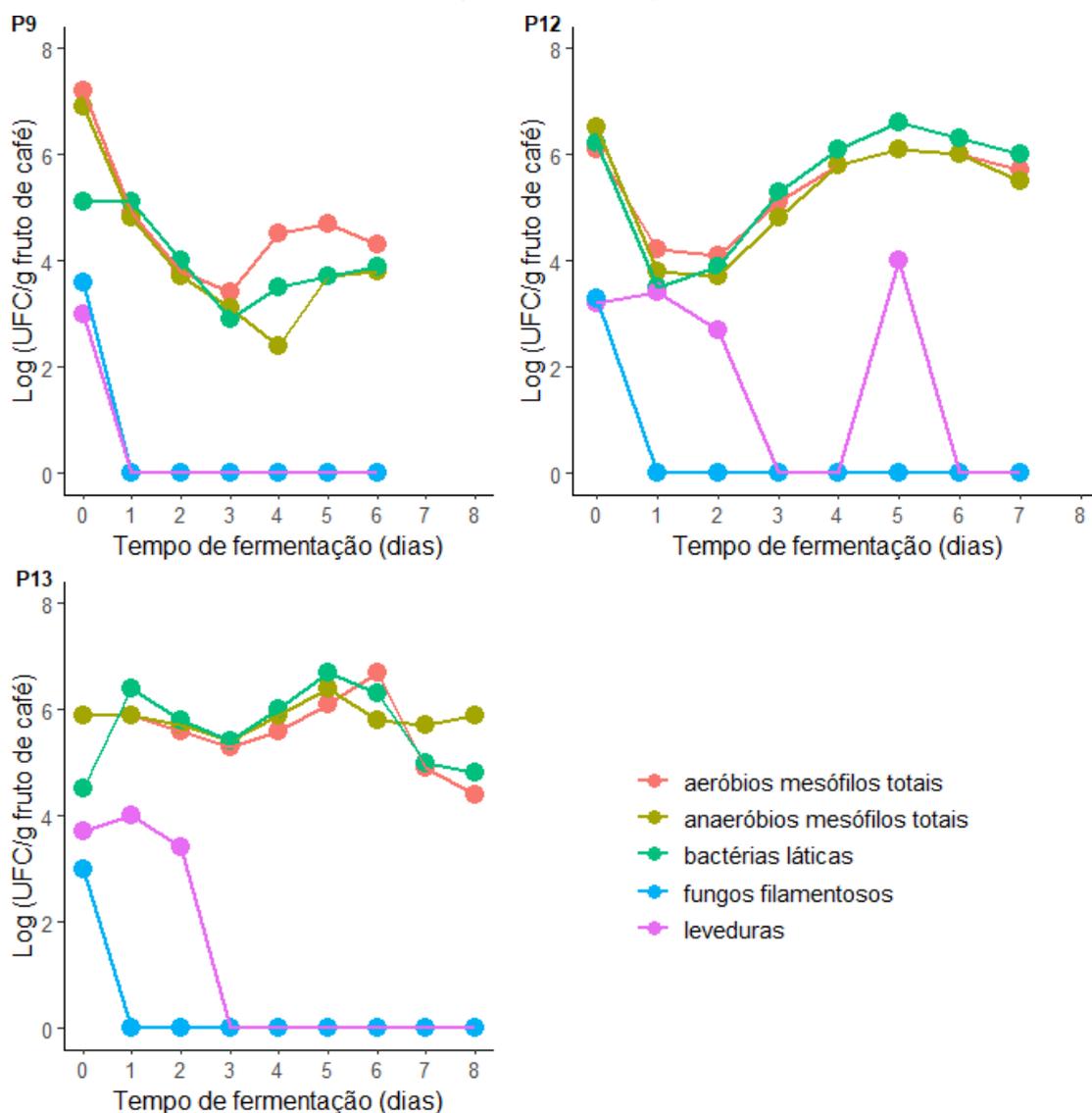
Durante o tempo de fermentação, nos três processos, a contagem das bactérias aeróbias mesófilas totais, anaeróbias mesófilas totais e bactérias lácticas foi muito próxima, variando entre 2,4 a 7,2 log UFC/g, de 3,7 a 6,6 log UFC/g, de 4,4 a 6,7 log UFC/g, nos processos P9, P12 e P13, respectivamente.

A contagem de fungos filamentosos diminuiu rapidamente após o primeiro dia de fermentação para todos os processos, mantendo-se próximo de 1 UFC/g de amostra, provavelmente devido à ausência de oxigênio. A contagem de leveduras reduziu rapidamente também no processo P9, mas levou mais tempo para reduzir nos processos P12 e P13, que tiveram contagens maiores até o 2º dia de fermentação (exceto processo P12 dia 5).

A contagem microbiana tradicional sugere que durante as primeiras 48 horas, leveduras e bactérias têm uma grande contribuição para o processo de fermentação, mas após esse período, os grupos de bactérias predominam e tem maior influência sobre todo o processo.

**Figura 33:** Contagem microbiológica por método tradicional de bactérias aeróbias mesófilas totais, anaeróbias mesófilas totais, bactérias lácticas e bolores e leveduras em frutos de café submetidos aos três processos de acompanhamento fermentação

(P9, P12 e P13)



UFC – Unidade Formadora de Colônia

### 5.2.5.2.2 Identificação genética da comunidade microbiana

Na análise microbiológica por sequenciamento de alto desempenho de genes das regiões 16S (bactérias) e ITS (fungos), um total de 444.452 sequências da região 16S (bactérias) e 320.925 da região ITS (fungos) foram obtidas de todas as amostras de café durante os três processos de fermentação. Em geral, a maior quantidade de sequências da região 16S faz sentido em comparação com a análise

microbiológica tradicional, onde as bactérias foram predominantes sobre os fungos durante os processos.

A Tabela 17 mostra o número de sequências genéticas de bactérias e fungos identificada em cada uma das amostras do fruto de café.

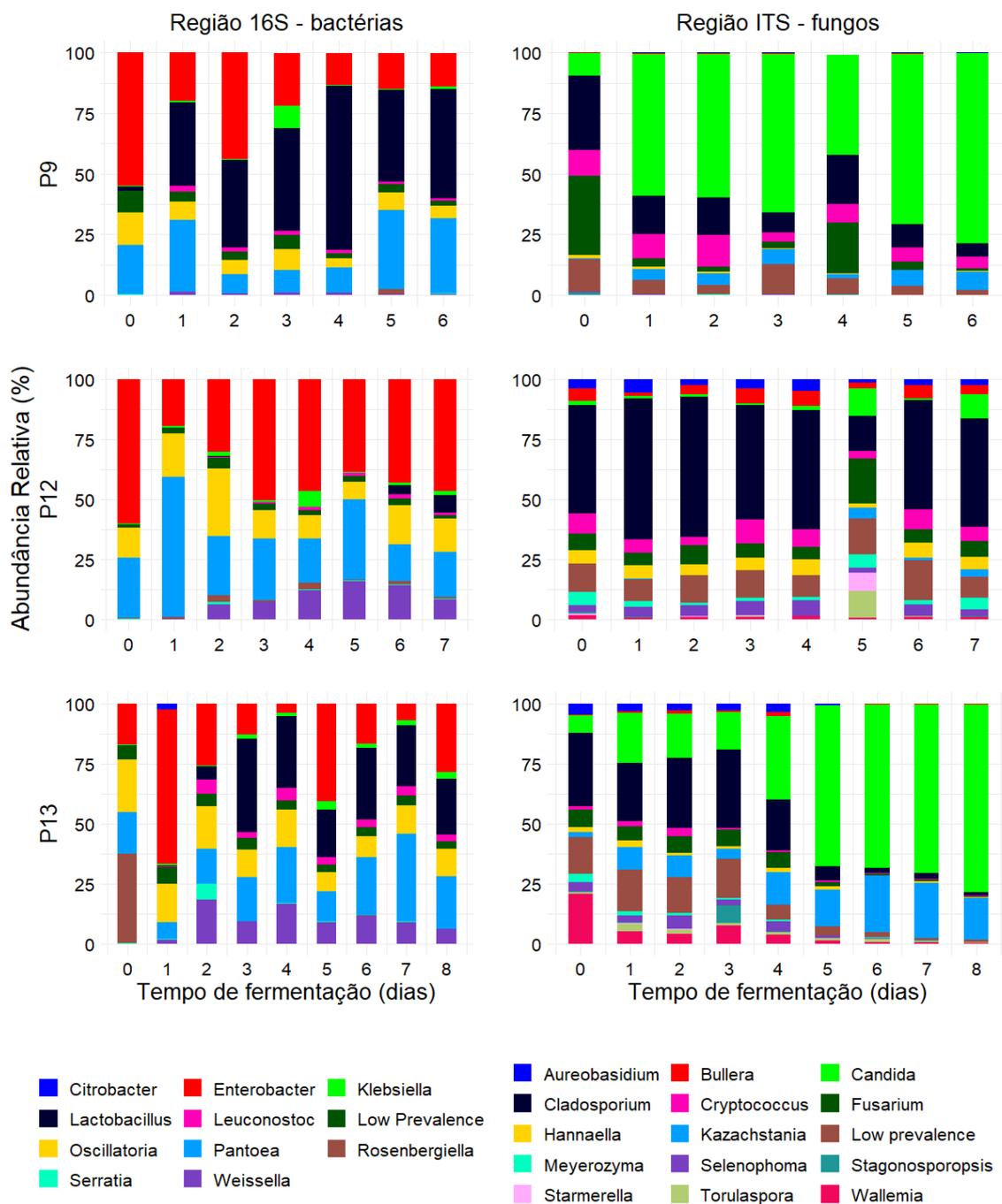
**Tabela 17:** Número de sequências genéticas identificadas nas amostras de fruto de café na análise de identificação genética da comunidade microbiana

Tempo de fermentação (dias)	P9		P12		P13	
	Bactérias	Fungos	Bactérias	Fungos	Bactérias	Fungos
0	17373	52996	21895	1500	16881	1612
1	18913	15344	17334	2250	21537	3652
2	20520	14922	14528	2819	18255	3097
3	17871	16935	18632	3236	19374	15815
4	21826	38665	18253	3916	13169	5630
5	16813	12574	24435	8192	19808	9359
6	19414	23031	15191	3626	15897	26243
7	-	-	21398	5519	18809	25373
8	-	-	-	-	16326	24619
<b>Total</b>	132730	174467	151666	31058	160056	115400

Nos processos de fermentação, foram identificados 151, 131 e 174 gêneros e 403, 290 e 413 espécies na região 16S, para os processos P9, P12 e P13, respectivamente. Na região ITS foram encontrados 74, 81 e 76 gêneros, e 181, 167 e 177 espécies, para os processos P9, P12 e P13, respectivamente.

Apesar de tantos gêneros identificados, poucos deles (10 bactérias e 14 fungos) são responsáveis pelo maior número de sequências. A Figura 34 mostra os resultados da análise de sequenciamento de alto desempenho para os gêneros de bactérias (região 16S) e gêneros de fungos (região ITS). Nesta figura, é mostrada a abundância relativa (%) das sequências de microrganismos que representam 90% do total e com pelo menos um valor maior que 5%, e por isso têm maior influência no processo de fermentação do que os microrganismos com menor prevalência. As quantidades absoluta e relativa das sequências desses gêneros estão descritas nas Tabelas A2, A3 e A4 e nas Tabelas A8, A9 e A10, para bactérias e fungos, respectivamente, em anexo. As espécies de bactérias e fungos correspondentes a 95% das sequências identificadas estão descritos em anexo nas Tabelas A5, A6 e A7 e nas Tabelas A11, A12 e A13, respectivamente.

**Figura 34:** Abundância relativa (%) de sequências de gêneros de bactérias e fungos que foram identificadas durante os processos de fermentação do café



Bactérias (região 16S) e Fungos (região ITS) - sequências que correspondem a 90% do total, e com pelo menos um valor maior que 5%.

A comunidade microbiana inicial (tempo=0) corresponde a comunidade encontrada no café fresco, colhido e escolhido manualmente (para retirar o café verde) para a amostra P12 e logo após o processo de lavagem mecânica (para retirada dos grãos que boiam por densidade) para as amostras P9 e P13. Para a região 16S, as sequências encontradas no tempo=0 foram predominantemente *Enterobacter* sp.,

*Pantoea* sp. e *Oscillatoria* sp. para os 3 processos e de *Rosenbergiella* sp. para P13 (Figuras 34 e 35).

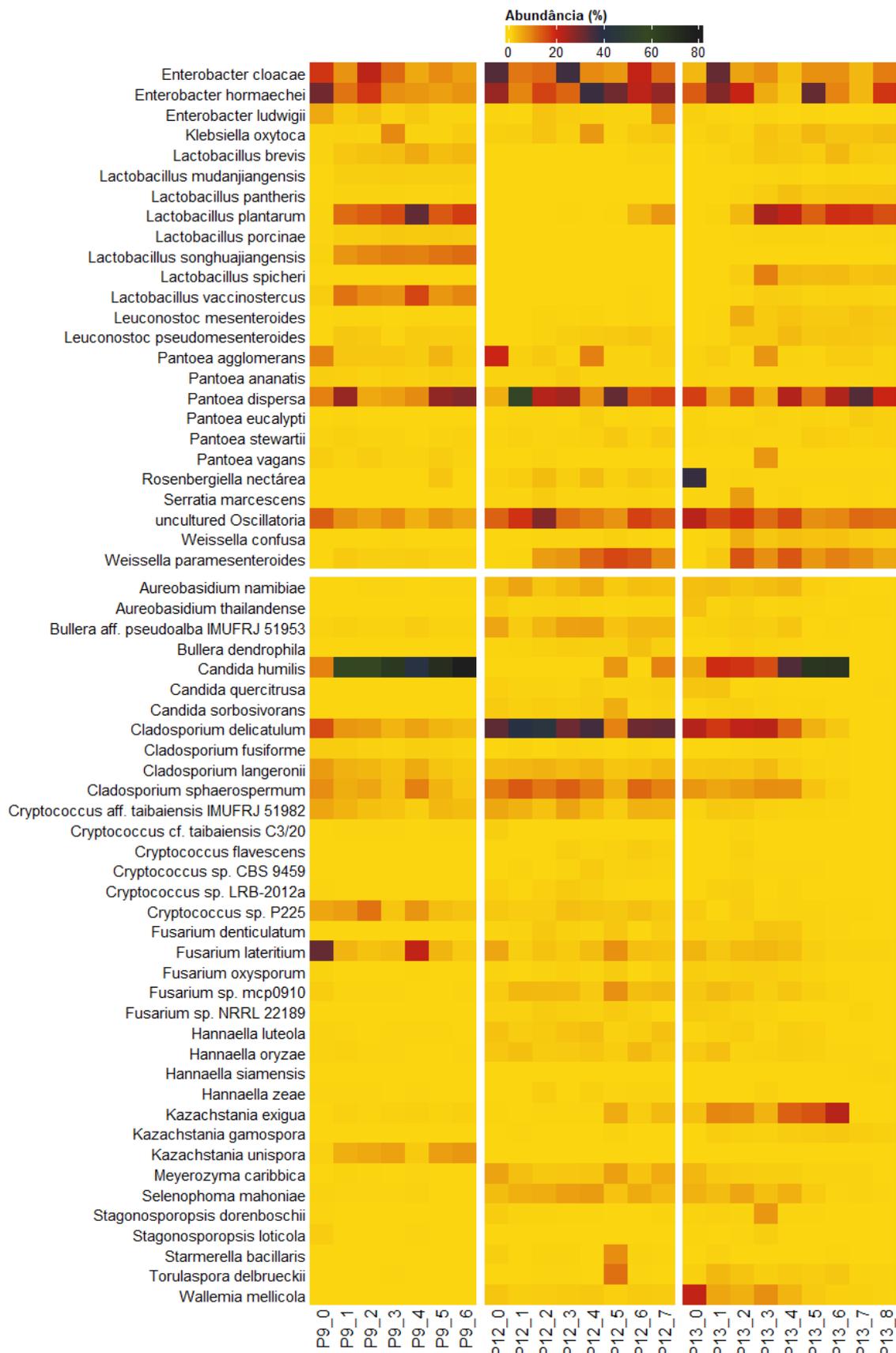
Durante o processo de fermentação, bactérias da família *Enterobacteriaceae*, que incluem *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Serratia* sp., *Pantoea* sp. e *Rosenbergiella* sp., correspondem aos gêneros mais encontrados em todas as amostras e processos. Esses grupos de bactérias são encontrados naturalmente na superfície dos frutos de café (BRUYN et al., 2017; VAUGHAN; MITCHELL; MCSPADDEN GARDENER, 2015), e por isso, já foram relatados anteriormente em grandes quantidades em outros processos de fermentação (ELHALIS; COX; ZHAO, 2020; FENG et al., 2016; JUNQUEIRA et al., 2019), incluindo o método de fermentação anaeróbia induzida (PEREIRA et al., 2022).

Na região 16S, *Enterobacter* sp. foi o gênero predominante no processo P12 e teve alta prevalência nos outros dois processos (Figura 34). Foram identificadas 10 espécies desse gênero (Anexo - Tabela A15), mas apenas 3 (*E. cloacae*, *E. hormaechei* e *E. ludwigii*) foram responsáveis pela maior parte das sequências (Figura 25). Esse microrganismo também foi a bactéria com maior prevalência em cafés fermentados por fermentação anaeróbia induzida em processo descrito por Pereira et al. (2022).

O gênero *Pantoea* sp. esteve presente em todas as amostras com a abundância máxima de 32,7, 58,3 e 36,5% nas amostras P9\_5, P12\_1 e P13\_7, respectivamente. Algumas espécies do gênero *Pantoea* sp. têm sido descritas como bactérias endofíticas do fruto de café (MIGUEL et al., 2013), o que justifica o fato deste microrganismo ter sido comumente encontrado em diferentes tipos de fermentação do café em grandes quantidades (FENG et al., 2016; MARTINS et al., 2020; PEREIRA et al., 2022). *P. dispersa* foi a espécie encontrada com maior quantidade nos três processos (Figura 35) e já foi descrita por outros autores (EVANGELISTA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2018).

Com o tempo de fermentação, após a exsudação dos frutos de café, é descrita a sucessão de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e outros microrganismos como fungos por bactérias ácido-láticas (LAB) (BRUYN et al., 2017; ZHANG et al., 2019b). Essa sucessão foi observada nos 3 processos, com maior intensidade em P9 e P13 com redução mais rápida da população de *Enterobacteriaceae* e aumento da quantidade de sequências de *Lactobacillus* sp. e *Leuconostoc* sp., que foram os gêneros mais predominantes do grupo LAB (Figura 34).

**Figura 35:** Mapa de calor das espécies bacterianas e fúngicas mais predominantes e sua abundância (%) nos três processos de fermentação do café



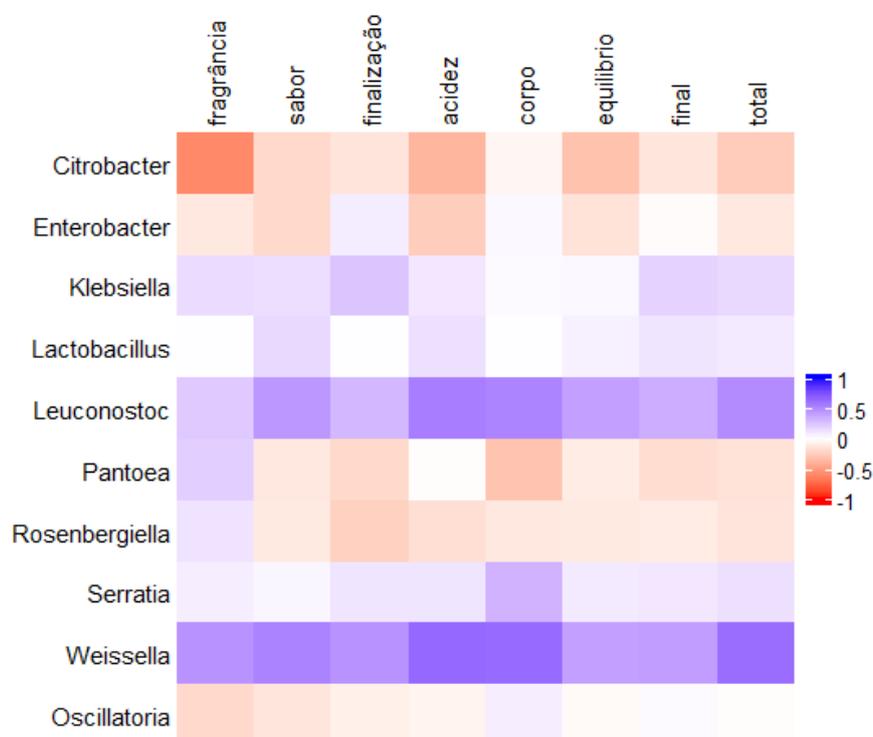
No processo P12, *Lactobacillus* sp. aparece em quantidades relevantes (3,9 e 7,2%) no 6º e 7º dias de fermentação. Nos processos P9 e P13, apareceu em quantidades elevadas mais cedo, no 1º e 2º dias, respectivamente, com mais de 5% de abundância, chegando a 67,6% (P9\_4). *Lactobacillus* sp. é uma bactéria do grupo ácido láctico (LAB) descrita por estar presente nos frutos de café e aumentar sua abundância durante os processos de fermentação (POTHAKOS et al., 2020). Uma razão importante para essa grande abundância é que o processo de fermentação prolongado pode selecionar microrganismos mais tolerantes ao pH mais baixo, como as bactérias lácticas (LAB) (BRUYN et al., 2017). A prevalência do gênero *Lactobacillus* sp teve relação direta com o pH do café com maior prevalência no processo P9, que teve o pH mais baixo, tanto na casca/polpa quanto na semente, seguido pelo processo P13, que reduziu bastante seu pH durante tempo de fermentação. A maior quantidade de LAB na fermentação anaeróbia induzida é responsável por reduzir o tempo de fermentação (PEREIRA et al., 2022), o que também foi observado neste estudo, pois P9 e P13, que tiveram as maiores populações de LAB, tiveram o melhor perfil sensorial em menor tempo do que o processo P12, que teve menor abundância de LAB.

Durante a fermentação, as LAB consomem: os carboidratos presentes na polpa do café como glicose e frutose; outras moléculas resultantes da quebra da pectina como arabinose e ácido galacturônico; aminoácidos; ácidos graxos livres; ácidos como ácido cítrico, entre outros; e produz diferentes metabólitos como ácido láctico, e compostos orgânicos voláteis (VOCs) como 2,3 butanodiol, ácido acético, etanol e outros ésteres (PEREIRA; MOREIRA, 2020). Recentemente, muitos autores estão estudando o uso de LAB como culturas iniciadoras para processos de fermentação controlada de café e, com isso, estão produzindo bebidas com perfis sensoriais diferentes das produzidas utilizando leveduras como culturas iniciadoras (JUNQUEIRA et al., 2022; PEREIRA; MOREIRA, 2020; RIBEIRO et al., 2020; WANG et al., 2018, 2020).

Neste estudo, dois gêneros de LAB foram positivamente correlacionados (índice > 0,5) aos atributos sensoriais pela correlação de Pearson: *Leuconostoc* sp. tiveram respectivamente 0,56 e 0,53 de correlação positiva com acidez e corpo da bebida; e *Weissella* sp. apresentaram 0,54, 0,64, 0,65 e 0,63 de correlação positiva com sabor, acidez, corpo e pontuação total da bebida de café, respectivamente (Figura 36). Para os três processos, o tempo de fermentação com maior população de LAB foi o dia com melhor avaliação para a análise sensorial (Tabela 2, Figuras 20 e 34) o que sugere que os metabólitos produzidos por este grupo de microrganismo influenciam direta e positivamente o perfil sensorial da bebida. Esses resultados

ênfataz o potencial do grupo LAB, e especialmente esses gêneros, para serem utilizados como culturas *starters* e para criar bebidas com perfis sensoriais agradáveis.

**Figura 36:** Índice de correlação de Pearson entre gêneros de bactérias identificadas na análise genética da comunidade microbiana e as notas da avaliação sensorial



Os gêneros das bactérias apresentadas no mapa de calor, correspondem a 90% do total de seqüências identificadas (com pelo menos um valor maior que 5%).

*Leuconostoc* sp. é conhecido por ser o gênero de bactéria dominante na fermentação do café por via úmida em todo o mundo (JUNQUEIRA et al., 2019; MARTINS et al., 2020; POTHAKOS et al., 2020). Neste estudo, *Leuconostoc* sp. esteve presente em todas as amostras, mas não foi o gênero prevalente com o máximo de 5,1% de abundância relativa em uma amostra (P13\_4). Isso pode acontecer porque, diferentemente do processamento via úmida, no processo de fermentação utilizado neste estudo, o fruto do café foi fermentado inteiro, o que pode impactar a microbiota. Além disso, neste caso, o processo de fermentação foi realizado em ambiente fechado, que pode influenciar também no desenvolvimento de microrganismos.

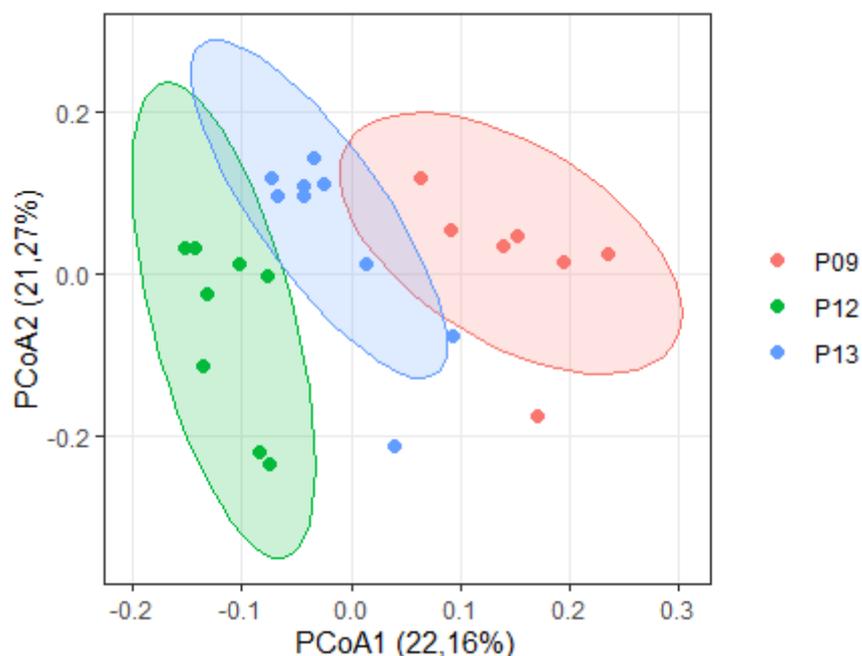
*Weissella* sp. é uma LAB heterofermentativa, capaz de consumir açúcares e produzir ácido lático e acético como principais produtos (FUSCO et al., 2015). A *Weissella* sp. apresentou maior quantidade nas amostras P12 e P13, chegando a 16% no P12\_5 e 18,4% no P13\_2, mas com valores menores que 1,3% para todas as

amostras P9. Esta abundância em P12 e P13 sugere que esta bactéria é mais abundante na região da Fazenda 2 do que na região da Fazenda 1. As espécies predominantes encontradas nas amostras foram *W. paramesenteroides* e *W. confusa* (Figura 35), sendo a primeira, e mais abundante, mais comumente encontrada no café (MARTINEZ et al., 2021b; MARTINS et al., 2020). Este gênero de bactéria é amplamente distribuído no ambiente, estando presente na água, plantas e frutos (FUSCO et al., 2015). Ela já foi previamente identificada em fermentação de café, com maiores quantidades quando foram utilizados os frutos inteiros (EVANGELISTA et al., 2015; MARTINEZ et al., 2021b; MARTINS et al., 2020; PEREIRA et al., 2022).

O resultado da correlação de Pearson ( $p$ -valor  $< 0,5$ ) entre todas as bactérias identificadas na análise de identificação genética da comunidade microbiana, que apresentaram pelo menos uma correlação (positiva ou negativa) maior que 0,5 com pelo menos um atributo avaliado na análise sensorial, estão descritos em anexo na Tabela A18.

Para as sequências de bactérias, a análise de coordenadas principais (PCoA - Figura 37) separou os três processos de fermentação. É possível perceber que o processo P13 está entre as amostras de P12 (que é o mesmo café) e P9, que além de ser um café diferente e de uma fazenda diferente passaram por lavagem antes da fermentação, o que pode ter induzido a presença de uma microbiota semelhante. A dinâmica da comunidade microbiana dos processos P9 e P13 é então, diretamente relacionada ao processo de lavagem do café antes da fermentação. O aumento da disponibilidade de água (umidade e  $A_w$ ), e uma possível adição de microrganismos presentes na água, favoreceu o rápido desenvolvimento de microrganismos e a rápida queda no valor do pH.

**Figura 37:** Análise de coordenadas principais (PCoA) com base nas diferenças de Bray-Cuttis da comunidade bacteriana (gêneros) em amostras de fermentação anaeróbia induzida do café



A elipse representa o processo de fermentação com 95% de confiança. O processo P09 foi conduzido na Fazenda 1 e os processos P12 e P13 foram conduzidos na Fazenda 2)

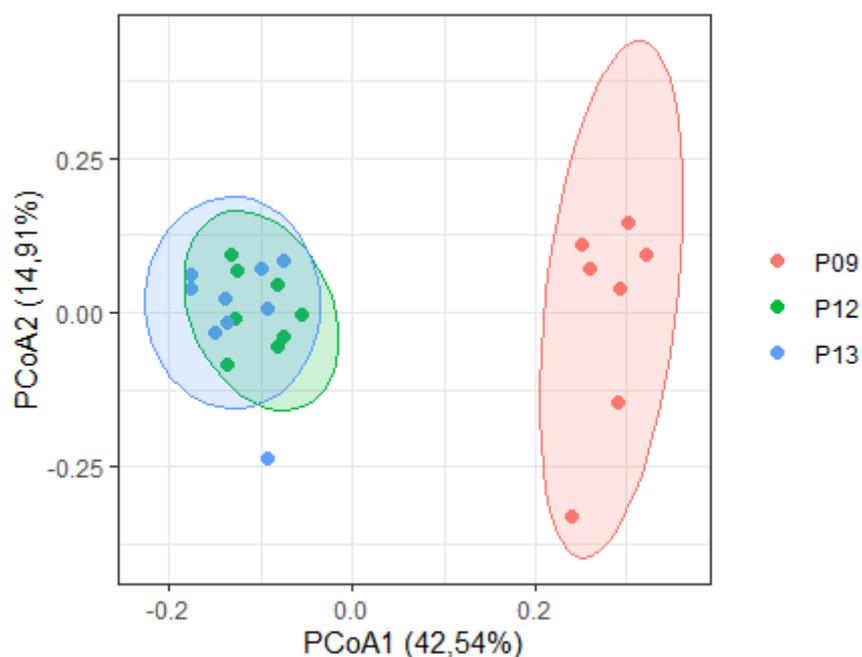
No início da fermentação (dia=0), na região ITS, para os três processos, os fungos filamentosos estavam presentes em maior quantidade que as leveduras, com 65,5%, 58,6% e 40,6% para P9, P12 e P13 respectivamente. Nas amostras do P12, no início do processo, os fungos filamentosos predominantes foram *Cladosporium* sp. (45,3%). O número de fungos filamentosos aumentou nos primeiros 2 dias de processos, chegando a 70,9% e reduzindo nos dias seguintes, terminando o processo ainda como o grupo dominante entre as sequências identificadas na região ITS (56,7% em dia=7). Em P9 e P13 uma diferente composição de comunidade foi observada, com predominância de *Fusarium* sp. (32,5%) e *Cladosporium* sp. (30,5%) no P9\_0 (Controle), e *Cladosporium* sp. (30,8%) e *Wallemia* sp. (20,8%) em P13\_0 (Controle), mas com grande redução deste grupo e aumento da quantidade de levedura durante todo o tempo de fermentação.

Ao final da fermentação, as leveduras corresponderam a 90,8% e 96,9% das sequências para P9\_6 e P13\_8. Nestes dois processos, a levedura predominante foi *Candida* sp. correspondendo a cerca de 78% do total de sequências para ambos os processos (Figura 34).

Onze espécies de *Candida* sp. foram identificadas (Anexo – Tabela A17), mas *C. humilis*, *C. quercitrusa* e *C. sorbosivorans* foram as espécies com mais sequências (mais de 5% em pelo menos uma amostra) (Figura 35). Em todos os três processos, *C. humilis* foi predominante, atingindo 78,2%, 8,9%, e 68% em P9\_6, P12\_7 e P13\_6, respectivamente (Figura 35). Embora o gênero *C. humilis* não tenha sido frequentemente identificado durante a fermentação do café (ZHANG et al., 2019b), diferentes espécies desse gênero são encontradas em grande quantidade em diferentes tipos de processamento pós-colheita do café (PEREIRA et al., 2019). Estudos do metabolismo de *Candida* sp. isolado do café mostrou que possui atividade pectinolítica e por isso participa da degradação da mucilagem durante a fermentação (PEREIRA et al., 2017). Devido à liberação dessas enzimas, diferentes espécies de *Candida* sp. têm sido estudadas para serem utilizadas como culturas iniciadoras na fermentação do café (BRESSANI et al., 2018; ELHALIS et al., 2021) , inclusive no processo de fermentação anaeróbia induzida (BRESSANI et al., 2021a, 2021b), com resultados promissores no perfil sensorial da bebida. Apesar de esta levedura ter sido relacionada à atividade pectinolítica em outros estudos, neste estudo, *Candida* sp. não apresentou correlação relevante com a atividade da poligalacturonase (Figura 49).

Apesar dos processos, P12 e P13 parecerem diferentes em termos de comunidade fúngica, e P13 parecer semelhante ao P9 (Figura 34), na análise de coordenadas principais (PCoA – Figura 38), os processos P12 e P13 ficaram agrupados, enquanto o processo P9 foi significativamente separado das demais amostras. No caso dos fungos, para o PCoA (Figura 38), foi possível perceber que o processo de lavagem não teve grande influência na composição da comunidade e o *terroir* dos diferentes cafés e diferentes fazendas tiveram grande influência. Um fator que pode ser responsável pela diferenciação na comunidade de fungos é a altitude. A altitude foi a principal responsável pela separação da comunidade de fungos no PCoA da microbiota da fermentação anaeróbia induzida realizada por Martinez et al. (2021).

**Figura 38:** Análise de coordenadas principais (PCoA) com base nas diferenças de Bray-Cuttis da comunidade de fungos (gêneros) em amostras de fermentação anaeróbia induzida do café



A elipse representa o processo de fermentação com 95% de confiança. O processo P09 foi conduzido na Fazenda 1 e os processos P12 e P13 foram conduzidos na Fazenda 2.

Na fermentação por via-úmida tradicional, a comunidade de fungos filamentosos geralmente é muito menor que as leveduras devido ao crescimento mais rápido e aos efeitos de inibição causados pelas leveduras, o que é considerado positivo, pois alguns fungos filamentosos podem produzir micotoxinas (FENG et al., 2016). Neste estudo, a rápida redução dos valores de pH pela presença de leveduras, as maiores quantidades de LAB, e conseqüentemente ácido láctico, nos processos P9 e P13, indicam que esses dois processos podem ser menos suscetíveis ao desenvolvimento de patógenos e produção de micotoxinas e mais seguro para o consumo (FENG et al., 2016; JUNQUEIRA et al., 2019; PEREIRA; MOREIRA, 2020). Mas no caso do P12, que manteve o pH mais alto durante todo o tempo de fermentação (pH=4,72 ao final do processo), novos estudos devem ser feitos para confirmar a segurança do processo, para garantir que o ambiente anaeróbio, que os metabólitos produzidos e a microbiota selvagem presente, serão suficientes para evitar a contaminação do café por micotoxinas.

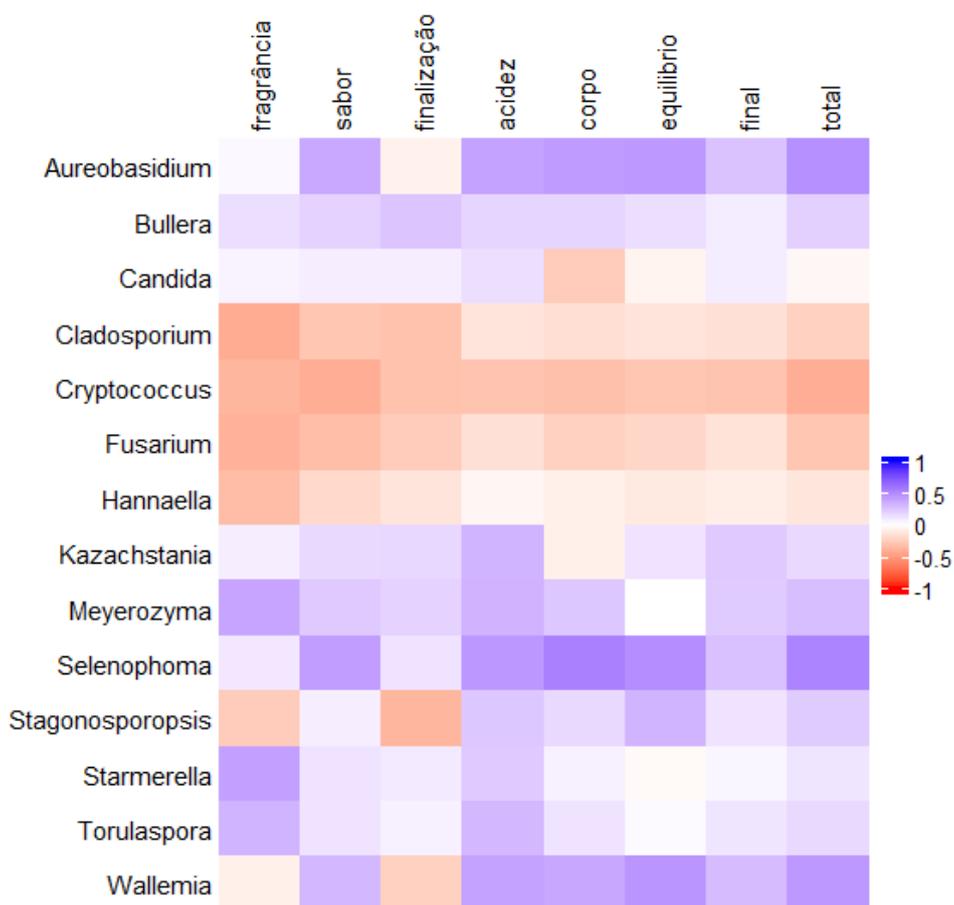
Embora a *Pichia sp.* tenha sido uma levedura frequentemente encontrada em grandes quantidades no café, e até mesmo tenha sido a população dominante de leveduras durante a fermentação de diferentes processamentos de café (BRUYN et al., 2017; FENG et al., 2016; JUNQUEIRA et al., 2019), neste estudo, apenas 3

espécies foram identificadas com baixo número de sequências, sendo o máximo de 337 sequências na amostra P12\_7, correspondendo a 3,16% do total para esta amostra. As espécies encontradas foram: *Pichia kluyveri*, uma das espécies mais identificadas na fermentação do café (BRUYN et al., 2017; FENG et al., 2016); *P. kudriavzevii*, com 13 seqüências encontradas na amostra P9\_5, foram detectados pela primeira vez na fermentação do café por Elhalis; Cox; Zhao (2020) e descrito como tendo potencial para ser utilizado como cultura iniciadora devido à sua capacidade de produzir compostos de sabor interessantes em outros produtos fermentados; e *Pichia* sp. TCJ3, nunca descrito no café. A espécie *P. fermentans*, frequentemente encontrada em café e outros produtos fermentados (FENG et al., 2016), não foi identificada neste estudo.

*Saccharomyces* sp. é o gênero de levedura mais utilizada para fermentar diversos produtos e é comumente identificada com alta população na fermentação do café, sendo inclusive utilizada como cultura iniciadora em processos fermentativos controlados (PEREIRA et al., 2014, 2022). Neste estudo, *Saccharomyces cerevisiae* foi a única espécie identificada e esteve presente em apenas uma amostra (P12\_5) e em pequena quantidade (17 sequências – 0,05% do total), mostrando que teve uma influência insignificante nos processos.

O único gênero de fungos encontrados em maior prevalência na fermentação de café (Figura 34) que apresentou correlação significativa (acima de 0,5 no índice de Pearson – p-valor <0,05) em relação aos atributos avaliados na análise sensorial foi o *Selenophoma* sp. (Figura 39), que teve correlação de 0,55 e 0,53 com o corpo e a avaliação total da bebida. Outros gêneros identificados em menor frequência apresentaram correlação significativa (>0.05 ou <0.05) e estão descritos em anexo na tabela A19, mas devido à baixa prevalência provavelmente não apresentaram grande impacto na qualidade do café fermentado.

**Figura 39:** Índice de correlação de Pearson entre gêneros de fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e as notas da avaliação sensorial da bebida do café



Os microrganismos apresentados no mapa de calor tiveram mais de 0,5 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) em pelo menos uma avaliação sensorial.

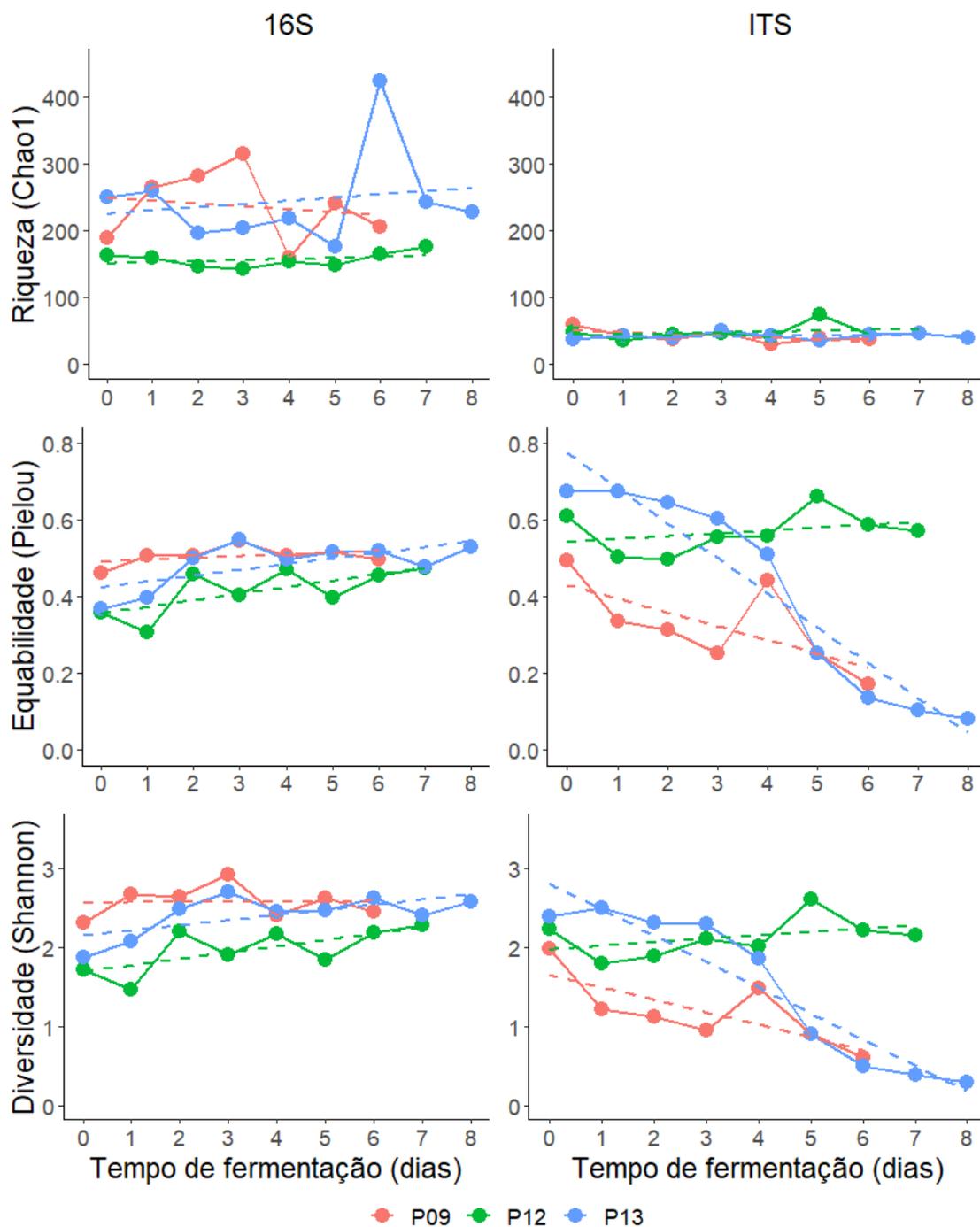
Embora os processos de fermentação tenham sido realizados em 2 fazendas de diferentes regiões brasileiras, a maioria das bactérias, fungos e leveduras predominantes foram comuns a todos os processos. As bactérias específicas da região da fazenda 1 (com mais de 0,01% de prevalência) foram *Arcobacter* sp., *Lelliottia* sp. e *Saccharibacillus* sp.; e os fungos específicos dessa região (com mais de 0,01% de prevalência) foram *Acrocalymma* sp., *Fellomyces* sp., *Leptospora* sp., *Phialophora* sp., *Pseudocercospora* sp., *Simplicillium* sp., *Sporidiobolus* sp., *Tetracladium* sp., *Trichosporon* sp. e *Zymoseptoria* sp.. As bactéria específicas da região da fazenda 2 (com mais de 0,01% de prevalência) foram *Fructobacillus* sp., *Gluconobacter* sp., *Oceanobacillus* sp. e *Zymobacter* sp.; e fungos específicos da região (com mais de 0,01% de prevalência) foram *Acrostalagmus* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Bartalinia* sp., *Ceratobasidium* sp., *Clonostachys* sp., *Curvularia* sp.,

*Elsinoe* sp., *Geosmithia* sp., *Hanseniaspora* sp., *Kurtzmaniella* sp., *Microdochium* sp., *Mucor* sp., *Myrmecridium* sp., *Neopestalotiopsis* sp., *Papiliotrema* sp., *Paraconiothyrium* sp., *Phialemoniopsis* sp., *Pleospora* sp., *Robillarda* sp., *Saccharomyces* sp., *Sarocladium* sp., *Spencermartinsia* sp., *Wallemia* sp., *Xeromyces* sp. e *Yamadazyma* sp.. Em ambas as regiões, outros microrganismos apareceram apenas em determinada fazenda, mas com uma quantidade baixa de sequências identificadas (inferior a 0,1%), e estão descritas em material complementar Tabelas A14 e A16. Mesmo presente em pequenas quantidades (exceto *Wallemia* sp.), a microbiota específica de cada região pode ser responsável pelo desenvolvimento de sabores que correspondem ao *terroir* de cada fazenda/região (JUNQUEIRA et al., 2019).

A maioria das espécies predominantes encontradas nas amostras foram previamente identificadas em frutos de café e/ou processos de fermentação de café (BRUYN et al., 2017; EVANGELISTA et al., 2014b, 2015; FENG et al., 2016; MARTINEZ et al., 2019, 2021b; MARTINS et al., 2020; MIGUEL et al., 2013; NASANIT; SATAYAWUT, 2015; O'BYRNE; GAMBASICA; FORERO, 2021; PAGNONCELLI et al., 2003; PEREIRA et al., 2015a; PEREIRA, 2018; SILVA et al., 2000; VEGA et al., 2005; VELOSO et al., 2020; VILELA et al., 2010; ZHANG et al., 2019b). Mas, pela primeira vez, 31 espécies foram descritas em café: *Lactobacillus pantheris*, *Lactobacillus songhuajiangensis*, *Lactobacillus porcinae*, *Lactobacillus mudanjiangensis*, *Oscillatoria* inculto, *Pantoea eucalypti*, *Pantoea stewartii*, *Rosenbergiella nectárea*, *Aureobasidium namibiae*, *Aureobasidium tailandês*, *Bullera* aff *pseudoalba* IMUFRJ 51953, *Bullera dendrophila*, *Candida sorbosivorans*, *Cladosporium langeronii*, *Cladosporium fusiforme*, *Cryptococcus* aff. *taibaiensis* IMUFRJ 51982, *Cryptococcus* sp. P225, *Cryptococcus* cf. *taibaiensis* C3/20, *Cryptococcus* sp. LRB-2012<sup>a</sup>, *Cryptococcus* sp. CBS 9459, *Fusarium* sp. mcp0910, *Fusarium denticulatum*, *Fusarium* sp. NRRL 22189, *Fusarium oxysporum*, *Hannaella oryzae*, *Cazaquistânia unispora*, *Pichia* sp. TCJ3, *Selenofoma mahoniae*, *Stagonosporopsis dorenboschii*, *Stagonosporopsis loticola*, *Wallemia mellica*.

A Figura 40 mostra a análise estatística de riqueza (índice de Chao1), equabilidade (índice de Pielou) e diversidade (índice de Shannon) das espécies identificadas pelo sequenciamento das regiões 16S (bactérias) e ITS (fungos).

**Figura 40:** Riqueza (índice Chao1), Equabilidade (índice de Pielou) e Diversidade (índice de Shannon) de seqüências de espécies de bactérias e fungos de análise genética da comunidade microbiana



Para os três processos, apenas o processo P9 na região 16S teve uma leve tendência de aumentar a riqueza ao longo do tempo, as demais amostras oscilaram e não apresentaram nenhuma tendência durante o tempo de fermentação. Mas comparando os processos entre si, a riqueza da região 16S do processo P12 (média  $156,4 \pm 11,2$ ) é significativamente menor do que a dos processos P9 (média

236,2 ± 55,0) e P13 (média 244,3 ± 72,9). A riqueza Chao1 é um índice relacionado ao número de espécies diferentes presentes na amostra, portanto, quanto maior o resultado, maior número de espécies foram identificadas (KIM et al., 2017). Na região ITS, não há diferença significativa entre a riqueza dos três processos. Em todos os processos, a riqueza da região 16S é pelo menos duas vezes maior que a região ITS.

A riqueza (índice Chao1) encontrada neste estudo é muito menor do que a riqueza encontrada no café fermentado por via úmida na Colômbia (JUNQUEIRA et al., 2019) para bactérias, com índice de 1240 para o tempo inicial e atingindo 1493 em 48 horas de fermentação. A riqueza de fungos (índice Chao1) encontrada no mesmo estudo também foi maior, com 127 no tempo 0. Por outro lado, o índice de Shannon, que representa a diversidade, neste processo colombiano foi menor para bactérias (valor máximo de 1,82 no tempo inicial) e para fungos (valor máximo de 1,15) do que o encontrado neste estudo (Figura 40). A riqueza bacteriana e fúngica de um processo pode ser influenciada pelo tipo e condições de fermentação (como temperatura, tempo), características do fruto, pela região e altitude onde o processo é realizado (BRIOSCHI JUNIOR et al., 2021; MARTINEZ et al., 2021b; O'BYRNE; GAMBASICA; FORERO, 2021).

Para a região 16S, a equabilidade aumentou para os três processos fermentativos, o que significa que com o tempo, a distribuição individual entre as espécies se torna mais uniforme (PIELOU, 1966). Na região ITS, a equabilidade do processo P12 não teve uma mudança significativa durante o tempo de fermentação, mas diminuiu consideravelmente com o tempo nos processos P9 e P13. A redução no índice de equabilidade indicou que ao final da fermentação, poucas espécies são responsáveis pela maioria dos indivíduos (PIELOU, 1966), o que de fato pode ser observado nestes processos na Figura 34.

A diversidade (índice de Shannon) na região 16S apresentou um ligeiro aumento para o processo P12 e um aumento significativo para os demais processos (P9 e P13). Na região ITS, houve um ligeiro aumento também no P12, mas uma diminuição considerável nos processos P9 e P13, terminando o processo com a diversidade 3 vezes menor do que no início da fermentação. O índice de diversidade de Shannon é diretamente dependente da riqueza da amostra e do índice de equabilidade (KIM et al., 2017), portanto, como a riqueza foi quase constante, o resultado da diversidade teve a mesma tendência do índice de equabilidade.

A diversidade bacteriana na fermentação do café em geral tende a ser menor em altitudes mais elevadas (MARTINEZ et al., 2021b). Este efeito de altitude também foi observado neste estudo, já que P12 e P13, que foram realizados em uma fazenda com altitude mais elevada (1150m), apresentou diversidade bacteriana menor

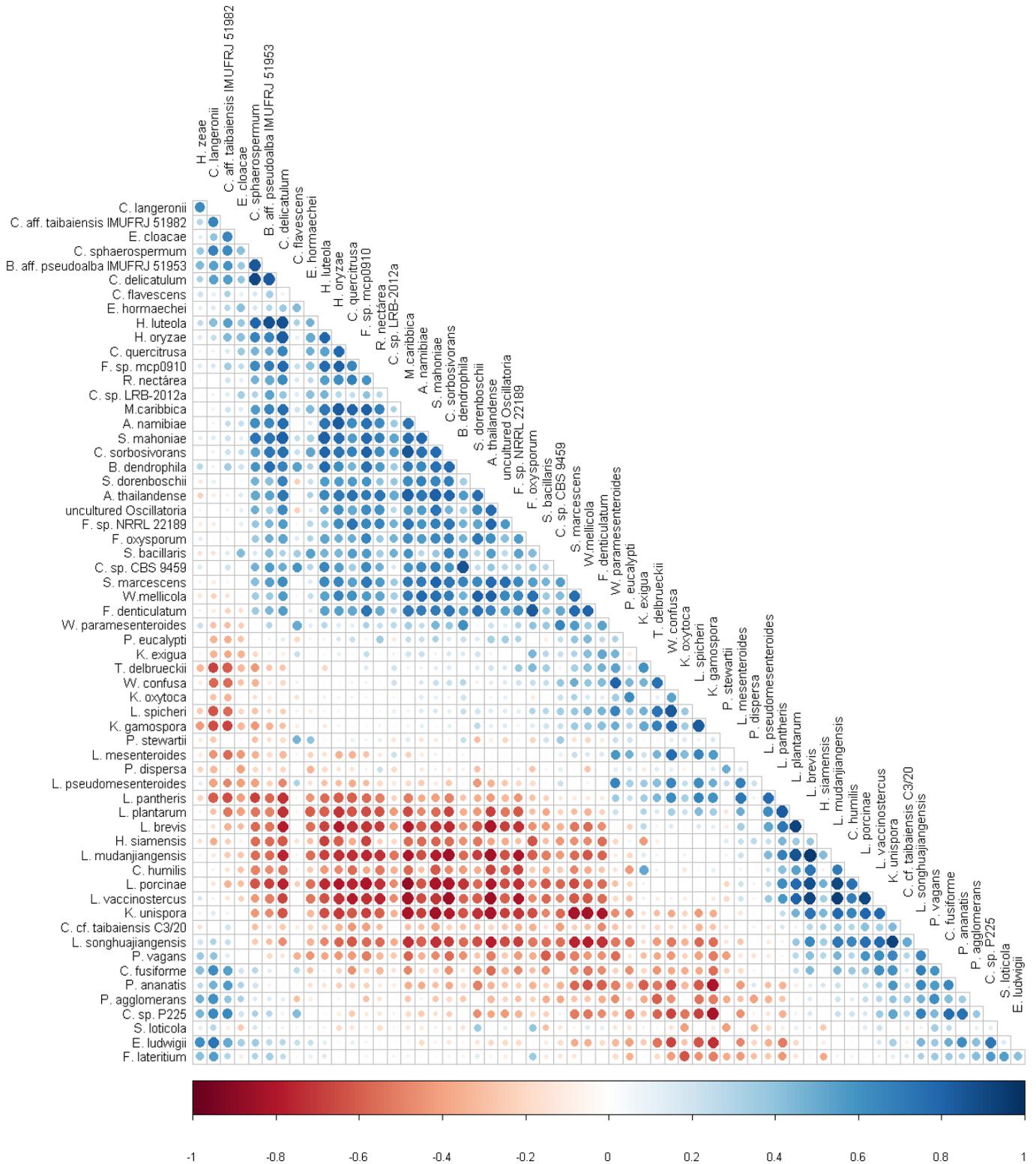
que o P9, realizado em uma fazenda de menor altitude (625m).

A correlação de Spearman (Figura 41) mostra a co-ocorrência e co-exclusão de microrganismos durante o processo de fermentação. Essa estatística permite a melhor observação da sucessão microbiana durante a fermentação. A maior interação de co-exclusão ( $>0,7$ ) foi caracterizada por LAB, todas do gênero *Lactobacillus* sp. (*L. brevis*, *L. mudanjiangensis*, *L. pantheris*, *L. plantarum*, *L. porcinæ*, *L. songhuajiangensis* e *L. vaccinostercus*), e espécies da família Enterobacteriaceae (*R. nectarea* e *S. marcescens*), fungos filamentosos (*A. thailandense*, *F. denticulatum*, *F. sp. mcp0910*, *F. sp. NRRL 22189*, *S. mahoniae* e *S. dorenboschii*) e leveduras (*B. dendrophila*, *C. quercitrusa*, *C. sorbosivorans*, *C. delicatulum*, *H. luteola*, *H. oryzae*, *K. gamospora*, *K. unispora*, *M. caribbica* e *W. mellicola*). Os microrganismos que tiveram maior co-ocorrência (coeficientes  $>0,7$ ) e suas interações estão representadas como uma rede microbiana na Figura 42. Três grupos de interações foram formados: um maior com a co-ocorrência de fungos, leveduras, enterobactérias e cianobactéria; o segundo grupo com bactérias lácticas e leveduras; e um grupo menor com enterobactérias e leveduras.

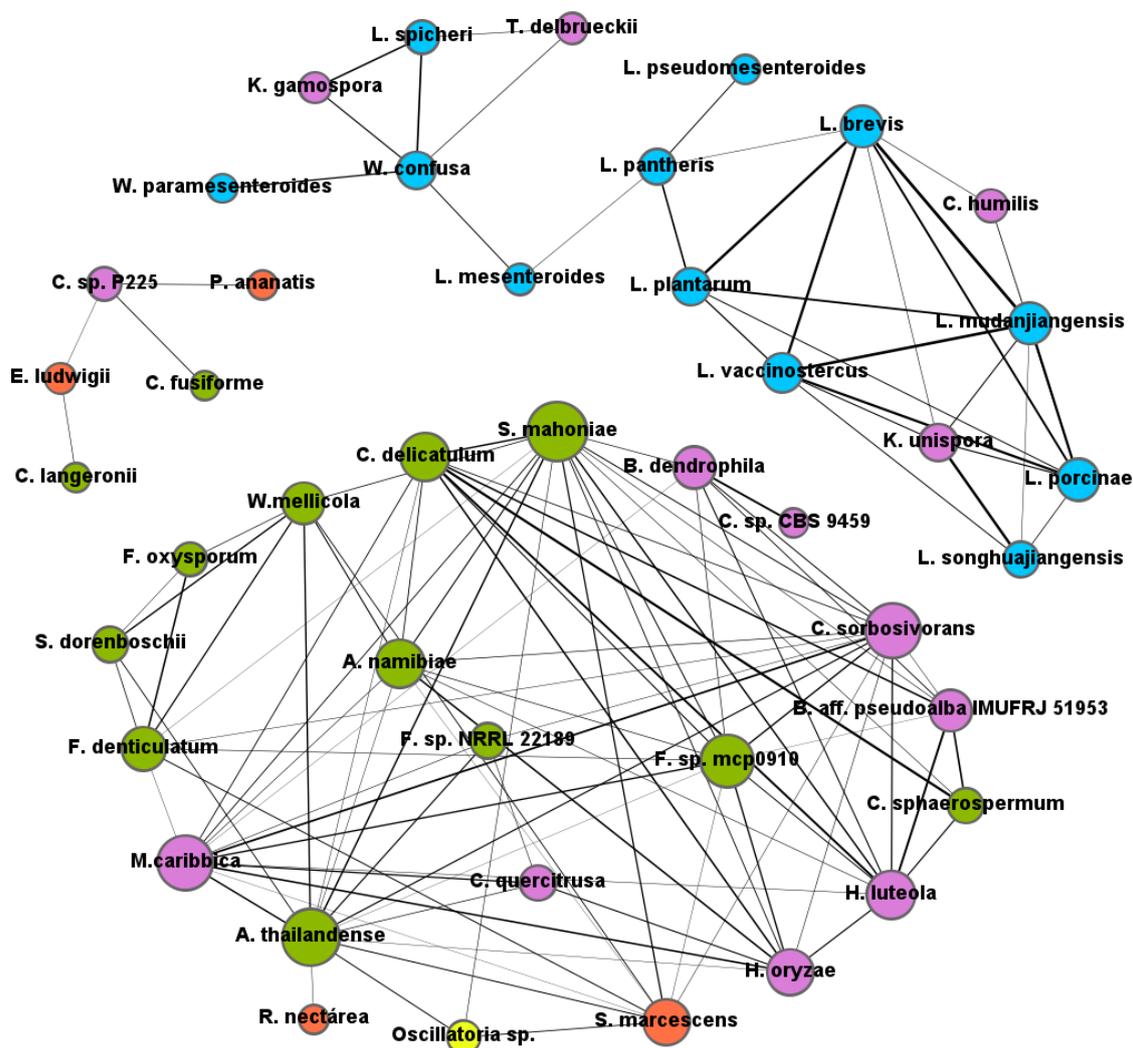
A presença de bactérias lácticas e leveduras é conhecida por ter um efeito positivo para diferentes produtos fermentados, criando produtos de transformação química e metabólitos que levam ao desenvolvimento de características sensoriais agradáveis (ADESULU-DAHUNSI; DAHUNSI; OLAYANJU, 2020; SIEUWERTS; BRON; SMID, 2018; TRISTEZZA et al., 2016). O efeito simbiótico e até sinérgico entre a interação desses grupos de microrganismos se dá pela produção de ácidos pelas bactérias lácticas, que é favorável ao desenvolvimento das leveduras, e pelos metabólitos produzidos pelas leveduras, que estimulam o desenvolvimento das bactérias lácticas (ADESULU-DAHUNSI; DAHUNSI; OLAYANJU, 2020). Em café, um estudo do uso de culturas iniciadoras combinadas entre uma levedura (*Pichia fermentans*) e uma bactéria láctica (*Pediococcus acidilactici*), mostraram um grande potencial, pois juntos, esses microrganismos apresentaram maior consumo de açúcares da polpa de café e produção de ácido láctico, etanol e outros compostos melhorando a eficiência da fermentação (VALE et al., 2019).

A complexa interação entre a microbiota do café é importante para desenvolver o perfil sensorial da bebida (PEREIRA et al., 2022). O entendimento dos grupos que interagem positiva ou negativamente e impactam positivamente no perfil sensorial da bebida pode auxiliar na escolha de microrganismos específicos, combinados ou mesmo um pool de microrganismos como culturas iniciadoras para melhorar a eficiência, reduzir o tempo e garantir a segurança do processo de fermentação.

**Figura 41:** Correlação de Spearman e classificação da co-ocorrência e co-exclusão para as espécies bacterianas e fúngicas que tiveram maior predominância nos processos de fermentação (> 5% de abundância relativa em pelo menos uma amostra)



**Figura 42:** Rede microbiana da co-ocorrência de microrganismos no processo de fermentação de café através da correlação de Spearmen (valores de coeficiente  $>0,7$ )

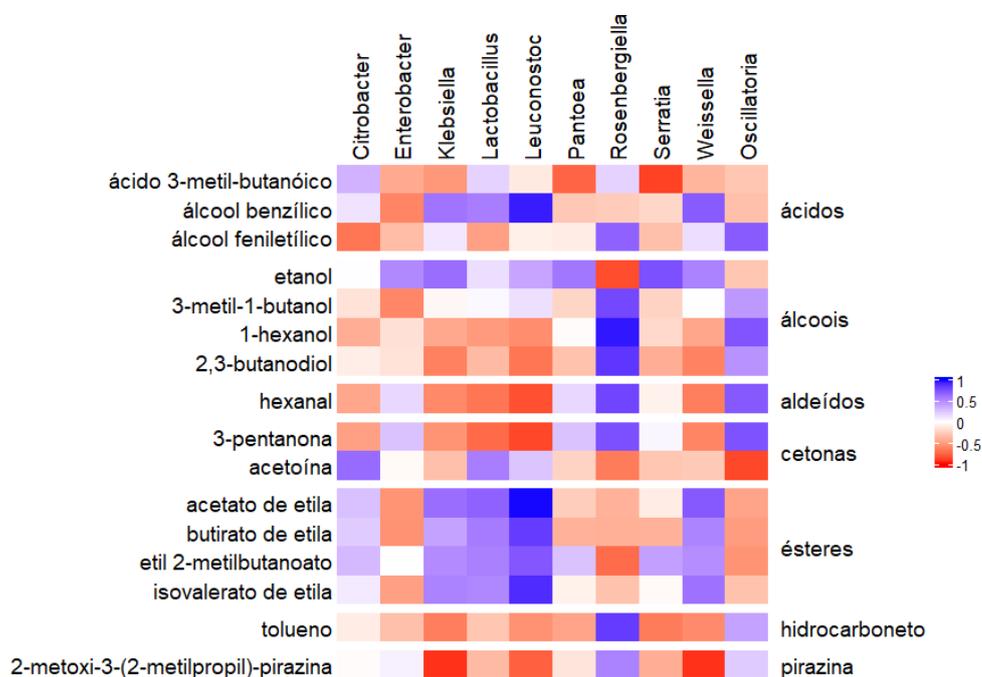


Cada nó representa uma espécie de microrganismo. O tamanho do nó representa o número de correlações positivas (valores de coeficiente  $>0,7$ ) entre as espécies (quanto maior o nó, maior o número de correlações positivas com outros microrganismos). As linhas representam a co-ocorrência positiva entre as espécies, e a intensidade da linha representa o valor da correlação (quanto mais intensa a linha, maior a correlação). A cor dos nós representa o grupo dos microrganismos: azul - bactérias ácido-láticas; vermelho - enterobactérias; roxo - leveduras; verde - fungos filamentosos; amarelo - cianobactéria.

#### 5.2.5.2.2.1 Correlação entre microrganismos e compostos voláteis

A figura 43 mostra a correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) entre as bactérias encontradas na análise de identificação genética da comunidade microbiana durante a fermentação e os compostos voláteis identificados no café verde.

**Figura 43:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre bactérias identificadas na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café verde durante o processo de fermentação



Os gêneros de bactérias apresentados no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise de identificação genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%. Os compostos voláteis apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) com pelo menos um dos gêneros apresentados.

Os microrganismos que apresentaram maior número de correlações significativas no índice de Pearson (>0,7) com compostos voláteis identificados no café verde foram: *Leuconostoc* sp., com 5 correlações positivas (acetato de etila - 0,99, Butanoic acid, ethyl ester - 0,84, Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester - 0,73, Ácido 3-metil-butanóico - 0,9, Álcool benzílico - 0,95) e três correlações negativas (3-pentanona - -0,87, Hexanal - -0,84, Pirazina, 2-methoxy-3-(2-methylpropyl) - -0,78); e *Rosenbergiella* sp., com 6 correlações positivas (3-pentanona - 0,76, Tolueno - 0,84, Hexanal - 0,8, 1-Butanol, 3-methyl - 0,79, 1-Hexanol - 0,96, 2,3-butanodiol - 0,86), e duas correlações negativas (Etanol - -0,85, Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester - -0,73).

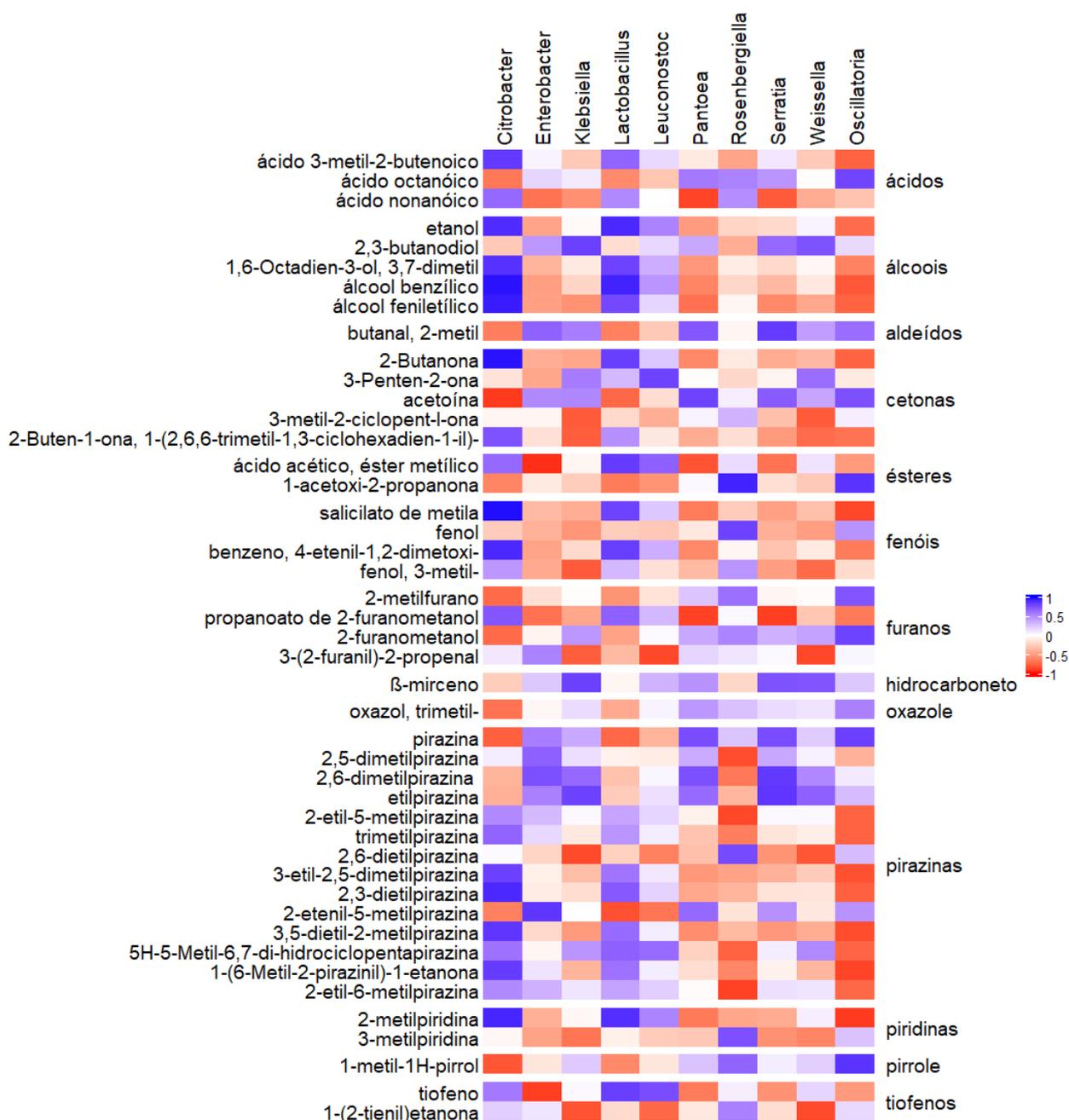
O composto orgânico volátil acetato de etila, presente no café verde apresentou correlação de mais de 0,7 no índice de Pearson com os microrganismos *Leuconostoc* sp. (0,99) e *Weissella* sp. (0,72). *Leuconostoc* sp. foi descrito como produtor de acetato de etila em condições de fermentação de queijos (POGAČIĆ et al., 2016) e sob diversas condições em meios de cultura (CICOTELLO et al., 2018). *Weissella confusa* (que foi identificada principalmente em P13), foi descrita por

umentar a concentração de compostos voláteis, incluindo acetato de etila quando usada como cultura iniciadora em produtos fermentados (GUNDUZ et al., 2020). Esses trabalhos confirmam o potencial de esses microrganismos terem contribuído para a produção desse composto nas amostras de café.

A figura 44 mostra a correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) entre as bactérias encontradas na análise genética da comunidade microbiana durante a fermentação e os compostos voláteis identificados no café torrado.

No café torrado, as bactérias que apresentaram maior correlação no índice de Pearson ( $> 0,7$ ) com os compostos voláteis foram: *Citrobacter* sp., com 15 compostos com correlação positiva (2-Butenoic acid, 3-methyl – 0,85, Etanol – 0,90, 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil – 0,88, Álcool benzílico – 0,97, Álcool feniletílico – 0,95, 2-furanometanol, propanoate – 0,73, 2-Butanona – 0,97, 2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl - 0,75, Salicilato de metila – 0,98, Benzene, 4-ethenyl-1,2-dimethoxy 0,91, Piridina, 2-methyl - 0,92, Pirazina, 3-ethyl-2,5-dimethyl - 0,82, 2,3-dietilpirazina - 0,91, Pirazina, 3,5-diethyl-2-methyl - 0,86, 1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona – 0,84) e 7 compostos com correlação negativa (Furan, 2-methyl - -0,74, Ethanone, 1-(2-furanyl) - -0,84, 2-furanometanol - -0,74, Acetoína -0,91, Oxazole, trimethyl - -0,7, Pirazina - -0,78, 1H-Pirrol, 1-methyl -0,82); e *Oscillatoria* sp., com 7 compostos com correlação positiva (Ácido octanóico – 0,8, 2-Propanone, 1-(acetyloxy) - 0,87, Furan, 2-methyl – 0,74, 2-furanometanol – 0,81, Acetoína – 0,76, Pirazina – 0,82, 1H-Pirrol, 1-methyl-0,87), e 16 compostos com correlação negativa (2-Butenoic acid, 3-methyl – 0,77, Etanol – 0,73, Álcool benzílico – 0,81, Álcool feniletílico – 0,77, 2-Butanona – 0,77, 2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl- - 0,7, Salicilato de metila – 0,87, Piridina, 2-methyl- - 0,91, Pirazina, 2-ethyl-5-methyl- -0,77, Pirazina, trimethyl- -0,77, Pirazina, 3-ethyl-2,5-dimethyl- -0,84, 2,3-dietilpirazina -0,78, Pirazina, 3,5-diethyl-2-methyl- -0,85, 5H-5-Metil-6,7-di-hidrociclopentapirazina -0,76, 1-(6-Metil-2-pirazinil)-1-etanona -0,88, Pirazina, 2-ethyl-6-methyl- -0,75).

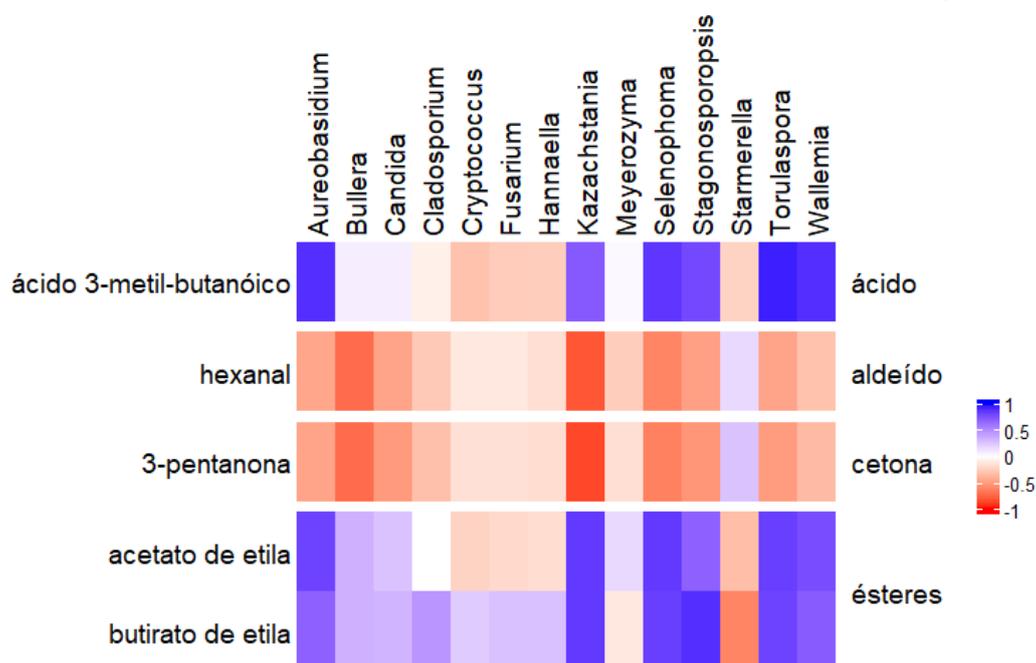
**Figura 44:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre bactérias identificadas na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café torrado durante o processo de fermentação



Os gêneros de bactérias apresentados no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%. Os compostos voláteis apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) com pelo menos um dos gêneros apresentados.

A figura 45 mostra a correlação de Pearson ( $p$ <0,05) entre os fungos encontrados na análise de identificação genética da comunidade microbiana durante a fermentação e os compostos voláteis identificados no café verde.

**Figura 45:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café verde durante o processo de fermentação



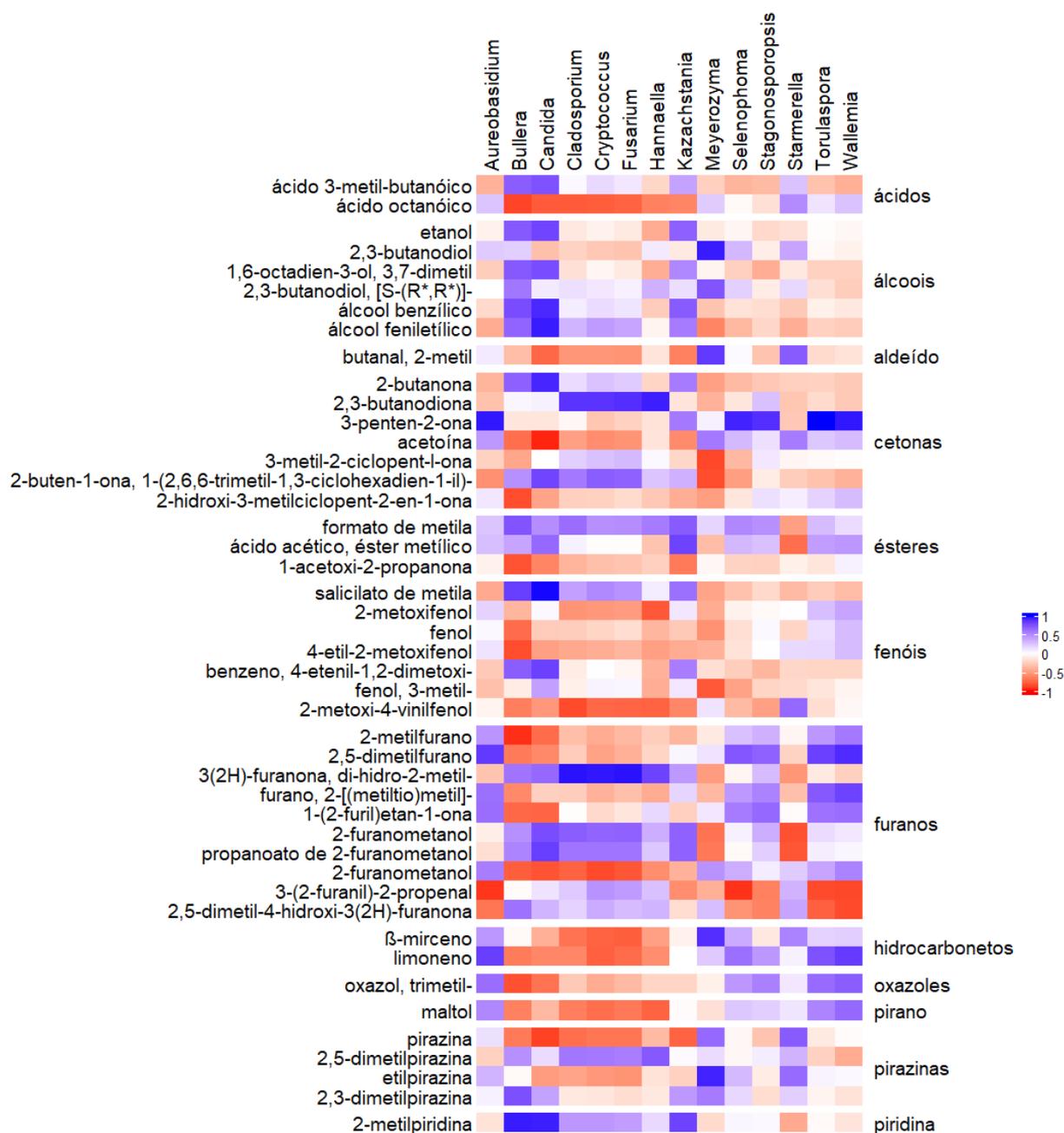
Os gêneros de fungos apresentados no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%. Os compostos voláteis apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) com pelo menos um dos gêneros apresentados.

A levedura *Candida* sp. e o fungo *Cladosporium* sp. que foram os microrganismos identificados na região ITS com maior prevalência nos processos de fermentação de café, não apresentaram correlação do índice de Pearson significativa ( $>0,7$ ) com nenhum composto volátil identificado no café verde.

*Kazachstania* sp. apresentou correlação do índice de Pearson maior que 0,7 para 5 compostos voláteis presentes do café verde, sendo 3 com correlação positiva (Acetato de etila - 0,85, Butanoic acid, ethyl ester - 0,85, Ácido 3-metil-butanóico - 0,72) e 2 com correlação negativa (3-pentanona - 0,87 e Hexanal - 0,82).

A figura 46 mostra a correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) entre os fungos encontrados na análise de identificação genética da comunidade microbiana durante a fermentação e os compostos voláteis identificados no café torrado.

**Figura 46:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e compostos voláteis identificados no café torrado durante o processo de fermentação



Os gêneros de fungos apresentados no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%. Os compostos voláteis apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor < 0,05) com pelo menos um dos gêneros apresentados.

Ao contrário do café verde, para os compostos voláteis identificados no café torrado, *Candida* sp. foi o microrganismo do grupo dos fungos com maior correlação do índice de Pearson ( $>0,7$ ), sendo 12 correlações positivas (2-Butenoic acid, 3-methyl – 0,75, Etanol – 0,8, 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil – 0,77, Álcool

benzílico – 0,91, Álcool feniletílico – 0,95, 2-furanometanol, acetate – 0,77, 2-furanometanol, propanoate – 0,83, 2-Butanona – 0,92, 2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl- 0,8, Salicilato de metila – 0,99, Benzeno, 4-etenil-1,2-dimetoxi- 0,82 , Piridina, 2-methyl- -0,94 ) e 8 correlações negativas (Ácido octanóico – 0,8, Butanal, 2-methyl -0,75, Furan, 2-methyl – 0,94, Ethanone, 1-(2-furanyl)- 0,76, 2-furanometanol – 0,83, Acetoína – 0,96, Oxazol, trimetil- 0,7, Pirazina -0,89 ).

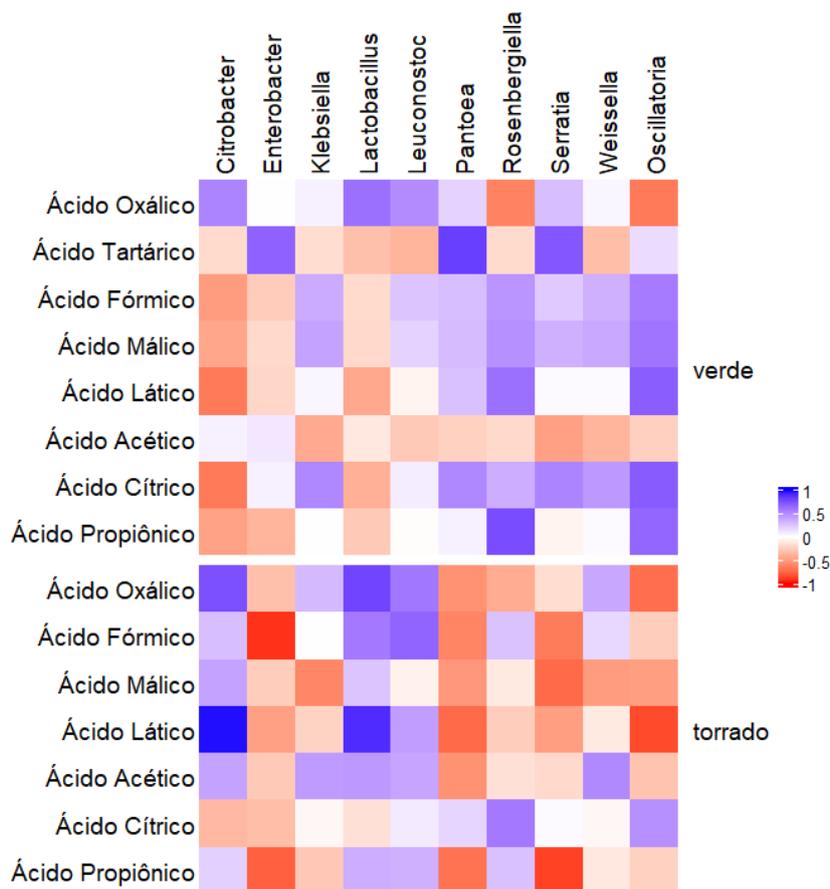
*Bullera* sp. também apresentou correlação de Pearson acima de 0,7 com muitos compostos voláteis, sendo 9 positivos (2-Butenoic acid, 3-methyl – 0,7, Etanol – 0,72, 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimetil – 0,72, Álcool benzílico – 0,77, Formato de metila – 0,74, Salicilato de metila – 0,83, Benzeno, 4-etenil-1,2-dimetoxi- 0,7, Piridina, 2-methyl- 0,95, Pirazina, 2,3-dimethyl- 0,76) e 10 negativos (Ácido octanóico – 0,88, 2-Propanone, 1-(acetyloxy)- -0,83, Furan, 2-methyl – 0,73, Ethanone, 1-(2-furanyl)- 0,75, 2-furanometanol – 0,79, Acetoína – 0,72, 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl- - 0,85, Oxazol, trimetil- 0,84, Fenol -0,73, Fenol, 4-ethyl-2-methoxy- -0,85). Essa levedura foi identificada em todos os processos e todos os dias de fermentação, mas em P9 e P13, a quantidade relativa de sequências foi baixa, com um máximo de 0,91% e 0,79%, respectivamente. Para P12, a quantidade desse microrganismo foi maior, iniciando o processo com 5,35% e atingindo o máximo de abundância relativa de 6,54% no P12\_3. Assim, nesse processo, a ação desse microrganismo pode ter tido um maior impacto em relação aos compostos voláteis no café torrado, mesmo que o microrganismo em si não tenha tido uma correlação significativa (>0,7) com a avaliação sensorial do café.

*Cladosporium* sp, que foi o fungo filamentosos com maior número de sequências identificadas nos processos de fermentação de café, principalmente no processo P12, apresentou correlação no índice de Pearson (>0,7) positiva para 3 compostos (3(2H)-furanona, di-hidro-2-metil- 0,97, 2-furanometanol, acetate 0,7, 2,3-Butanodiona 0,87) e negativa para 6 compostos (Ácido octanóico – 0,8, 2-furanometanol, 5-ethenyltetrahydro- $\alpha$ , -0,83, 2-furanometanol -0,77,  $\beta$ -Mirceno -0,7, 2-metoxi-4-vinilfenol -0,86, Pirazina -0,72 ).

#### 5.2.5.2.2 Correlação entre microrganismos e ácidos orgânicos

A figura 47 mostra a correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) entre as bactérias encontrados na análise de identificação genética da comunidade microbiana durante a fermentação do café e os ácidos orgânicos identificados no café verde e torrado.

**Figura 47:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre bactérias identificados na análise de identificação genética da comunidade microbiana e resultados das análises de ácidos orgânicos do café verde e torrado



Os gêneros das bactérias apresentadas no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%. Os resultados das análises químicas apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) com pelo menos um dos gêneros apresentados.

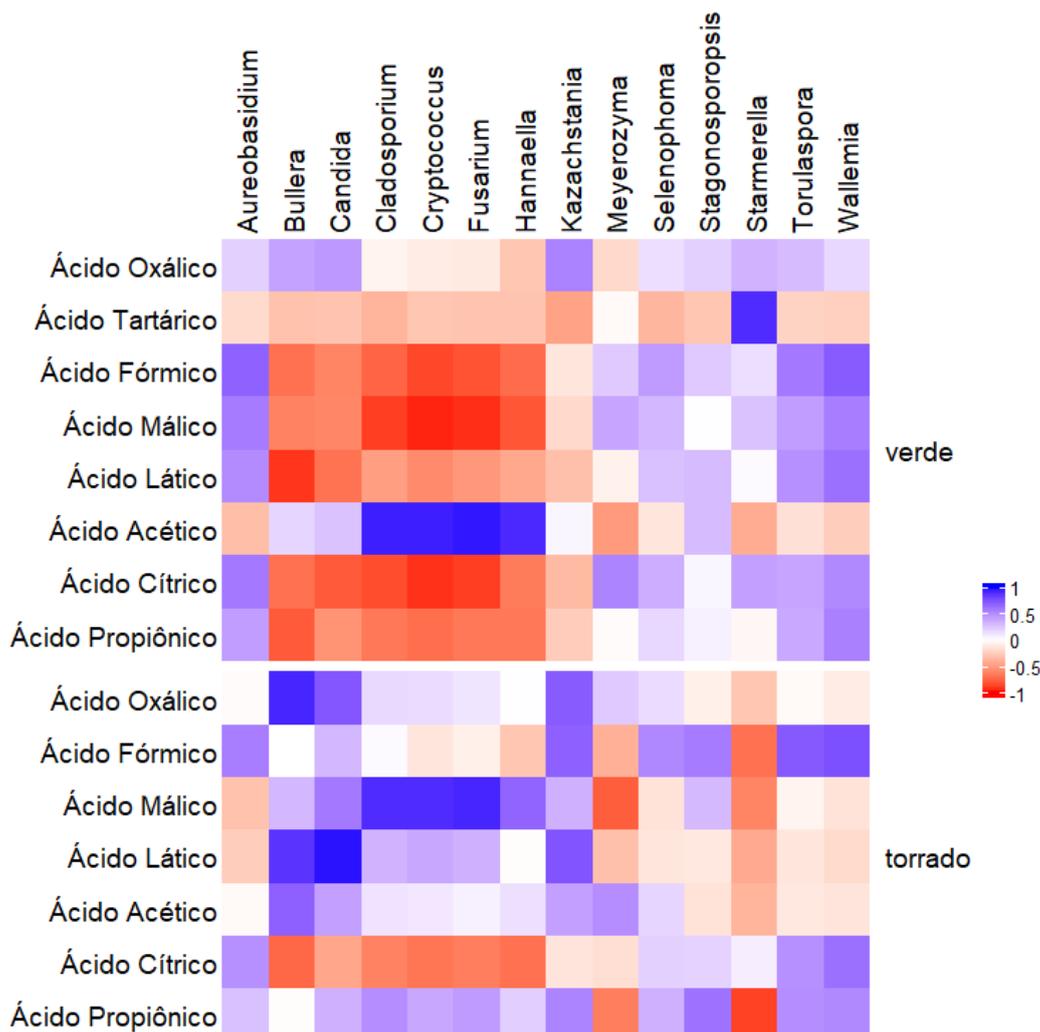
Apesar do ácido fórmico ser um produto da fermentação de bactérias da família Enterobacteriaceae (PEREIRA; MOREIRA, 2020), a única correlação considerada significativa ( $>0,7$ ) entre esse ácido e bactérias foi negativa e em relação à bactéria *Enterobacter* sp., com índice de Pearson de -0,93.

Apesar de ser formado pelas bactérias lácticas, como *Lactobacillus* e *Leuconostoc*, o ácido láctico presente no café verde não apresentou correlação positiva significativa ( $>0,7$ ). Em fermentação anaeróbia induzida realizada por Martinez et al. (2021b) foi encontrada uma correlação de Pearson positiva (0,93) entre a quantidade de ácido láctico e a bactéria *Leuconostoc*, mas o autor avaliou a presença do ácido no fruto inteiro. No presente estudo, o que pode ter acontecido é que a maior parte do ácido láctico produzido ter ficado na superfície da casca e na polpa do café e por isso a correlação não foi significativa entre as bactérias lácticas e o ácido no endosperma do

café.

A figura 48 mostra a correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ) entre os fungos encontrados na análise de identificação genética da comunidade microbiana durante a fermentação do café e os ácidos orgânicos identificados no café verde e torrado.

**Figura 48:** Mapa de calor que representa os resultados da correlação de Pearson entre fungos identificados na análise genética da comunidade microbiana e resultados das análises de ácidos orgânicos do café verde e torrado

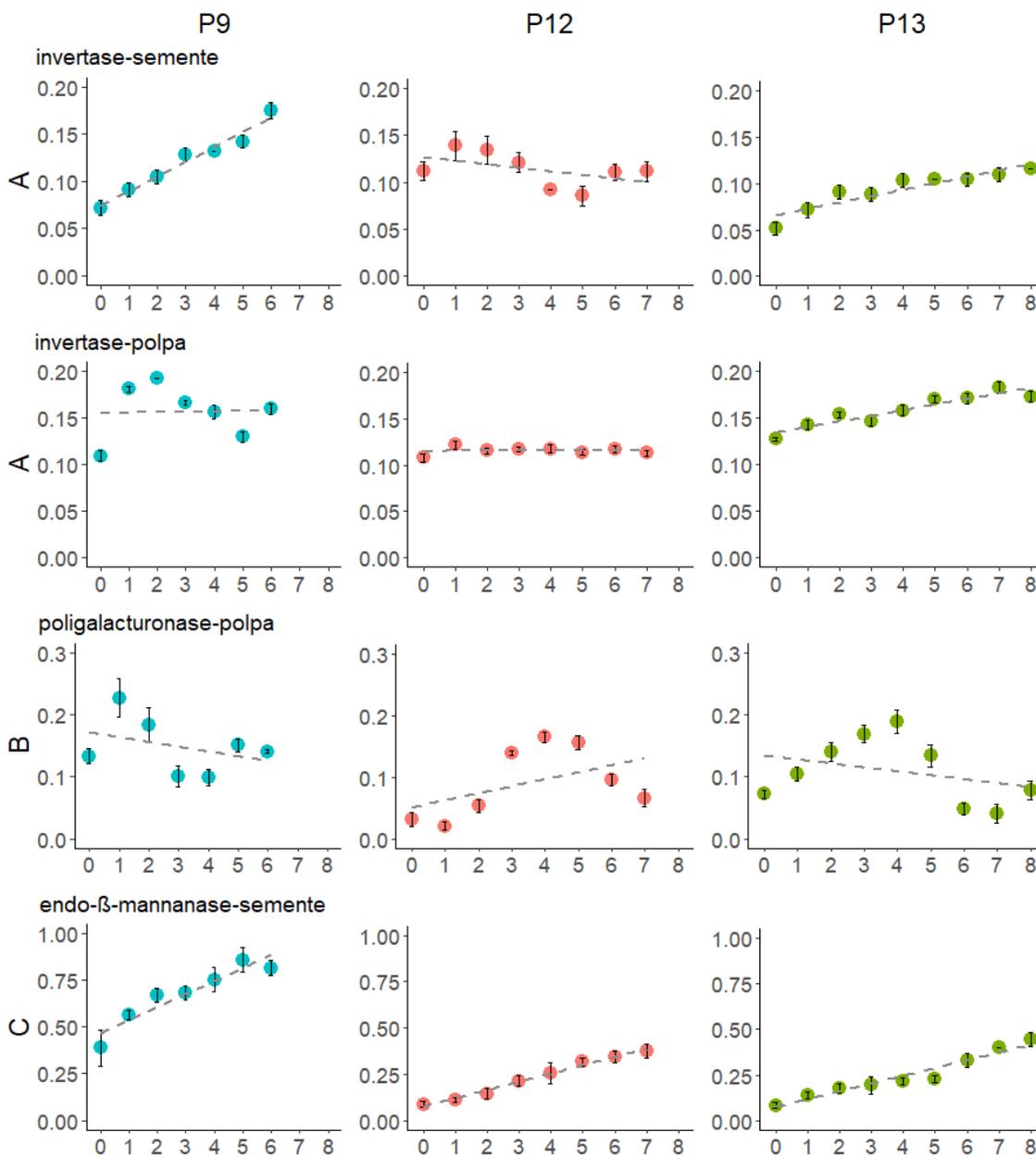


Os gêneros dos fungos apresentados no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%. Os resultados das análises químicas apresentados tiveram mais de 0,7 de correlação positiva ou negativa do índice de Pearson ( $p$ -valor  $< 0,05$ ) com pelo menos um dos gêneros apresentados.

### 5.2.5.3 Análises enzimáticas

Os resultados da atividade da invertase, poligalacturonase e endo- $\beta$ -mannanase são mostrados na Figura 49.

**Figura 49:** Atividade das enzimas Invertase, poligalacturonase e endo- $\beta$ -mannanase durante a fermentação do café



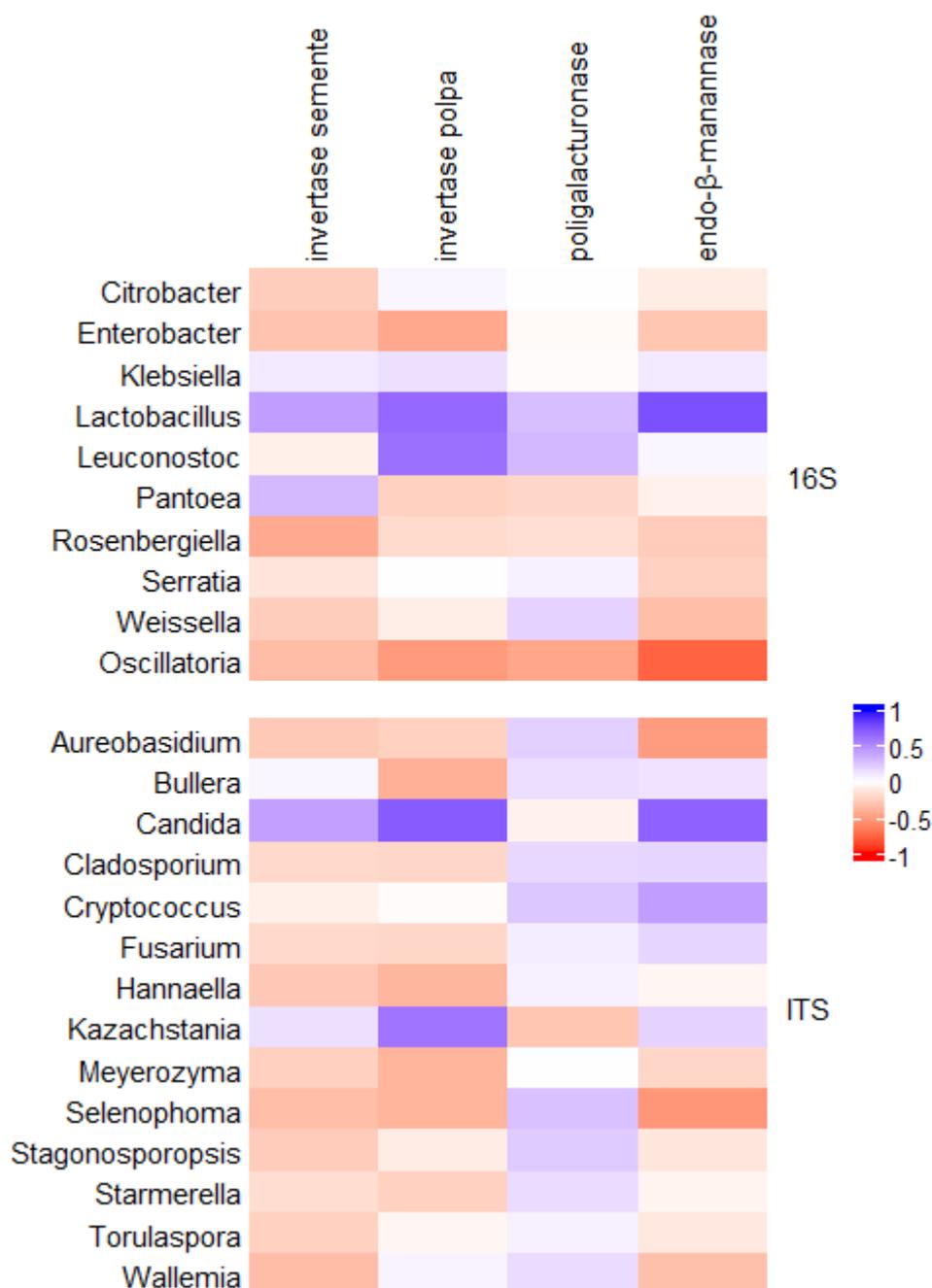
A - Glicose formada (mg glicose/L) / Proteína (mg albumina/L); B - Ácido galacturônico formado (mg ac. galacturônico/L) / Proteína (mg albumina/L); C - Manose (mg manose/L) / Proteína (mg albumina/L).

No processo P12, a atividade da invertase na semente aumentou nos primeiros 2 dias com posterior redução e permanecendo sem diferença significativa do tempo inicial ao final do processo, mostrando uma leve tendência de redução ao longo do tempo. Mas, para P9 e P13, a atividade desta enzima foi diferente, aumentando durante o tempo de fermentação. Na casca/polpa do fruto do café, a atividade da enzima invertase em P12 foi mantida sem diferença significativa. No P13 houve um aumento com o tempo e em P9 houve um aumento inicial com posterior redução, mas

em todos os dias a atividade da enzima foi maior que no dia 0, mantendo uma tendência de aumento ao longo do tempo. Para esta enzima, em ambos os locais (semente e casca/polpa) também foi possível correlacionar as diferenças de tendência entre P12 com P9 e P13, ao processo de lavagem dos frutos antes do processamento e as diferenças na comunidade microbiana, o que influencia a produção e atividade dessa enzima (CARVALHO NETO et al., 2018).

A invertase na polpa do café quebra a sacarose em moléculas de glicose e frutose, tornando-as disponíveis para outras reações (ZHANG et al., 2019b). Esta atividade enzimática na casca/polpa de café foi positivamente correlacionada (índice de Person  $> 0,5$ ) com *Lactobacillus* sp. (0,65) e *Leuconostoc* sp. (0,62), duas bactérias lácticas e com as leveduras *Candida* sp. (0,71) e *Kazachstania* sp. (0,6) e correlacionou-se negativamente (índice de Person  $< -0,5$ ) com *Oscillatoria* sp. (-0,52), e com outros microrganismos de baixa prevalência (Figura 50). *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp. e *Candida* sp. são bem definidos na literatura como produtores de invertase (GARGEL et al., 2014; GINÉS; MALDONADO; VALDEZ, 2000; SHARMA; CHANDRA, 2018), o que fazem sentido, principalmente em relação aos processos P9 e P13 que têm o aumento da atividade enzimática e da comunidade desses microrganismos. Mas apesar de *Kazachstania* sp. ter apresentado correlação positiva, não há evidências desta enzima ser produzida por este microrganismo, e também atividade da enzima invertase não foi encontrada em produtos fermentados por *Kazachstania* sp. (KORCARI et al., 2021).

**Figura 50:** Mapa de calor representando a correlação do índice de Pearson entre microrganismos e atividade enzimática identificada durante a fermentação de café



Os gêneros dos fungos apresentados no mapa de calor são responsáveis por 90% do total de sequências identificadas na análise genética da comunidade microbiana e com pelo menos um valor acima de 5%.

A atividade da invertase na semente de café apresentou apenas correlações significativas ( $>0,5$  ou  $<-0,5$ ) com microrganismos identificados em baixas quantidades. Esse efeito pode ter sido causado porque, como a fermentação foi feita com o fruto inteiro, grande parte dos microrganismos pode estar na superfície do fruto e não atingir a semente.

A poligalaturonase é a principal enzima pectinolítica envolvida na

fermentação do café atuando na quebra de ligações  $\alpha$ -1,4 glicosídicas no ácido poligalacturônico (HAILE; KANG, 2019). A atividade da poligalacturonase na casca/polpa de café, inicialmente aumentou, seguida de decréscimo em todos os processos fermentativos, com tendência final de aumento no P12 e redução em P9 e P13. Para os três processos, a atividade da enzima aumentou nos primeiros dias de fermentação, onde o pH da casca/polpa ficou em torno de 4,8 e com o tempo e redução do pH, a atividade também diminuiu. Mas, houve diferença nas amostras do P12: para este processo, o pH teve uma redução menor (4,9 no dia=4 e 4,72 no dia=7) e a atividade desta enzima também teve uma redução menor, mantendo uma linha de tendência positiva para esta enzima. Para os processos P9 e P13, a redução do pH ocorreu mais rapidamente logo após o dia=0 para P9 e após o dia=3 para P13 (pH=4,91). Essa queda rápida foi um fator importante para a redução da atividade enzimática (PRESSEY; AVANTS, 1973), o que tornou a linha de tendência negativa.

A atividade da poligalacturonase não apresentou correlação significativa ( $>0,5$  ou  $<-0,5$ ) do índice de Person com nenhum microrganismo presente em grande abundância (Figura 50). Mas, apesar disso, as bactérias *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Lactobacillus* sp., e *Pantoea* sp. e os fungos *Candida* sp., *Cladosporium* sp. e *Torulaspora* sp. são descritos pela literatura para produzir poligalacturonase ou outras enzimas pectinolíticas na fermentação do café, o que pode justificar a atividade encontrada (Figura 49) e indica que esses microrganismos têm influência na degradação da mucilagem do café (ABDOLLAHZADEH et al., 2020; AVALLONE et al., 2002; BASTOS et al., 2013b; RIBEIRO et al., 2020; SILVA et al., 2008, 2013). Os microrganismos *Rosenbergiella* sp. e *Serratia* sp. foram descritos como tendo genes de produção de enzimas pectinolíticas (HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT; JACOT-DES-COMBES; BRIOLAY, 2019; LAVIAD-SHITRIT et al., 2020), e *Aureobasidium* sp., *Cryptococcus* sp., *Fusarium* sp., e *Kazachstania* sp. foram descritos como tendo atividade pectinolítica na fermentação de outros produtos (AMIN; BHATTI; BILAL, 2019; MEENA et al., 2021; MERÍN; AMBROSINI, 2020; MOON et al., 2014), e, no entanto, têm o potencial de influenciar a quebra da mucilagem do café durante a fermentação.

Como antigamente, o objetivo da fermentação do café era a quebra da mucilagem para acelerar a etapa de secagem, a produção de pectinases (especialmente poligalacturonases) por microrganismos era um fator importante durante a seleção das culturas iniciadoras. Mas hoje em dia, os processos de fermentação do café são feitos com o objetivo principal de aumentar a qualidade sensorial da bebida, e a liberação dessas enzimas podem não ser o alvo principal. Além disso, a degradação da pectina na mucilagem do café também é muito

influenciada pela acidificação do meio (AVALLONE et al., 2002), e neste contexto, os microrganismos presentes, principalmente as bactérias lácticas e leveduras têm grande influência.

A atividade da enzima endo- $\beta$ -mannanase aumentou nos três processos fermentativos. Essa atividade enzimática está relacionada a hidrólise de mananas da parede celular, promovendo o enfraquecimento das estruturas em torno do embrião, que permite então a germinação das sementes de café (MARRACCINI et al., 2001). Assim, o aumento de sua expressão em todo o processo de fermentação (Figura 49) sugere que o café inicia um processo de germinação durante a fermentação estudada.

A atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase foi positivamente correlacionada pelo índice de Person ( $> 0,5$ ) com *Lactobacillus* sp. (0,76), e a levedura *Candida* sp. (0,68) e correlacionou-se negativamente (índice  $< -0,5$ ) com *Oscillatoria* sp. (-0,77), e as leveduras *Aureobasidium* sp. (-0,51) e *Selenophoma* sp. (-0,54) (Figura 50). Esta enzima tem sido descrita na literatura como sendo produzida por diferentes microrganismos como *Enterobacter* sp., *Lactobacillus* sp., *Weissella* sp., *Candida* sp., *Cladosporium* sp., *Cryptococcus* sp., *Fusarium* sp. (BORZOVA et al., 2017; ELHALIS; COX; ZHAO, 2020; JI et al., 2022; SONI et al., 2017; YANG et al., 2017). Mesmo que a maior parte da fermentação microbiana ocorra na superfície do fruto, existe a possibilidade dessa enzima migrar para a semente e por isso ter sido detectada em quantidades crescentes durante o tempo de fermentação, pois *Lactobacillus* sp. e *Candida* sp. foram positivamente correlacionados ao sensorial e estavam presentes em grandes quantidades nas amostras. Outra possibilidade é que toda a transformação pela qual o café passa durante a fermentação induza a germinação do café e a enzima seja produzida no tecido interno da semente do café.

Não foi encontrada correlação direta significativa ( $>0,5$  ou  $<-0,5$ ) do índice de Person, entre a atividade enzimática e a avaliação sensorial.

A atividade das enzimas foi determinada neste estudo, mas para confirmar quais microrganismos são responsáveis por liberá-la, mais estudos devem ser feitos, isolando os microrganismos e estudando sua capacidade de produzir as enzimas e a condição ótima para isso.

## 6 CONCLUSÕES

O processo de fermentação anaeróbia induzida impactou a comunidade microbiana, causou mudanças na atividade das enzimas presentes e levou a alteração na composição química na semente do café.

A lavagem do café antes da fermentação teve uma grande influência em todo o processo, acelerou a velocidade de diversas reações químicas, microbiológicas, enzimáticas e reduziu o tempo necessário para atingir a melhor nota na avaliação sensorial.

Como o processo de fermentação anaeróbia induzida tem grande influência do *terroir* e das características químicas iniciais do fruto, cada produtor deve fazer testes para definir as melhores condições de processo para sua realidade, e assim atingir o maior ganho de qualidade possível.

O processo de fermentação anaeróbia induzida tem um grande potencial para elevar a qualidade do café, principalmente para cafés que iniciam o processo com uma qualidade menor, podendo elevar a nota de um café tradicional e passar a ser classificado como café especial. Além disso, esse processo gera uma grande diversificação no perfil sensorial da bebida a partir de um mesmo produto inicial, fazendo com que o produtor tenha diferentes produtos para oferecer aos compradores, sem a necessidade de investimentos na lavoura.

Como o café é comercializado a partir de sua qualidade sensorial, o ganho de qualidade gerado pelo processo de fermentação anaeróbia induzida pode agregar um valor muito alto ao produto.

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- fazer processos de fermentação anaeróbia induzida sem lavagem prévia dos frutos, em temperaturas mais baixas e acompanhamento do desenvolvimento de sabores com o passar do tempo;
- avaliação dos compostos orgânicos voláteis em mais amostras de café fermentado por anaerobiose induzida para confirmação de compostos formados exclusivamente nesse tipo de processo;
- estudo da aplicação de bactérias lácticas como *starter cultures* no processo de fermentação anaeróbia induzida;
- estudo da aplicação das bactérias lácticas *Leuconostoc* sp.e *Weissella* sp. como starters no processo de fermentação anaeróbia induzida, já que essas bactérias apresentaram a melhor correlação com a avaliação sensorial do café e assim mostraram potencial para essa aplicação;
- estudo da atividade da invertase, poligalacturonase e endo- $\beta$ -mannanase encontradas durante a fermentação do café em diferentes temperaturas e pH para encontrar as condições ótimas de atuação.

## 8 REFERÊNCIAS

ABDOLLAHZADEH, R. et al. Screening of pectinase-producing bacteria from farmlands and optimization of enzyme production from selected strain by RSM. **Folia Microbiologica**, v. 65, n. 4, p. 705–719, 2020.

ACREE, T.; ARN, H. **Flavornet and human odor space**. Disponível em: <<http://flavornet.org/index.html>>.

ADESULU-DAHUNSI, A. T.; DAHUNSI, S. O.; OLAYANJU, A. **Synergistic microbial interactions between lactic acid bacteria and yeasts during production of Nigerian indigenous fermented foods and beverages**. **Food Control** Elsevier Ltd, , 1 abr. 2020.

AMARANTE, J. O. A. DO. **Os segredos do vinho para iniciantes e iniciados**. 4. ed. [s.l.] Mescla Editorial, 2015.

AMIN, F.; BHATTI, H. N.; BILAL, M. **Recent advances in the production strategies of microbial pectinases—A review**. **International Journal of Biological Macromolecules** Elsevier B.V., , 1 fev. 2019.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International - 20th Edition, 2016**. 20. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2016.

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

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

BASTIAN, F. et al. From plantation to cup: Changes in bioactive compounds during coffee processing. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 1–27, 1 nov. 2021.

BASTIAN, M.; HEYMANN, S.; JACOMY, M. Gephi: An Open Source Software for Exploring and Manipulating Networks. **International AAAI Conference on Weblogs and Social Media**, p. 1–2, 2009.

BASTOS, S. et al. Characterization of the optimal conditions for the cultivation of *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries and isolation of the pectinase produced in solid-state conditions. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 9, n. 2, p. 167–172, 2013a.

BASTOS, S. et al. Pectinases from a New Strain of *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) De Vries Isolated from Coffee Bean. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 92, p. 167–172, 2013b.

BORDIGA, M.; NOLLET, L. M. L. **Food Aroma Evolution: During Food Processing, Cooking, and Aging**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2019.

BORÉM, F. M. **Pós colheita do café**. 1ªed. ed. Lavras: Editora UFLA, 2015.

BORÉM, F. M. et al. The relationship between organic acids, sucrose and the quality of specialty coffees. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 8, p. 709–717, 25 fev. 2016.

- BORGES, E. P. **110 curiosidades sobre o mundo dos vinhos**. Rio de Janeiro: Mauad, 2005.
- BORZOVA, N. V. et al. Yeast  $\beta$ -mannanase activity. **Biotechnologia Acta**, v. 10, n. 1, p. 26–33, fev. 2017.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 92, p. 212–219, 1 jun. 2018.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Influence of yeast inoculation on the quality of fermented coffee (*Coffea arabica* var. Mundo Novo) processed by natural and pulped natural processes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 343, 2 abr. 2021a.
- BRESSANI, A. P. P. et al. Co-inoculation of yeasts starters: A strategy to improve quality of low altitude Arabica coffee. **Food Chemistry**, v. 361, 1 nov. 2021b.
- BRIOSCHI JUNIOR, D. et al. Microbial fermentation affects sensorial, chemical, and microbial profile of coffee under carbonic maceration. **Food Chemistry**, v. 342, 16 abr. 2021.
- BRUYN, F. DE et al. Exploring the Impacts of Postharvest Processing on the Microbiota and Metabolite Profiles during Green Coffee Bean Production. **Applied and environmental microbiology**, v. 83, n. 1, p. 1–16, 2017.
- BUESCHER, R. W.; FURMANSKI, R. J. Role of Pectinesterase and Polygalacturonase in the Formation of Woolliness in Peaches. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 1, p. 264–266, 1978.
- BURGNER, E.; FEINBERG, M. Determination of mono - and disaccharides in foods by interlaboratory study: Quantitation of Bias components for liquid chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 75, n. 3, p. 443–464, 1992.
- CAPORASO, J. G. et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **The ISME Journal**, v. 6, p. 1621–1624, 2012.
- CAPORASO, N. et al. Variability of single bean coffee volatile compounds of Arabica and robusta roasted coffees analysed by SPME-GC-MS. **Food Research International**, v. 108, n. March, p. 628–640, 2018.
- CARVALHO NETO, D. P. DE et al. High-throughput rRNA gene sequencing reveals high and complex bacterial diversity associated with brazilian coffee bean fermentation. **Food Technology and Biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 90–95, 2018.
- CHRISTOFF, A. P. et al. Bacterial identification through accurate library preparation and high-throughput sequencing. **Neoprosecta Microbiome Technologies**, n. May 2017, p. 1–5, 2017.
- CICOTELLO, J. et al. Response of *Leuconostoc* strains against technological stress factors: Growth performance and volatile profiles. **Food Microbiology**, v. 73, p. 362–370, 1 ago. 2018.
- COFFEE RESEARCH INSTITUTE. **Coffee Chemistry: Coffee Aroma**. Disponível em: <<http://www.coffeeresearch.org/science/aromamain.htm>>. Acesso em: 4 ago. 2022.

COLZI, I. et al. Covering the different steps of the coffee processing: Can headspace VOC emissions be exploited to successfully distinguish between Arabica and Robusta? **Food Chemistry**, v. 237, p. 257–263, 15 dez. 2017.

DA MOTA, M. C. B. et al. Impact of microbial self-induced anaerobiosis fermentation (SIAF) on coffee quality. **Food Bioscience**, v. 47, 1 jun. 2022.

DA SILVA, M. C. S. et al. Processing techniques and microbial fermentation on microbial profile and chemical and sensory quality of the coffee beverage. **European Food Research and Technology**, v. 248, n. 6, p. 1499–1512, 1 jun. 2022.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 851–855, 1 fev. 2010.

DUONG, B. et al. Identification and characterization of Vietnamese coffee bacterial endophytes displaying in vitro antifungal and nematicidal activities. **Microbiological research**, v. 242, p. 126613, 1 jan. 2021.

ELHALIS, H. et al. The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, 16 nov. 2020.

ELHALIS, H. et al. Microbiological and biochemical performances of six yeast species as potential starter cultures for wet fermentation of coffee beans. **LWT**, v. 137, 1 fev. 2021.

ELHALIS, H.; COX, J.; ZHAO, J. Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans. **International Journal of Food Microbiology**, v. 321, 16 maio 2020.

ENGEL, K. et al. Investigation of Volatile Constituents in Nectarines . Aroma Composition during Nectarine Maturation Changes in. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 1003–1006, 1988.

ERÖZ POYRAZ, İ. et al. Volatile compounds of *Coffea arabica* L. green and roasted beans. **ANADOLU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY –C Life Sciences and Biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 31–35, 2016.

EVANGELISTA, S. R. et al. Inoculation of starter cultures in a semi-dry coffee (*Coffea arabica*) fermentation process. **Food Microbiology**, v. 44, p. 87–95, 2014a.

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

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

FAO, F. AND A. O. OF THE U. **Good Hygiene Practices along the coffee chain**. Disponível em: <[https://www.ico.org/projects/Good-Hygiene-Practices/cnt/cnt\\_en/ghpx.html](https://www.ico.org/projects/Good-Hygiene-Practices/cnt/cnt_en/ghpx.html)>. Acesso em: 5 jun. 2022.

FARAH, A. **Coffee: Production, Quality and Chemistry**. 1. ed. United Kingdom: Royal Society of Chemistry, 2019.

FENG, X. et al. Culture-Dependent and -Independent Methods to Investigate the Predominant Microorganisms Associated with Wet Processed Coffee. **Current Microbiology**, v. 73, n. 2, p. 190–195, 2016.

FERREIRA, V. F. et al. Endo- $\beta$ -mannanase enzyme activity in the structures of *coffea arabica* L. Seeds under different types of processing and drying. **Ciencia Rural**, v. 48, n. 12, 2018.

FLAMENT, I. **Coffee Flavor Chemistry**. New York: Wiley, 2002.

FREITAS, M. N. DE et al. Relevance of endo- $\beta$ -mannanase enzyme in coffee seed deterioration process. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 15, p. 1253–1258, 13 abr. 2017.

FUSCO, V. et al. **The genus Weissella: Taxonomy, ecology and biotechnological potential**. **Frontiers in Microbiology** Frontiers Media S.A., , 2015.

GARGEL, C. A. et al. Invertase from a *Candida stellata* strain isolated from grape: production and physico-chemical characterization. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 4, n. 1, p. 24–28, 1 ago. 2014.

GINÉS, S. C. DE; MALDONADO, M. C.; VALDEZ, G. F. DE. Purification and characterization of invertase from *Lactobacillus reuteri* CRL 1100. **Current Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 181–184, 2000.

GU, Z.; EILS, R.; SCHLESNER, M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. **Bioinformatics**, v. 32, n. 18, p. 2847–2849, 15 set. 2016.

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

GUNDUZ, C. P. B. et al. Molecular analysis of the dominant lactic acid bacteria of chickpea liquid starters and doughs and propagation of chickpea sourdoughs with selected *Weissella confusa*. **Food Microbiology**, v. 91, 1 out. 2020.

HAILE, M.; KANG, W. H. The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. **Journal of Food Quality**, v. 2019, p. 1–6, 2019.

HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT, N.; JACOT-DES-COMBES, C.; BRIOLAY, J. Genomic characterization of a pectinolytic isolate of *Serratia oryzae* isolated from lake water. **Journal of Genomics**, v. 7, p. 64–72, 29 out. 2019.

IAL. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. 4 ed. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION (ICO). **Coffee production by exporting countries**. [s.l.: s.n.].

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION (ICO). **World coffee consumption**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <file:///C:/Users/Dell/Desktop/Artigos%20-%20revis%C3%A3o%20bibliogr%C3%A1fica/ICO%20-%20Consumo%202020-2021.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2022.

ISO (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION). **ISO 6673:2003, Green coffee — Determination of loss in mass at 105 °C**. , 2003.

JESZKA-SKOWRON, M.; STANISZ, E.; DE PEÑA, M. P. Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 243–250, 2016.

Jl, H. et al. The response surface optimization of  $\beta$ -mannanase produced by *Weissella cibaria* F1 and its potential in juice clarification. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, p. 1–9, 17 fev. 2022.

JONATHAN MORRIS. **Coffee A Global History**. [s.l.] Reaktion Books, 2018.

JUNQUEIRA, A. C. DE O. et al. First description of bacterial and fungal communities in Colombian coffee beans fermentation analysed using Illumina-based amplicon sequencing. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2019.

JUNQUEIRA, A. C. DE O. et al. Isolation and selection of fructose-consuming lactic acid bacteria associated with coffee bean fermentation. **Food Biotechnology**, v. 36, n. 1, p. 58–75, 2 jan. 2022.

KIM, B. et al. Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 12, p. 2089–2093, 2017.

KIM, S. J. et al. Comparative evaluation of flavor compounds in fermented green and roasted coffee beans by solid phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 34, n. 5, p. 365–376, 1 set. 2019.

KNOPP, S.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, v. 223, n. 2, p. 195–201, 2006.

KORCARI, D. et al. Physiological performance of *Kazachstania unispora* in sourdough environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 37, n. 5, 1 maio 2021.

KORDIŠ-KRAPEŽ, M. et al. Determination of Organic Acids in White Wines by RP-HPLC. **Food Technology and Biotechnology**, v. 39, n. 2, p. 93–99, 2001.

KORNMAN, C. **A Guide to Carbonic Maceration and Anaerobic Fermentation in Coffee**. Disponível em: <<https://dailycoffeenews.com/2019/06/03/a-guide-to-carbonic-maceration-and-anaerobic-fermentation-in-coffee/>>. Acesso em: 3 jun. 2019.

LAVIAD-SHITRIT, S. et al. Draft genome of *Rosenbergiella nectarea* strain 8N4T provides insights into the potential role of this species in its plant host. **PeerJ**, v. 2020, n. 4, 2020.

LEE, L. W. et al. Modulation of coffee aroma via the fermentation of green coffee beans with *Rhizopus oligosporus*: II. Effects of different roast levels. **Food Chemistry**, v. 211, p. 925–936, 2016a.

LEE, L. W. et al. Modulation of coffee aroma via the fermentation of green coffee beans with *Rhizopus oligosporus*: I. Green coffee. **Food Chemistry**, v. 211, p. 916–924, 2016b.

LEE, L. W. et al. Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica*: I. Green coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 225–232, 2017.

- LI, H. et al. Metabolic flux analysis of *Saccharomyces cerevisiae* in a sealed winemaking fermentation system. **FEMS yeast research**, v. 15, n. 2, 1 mar. 2015.
- LINGLE, T. R. **The Coffee Cupper's Handbook**. 4. ed. [s.l.] Specialty Coffee Association of America, 2011.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.
- LUEBKE, W. **The Good Scents Company**. Disponível em: <[www.thegoodscentscompany.com](http://www.thegoodscentscompany.com)>.
- MARCONE, M. F. Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. **Food Research International**, v. 37, n. 9, p. 901–912, 2004.
- MARRACCINI, P. et al. Molecular and biochemical characterization of endo- $\beta$ -mannanases from germinating coffee (*Coffea arabica*) grains. **Planta**, v. 213, n. 2, p. 296–308, 2001.
- MARTINEZ, S. J. et al. Effect of Bacterial and Yeast Starters on the Formation of Volatile and Organic Acid Compounds in Coffee Beans and Selection of Flavors Markers Precursors During Wet Fermentation. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. June, 2019.
- MARTINEZ, S. J. et al. Novel stainless steel tanks enhances coffee fermentation quality. **Food Research International**, v. 139, 1 jan. 2021a.
- MARTINEZ, S. J. et al. The Altitude of Coffee Cultivation Causes Shifts in the Microbial Community Assembly and Biochemical Compounds in Natural Induced Anaerobic Fermentations. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 20 maio 2021b.
- MARTINS, P. M. M. et al. Coffee growing altitude influences the microbiota, chemical compounds and the quality of fermented coffees. **Food Research International**, v. 129, n. September 2019, p. 108872, 2020.
- MASOUD, W. et al. Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. **Yeast**, v. 21, n. 7, p. 549–556, 2004.
- MATHEW, S.; ABRAHAM, T. E. **Bioconversions of ferulic acid, an hydroxycinnamic acid**. **Critical Reviews in Microbiology**, 1 set. 2006.
- MEENA, B. et al. Pectin degradation in fruit juices by pectinase from *Meyerozyma* sp. VITPCT75 isolated from *Phyllanthus emblica*. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 926–935, 1 jun. 2021.
- MERÍN, M. G.; AMBROSINI, V. I. M. DE. Application of a grape surface majority pectinolytic species, *Aureobasidium pullulans*, to low-temperature red winemaking: development and stability of wine colour. **Journal of Wine Research**, v. 31, n. 3, p. 218–239, 2 jul. 2020.
- MIGUEL, P. S. B. et al. Diversity of endophytic bacteria in the fruits of *Coffea canephora*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 7, p. 586–594, 2013.

MOON, S. H. et al. *Pichia kudriavzevii* is the major yeast involved in film-formation, off-odor production, and texture-softening in over-ripened Kimchi. **Food Science and Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 489–497, 2014.

MOTA, M. C. B. DA et al. Influence of fermentation conditions on the sensorial quality of coffee inoculated with yeast. **Food Research International**, v. 136, 1 out. 2020.

MOURA, C. L. A. DE; PINTO, G. A. S.; RODRIGUES, S. **Determinação da Atividade de Invertase em Extratos Enzimáticos** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Fortaleza-CE: [s.n.].

MUSEBE, R.; AGWANDA, C.; MEKONENCABI, M. Primary coffee processing in Ethiopia: patterns, constraints and determinants. **African Crop Science Conference Proceeding**, v. 8, p. 1417–1421, 2007.

MUZAIFA, M. et al. **What is kopi luwak? A literature review on production, quality and problems**. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **Anais...**Institute of Physics Publishing, 7 nov. 2019.

NASANIT, R.; SATAYAWUT, K. Microbiological study during coffee fermentation of *Coffea arabica* var. *chiangmai 80* in Thailand. **Kasetsart Journal - Natural Science**, v. 49, n. 1, p. 32–41, 2015.

NEOPROSPECTA MICROBIOME TECHNOLOGIES. **Nota técnica: DMD bactéria**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://neopropecta.com>>. Acesso em: 4 dez. 2022.

NIE, S. P. et al. Effect of pH, temperature and heating time on the formation of furan in sugar-glycine model systems. **Food Science and Human Wellness**, v. 2, n. 2, p. 87–92, 1 jun. 2013.

O'BYRNE, R. C.; GAMBASICA, N. P.; FORERO, S. A. Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in northern Colombia. **International Journal of Food Microbiology**, v. 354, 16 set. 2021.

OHLOFF, G.; FLAMENT, I. Heterocyclic constituents of meat aroma. **Heterocycles**, v. 11, p. 663–695, 1978.

OLIVEIRA, I. et al. Volatile profile of *Arbutus unedo* L. fruits through ripening stage. **Food Chemistry**, v. 128, n. 3, p. 667–673, 2011.

PACHECO, K. V. et al. Functional metagenomic analysis of the coffee (*coffea arabica*) fermentation. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 355–360, 2018.

PAGNONCELLI, M. G. B. et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria from mature coffee cherries: potential application in coffeehusk ensiling. **New Horizons in Biotechnology**, v. 1, p. 321–333, 2003.

PEREIRA, G. V. D. M. et al. Isolation, selection and evaluation of antagonistic yeasts and lactic acid bacteria against ochratoxigenic fungus *Aspergillus westerdijkiae* on coffee beans. **Letters in Applied Microbiology**, v. 62, p. 96–101, 2015a.

PEREIRA, G. V. DE M. et al. Isolation, selection and evaluation of yeasts for use in fermentation of coffee beans by the wet process. **International Journal of Food Microbiology**, v. 188, p. 60–66, 2014.

PEREIRA, G. V. DE M. et al. Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing: Growth, metabolic analyses and sensorial effects. **Food Research International**, v. 75, p. 348–356, 2015b.

PEREIRA, G. V. DE M. et al. Potential of lactic acid bacteria to improve the fermentation and quality of coffee during on-farm processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1689–1695, 1 jul. 2016.

PEREIRA, G. V. DE M. et al. Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 13, p. 2775–2788, 2 set. 2017.

PEREIRA, G. V. DE M. et al. Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. **Food Chemistry**, v. 272, p. 441–452, 30 jan. 2019.

PEREIRA, L. L. et al. Influence of Solar Radiation and Wet Processing on the Final Quality of Arabica Coffee. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

PEREIRA, L. L. et al. New propositions about coffee wet processing: Chemical and sensory perspectives. **Food Chemistry**, v. 310, 25 abr. 2020.

PEREIRA, L. L.; MOREIRA, T. **Quality Determinants In Coffee Production**. Cham: Springer International Publishing, 2020.

PEREIRA, P. V. **Dinâmica microbiana e aspectos físicos e químicos de café conilon (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) cultivado em diferentes ambientes e processado por via natural**. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos—Alegre-ES: Universidade Federal do Espírito Santo, 2018.

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

PÉREZ-HERNÁNDEZ, L. M. et al. Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y processado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. **Biotecnia**, v. 15, n. 1, p. 51–56, 2013.

PIELOU, E. C. The measurement of diversity in different types of biological collections. **Journal of Theoretical Biology**, v. 13, n. C, p. 131–144, 1966.

POGAČIĆ, T. et al. *Lactobacillus* and *Leuconostoc volatiliomes* in cheese conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 5, p. 2335–2346, 1 mar. 2016.

POTHAKOS, V. et al. Temporal shotgun metagenomics of an Ecuadorian coffee fermentation process highlights the predominance of lactic acid bacteria. **Current Research in Biotechnology**, v. 2, p. 1–15, 1 nov. 2020.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Two forms of polygalacturonase in tomatoes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 309, p. 363–369, 1973.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. Doutorado em Fitotecnia—[s.l.] Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1992.

PUCHART, V. et al. Purification and characterization of two forms of endo- $\beta$ -1,4-mannanase from a thermotolerant fungus, *Aspergillus fumigatus* IMI 385708 (formerly

Thermomyces lanuginosus IMI 158749). **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1674, n. 3, p. 239–250, 2004.

PURWOKO, T. et al. Chlorogenic acid and caffeine content of fermented robusta bean. **Biodiversitas**, v. 23, n. 2, p. 902–906, 2022.

RIBEIRO, L. S. et al. Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. **Annals of Microbiology**, v. 68, n. 10, p. 705–716, 1 out. 2018.

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

RODARTE, M. P. et al. Atividade proteolítica de bactérias, leveduras e fungos filamentosos presentes em grãos de café (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 33, n. 3, p. 457–464, 2011.

SAATH, R. et al. Activity of some isoenzymatic systems in stored coffee grains. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 1, p. 15–24, 2014.

SANTI, L. **Produção, caracterização e aplicação de preparados pectinolíticos produzidos por *Penicillium oxalicum* utilizando resíduos agroindustriais**. Mestrado—[s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

SCAA. **SCAA Protocols Cupping Specialty Coffee**. , 2015. Disponível em: <<http://www.scaa.org/?page=resources&d=coffee-protocols>>

SCHMIDT, P. A. et al. Illumina metabarcoding of a soil fungal community. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 65, p. 128–132, 2013.

SCHWAN, R. F.; FLEET, G. H. **Cocoa and Coffee Fermentations**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2014.

SENINDE, D. R.; CHAMBERS, E. Coffee Flavor: A Review. **Beverages**, v. 6, n. 44, p. 1–25, 2020.

SHARMA, A.; CHANDRA, A. Identification of New *Leuconostoc* Species Responsible for Post-harvest Sucrose Losses in Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 20, n. 4, p. 492–496, 1 ago. 2018.

SHOLZ, DOS S. M. B. et al. Sensory attributes and physico-chemical characteristics of the coffee beverage from the IAPAR cultivars. **Coffee Science**, v. 8, n. 1, p. 5–14, 2013.

SIEUWERTS, S.; BRON, P. A.; SMID, E. J. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 201–206, 1 abr. 2018.

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

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

- SILVA, C. F. et al. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 2, p. 235–247, 2013.
- SILVA, N. DA et al. **Manual de métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos e Água**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, n. 1974, p. 152–178, 1999.
- SOMPORN, C. et al. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 2287–2296, 2012.
- SONI, H. et al. Screening, statistical optimized production, and application of  $\beta$ -mannanase from some newly isolated fungi. **Engineering in Life Sciences**, v. 17, n. 4, p. 392–401, 1 abr. 2017.
- SOUSA, S. I. DE. **Vinho tinto: o prazer é todo seu**. São Paulo: Marco Zero, 2005.
- SUNARHARUM, W. B.; WILLIAMS, D. J.; SMYTH, H. E. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. **Food Research International**, v. 62, p. 315–325, 2014.
- TFOUNI, S. A. V. et al. Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two *Coffea* cultivars: *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and *Coffea canephora* cv. Apoatã IAC-2258. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 406–415, 2012.
- TOCI, A. T.; FARAH, A. Volatile fingerprint of Brazilian defective coffee seeds: Corroboration of potential marker compounds and identification of new low quality indicators. **Food Chemistry**, v. 153, p. 298–314, 2014.
- TOLEDO, P. R. A. B. et al. Relationship Between the Different Aspects Related to Coffee Quality and Their Volatile Compounds. **Comprehensive Review in food science and food safety**, v. 15, p. 705–719, 2016.
- TRISTEZZA, M. et al. Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine. **LWT**, v. 66, p. 406–412, 1 mar. 2016.
- VALE, A. DA S. et al. Effect of Co-Inoculation with *pichia fermentans* and *pediococcus acidilactici* on metabolite produced during fermentation and volatile composition of coffee beans. **Fermentation**, v. 5, n. 3, 22 jul. 2019.
- VAUGHAN, M. J.; MITCHELL, T.; MCSPADDEN GARDENER, B. B. **What's inside that seed we brew? A new approach to mining the coffee microbiome**. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, , 2015.
- VEGA, F. E. et al. Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. **Journal of Basic Microbiology**, v. 45, n. 5, p. 371–380, 2005.
- VELOSO, T. G. R. et al. Effects of environmental factors on microbiota of fruits and soil of *Coffea arabica* in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

- VILELA, D. M. et al. Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee ( *Coffea arabica* L .). **Food Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 1128–1135, 2010.
- WANG, C. et al. Potential of lactic acid bacteria to modulate coffee volatiles and effect of glucose supplementation: fermentation of green coffee beans and impact of coffee roasting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 1, p. 409–420, 15 jan. 2018.
- WANG, C. et al. Coffee flavour modification through controlled fermentation of green coffee beans by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. **LWT**, v. 120, 1 fev. 2020.
- WANG, Y.; QIAN, P. Conservative Fragments in Bacterial 16S rRNA Genes and Primer Design for 16S Ribosomal DNA Amplicons in Metagenomic Studies. **PLoS ONE**, v. 4, n. 10, p. 1–9, 2009.
- WHITE, T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic. Em: **PCR Protocols**. [s.l.] Elsevier, 1990.
- WINTGENS, J. N. **Coffee - Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders, and Researchers**. 2. ed. [s.l.] Wiley, 2012.
- YANG, M. et al. Characterization of endo-B-mannanase from *Enterobacter ludwigii* MY271 and application in pulp industry. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 40, n. 1, p. 35–43, 1 jan. 2017.
- YEAGER, S. E. et al. **Acids in coffee: A review of sensory measurements and meta-analysis of chemical composition**. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** Taylor and Francis Ltd., , 2021.
- YERETZIAN, C. et al. Compounds – From the Green Bean to the Cup. Em: **Coffee: Production, Quality and Chemistry**. [s.l: s.n.]. p. 726–770.
- ZHANG, S. J. et al. Following Coffee Production from Cherries to Cup: Microbiological and Metabolomic Analysis of Wet Processing of *Coffea arabica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 6, p. 1–22, 2019a.
- ZHANG, S. J. et al. Influence of Various Processing Parameters on the Microbial Community Dynamics, Metabolomic Profiles, and Cup Quality During Wet Coffee Processing. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 13 nov. 2019b.

## 9 ANEXOS

**Tabela A1:** Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais, bactérias lácticas, anaeróbios mesófilos totais, bolores e leveduras das amostras de frutos de café durante os processos de fermentação anaeróbia induzida

Amostra	Contagem de Aeróbios Mesófilos totais (UFC/g)	Contagem de bactérias lácticas (UFC/g)	Contagem de Anaeróbios Mesófilos totais (UFC/g)	Contagem de Bolores (UFC/g)	Contagem de Leveduras (UFC/g)
P9_0	$1,6 \times 10^7$	$1,4 \times 10^5$	$8,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$
P9_1	$8,6 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	$6,9 \times 10^4$	<100	<100
P9_2	$5,8 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$	<100	<100
P9_3	$2,3 \times 10^3$	$8,8 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	<100	<100
P9_4	$3,5 \times 10^4$	$3,0 \times 10^3$	$2,4 \times 10^2$	<100	<100
P9_5	$4,9 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$	<100	<100
P9_6	$2,0 \times 10^4$	$8,1 \times 10^3$	$6,7 \times 10^3$	<100	<100
P12_0	$1,4 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$
P12_1	$1,6 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	<100	$2,5 \times 10^3$
P12_2	$1,2 \times 10^4$	$7,3 \times 10^3$	$4,6 \times 10^3$	<100	$4,5 \times 10^2$
P12_3	$1,3 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	$6,7 \times 10^4$	<100	<100
P12_4	$6,0 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$	<100	<100
P12_5	$1,1 \times 10^6$	$4,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	<100	$1,0 \times 10^4$
P12_6	$1,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	<100	<100
P12_7	$5,0 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$	<100	<100
P13_0	$8,5 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$	$7,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$
P13_1	$8,9 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$8,5 \times 10^5$	<100	$1,1 \times 10^4$
P13_2	$4,5 \times 10^5$	$6,7 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	<100	$2,8 \times 10^3$
P13_3	$2,1 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	<100	<100
P13_4	$4,3 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$	$7,6 \times 10^5$	<100	<100
P13_5	$1,2 \times 10^6$	$5,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	<100	<100
P13_6	$4,9 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$	<100	<100
P13_7	$8,3 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$	$5,4 \times 10^5$	<100	<100
P13_8	$2,7 \times 10^4$	$7,1 \times 10^4$	$8,2 \times 10^5$	<100	<100

UFC – Unidade formadora de colônia.

**Tabela A2:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9

Gênero		Tempo de fermentação (dias)							Total
		0	1	2	3	4	5	6	
<i>Citrobacter</i>	Nº Seq.	9	40	22	38	66	16	12	203
	AR (%)	0,05	0,21	0,11	0,23	0,31	0,10	0,06	1,08
<i>Enterobacter</i>	Nº Seq.	9272	3700	8790	3592	2839	2450	2659	33302
	AR (%)	54,91	19,86	43,96	21,97	13,42	14,93	13,88	182,93
<i>Klebsiella</i>	Nº Seq.	58	86	66	1485	63	44	199	2001
	AR (%)	0,34	0,46	0,33	9,08	0,30	0,27	1,04	11,82
<i>Lactobacillus</i>	Nº Seq.	276	6470	7248	6958	14301	6222	8630	50105
	AR (%)	1,63	34,73	36,25	42,55	67,6	37,91	45,03	265,70
<i>Leuconostoc</i>	Nº Seq.	7	430	341	284	309	202	204	1777
	AR (%)	0,04	2,31	1,71	1,74	1,46	1,23	1,06	9,55
<i>Oscillatoria</i>	Nº Seq.	2255	1451	1188	1428	856	1179	1002	9359
	AR (%)	13,36	7,79	5,94	8,73	4,05	7,18	5,23	52,28
<i>Pantoea</i>	Nº Seq.	3473	5483	1581	1513	2155	5376	5969	25550
	AR (%)	20,57	29,43	7,91	9,25	10,19	32,75	31,15	141,25
<i>Rosenbergiella</i>	Nº Seq.	4	4	3	2	1	288	1	303
	AR (%)	0,02	0,02	0,02	0,01	0,00	1,75	0,01	1,83
<i>Serratia</i>	Nº Seq.	24	7	2	5	23	5	5	71
	AR (%)	0,14	0,04	0,01	0,03	0,11	0,03	0,03	0,39
<i>Weissella</i>	Nº Seq.	0	241	129	138	182	69	85	844
	AR (%)	0,00	1,29	0,65	0,84	0,86	0,42	0,44	4,50

**Tabela A3:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12

Gênero		Tempo de fermentação (dias)								Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Citrobacter</i>	Nº Seq.	6	2	1	2	9	12	10	4	42,00
	AR (%)	0,03	0,01	0,01	0,01	0,05	0,05	0,07	0,02	0,22
<i>Enterobacter</i>	Nº Seq.	13129	3339	4351	9351	8453	9374	6462	9922	54459
	AR (%)	60,02	19,33	30,09	50,34	46,40	38,40	42,83	46,63	287,41
<i>Klebsiella</i>	Nº Seq.	111	115	291	103	1220	82	181	381	2103
	AR (%)	0,51	0,67	2,01	0,55	6,70	0,34	1,20	1,79	11,97
<i>Lactobacillus</i>	Nº Seq.	0	0	3	26	7	30	592	1545	658
	AR (%)	0,00	0,00	0,02	0,14	0,04	0,12	3,92	7,26	4,25
<i>Leuconostoc</i>	Nº Seq.	0	1	53	162	216	300	266	184	998
	AR (%)	0,00	0,01	0,37	0,87	1,19	1,23	1,76	0,86	5,42
<i>Oscillatoria</i>	Nº Seq.	2740	3105	4081	2146	1759	1754	2458	2915	18043
	AR (%)	12,53	17,98	28,22	11,55	9,66	7,18	16,29	13,70	103,41
<i>Pantoea</i>	Nº Seq.	5467	10073	3558	4819	3377	8162	2271	3972	37727
	AR (%)	24,99	58,32	24,60	25,94	18,54	33,43	15,05	18,67	200,88
<i>Rosenbergiella</i>	Nº Seq.	88	129	376	114	503	121	217	202	1548
	AR (%)	0,40	0,75	2,60	0,61	2,76	0,50	1,44	0,95	9,06
<i>Serratia</i>	Nº Seq.	36	28	172	18	31	30	55	33	370
	AR (%)	0,16	0,16	1,19	0,10	0,17	0,12	0,36	0,16	2,27
<i>Weissella</i>	Nº Seq.	0	21	891	1328	2227	3920	2157	1779	10544
	AR (%)	0,00	0,12	6,16	7,15	12,22	16,06	14,30	8,36	56,01

**Tabela A4:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13

Gênero		Tempo de fermentação (dias)									Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Citrobacter</i>	Nº Seq.	1	518	3	8	0	7	2	0	0	539,00
	AR (%)	0,00	2,56	0,00	0,04	0,00	0,04	0,01	0,00	0,00	2,65
<i>Enterobacter</i>	Nº Seq.	2899	12971	4684	2449	513	7843	2637	1284	4517	33996,00
	AR (%)	17,18	64,06	25,74	12,65	3,90	40,78	16,62	6,89	28,64	180,93
<i>Klebsiella</i>	Nº Seq.	49	138	67	344	169	631	294	369	427	1692,00
	AR (%)	0,29	0,68	0,37	1,78	1,29	3,28	1,85	1,98	2,71	9,54
<i>Lactobacillus</i>	Nº Seq.	5	119	1021	7538	3945	3851	4711	4755	3652	21190,00
	AR (%)	0,03	0,59	5,61	38,93	30,02	20,02	29,69	25,50	23,15	124,89
<i>Leuconostoc</i>	Nº Seq.	3	56	1062	522	665	562	532	692	440	3402,00
	AR (%)	0,02	0,28	5,84	2,70	5,06	2,92	3,35	3,71	2,79	20,16
<i>Oscillatoria</i>	Nº Seq.	3674	3239	3259	2227	2071	1521	1358	2199	1807	17349,00
	AR (%)	21,77	16,00	17,91	11,50	15,76	7,91	8,56	11,79	11,46	99,40
<i>Pantoea</i>	Nº Seq.	2942	1349	2624	3562	3041	2435	3895	6834	3455	19848,00
	AR (%)	17,44	6,66	14,42	18,40	23,14	12,66	24,54	36,65	21,90	117,26
<i>Rosenbergiella</i>	Nº Seq.	6280	23	32	14	16	10	18	18	12	6393,00
	AR (%)	37,22	0,11	0,18	0,07	0,12	0,05	0,11	0,10	0,08	37,87
<i>Serratia</i>	Nº Seq.	23	64	1166	27	53	8	9	20	14	1350,00
	AR (%)	0,14	0,32	6,41	0,14	0,40	0,04	0,06	0,11	0,09	7,50
<i>Weissella</i>	Nº Seq.	1	343	3351	1786	2172	1749	1806	1681	952	11208,00
	AR (%)	0,01	1,69	18,41	9,22	16,53	9,09	11,38	9,01	6,04	66,34

**Tabela A5:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9

Gênero		Tempo de fermentação (dias)							Total
		0	1	2	3	4	5	6	
<i>Enterobacter cloacae</i>	Nº Seq.	3066	1371	4356	2114	1043	1361	1142	14453
	AR (%)	17,65	7,25	21,23	11,83	4,78	8,09	5,88	76,71
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Nº Seq.	5265	2007	3571	1356	1480	996	1379	16054
	AR (%)	30,31	10,61	17,40	7,59	6,78	5,92	7,10	85,72
<i>Enterobacter ludwigii</i>	Nº Seq.	851	204	434	77	289	45	57	1957
	AR (%)	4,90	1,08	2,12	0,43	1,32	0,27	0,29	10,41
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Nº Seq.	41	79	61	1479	60	42	196	1958
	AR (%)	0,24	0,42	0,30	8,28	0,27	0,25	1,01	10,76
<i>Lactobacillus brevis</i>	Nº Seq.	41	297	442	438	1021	411	603	3253
	AR (%)	0,24	1,57	2,15	2,45	4,68	2,44	3,11	16,64
<i>Lactobacillus mudanjiangensis</i>	Nº Seq.	1	125	133	170	156	102	141	828
	AR (%)	0,01	0,66	0,65	0,95	0,71	0,61	0,73	4,32
<i>Lactobacillus pantheris</i>	Nº Seq.	0	30	39	27	16	20	32	164
	AR (%)	0,00	0,16	0,19	0,15	0,07	0,12	0,16	0,86
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Nº Seq.	21	2196	2694	2687	7041	2270	3249	20158
	AR (%)	0,12	11,61	13,13	15,04	32,26	13,50	16,74	102,39
<i>Lactobacillus porciniae</i>	Nº Seq.	19	142	195	248	243	228	245	1320
	AR (%)	0,11	0,75	0,95	1,39	1,11	1,36	1,26	6,93
<i>Lactobacillus songhuajiangensis</i>	Nº Seq.	36	1321	1752	1692	1980	1776	2267	10824
	AR (%)	0,21	6,98	8,54	9,47	9,07	10,56	11,68	56,51
<i>Lactobacillus spicheri</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0
<i>Lactobacillus vaccinostrercus</i>	Nº Seq.	144	2052	1650	1309	3454	1162	1659	11430

Gênero		Tempo de fermentação (dias)							Total
		0	1	2	3	4	5	6	
	AR (%)	0,83	10,85	8,04	7,32	15,83	6,91	8,55	58,33
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Nº Seq.	0	22	11	24	15	10	15	97
	AR (%)	0,00	0,12	0,05	0,00	0,07	0,06	0,08	0,38
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Nº Seq.	5	280	251	183	233	147	147	1246
	AR (%)	0,03	1,48	1,22	0,13	1,07	0,87	0,76	5,57
<i>Pantoea agglomerans</i>	Nº Seq.	1563	299	313	286	225	605	224	3515
	AR (%)	9,00	1,58	1,53	1,60	1,03	3,60	1,15	19,49
<i>Pantoea ananatis</i>	Nº Seq.	117	112	53	102	93	104	89	670
	AR (%)	0,67	0,59	0,26	0,57	0,43	0,62	0,46	3,60
<i>Pantoea dispersa</i>	Nº Seq.	1590	4865	977	1020	1772	4461	5500	20185
	AR (%)	9,15	25,72	4,76	5,71	8,12	26,53	28,33	108,33
<i>Pantoea eucalypti</i>	Nº Seq.	1	20	2	4	2	3	5	37
	AR (%)	0,01	0,11	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,20
<i>Pantoea stewartii</i>	Nº Seq.	50	98	50	29	5	36	83	351
	AR (%)	0,29	0,52	0,24	0,16	0,02	0,21	0,43	1,88
<i>Pantoea vagans</i>	Nº Seq.	137	62	181	40	51	151	62	684
	AR (%)	0,79	0,33	0,88	0,22	0,23	0,90	0,32	3,67
<i>Rosenbergiella nectárea</i>	Nº Seq.	4	4	3	2	1	288	1	303
	AR (%)	0,02	0,02	0,01	0,01	0,00	1,71	0,01	1,79
<i>Serratia marcescens</i>	Nº Seq.	0	1	0	2	1	0	1	5
	AR (%)	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,03
uncultured <i>Oscillatoria</i>	Nº Seq.	2255	1451	1188	1428	856	1179	1002	9359
	AR (%)	12,98	7,67	5,79	7,99	3,92	7,01	5,16	50,53
<i>Weissella confusa</i>	Nº Seq.	0	9	2	12	0	3	2	28
	AR (%)	0,00	0,05	0,01	0,07	0,00	0,02	0,01	0,15

Gênero		Tempo de fermentação (dias)							Total
		0	1	2	3	4	5	6	
<i>Weissella paramesenteroides</i>	Nº Seq.	0	224	126	123	175	65	81	794
	AR (%)	0,00	1,18	0,61	0,69	0,80	0,39	0,42	4,09

**Tabela A6:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)								Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Enterobacter cloacae</i>	Nº Seq.	7450	1788	1705	6746	1493	1626	3122	2430	26360
	AR (%)	34,03	10,31	11,74	36,21	8,18	6,65	20,55	11,36	139,03
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Nº Seq.	5585	1487	2340	2278	6766	7480	3260	5631	34827
	AR (%)	25,51	8,58	16,11	12,23	37,07	30,61	21,46	26,32	177,88
<i>Enterobacter ludwigii</i>	Nº Seq.	21	8	282	150	93	60	27	1726	2367
	AR (%)	0,10	0,05	1,94	0,81	0,51	0,25	0,18	8,07	11,89
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Nº Seq.	100	111	284	99	1200	66	171	365	2396
	AR (%)	0,46	0,64	1,95	0,53	6,57	0,27	1,13	1,71	13,26
<i>Lactobacillus brevis</i>	Nº Seq.	0	0	1	5	4	7	36	49	102
	AR (%)	0,00	0,00	0,01	0,03	0,02	0,03	0,24	0,23	0,55
<i>Lactobacillus mudanjiangensis</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	3	4	7
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02	0,04
<i>Lactobacillus pantheris</i>	Nº Seq.	0	0	0	1	0	1	5	4	11
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,02	0,06
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Nº Seq.	0	0	1	11	3	15	521	1468	2019
	AR (%)	0,00	0,00	0,01	0,06	0,02	0,06	3,43	6,86	10,43
<i>Lactobacillus porciniae</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Lactobacillus songhuajiangensis</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Lactobacillus spicheri</i>	Nº Seq.	0	0	0	6	0	2	2	1	11
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,01	0,01	0,00	0,06
<i>Lactobacillus vaccinostrercus</i>	Nº Seq.	0	0	1	3	0	0	13	6	23
	AR (%)	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,06	0,03	0,09

Gênero/ Espécie	Tempo de fermentação (dias)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	Total	
	AR (%)	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,09	0,03	0,14
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Nº Seq.	0	0	24	21	32	8	8	10	103
	AR (%)	0,00	0,00	0,17	0,11	0,18	0,03	0,05	0,05	0,59
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Nº Seq.	0	1	29	138	182	291	256	172	1069
	AR (%)	0,00	0,01	0,20	0,74	1,00	1,19	1,69	0,80	5,62
<i>Pantoea agglomerans</i>	Nº Seq.	4303	83	193	37	1682	39	50	199	6586
	AR (%)	19,65	0,48	1,33	0,20	9,21	0,16	0,33	0,93	32,29
<i>Pantoea ananatis</i>	Nº Seq.	56	36	42	188	36	50	42	37	487
	AR (%)	0,26	0,21	0,29	1,01	0,20	0,20	0,28	0,17	2,61
<i>Pantoea dispersa</i>	Nº Seq.	857	9867	3237	4519	1357	7731	2111	3421	33100
	AR (%)	3,91	56,92	22,28	24,25	7,43	31,64	13,90	15,99	176,33
<i>Pantoea eucalypti</i>	Nº Seq.	10	12	16	5	135	4	19	8	209
	AR (%)	0,05	0,07	0,11	0,03	0,74	0,02	0,13	0,04	1,17
<i>Pantoea stewartii</i>	Nº Seq.	31	64	19	61	71	326	44	260	876
	AR (%)	0,14	0,37	0,13	0,33	0,39	1,33	0,29	1,22	4,20
<i>Pantoea vagans</i>	Nº Seq.	6	2	35	1	1	1	1	1	48
	AR (%)	0,03	0,01	0,24	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,31
<i>Rosenbergiella nectárea</i>	Nº Seq.	88	129	376	114	503	121	217	202	1750
	AR (%)	0,40	0,74	2,59	0,61	2,76	0,50	1,43	0,94	9,97
<i>Serratia marcescens</i>	Nº Seq.	21	21	153	12	18	23	48	26	322
	AR (%)	0,10	0,12	1,05	0,06	0,10	0,09	0,32	0,12	1,96
<i>uncultured Oscillatoria</i>	Nº Seq.	2740	3105	4081	2146	1759	1754	2458	2915	20958
	AR (%)	12,51	17,91	28,09	11,52	9,64	7,18	16,18	13,62	116,65
<i>Weissella confusa</i>	Nº Seq.	0	2	13	12	22	112	17	9	187
	AR (%)	0,00	0,01	0,09	0,06	0,12	0,46	0,11	0,04	0,90

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)								Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Weissella paramesenteroides</i>	Nº Seq.	0	19	878	1313	2196	3801	2140	1769	12116
	AR (%)	0,00	0,11	6,04	7,05	12,03	15,56	14,09	8,27	63,14

**Tabela A7:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de bactérias responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)									Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Enterobacter cloacae</i>	Nº Seq.	550	6809	999	1540	296	1465	1194	622	1562	15037
	AR (%)	3,26	31,62	5,47	7,95	2,25	7,40	7,51	3,31	9,57	78,32
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Nº Seq.	2221	6068	3640	868	197	6274	1397	598	2864	24127
	AR (%)	13,16	28,17	19,94	4,48	1,50	31,67	8,79	3,18	17,54	128,43
<i>Enterobacter ludwigii</i>	Nº Seq.	88	24	5	30	4	14	7	5	15	192
	AR (%)	0,52	0,11	0,03	0,15	0,03	0,07	0,04	0,03	0,09	1,08
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Nº Seq.	47	132	55	343	168	625	289	365	423	2447
	AR (%)	0,28	0,61	0,30	1,77	1,28	3,16	1,82	1,94	2,59	13,74
<i>Lactobacillus brevis</i>	Nº Seq.	0	12	90	324	176	165	494	218	154	1633
	AR (%)	0,00	0,06	0,49	1,67	1,34	0,83	3,11	1,16	0,94	9,60
<i>Lactobacillus mudanjiangensis</i>	Nº Seq.	0	1	1	11	23	5	32	16	13	102
	AR (%)	0,00	0,00	0,01	0,06	0,17	0,03	0,20	0,09	0,08	0,63
<i>Lactobacillus pantheris</i>	Nº Seq.	0	6	60	165	292	237	238	303	285	1586
	AR (%)	0,00	0,03	0,33	0,85	2,22	1,20	1,50	1,61	1,75	9,48
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Nº Seq.	0	49	574	4588	2721	2533	2929	3330	2390	19114
	AR (%)	0,00	0,23	3,14	23,68	20,66	12,79	18,42	17,70	14,64	111,27
<i>Lactobacillus porciniae</i>	Nº Seq.	1	10	18	61	27	42	22	27	37	245
	AR (%)	0,01	0,05	0,10	0,31	0,21	0,21	0,14	0,14	0,23	1,39
<i>Lactobacillus songhuajiangensis</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Lactobacillus spicheri</i>	Nº Seq.	0	6	155	1834	398	528	440	369	366	4096
	AR (%)	0,00	0,03	0,85	9,47	3,02	2,67	2,77	1,96	2,24	23,00
<i>Lactobacillus vaccinoferus</i>	Nº Seq.	1	4	15	177	79	60	68	80	29	513

Gênero/ Espécie	Tempo de fermentação (dias)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Total	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	AR (%)	0,01	0,02	0,08	0,91	0,60	0,30	0,43	0,43	0,18	2,95
	Nº Seq.	0	13	802	227	246	245	198	355	214	2300
	AR (%)	0,00	0,06	4,39	1,17	1,87	1,24	1,25	1,89	1,31	13,17
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	Nº Seq.	2	29	198	223	368	283	273	302	210	1888
	AR (%)	0,01	0,13	1,08	1,15	2,79	1,43	1,72	1,61	1,29	11,21
<i>Pantoea agglomerans</i>	Nº Seq.	53	201	25	1347	45	15	135	162	48	2031
	AR (%)	0,31	0,93	0,14	6,95	0,34	0,08	0,85	0,86	0,29	10,76
<i>Pantoea ananatis</i>	Nº Seq.	40	17	22	27	18	22	21	27	45	239
	AR (%)	0,24	0,08	0,12	0,14	0,14	0,11	0,13	0,14	0,28	1,37
<i>Pantoea dispersa</i>	Nº Seq.	2762	1097	2530	760	2951	2208	3606	6364	3174	25452
	AR (%)	16,36	5,09	13,86	3,92	22,41	11,15	22,68	33,83	19,44	148,75
<i>Pantoea eucalypti</i>	Nº Seq.	29	3	7	73	11	30	9	198	87	447
	AR (%)	0,17	0,01	0,04	0,38	0,08	0,15	0,06	1,05	0,53	2,48
<i>Pantoea stewartii</i>	Nº Seq.	48	26	34	16	11	152	93	56	89	525
	AR (%)	0,28	0,12	0,19	0,08	0,08	0,77	0,59	0,30	0,55	2,95
<i>Pantoea vagans</i>	Nº Seq.	5	1	1	1334	3	1	1	1	6	1353
	AR (%)	0,03	0,00	0,01	6,89	0,02	0,01	0,01	0,01	0,04	7,00
<i>Rosenbergiella nectárea</i>	Nº Seq.	6280	23	32	14	16	10	18	18	12	6423
	AR (%)	37,20	0,11	0,18	0,07	0,12	0,05	0,11	0,10	0,07	38,01
<i>Serratia marcescens</i>	Nº Seq.	11	29	1142	20	49	4	7	14	3	1279
	AR (%)	0,07	0,13	6,26	0,10	0,37	0,02	0,04	0,07	0,02	7,09
<i>uncultured Oscillatoria</i>	Nº Seq.	3674	3239	3259	2227	2071	1521	1358	2199	1807	21355
	AR (%)	21,76	15,04	17,85	11,49	15,73	7,68	8,54	11,69	11,07	120,86
<i>Weissella confusa</i>	Nº Seq.	0	50	750	279	318	386	326	229	128	2466
	AR (%)	0,00	0,23	4,11	1,44	2,41	1,95	2,05	1,22	0,78	14,20

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	Total
<i>Weissella paramesenteroides</i>	Nº Seq.	1	286	2581	1493	1835	1346	1464	1441	819	11266
	AR (%)	0,01	1,33	14,14	7,71	13,93	6,80	9,21	7,66	5,02	65,80



**Tabela A9:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12

Gênero		Tempo de fermentação (dias)								Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Aureobasidium</i>	Nº Seq.	52	115	59	110	171	101	84	118	810
	AR (%)	3,66	5,64	2,28	3,65	4,66	1,28	2,48	2,28	25,92
<i>Bullera</i>	Nº Seq.	76	29	102	197	235	193	187	206	1225
	AR (%)	5,35	1,42	3,94	6,54	6,40	2,44	5,51	3,97	35,58
<i>Candida</i>	Nº Seq.	23	15	26	19	60	905	18	525	1591
	AR (%)	1,62	0,74	1,00	0,63	1,63	11,46	0,53	10,13	27,74
<i>Cladosporium</i>	Nº Seq.	644	1199	1514	1436	1825	1160	1549	2336	11663
	AR (%)	45,35	58,83	58,41	47,68	49,73	14,69	45,67	45,05	365,41
<i>Cryptococcus</i>	Nº Seq.	117	112	95	300	272	248	285	316	1745
	AR (%)	8,24	5,50	3,67	9,96	7,41	3,14	8,40	6,09	52,41
<i>Fusarium</i>	Nº Seq.	98	108	205	178	185	1481	184	341	2780
	AR (%)	6,90	5,30	7,91	5,91	5,04	18,76	5,42	6,58	61,82
<i>Hannaella</i>	Nº Seq.	78	117	114	153	246	127	215	267	1317
	AR (%)	5,49	5,74	4,40	5,08	6,70	1,61	6,34	5,15	40,51
<i>Kazachstania</i>	Nº Seq.	1	4	3	2	2	372	30	160	574
	AR (%)	0,07	0,20	0,12	0,07	0,05	4,71	0,88	3,09	9,18
<i>Meyerozyma</i>	Nº Seq.	77	48	34	47	61	455	60	237	1019
	AR (%)	5,42	2,36	1,31	1,56	1,66	5,76	1,77	4,57	24,41
<i>Selenophoma</i>	Nº Seq.	38	82	114	179	230	154	155	153	1105
	AR (%)	2,68	4,02	4,40	5,94	6,27	1,95	4,57	2,95	32,78
<i>Stagonosporopsis</i>	Nº Seq.	12	7	4	2	4	3	0	9	41
	AR (%)	0,85	0,34	0,15	0,07	0,11	0,04	0,00	0,17	1,73
<i>Starmerella</i>	Nº Seq.	9	0	5	10	0	614	9	4	651
	AR (%)	0,63	0,00	0,19	0,33	0,00	7,78	0,27	0,08	9,28
<i>Torulaspora</i>	Nº Seq.	0	0	2	3	0	876	3	0	884
	AR (%)	0	0	0,07716	0,10	0	11,09	0,09	0	11,36
<i>Wallemia</i>	Nº Seq.	24	15	24	33	51	44	39	55	285
	AR (%)	1,69	0,74	0,93	1,10	1,39	0,56	1,15	1,06	8,61

**Tabela A10:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% dos gêneros identificados (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13

Gênero		Tempo de fermentação (dias)									Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Aureobasidium</i>	Nº Seq.	70	109	76	399	188	56	35	25	39	997
	AR (%)	4,53	3,11	2,66	2,68	3,46	0,60	0,13	0,10	0,16	17,44
<i>Bullera</i>	Nº Seq.	3	19	43	122	97	8	44	52	29	417
	AR (%)	0,19	0,54	1,50	0,82	1,79	0,09	0,17	0,21	0,12	5,43
<i>Candida</i>	Nº Seq.	112	733	529	2302	1877	6233	17808	17689	19241	66524
	AR (%)	7,25	20,94	18,51	15,46	34,57	67,17	68,20	70,19	78,42	380,72
<i>Cladosporium</i>	Nº Seq.	476	851	834	4914	1156	555	546	609	321	10262
	AR (%)	30,83	24,31	29,18	33,00	21,29	5,98	2,09	2,42	1,31	150,41
<i>Cryptococcus</i>	Nº Seq.	19	72	102	76	48	54	72	108	45	596
	AR (%)	1,23	2,06	3,57	0,51	0,88	0,58	0,28	0,43	0,18	9,72
<i>Fusarium</i>	Nº Seq.	116	210	189	1043	355	168	181	186	91	2539
	AR (%)	7,51	6,00	6,61	7,00	6,54	1,81	0,69	0,74	0,37	37,28
<i>Hannaella</i>	Nº Seq.	29	101	39	160	85	122	52	153	115	856
	AR (%)	1,88	2,88	1,36	1,07	1,57	1,31	0,20	0,61	0,47	11,36
<i>Kazachstania</i>	Nº Seq.	33	332	250	615	744	1416	6100	5817	4266	19573
	AR (%)	2,14	9,48	8,75	4,13	13,70	15,26	23,36	23,08	17,39	117,29
<i>Meyerozyma</i>	Nº Seq.	51	51	30	92	43	28	71	44	10	420
	AR (%)	3,30	1,46	1,05	0,62	0,79	0,30	0,27	0,17	0,04	8,01
<i>Selenophoma</i>	Nº Seq.	60	97	151	331	221	90	37	43	23	1053
	AR (%)	3,89	2,77	5,28	2,22	4,07	0,97	0,14	0,17	0,09	19,61
<i>Stagonosporopsis</i>	Nº Seq.	6	15	9	1132	8	5	4	2	1	1182
	AR (%)	0,39	0,43	0,31	7,60	0,15	0,05	0,02	0,01	0,00	8,96
<i>Starmerella</i>	Nº Seq.	0	13	1	0	0	2	17	0	2	35
	AR (%)	0,00	0,37	0,03	0,00	0,00	0,02	0,07	0,00	0,01	0,50
<i>Torulaspora</i>	Nº Seq.	8	111	53	107	69	88	397	87	73	993
	AR (%)	0,52	3,17	1,85	0,72	1,27	0,95	1,52	0,35	0,30	10,64
<i>Wallemia</i>	Nº Seq.	322	180	118	1147	197	115	144	131	46	2400
	AR (%)	20,85	5,14	4,13	7,70	3,63	1,24	0,55	0,52	0,19	43,95

**Tabela A11:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P9

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)							Total
		0	1	2	3	4	5	6	
<i>Aureobasidium namibiae</i>	Nº Seq.	13	6	12	17	0	11	13	72
	AR (%)	0,02	0,04	0,08	0,10	0,00	0,09	0,06	0,39
<i>Aureobasidium thailandense</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Bullera aff. pseudoalba IMUFRJ 51953</i>	Nº Seq.	168	74	44	42	350	33	57	768
	AR (%)	0,32	0,48	0,30	0,25	0,91	0,26	0,25	2,77
<i>Bullera dendrophila</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	3	3
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
<i>Candida humilis</i>	Nº Seq.	4827	8941	8856	10967	15878	8832	17964	76265
	AR (%)	9,19	58,54	59,49	65,49	41,32	70,36	78,22	382,62
<i>Candida quercitrusa</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Candida sorbosivorans</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Cladosporium delicatulum</i>	Nº Seq.	7927	1044	923	597	2105	441	634	13671
	AR (%)	15,09	6,84	6,20	3,57	5,48	3,51	2,76	43,45
<i>Cladosporium fusiforme</i>	Nº Seq.	452	125	59	49	234	57	54	1030
	AR (%)	0,86	0,82	0,40	0,29	0,61	0,45	0,24	3,67
<i>Cladosporium langeronii</i>	Nº Seq.	3284	579	504	357	1763	227	253	6967
	AR (%)	6,25	3,79	3,39	2,13	4,59	1,81	1,10	23,06
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Nº Seq.	4167	648	769	399	3574	474	364	10395
	AR (%)	7,93	4,24	5,17	2,38	9,30	3,78	1,58	34,39
<i>Cryptococcus aff. taibaiensis IMUFRJ 51982</i>	Nº Seq.	2654	568	338	298	243	393	591	5085

Gênero/ Espécie	Tempo de fermentação (dias)								
	0	1	2	3	4	5	6	Total	
	AR (%)	5,05	3,72	2,27	1,78	0,63	3,13	2,57	19,16
<i>Cryptococcus cf. taibaiensis</i> C3/20	Nº Seq.	0	18	10	23	0	7	19	77
	AR (%)	0,00	0,12	0,07	0,14	0,00	0,06	0,08	0,46
<i>Cryptococcus flavescens</i>	Nº Seq.	3	1	3	0	5	1	1	14
	AR (%)	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,00	0,06
<i>Cryptococcus</i> sp. CBS 9459	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Cryptococcus</i> sp. LRB-2012a	Nº Seq.	28	0	7	0	0	0	0	35
	AR (%)	0,05	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
<i>Cryptococcus</i> sp. P225	Nº Seq.	2672	919	1608	280	2679	318	420	8896
	AR (%)	5,09	6,02	10,80	1,67	6,97	2,53	1,83	34,91
<i>Fusarium denticulatum</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	1	0	0	1
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Fusarium lateritium</i>	Nº Seq.	16580	552	306	451	7943	439	279	26550
	AR (%)	31,57	3,61	2,06	2,69	20,67	3,50	1,21	65,32
<i>Fusarium oxysporum</i>	Nº Seq.	91	0	0	3	33	0	0	127
	AR (%)	0,17	0,00	0,00	0,02	0,09	0,00	0,00	0,28
<i>Fusarium</i> sp. mcp0910	Nº Seq.	411	13	8	15	9	2	20	478
	AR (%)	0,78	0,09	0,05	0,09	0,02	0,02	0,09	1,14
<i>Fusarium</i> sp. NRRL 22189	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Hannaella luteola</i>	Nº Seq.	104	21	6	15	40	8	3	197
	AR (%)	0,20	0,14	0,04	0,09	0,10	0,06	0,01	0,65
<i>Hannaella oryzae</i>	Nº Seq.	103	55	21	13	0	5	14	211
	AR (%)	0,20	0,36	0,14	0,08	0,00	0,04	0,06	0,88



**Tabela A12:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P12

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)								Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Aureobasidium namibiae</i>	Nº Seq.	36	109	43	94	162	90	76	105	715
	AR (%)	2,51	5,29	1,64	3,07	4,41	1,14	2,23	2,01	22,29
<i>Aureobasidium thailandense</i>	Nº Seq.	16	6	11	16	9	11	8	13	90
	AR (%)	1,11	0,29	0,42	0,52	0,24	0,14	0,23	0,25	3,22
<i>Bullera aff. pseudoalba IMUFRJ 51953</i>	Nº Seq.	75	22	88	173	210	141	110	166	985
	AR (%)	5,23	1,07	3,36	5,66	5,71	1,78	3,23	3,18	29,21
<i>Bullera dendrophila</i>	Nº Seq.	1	7	14	24	25	50	77	37	235
	AR (%)	0,07	0,34	0,53	0,79	0,68	0,63	2,26	0,71	6,01
<i>Candida humilis</i>	Nº Seq.	0	1	0	0	1	542	0	467	1011
	AR (%)	0,00	0,05	0,00	0,00	0,03	6,84	0,00	8,93	15,85
<i>Candida quercitrusa</i>	Nº Seq.	8	4	6	4	24	21	13	37	117
	AR (%)	0,56	0,19	0,23	0,13	0,65	0,27	0,38	0,71	3,12
<i>Candida sorbosivorans</i>	Nº Seq.	15	10	20	15	35	335	5	21	456
	AR (%)	1,05	0,48	0,76	0,49	0,95	4,23	0,15	0,40	8,51
<i>Cladosporium delicatulum</i>	Nº Seq.	466	839	1135	940	1312	711	1047	1668	8118
	AR (%)	32,47	40,69	43,37	30,75	35,68	8,97	30,74	31,91	254,58
<i>Cladosporium fusiforme</i>	Nº Seq.	0	4	1	12	7	0	10	2	36
	AR (%)	0,00	0,19	0,04	0,39	0,19	0,00	0,29	0,04	1,15
<i>Cladosporium langeronii</i>	Nº Seq.	40	68	99	85	136	138	70	166	802
	AR (%)	2,79	3,30	3,78	2,78	3,70	1,74	2,06	3,18	23,32
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Nº Seq.	138	280	273	393	363	310	414	475	2646
	AR (%)	9,62	13,58	10,43	12,86	9,87	3,91	12,16	9,09	81,51
<i>Cryptococcus aff. taibaiensis IMUFRJ 51982</i>	Nº Seq.	72	78	54	164	105	76	129	194	872

Gênero/ Espécie	Tempo de fermentação (dias)									Total
	0	1	2	3	4	5	6	7		
	AR (%)	5,02	3,78	2,06	5,36	2,86	0,96	3,79	3,71	27,54
<i>Cryptococcus cf. taibaiensis C3/20</i>	Nº Seq.	9	0	0	0	0	0	0	0	9
	AR (%)	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63
<i>Cryptococcus flavescens</i>	Nº Seq.	0	0	0	20	8	35	36	28	127
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,65	0,22	0,44	1,06	0,54	2,91
<i>Cryptococcus sp. CBS 9459</i>	Nº Seq.	0	6	0	8	40	19	14	14	101
	AR (%)	0,00	0,29	0,00	0,26	1,09	0,24	0,41	0,27	2,56
<i>Cryptococcus sp. LRB-2012a</i>	Nº Seq.	8	0	15	35	22	6	0	0	86
	AR (%)	0,56	0,00	0,57	1,14	0,60	0,08	0,00	0,00	2,95
<i>Cryptococcus sp. P225</i>	Nº Seq.	20	18	25	71	67	112	81	69	463
	AR (%)	1,39	0,87	0,96	2,32	1,82	1,41	2,38	1,32	12,48
<i>Fusarium denticulatum</i>	Nº Seq.	1	6	36	14	9	124	1	48	239
	AR (%)	0,07	0,29	1,38	0,46	0,24	1,56	0,03	0,92	4,95
<i>Fusarium lateritium</i>	Nº Seq.	74	15	54	35	100	588	80	104	1050
	AR (%)	5,16	0,73	2,06	1,14	2,72	7,42	2,35	1,99	23,57
<i>Fusarium oxysporum</i>	Nº Seq.	4	0	9	18	11	81	1	26	150
	AR (%)	0,28	0,00	0,34	0,59	0,30	1,02	0,03	0,50	3,06
<i>Fusarium sp. mcp0910</i>	Nº Seq.	14	66	79	88	46	595	84	162	1134
	AR (%)	0,98	3,20	3,02	2,88	1,25	7,51	2,47	3,10	24,40
<i>Fusarium sp. NRRL 22189</i>	Nº Seq.	5	8	26	22	19	93	18	0	191
	AR (%)	0,35	0,39	0,99	0,72	0,52	1,17	0,53	0,00	4,67
<i>Hannaella luteola</i>	Nº Seq.	29	18	30	60	88	33	28	113	399
	AR (%)	2,02	0,87	1,15	1,96	2,39	0,42	0,82	2,16	11,80
<i>Hannaella oryzae</i>	Nº Seq.	22	47	27	37	64	63	102	70	432
	AR (%)	1,53	2,28	1,03	1,21	1,74	0,80	2,99	1,34	12,92

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)								Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	
<i>Hannaella sinensis</i>	Nº Seq.	25	52	36	56	77	26	72	72	416
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Hannaella zeae</i>	Nº Seq.	0	0	21	0	17	5	10	12	65
	AR (%)	0,00	0,00	0,80	0,00	0,46	0,06	0,29	0,23	1,85
<i>Kazachstania exigua</i>	Nº Seq.	1	1	3	2	2	350	30	159	548
	AR (%)	0,07	0,05	0,11	0,07	0,05	4,42	0,88	3,04	8,69
<i>Kazachstania gamospora</i>	Nº Seq.	0	3	0	0	0	22	0	1	26
	AR (%)	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,02	0,44
<i>Kazachstania unispora</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Meyerozyma caribbica</i>	Nº Seq.	77	48	34	47	61	455	60	237	1019
	AR (%)	5,37	2,33	1,30	1,54	1,66	5,74	1,76	4,53	24,23
<i>Selenophoma mahoniae</i>	Nº Seq.	38	82	114	179	230	154	155	153	1105
	AR (%)	2,65	3,98	4,36	5,86	6,26	1,94	4,55	2,93	32,51
<i>Stagonosporopsis dorenboschii</i>	Nº Seq.	12	4	4	2	4	3	0	8	37
	AR (%)	0,84	0,19	0,15	0,07	0,11	0,04	0,00	0,15	1,55
<i>Stagonosporopsis loticola</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Starmerella bacillaris</i>	Nº Seq.	9	0	5	10	0	614	9	4	651
	AR (%)	0,63	0,00	0,19	0,33	0,00	7,75	0,26	0,08	9,23
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Nº Seq.	0	0	2	3	0	876	3	0	884
	AR (%)	0,00	0,00	0,08	0,10	0,00	11,06	0,09	0,00	11,32
<i>Wallemia mellicola</i>	Nº Seq.	24	15	24	33	51	44	39	55	285
	AR (%)	1,67	0,73	0,92	1,08	1,39	0,56	1,15	1,05	8,54

**Tabela A13:** Número de sequências e abundância relativa (AR) (%) de fungos responsáveis por 90% das espécies identificadas (e com pelo menos uma amostra responsável por mais 5% de sequências) nas amostras do processo P13

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)									Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Aureobasidium namibiae</i>	Nº Seq.	36	97	53	381	178	51	32	21	33	882
	AR (%)	2,32	2,75	1,84	2,54	3,28	0,55	0,12	0,01	0,00	13,40
<i>Aureobasidium thailandense</i>	Nº Seq.	34	12	21	18	9	5	3	4	6	112
	AR (%)	2,19	0,34	0,73	0,12	0,17	0,05	0,01	0,08	0,13	3,82
<i>Bullera aff. pseudoalba IMUFRJ 51953</i>	Nº Seq.	3	19	27	99	94	4	34	44	28	352
	AR (%)	0,19	0,54	0,93	0,66	1,73	0,04	0,13	0,00	0,00	4,23
<i>Bullera dendrophila</i>	Nº Seq.	0	0	16	23	3	4	10	8	1	65
	AR (%)	0,00	0,00	0,55	0,15	0,06	0,04	0,04	0,00	0,00	0,84
<i>Candida humilis</i>	Nº Seq.	71	652	511	2240	1856	6212	17783	17667	19214	66206
	AR (%)	4,57	18,50	17,69	14,90	34,18	66,95	68,09	0,00	0,00	224,89
<i>Candida quercitrusa</i>	Nº Seq.	27	64	0	14	0	0	12	3	3	123
	AR (%)	1,74	1,82	0,00	0,09	0,00	0,00	0,05	0,00	0,07	3,76
<i>Candida sorbosivorans</i>	Nº Seq.	1	16	18	25	3	21	7	18	8	117
	AR (%)	0,06	0,45	0,62	0,17	0,06	0,23	0,03	0,00	0,00	1,62
<i>Cladosporium delicatulum</i>	Nº Seq.	344	607	600	3255	678	357	370	372	219	6802
	AR (%)	22,12	17,22	20,78	21,66	12,49	3,85	1,42	0,00	0,00	99,53
<i>Cladosporium fusiforme</i>	Nº Seq.	0	1	3	31	9	0	13	0	0	57
	AR (%)	0,00	0,03	0,10	0,21	0,17	0,00	0,05	0,00	0,00	0,55
<i>Cladosporium langeronii</i>	Nº Seq.	26	63	50	422	49	29	31	51	32	753
	AR (%)	1,67	1,79	1,73	2,81	0,90	0,31	0,12	0,00	0,00	9,33
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Nº Seq.	106	178	180	1163	416	164	130	184	67	2588
	AR (%)	6,82	5,05	6,23	7,74	7,66	1,77	0,50	0,01	0,01	35,79
<i>Cryptococcus aff. taibaiensis IMUFRJ 51982</i>	Nº Seq.	4	48	31	53	13	24	21	49	17	260

Gênero/ Espécie	Tempo de fermentação (dias)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	Total	
	AR (%)	0,26	1,36	1,07	0,35	0,24	0,26	0,08	0,02	0,00	3,64
<i>Cryptococcus cf. taibaiensis C3/20</i>	Nº Seq.	0	0	7	0	0	0	0	4	0	11
	AR (%)	0,00	0,00	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,25
<i>Cryptococcus flavescens</i>	Nº Seq.	0	0	14	0	0	3	7	6	3	33
	AR (%)	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	0,03	0,03	0,00	0,00	0,54
<i>Cryptococcus sp. CBS 9459</i>	Nº Seq.	0	0	5	9	6	8	1	0	9	38
	AR (%)	0,00	0,00	0,17	0,06	0,11	0,09	0,00	0,00	0,00	0,43
<i>Cryptococcus sp. LRB-2012a</i>	Nº Seq.	0	17	18	0	12	0	6	16	0	69
	AR (%)	0,00	0,48	0,62	0,00	0,22	0,00	0,02	0,00	0,04	1,39
<i>Cryptococcus sp. P225</i>	Nº Seq.	15	0	27	12	14	14	18	6	11	117
	AR (%)	0,96	0,00	0,93	0,08	0,26	0,15	0,07	0,06	0,00	2,52
<i>Fusarium denticulatum</i>	Nº Seq.	9	17	16	276	89	29	34	49	37	556
	AR (%)	0,58	0,48	0,55	1,84	1,64	0,31	0,13	0,01	0,00	5,54
<i>Fusarium lateritium</i>	Nº Seq.	55	50	83	471	135	66	64	74	34	1032
	AR (%)	3,54	1,42	2,87	3,13	2,49	0,71	0,25	0,19	0,15	14,75
<i>Fusarium oxysporum</i>	Nº Seq.	13	19	23	140	29	16	4	13	8	265
	AR (%)	0,84	0,54	0,80	0,93	0,53	0,17	0,02	0,00	0,00	3,82
<i>Fusarium sp. mcp0910</i>	Nº Seq.	23	95	54	108	92	57	68	41	12	550
	AR (%)	1,48	2,70	1,87	0,72	1,69	0,61	0,26	0,00	0,00	9,33
<i>Fusarium sp. NRRL 22189</i>	Nº Seq.	16	29	10	38	2	0	10	7	0	112
	AR (%)	1,03	0,82	0,35	0,25	0,04	0,00	0,04	0,16	0,05	2,74
<i>Hannaella luteola</i>	Nº Seq.	1	18	22	21	38	54	12	13	8	187
	AR (%)	0,06	0,51	0,76	0,14	0,70	0,58	0,05	0,00	0,00	2,80
<i>Hannaella oryzae</i>	Nº Seq.	20	82	5	66	36	45	17	35	55	361
	AR (%)	1,29	2,33	0,17	0,44	0,66	0,48	0,07	0,05	0,03	5,52

Gênero/ Espécie		Tempo de fermentação (dias)									Total
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>Hannaella sinensis</i>	Nº Seq.	8	1	12	13	9	23	22	101	48	237
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,22
<i>Hannaella zeae</i>	Nº Seq.	0	0	0	60	2	0	0	4	4	70
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,40	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Kazachstania exigua</i>	Nº Seq.	33	304	237	560	694	1324	5731	5630	4148	18661
	AR (%)	2,12	8,63	8,21	3,73	12,78	14,27	21,95	0,00	0,00	71,68
<i>Kazachstania gamospora</i>	Nº Seq.	0	28	13	55	50	92	367	187	117	909
	AR (%)	0,00	0,79	0,45	0,37	0,92	0,99	1,41	0,74	0,48	6,15
<i>Kazachstania unispora</i>	Nº Seq.	0	0	0	0	0	0	2	0	1	3
	AR (%)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01
<i>Meyerozyma caribbica</i>	Nº Seq.	51	44	25	92	36	28	71	44	10	401
	AR (%)	3,28	1,25	0,87	0,61	0,66	0,30	0,27	0,17	0,04	7,46
<i>Selenophoma mahoniae</i>	Nº Seq.	60	97	151	331	221	90	37	43	23	1053
	AR (%)	3,86	2,75	5,23	2,20	4,07	0,97	0,14	0,17	0,09	19,49
<i>Stagonosporopsis dorenboschii</i>	Nº Seq.	5	15	7	1021	6	5	4	2	1	1066
	AR (%)	0,32	0,43	0,24	6,79	0,11	0,05	0,02	0,01	0,00	7,97
<i>Stagonosporopsis loticola</i>	Nº Seq.	1	0	2	109	0	0	0	0	0	112
	AR (%)	0,06	0,00	0,07	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,86
<i>Starmerella bacillaris</i>	Nº Seq.	0	13	1	0	0	2	17	0	2	35
	AR (%)	0,00	0,37	0,03	0,00	0,00	0,02	0,07	0,00	0,01	0,50
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Nº Seq.	8	111	53	107	69	88	396	87	73	992
	AR (%)	0,51	3,15	1,84	0,71	1,27	0,95	1,52	0,34	0,30	10,59
<i>Wallemia mellicola</i>	Nº Seq.	322	180	118	1147	197	115	144	131	46	2400
	AR (%)	20,71	5,11	4,09	7,63	3,63	1,24	0,55	0,52	0,19	43,66

**Tabela A14:** Número de sequências dos gêneros identificados na região 16S (bactérias) na análise de identificação genética da comunidade microbiana

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Acetobacter</i>	7	6	4	36	2	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	22	30	4	17	4	23	19	9	7
<i>Achromobacter</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	0	0	1	0	1
<i>Acidovorax</i>	1	1	2	9	0	2	2	3	2	0	0	0	0	0	0	1	10	1	1	0	1	1	0	2
<i>Acinetobacter</i>	0	0	3	20	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>Actinomycetospora</i>	2	0	2	0	0	1	1	1	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
<i>Actinoplanes</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1
<i>Aerococcus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
<i>Aeromicrobium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Afiopia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Agrobacterium</i>	54	6	7	21	0	2	7	9	10	15	14	1	1	2	4	17	23	11	2	0	2	4	0	2
<i>Akkermansia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Albibacter</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Alcaligenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	1
<i>Aliihoeflea</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Alistipes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Altererythrobacter</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Amnibacterium</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Anaerostipes</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Angustibacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Anoxybacillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aquamicrobium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aquitalea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4	0	0	0	0	1	0



	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Buttiauxella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Campylobacter</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Carnobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Catellatospora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Catenibacterium</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Caulobacter</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	5	0	1	3	2	0	0	0	1
<i>Cedecea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellulomonas</i>	0	3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	2	1	0	0
<i>Cellulosimicrobium</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellvibrio</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chelatococcus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium</i>	8	12	5	56	1	3	1	0	0	1	1	0	0	0	0	41	32	9	0	10	1	6	8	1
<i>Citrobacter</i>	9	40	22	38	66	16	12	6	2	1	2	9	12	10	4	1	518	3	8	0	7	2	0	0
<i>Cloacibacterium</i>	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium</i>	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Collinsella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Comamonas</i>	12	28	7	67	6	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	9	26	10	3	15	0	0	4	3
<i>Conexibacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Coprococcus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium</i>	2	1	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	3	2	0
<i>Cronobacter</i>	1	22	8	20	4	23	19	2	1	5	2	7	2	2	13	26	6	10	1	1	23	3	16	11
<i>Cryobacterium</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptosporangium</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
<i>Curtobacterium</i>	3	3	1	3	1	0	2	2	3	8	3	1	2	1	3	6	5	0	0	3	0	0	2	0
<i>Curvibacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Cystobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Deinococcus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Delftia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
<i>Dendrobium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
<i>Desulfovibrio</i>	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Devosia</i>	5	1	0	2	0	0	1	2	3	7	3	2	2	5	3	21	2	1	1	1	0	2	1	1
<i>Dialister</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diaphorobacter</i>	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Dickeya</i>	2	3	3	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Dysgonomonas</i>	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Dorea</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
<i>Duganella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Dyadobacter</i>	0	0	1	1	0	0	0	3	2	0	1	0	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0
<i>Dyella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Dysgonomonas</i>	0	6	2	17	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Edaphobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Ensifer</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter</i>	9272	3700	8790	3592	2839	2450	2659	13129	3339	4351	9351	8453	9374	6462	9922	2899	12971	4684	2449	513	7843	2637	1284	4517
<i>Enterococcus</i>	1	4	5	23	2	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6	5	0	4	0	0	1	0
<i>Epilithonimonas</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Erwinia</i>	2	20	13	5	1	8	9	6	10	4	25	2	12	4	17	7	1	4	8	3	15	0	5	7
<i>Escherichia</i>	299	57	56	103	41	51	18	17	31	28	14	11	14	25	15	7	45	43	33	8	3	9	18	13
<i>Eubacterium</i>	0	1	9	1	0	0	2	0	0	0	10	0	1	1	1	1	0	1	0	0	2	1	1	0
<i>Faecalibacterium</i>	0	1	3	0	0	0	0	2	0	0	4	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	3	0
<i>Falsirhodobacter</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Flavobacterium</i>	7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0
<i>Flectobacillus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Frischella</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Frigoribacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fructobacillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3	5	4	3	0	0	0	0	3	2	1	1	2	1
<i>Fusicatenibacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Gemmiger</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Geodermatophilus</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Gibbsiella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
<i>Gluconacetobacter</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Gluconobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	11	0	0	0	3	0	3	1
<i>Gracilibacillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hafnia</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Herbiconiux</i>	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Holdemanella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hydrogenophaga</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hymenobacter</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Intestinibacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Janthinobacterium</i>	2	0	0	3	0	1	1	0	2	0	1	0	2	1	0	4	1	0	2	2	1	2	1	0
<i>Jonesia</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kaistobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Kineococcus</i>	1	2	2	0	0	1	1	4	0	5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kineosporia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Kitasatospora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella</i>	58	86	66	1485	63	44	199	111	115	291	103	1220	82	181	381	49	138	67	344	169	631	294	369	427

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Kluyvera</i>	2	14	77	4	16	9	6	3	12	33	177	114	210	9	17	424	3	1	67	17	108	1	10	6
<i>Kocuria</i>	0	6	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0
<i>Kosakonia</i>	704	25	19	25	12	33	6	4	4	0	1	1	0	3	1	1	0	7	0	0	1	0	1	3
<i>Kribbella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Kurthia</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Labrys</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lachnoclostridium</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i>	276	6470	7248	6958	14301	6222	8630	0	0	3	26	7	30	592	1545	5	119	1021	7538	3945	3851	4711	4755	3652
<i>Lactococcus</i>	7	193	213	213	191	213	177	3	15	104	82	142	232	180	50	17	643	539	597	271	280	434	559	237
<i>Larkinella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Leclercia</i>	8	3	1	0	2	0	0	1	0	0	0	2	2	1	4	1	4	1	1	0	4	1	1	5
<i>Leifsonia</i>	0	1	0	2	0	1	0	2	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Lelliottia</i>	0	3	1	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Leucobacter</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2
<i>Leuconostoc</i>	7	430	341	284	309	202	204	0	1	53	162	216	300	266	184	3	56	1062	522	665	562	532	692	440
<i>Listeria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Luteimonas</i>	4	4	2	11	0	7	3	3	5	8	1	1	0	7	1	9	12	6	1	6	1	1	1	2
<i>Luteolibacter</i>	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lysinimonas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lysobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Marisediminicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Marmoricola</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Massilia</i>	15	2	3	2	1	6	0	3	9	4	1	1	0	2	2	1	8	4	12	0	1	1	2	1
<i>Megamonas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Melittangium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Mesorhizobium</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methanobrevibacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Methylobacterium</i>	60	63	39	32	18	62	40	52	43	56	21	24	25	44	36	34	51	23	14	12	14	14	11	30
<i>Microbacterium</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0
<i>Microbispora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Micrococcus</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Micromonospora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Microvirgula</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Miniimonas</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Moraxella</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Morganella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mucilaginibacter</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mycobacterium</i>	1	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0
<i>Mycoplana</i>	11	1	2	3	2	2	0	10	5	3	2	1	1	4	3	3	13	4	0	2	3	2	2	3
<i>Myroides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Nakamurella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
<i>Neorhizobium</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nitrosospira</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Nocardioides</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0
<i>Novosphingobium</i>	13	7	4	20	1	4	3	4	6	0	2	2	2	5	3	7	11	1	0	2	0	1	2	3
<i>Oceanobacillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	0	4	1	0	1	0	0
<i>Ochrobactrum</i>	0	4	0	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	18	1	3	0	3	0	3	0	0
<i>Oenococcus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Oscillatoria</i>	2255	1451	1188	1428	856	1179	1002	2740	3105	4081	2146	1759	1754	2458	2915	3674	3239	3259	2227	2071	1521	1358	2199	1807
<i>Paenibacillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Paenochrobactrum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pandoraea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea</i>	3473	5483	1581	1513	2155	5376	5969	5467	10073	3558	4819	3377	8162	2271	3972	2942	1349	2624	3562	3041	2435	3895	6834	3455
<i>Paracoccus</i>	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	1	0
<i>Parasutterella</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pedobacter</i>	25	8	2	4	2	3	1	3	7	7	4	0	0	1	1	12	13	0	0	0	1	0	1	0
<i>Pelomonas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Phenylobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Photobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Phycicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phytobacter</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pluralibacter</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	3	0	0	0	0	3	8	0	0	62
<i>Polaromonas</i>	3	2	0	1	0	0	2	0	2	0	0	1	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Providencia</i>	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudochrobactrum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pseudoduganella</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudokineococcus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i>	72	65	25	33	12	28	15	3	3	0	6	2	2	1	2	62	10	6	1	2	0	1	1	0
<i>Pseudonocardia</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudorhodofera</i>	3	0	0	3	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Pseudoxanthomonas</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Ralstonia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Raoultella</i>	4	1	10	14	1	1	5	4	2	5	9	14	3	4	14	1	11	0	10	1	1	12	23	4
<i>Renibacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Rhizobium</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	3	3	3	0	0	0	0	5	0	7	2	0	0	0	1	1

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Rhodococcus</i>	0	0	0	0	1	2	0	0	0	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Rhodopila</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Rhodopseudomonas</i>	1	0	0	0	0	0	0	3	1	5	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Roseburia</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rosenbergiella</i>	4	4	3	2	1	288	1	88	129	376	114	503	121	217	202	6280	23	32	14	16	10	18	18	12
<i>Roseomonas</i>	5	3	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	2	1	1	0	4	4	0	1	0	2	0
<i>Ruminiclostridium</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ruminococcus</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Saccharibacillus</i>	0	6	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Salmonella</i>	2	3	2	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sanguibacter</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Selenomonas</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia</i>	24	7	2	5	23	5	5	36	28	172	18	31	30	55	33	23	64	1166	27	53	8	9	20	14
<i>Shigella</i>	2	0	2	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
<i>Shinella</i>	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1
<i>Sinorhizobium</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Solirubrobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium</i>	0	3	1	8	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	14	15	1	0	0	1	1	0
<i>Sphingobium</i>	0	1	2	3	0	0	0	8	1	12	1	0	0	1	0	0	4	1	0	2	0	0	1	1
<i>Sphingomonas</i>	72	40	26	17	14	32	27	75	97	79	32	21	18	43	40	97	145	30	46	16	38	21	26	23
<i>Sphingopyxis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	3	1
<i>Stenotrophomonas</i>	17	16	5	14	1	3	5	3	12	32	3	4	4	9	0	26	17	4	3	1	1	2	3	4
<i>Streptococcus</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Streptomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0
<i>Streptosporangium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Tatumella</i>	0	0	0	0	3	0	0	8	114	208	43	28	57	16	80	3	150	105	15	54	15	13	25	31
<i>Telluria</i>	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Terrimonas</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thauera</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Variovorax</i>	2	1	0	0	0	0	1	3	1	0	0	1	0	2	0	1	5	2	1	0	0	0	1	1
<i>Weissella</i>	0	241	129	138	182	69	85	0	21	891	1328	2227	3920	2157	1779	1	343	3351	1786	2172	1749	1806	1681	952
<i>Xanthomonas</i>	0	0	1	4	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Xenophilus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Yokenella</i>	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	45	0	0	0
<i>Yonghaparkia</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Zymobacter</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1	0	0	0	1











Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	1	3	0	2	0	3	0	2	4	2	4	1	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	1	1
<i>Burkholderia cepacia</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Burkholderia sabiae</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Burkholderia</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Burkholderia zhejiangensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Buttiauxella izardii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Campylobacter</i> sp.	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Carnobacterium divergens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Catellatospora yuxiensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Catenibacterium mitsuokai</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Caulobacter</i> sp.	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Caulobacter vibrioides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	3	2	0	0	0	1
<i>Cedecea davisae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellulomonas cellasea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellulomonas flavigena</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellulomonas hominis</i>	0	1	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	1	0	0
<i>Cellulomonas</i> sp.	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellvibrio fibrivorans</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cellvibrio ostraviensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chelatococcus asaccharovorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium bovis</i>	0	0	0	20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	1	0	3	1	0
<i>Chryseobacterium culicis</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium defluvii</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium hagamense</i>	0	3	1	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	6	6	4	0	0	1	0	1	0

Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Chryseobacterium hominis</i>	5	6	2	19	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	30	16	2	0	8	0	3	2	1
<i>Chryseobacterium indoltheticum</i>	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0
<i>Chryseobacterium koreense</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium pallidum</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium taichungense</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Chryseobacterium taiwanense</i>	0	1	2	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7	0	0	0	0	0	1	0
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter braakii</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	2	12	10	25	4	7	2	1	0	0	0	1	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter murlinae</i>	7	22	7	11	62	9	10	5	2	1	2	7	12	6	3	0	518	3	8	0	7	2	0	0
<i>Citrobacter rodentium</i>	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter werkmanii</i>	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter youngae</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cloacibacterium normanense</i>	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium beijerinckii</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium magnum</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium pasteurianum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clostridium puniceum</i>	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Collinsella aerofaciens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Comamonas aquatica</i>	1	0	0	12	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Comamonas kerstersii</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Comamonas koreensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Comamonas sp.</i>	6	15	2	14	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Comamonas terrigena</i>	1	0	1	6	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	0	6	0	0	0	0
<i>Comamonas testosteroni</i>	4	13	3	35	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7	24	7	2	9	0	0	4	3





Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Enterobacter hormaechei</i>	5265	2007	3571	1356	1480	996	1379	5585	1487	2340	2278	6766	7480	3260	5631	2221	6068	3640	868	197	6274	1397	598	2864
<i>Enterobacter kobei</i>	39	9	2	4	4	2	1	10	2	4	5	12	12	3	12	3	16	7	1	2	13	0	2	3
<i>Enterobacter ludwigii</i>	851	204	434	77	289	45	57	21	8	282	150	93	60	27	1726	88	24	5	30	4	14	7	5	15
<i>Enterobacter mori</i>	20	3	8	4	6	1	3	8	6	7	11	28	19	11	13	8	18	11	0	0	12	4	2	6
<i>Enterobacter sp.</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Enterobacteriaceae sp.</i>	488	285	524	1518	671	400	251	19	61	67	56	36	21	105	119	7	1289	56	13	26	576	28	161	552
<i>Enterococcus avium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0
<i>Enterococcus devriesei</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0
<i>Enterococcus gallinarum</i>	0	0	0	6	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus italicus</i>	1	1	5	11	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0
<i>Enterococcus malodoratus</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Enterococcus mundtii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Epilithonimonas tenax</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Erwinia billingiae</i>	1	8	9	3	1	5	6	6	10	4	25	1	12	4	1	6	1	4	4	3	2	0	3	7
<i>Erwinia mallotivora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Erwinia persicina</i>	0	11	4	2	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	4	0	0	0	0	0
<i>Erwinia rhapontici</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	13	0	0	0
<i>Erwinia toletana</i>	1	1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Escherichia coli</i>	22	5	9	5	30	10	5	14	20	22	9	7	11	18	10	7	27	21	12	3	2	5	9	10
<i>Escherichia hermannii</i>	277	41	40	84	8	32	13	0	0	1	1	3	1	1	2	0	1	1	19	1	1	0	2	2
<i>Escherichia sp. KTE31</i>	0	2	2	0	1	0	0	2	0	2	2	0	1	1	2	0	2	1	0	1	0	1	0	1
<i>Escherichia vulneris</i>	0	9	5	14	2	9	0	1	11	3	2	1	1	5	1	0	15	20	2	3	0	3	7	0
<i>Eubacterium rectale</i>	0	1	9	1	0	0	2	0	0	0	10	0	1	1	1	1	0	1	0	0	2	1	1	0



Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Hymenobacter flocculans</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Hymenobacter swuensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Intestinibacter bartlettii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Janthinobacterium agaricidamnosum</i>	2	0	0	3	0	1	0	0	1	0	0	0	2	0	0	3	1	0	0	1	0	1	0	0
<i>Janthinobacterium lividum</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	2	1	1	1	1	0
<i>Jonesia quinghaiensis</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kaistobacter terrae</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Kineococcus radiotolerans</i>	1	2	2	0	0	1	1	3	0	5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kineococcus rhizosphaerae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kineosporia aurantiaca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Kineosporia mesophila</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kitasatospora atroaurantiaca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	41	79	61	1479	60	42	196	100	111	284	99	1200	66	171	365	47	132	55	343	168	625	289	365	423
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17	7	5	6	3	2	3	11	4	7	4	20	16	10	16	2	6	12	1	1	6	5	4	4
<i>Kluyvera ascorbata</i>	0	0	68	2	6	0	4	0	5	13	147	7	6	1	5	3	2	0	0	13	1	0	4	0
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	2	10	3	0	2	8	0	3	6	16	11	107	204	8	12	421	1	1	67	3	107	1	5	6
<i>Kluyvera georgiana</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kluyvera intermedia</i>	0	3	6	2	8	1	2	0	1	4	19	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>Kocuria carniphila</i>	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kocuria halotolerans</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0
<i>Kocuria marina</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kocuria palustris</i>	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kosakonia cowanii</i>	704	25	18	23	12	33	6	4	4	0	1	1	0	3	1	1	0	7	0	0	1	0	1	3
<i>Kosakonia sacchari</i>	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kribbella swartbergensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Kurthia zopfii</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Labrys wisconsinensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus algidus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus bif fermentans</i>	0	2	5	6	2	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Lactobacillus brevis</i>	41	297	442	438	1021	411	603	0	0	1	5	4	7	36	49	0	12	90	324	176	165	494	218	154
<i>Lactobacillus buchneri</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	2	1	5	4
<i>Lactobacillus camelliae</i>	0	9	5	12	9	14	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	3	1	1	0
<i>Lactobacillus casei</i>	0	2	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6	11	31	12	13	63	15	7
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	3	24	30	115	75	75	96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	4	9	7	6
<i>Lactobacillus curvatus</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus diolivorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	3
<i>Lactobacillus farciminis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	11	51	91	50	61	98	99	78
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	3	2	25	3	3
<i>Lactobacillus iwatensis</i>	0	2	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus kimchiensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<i>Lactobacillus mali</i>	0	10	5	8	9	5	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	3	1	2	0	3
<i>Lactobacillus manihotivorans</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus mindensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Lactobacillus mudanjiangensis</i>	1	125	133	170	156	102	141	0	0	0	0	0	0	3	4	0	1	1	11	23	5	32	16	13
<i>Lactobacillus nagelii</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus namurensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Lactobacillus nantensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0
<i>Lactobacillus nasuensis</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus odoratitofui</i>	10	132	119	100	152	86	98	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	10	26	14	22	12	26	13
<i>Lactobacillus pantheris</i>	0	30	39	27	16	20	32	0	0	0	1	0	1	5	4	0	6	60	165	292	237	238	303	285

Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Lactobacillus parabrevis</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus paracasei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Lactobacillus paralimentarius</i>	0	1	2	4	5	2	9	0	0	0	0	0	0	3	0	0	5	12	26	23	27	53	86	102
<i>Lactobacillus paucivorans</i>	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus pentosus</i>	0	2	4	8	32	6	4	0	0	0	0	0	0	2	6	0	0	3	39	15	19	41	40	25
<i>Lactobacillus perolens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	21	2196	2694	2687	7041	2270	3249	0	0	1	11	3	15	521	1468	0	49	574	4588	2721	2533	2929	3330	2390
<i>Lactobacillus porcinae</i>	19	142	195	248	243	228	245	0	0	0	0	0	0	0	0	1	10	18	61	27	42	22	27	37
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1
<i>Lactobacillus satsumensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Lactobacillus similis</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus songhuajiangensis</i>	36	1321	1752	1692	1980	1776	2267	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus sp.</i>	0	2	1	1	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	1	0	1
<i>Lactobacillus spicheri</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	2	2	1	0	6	155	1834	398	528	440	369	366
<i>Lactobacillus suebicus</i>	0	4	3	3	3	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0
<i>Lactobacillus uvarum</i>	0	1	3	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus vaccिनosterqus</i>	144	2052	1650	1309	3454	1162	1659	0	0	1	3	0	0	13	6	1	4	15	177	79	60	68	80	29
<i>Lactobacillus xiangfangensis</i>	0	115	165	126	83	53	191	0	0	0	0	0	0	4	7	0	0	7	90	95	115	156	110	120
<i>Lactobacillus zymae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	59	8	8	17	19	11
<i>Lactococcus fujiensis</i>	2	4	2	0	1	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	1	0
<i>Lactococcus garvieae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Lactococcus lactis</i>	5	189	211	213	189	208	174	3	15	104	82	142	232	180	45	17	643	539	594	271	280	432	557	237
<i>Lactococcus piscium</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Larkinella insperata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	8	3	1	0	2	0	0	1	0	0	0	2	2	1	4	1	4	1	1	0	4	1	1	5



Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Massilia plicata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Massilia suwonensis</i>	2	2	0	1	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Massilia timonae</i>	0	0	1	1	0	3	0	1	3	2	1	0	0	0	1	1	8	4	8	0	1	1	2	0
<i>Megamonas hypermegale</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Melittangium lichenicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mesorhizobium amorphae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mesorhizobium loti</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mesorhizobium mediterraneum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Methylobacterium adhaesivum</i>	8	10	8	7	0	10	4	7	7	8	3	5	6	6	11	9	12	1	7	0	4	6	1	13
<i>Methylobacterium aerolatum</i>	0	0	1	0	0	4	0	1	0	3	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Methylobacterium aquaticum</i>	4	8	1	3	1	3	0	6	14	15	2	6	6	7	6	5	10	5	1	2	1	1	1	3
<i>Methylobacterium cerastii</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
<i>Methylobacterium extorquens</i>	6	2	5	7	0	1	6	4	4	6	1	2	4	4	1	0	4	0	1	2	2	3	2	1
<i>Methylobacterium fujisawaense</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methylobacterium gnaphalii</i>	5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Methylobacterium gregans</i>	0	3	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Methylobacterium komagatae</i>	3	8	4	3	4	5	5	3	1	1	3	0	2	3	1	0	1	0	0	2	2	0	0	1
<i>Methylobacterium marchantiae</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Methylobacterium oxalidis</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	29	24	16	11	13	30	18	30	12	19	8	8	4	19	13	16	22	16	4	5	3	1	2	10
<i>Methylobacterium rhodinum</i>	0	7	2	0	0	8	2	0	3	2	0	0	3	1	0	2	2	0	0	1	0	1	0	1
<i>Methylobacterium soli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Methylobacterium thiocyanatum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0



Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Mycoplana ramosa</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Myroides odoratus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Nakamurella flavida</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Nakamurella multipartita</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Neorhizobium huautlense</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nitrosospira</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Nocardioides alpinus</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nocardioides caeni</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nocardioides lianchengensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>Nocardioides oleivorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nocardioides</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nocardioides terrigena</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Novosphingobium barchaimii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Novosphingobium capsulatum</i>	0	4	3	13	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	2	0	0	0	0
<i>Novosphingobium panipatense</i>	7	3	1	5	0	2	3	1	6	0	2	0	0	5	1	4	3	0	0	0	0	1	1	3
<i>Novosphingobium resinovororum</i>	6	0	0	0	1	1	0	3	0	0	0	2	0	0	2	0	4	1	0	0	0	0	0	0
<i>Novosphingobium rosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>Novosphingobium sedimnicola</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Oceanobacillus chironomi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0
<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Oceanobacillus profundus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0	0
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	3	0	0	0	0
<i>Ochrobactrum daejeonense</i>	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>Ochrobactrum grignonense</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ochrobactrum pseudogrignonense</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	16	0	1	0	0	0	3	0	0

Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Oenococcus kitaharae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Paenibacillus caespitis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paenibacillus camelliae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Paenibacillus daejeonensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paenibacillus illinoisensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paenochrobactrum glaciei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pandoraea promenusa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i>	1563	299	313	286	225	605	224	4303	83	193	37	1682	39	50	199	53	201	25	1347	45	15	135	162	48
<i>Pantoea ananatis</i>	117	112	53	102	93	104	89	56	36	42	188	36	50	42	37	40	17	22	27	18	22	21	27	45
<i>Pantoea anthophila</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Pantoea cedenensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea cypripedii</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	4	0
<i>Pantoea dispersa</i>	1590	4865	977	1020	1772	4461	5500	857	9867	3237	4519	1357	7731	2111	3421	2762	1097	2530	760	2951	2208	3606	6364	3174
<i>Pantoea endophytica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Pantoea eucalypti</i>	1	20	2	4	2	3	5	10	12	16	5	135	4	19	8	29	3	7	73	11	30	9	198	87
<i>Pantoea rodasii</i>	0	16	0	6	0	5	0	0	0	2	1	3	0	0	5	2	0	5	0	0	0	2	0	0
<i>Pantoea rwandensis</i>	0	1	2	13	0	0	1	191	0	3	1	74	2	1	13	0	3	0	2	0	0	5	2	2
<i>Pantoea septica</i>	8	8	3	8	3	5	1	12	5	9	6	12	5	2	28	2	1	0	1	1	4	20	15	2
<i>Pantoea sp.</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea stewartii</i>	50	98	50	29	5	36	83	31	64	19	61	71	326	44	260	48	26	34	16	11	152	93	56	89
<i>Pantoea vagans</i>	137	62	181	40	51	151	62	6	2	35	1	1	1	1	1	5	1	1	1334	3	1	1	1	6
<i>Pantoea wallisii</i>	7	1	0	2	3	5	4	1	4	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1	1	1	1	5	2
<i>Paracoccus aminophilus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paracoccus aminovorans</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paracoccus denitrificans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0



Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Pseudochrobactrum saccharolyticum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pseudoduganella violaceinigra</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudokineococcus marinus</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas cremoricolorata</i>	1	4	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fulva</i>	34	50	15	17	11	11	7	0	1	0	0	2	1	0	2	1	3	2	1	1	0	1	0	0
<i>Pseudomonas lutea</i>	9	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas oleovorans</i>	7	0	3	0	0	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas oryziphila</i>	9	5	1	2	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Pseudomonas peli</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	2	0	0	0	0	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	8	3	1	0	1	0	0	0	0
<i>Pseudomonas putida</i>	7	3	2	12	1	5	1	0	0	0	6	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas rhizosphaerae</i>	3	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas savastanoi</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	47	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudonocardia tropica</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas xanthomarina</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas xiamenensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudorhodoferax aquiterrae</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pseudorhodoferax caeni</i>	0	0	0	3	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Pseudoxanthomonas indica</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Ralstonia pickettii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	6	0	3	12	0	0	4	0	0	3	3	13	2	1	12	0	0	0	0	1	0	11	23	1



Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Selenomonas lactificex</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia liquefaciens</i>	17	2	2	3	12	4	2	7	1	9	3	3	5	4	3	5	14	1	6	1	4	1	5	8
<i>Serratia marcescens</i>	0	1	0	2	1	0	1	21	21	153	12	18	23	48	26	11	29	1142	20	49	4	7	14	3
<i>Serratia proteamaculans</i>	7	4	0	0	10	1	2	4	6	8	3	10	2	3	2	7	19	7	1	2	0	1	1	3
<i>Serratia ureilytica</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	2	0	0	0	0	2	0	2	16	0	1	0	0	0	0
<i>Shigella boydii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Shigella flexneri</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Shinella fusca</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Shinella kummerowiae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Shinella yambaruensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Shinella zoogloeoides</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Sinorhizobium fredii</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Solirubrobacter soli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium antarcticum</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium bambusae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium cladoniae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium daejeonense</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	1	0	0	1	0	0
<i>Sphingobacterium lactis</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium pakistanense</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobacterium wenxiniae</i>	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	3	0	0	0	0	1	0
<i>Sphingobium amiense</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobium estrogenivorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0

Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Sphingobium herbicidovorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	1	12	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobium limneticum</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobium suberifaciens</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobium sufflavum</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobium vulgare</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingobium yanoikuyae</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingomonas adhaesiva</i>	7	1	1	1	0	2	1	3	2	0	0	0	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0	2	6
<i>Sphingomonas agrestis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Sphingomonas azotifigens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	3
<i>Sphingomonas canadensis</i>	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingomonas cynarae</i>	1	0	1	1	0	0	1	3	2	3	1	0	0	5	2	2	6	0	1	0	2	3	0	0
<i>Sphingomonas desiccabilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
<i>Sphingomonas dokdonensis</i>	0	2	1	0	0	0	0	3	4	1	0	0	0	1	0	2	2	2	2	2	1	2	2	0
<i>Sphingomonas echinoides</i>	0	3	2	0	0	5	0	1	0	1	0	0	0	0	1	3	5	0	1	2	0	0	0	0
<i>Sphingomonas faeni</i>	3	0	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
<i>Sphingomonas jaspsi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Sphingomonas koreensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1	0	0
<i>Sphingomonas kwangyangensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sphingomonas leidyi</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	1	0	6	15	1	2	2	0	1	0	0	0
<i>Sphingomonas mali</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	3	0	2	0	2	1	0	0	0	0	0
<i>Sphingomonas melonis</i>	15	7	1	4	1	5	3	12	1	15	10	5	6	6	10	15	31	8	9	3	4	3	3	3
<i>Sphingomonas mucosissima</i>	5	6	2	3	4	0	0	4	55	6	1	4	1	5	5	14	43	3	7	2	4	1	8	2
<i>Sphingomonas pannii</i>	0	0	0	0	0	3	0	6	7	3	3	2	2	2	0	12	13	3	2	1	1	1	0	2
<i>Sphingomonas parapaucimobilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	3	0	0	0	0	1	0	0





Espécies	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>[Clostridium] saccharolyticum</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>[Clostridium] sporosphaeroides</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>[Eubacterium] siraeum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>[Ruminococcus] gnavus</i>	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>[Ruminococcus] obeum</i>	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>[Ruminococcus] torques</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>uncultured Oscillatoria sp.</i>	2255	1451	1188	1428	856	1179	1002	2740	3105	4081	2146	1759	1754	2458	2915	3674	3239	3259	2227	2071	1521	1358	2199	1807

**Tabela A16:** Número de sequências dos gêneros identificados na região ITS (fungos) na análise de identificação genética da comunidade microbiana

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Acremonium</i>	0	0	2	1	0	0	0	0	4	10	0	0	1	2	15	0	0	1	0	0	2	0	2	0
<i>Acrocalymma</i>	25	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acrostalagmus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0
<i>Alternaria</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Arxiella</i>	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6	0	1	0	12	14	0	0	0	0	13	2	0
<i>Aureobasidium</i>	13	8	12	17	0	11	13	52	115	59	110	171	101	84	118	70	109	76	399	188	56	35	25	39
<i>Bagnisiella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
<i>Bandoniozyma</i>	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bartalinia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Biatriospora</i>	0	0	0	2	0	1	0	2	0	0	0	0	3	10	0	0	0	0	12	10	0	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	0	0	4	0	0	0	0	0	0	6	0	11	8	0	3	0	0	0	2	3	0	0	0	0
<i>Boeremia</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
<i>Bullera</i>	168	74	44	42	350	36	60	76	29	102	197	235	193	187	206	3	19	43	122	97	8	44	52	29
<i>Bulleromyces</i>	20	5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida</i>	4	0	0	0	2	0	0	8	4	6	4	24	23	13	37	31	64	0	15	0	0	12	3	3
<i>Ceratobasidium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0
<i>Cercospora</i>	453	48	31	18	49	26	18	11	0	17	4	0	8	69	11	2	32	9	44	12	0	0	4	0
<i>Cladosporium</i>	15990	2412	2273	1419	7753	1207	1311	644	1199	1514	1436	1825	1160	1549	2336	476	851	834	4914	1156	555	546	609	321
<i>Claviceps</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clonostachys</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	10	0	0	0	0	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0
<i>Cochliobolus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
<i>Colletotrichum</i>	792	0	3	1	183	3	0	0	0	0	2	0	0	6	3	0	0	0	19	1	0	0	0	0

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Coniothyrium</i>	196	15	10	58	38	3	18	0	0	4	0	10	9	10	0	2	0	10	0	0	0	0	5	0
<i>Cryptococcus</i>	5734	1510	1982	615	2967	724	1079	117	112	95	300	272	248	285	316	19	72	102	76	48	54	72	108	45
<i>Curvularia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cyphellophora</i>	40	0	1	3	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cystofilobasidium</i>	103	13	3	5	39	4	0	0	3	0	0	4	7	7	41	6	15	20	43	5	5	27	2	3
<i>Debaryomyces</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Diaporthe</i>	14	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Didymella</i>	142	0	3	1	29	1	1	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	4	77	1	0	2	1	1
<i>Didymosphaeria</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Dioszegia</i>	72	0	7	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
<i>Dothistroma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Elsinoe</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	1	0
<i>Epicoccum</i>	567	0	0	2	40	10	1	6	4	5	13	9	1	4	17	0	0	1	51	0	0	0	0	0
<i>Erythrobasidium</i>	27	0	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fellomyces</i>	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i>	17084	565	314	469	7986	441	299	98	108	205	178	185	1481	184	341	116	210	189	1043	355	175	181	186	91
<i>Fusicoccum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Fusicolla</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Galactomyces</i>	196	3	0	23	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Gallicola</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Geosmithia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hannaella</i>	706	128	86	56	163	21	46	78	117	114	153	246	127	215	267	29	101	39	160	85	122	52	153	115
<i>Hanseniaspora</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	70	0	5	5	17	13	0	16	15	58	5	7
<i>Hydropisphaera</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0
<i>Hyphopichia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	3	1	5	1	0	0	0	4	1	0	2

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Kabatiella</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Kazachstania</i>	5034	9644	9588	12008	16523	9636	19701	1	5	3	2	3	914	30	627	104	984	761	2855	2600	7628	23883	23484	23480
<i>Kodamaea</i>	0	0	2	2	0	0	0	0	17	5	24	0	10	0	8	0	9	15	13	0	0	39	0	0
<i>Kurtzmaniella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	4	0	0	4	0	0	0	0	0
<i>Kwoniella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Langdonia</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lectera</i>	121	6	0	3	0	0	2	8	44	33	3	11	73	39	60	52	38	20	57	63	34	8	13	24
<i>Leptospora</i>	22	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lophotrichus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Meira</i>	60	5	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Meyerozyma</i>	18	27	17	6	21	3	7	77	48	34	47	61	455	60	237	51	51	30	92	43	28	71	44	10
<i>Microdochium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	2	9	0	0
<i>Mucor</i>	0	0	0	0	0	0	0	5	4	0	3	0	159	4	5	0	5	10	4	3	9	1	5	0
<i>Mycosphaerella</i>	67	4	8	12	49	2	4	16	20	7	29	73	65	51	74	26	80	126	238	62	66	92	30	27
<i>Myrmecridium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Myrothecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Neopestalotiopsis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
<i>Nigrospora</i>	0	0	0	0	0	1	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nothophoma</i>	50	1	0	0	0	0	0	5	7	11	16	23	18	14	26	1	9	6	1037	14	4	2	6	0
<i>Ochroconis</i>	9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pantospora</i>	113	1	3	1	0	0	2	12	13	27	56	67	84	156	74	40	80	83	87	33	49	79	21	44
<i>Papiliotrema</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paraconiothyrium</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	12	3	1	1	7	7	11	1	1	3	1	0	3	0	1	5
<i>Passalora</i>	388	7	2	8	29	34	8	0	0	0	1	0	1	0	1	2	0	0	0	1	0	2	0	0
<i>Penicillium</i>	57	3	6	4	193	7	1	1	5	8	5	3	10	43	13	1	3	1	48	2	0	0	3	6

	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Phaeosphaeria</i>	184	22	4	11	23	15	5	8	0	9	14	11	16	0	8	0	29	0	39	24	0	5	9	6
<i>Phialemoniopsis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phialophora</i>	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phoma</i>	173	0	0	0	49	0	0	1	0	1	14	3	9	6	2	1	0	27	281	1	2	1	5	4
<i>Pichia</i>	70	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	337	2	0	12	51	2	49	21	46	104	4	41
<i>Pithomyces</i>	0	0	2	2	0	0	0	1	9	9	13	4	8	6	7	17	16	0	59	7	2	4	3	2
<i>Plectosphaerella</i>	163	0	0	0	0	0	0	0	0	8	6	19	0	11	0	0	13	7	0	3	1	1	0	6
<i>Pleospora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0
<i>Pseudocercospora</i>	63	10	6	8	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pyrenochaetopsis</i>	593	15	20	16	17	4	11	19	2	1	22	2	4	6	28	0	14	0	17	0	3	0	3	1
<i>Rhodotorula</i>	98	16	2	10	19	10	8	0	3	21	9	0	0	11	13	8	0	0	0	5	0	6	0	5
<i>Robillarda</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Saccharomyces</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sarocladium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
<i>Selenophoma</i>	97	20	10	11	60	5	3	38	82	114	179	230	154	155	153	60	97	151	331	221	90	37	43	23
<i>Septoria</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Setophoma</i>	1	0	0	1	0	8	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Simplicillium</i>	81	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Spencermartinsia</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7	4	0	1	0	0	0	2	0	0	6	0	0	3	0
<i>Sporidiobolus</i>	16	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sporobolomyces</i>	405	75	68	34	84	37	13	0	0	9	8	0	1	0	0	0	8	0	0	7	0	0	0	8
<i>Stagonospora</i>	52	3	1	0	0	2	1	0	9	10	5	5	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Stagonosporopsis</i>	557	0	0	0	53	0	0	12	7	4	2	4	3	0	9	6	15	9	1132	8	5	4	2	1
<i>Starmerella</i>	0	0	0	0	0	4	0	24	10	25	25	35	949	14	25	1	30	19	25	3	23	24	18	10
<i>Strelitziana</i>	184	22	6	13	26	27	22	0	5	0	9	1	0	10	0	0	0	0	0	0	1	2	0	4





Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	0	4	0	0	0	0	0	0	5	0	11	0	0	3	0	0	0	2	3	0	0	0	0
<i>Boeremia exigua</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
<i>Bullera aff. pseudoalba IMUFRJ 51953</i>	168	74	44	42	350	33	57	75	22	88	173	210	141	110	166	3	19	27	99	94	4	34	44	28
<i>Bullera dendrophila</i>	0	0	0	0	0	0	3	1	7	14	24	25	50	77	37	0	0	16	23	3	4	10	8	1
<i>Bullera pseudoalba</i>	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bullera sp. WM-2014</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bulleromyces albus</i>	20	5	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	4	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Candida apicola</i>	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida ethanolica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	18	18	0	2	1	0
<i>Candida humilis</i>	4827	8941	8856	10967	15878	8832	17964	0	1	0	0	1	542	0	467	71	652	511	2240	1856	6212	17783	17667	19214
<i>Candida jaroonii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	16
<i>Candida quercitrusa</i>	0	0	0	0	0	0	0	8	4	6	4	24	21	13	37	27	64	0	14	0	0	12	3	3
<i>Candida railenensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	4	0	0	4	0	0	0	0	0
<i>Candida sorbosivorans</i>	0	0	0	0	0	0	0	15	10	20	15	35	335	5	21	1	16	18	25	3	21	7	18	8
<i>Candida sp. DMKU-RK411</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida xylopsoci</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
<i>Ceratobasidium sp. JTO018</i>	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cercospora conioagrammes</i>	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Cercospora olivascens</i>	452	47	31	18	49	26	17	11	0	17	4	0	8	69	11	2	32	8	44	12	0	0	4	0
<i>Cercospora zaeae-maydis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium delicatulum</i>	7927	1044	923	597	2105	441	634	466	839	1135	940	1312	711	1047	1668	344	607	600	3255	678	357	370	372	219
<i>Cladosporium flabelliforme</i>	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium fusiforme</i>	452	125	59	49	234	57	54	0	4	1	12	7	0	10	2	0	1	3	31	9	0	13	0	0

Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Cladosporium grevilleae</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium halotolerans</i>	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium herbarum</i>	15	2	1	3	3	3	1	0	2	0	1	1	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium langeronii</i>	3284	579	504	357	1763	227	253	40	68	99	85	136	138	70	166	26	63	50	422	49	29	31	51	32
<i>Cladosporium ramotenellum</i>	130	14	15	10	74	5	5	0	6	6	5	6	1	8	24	0	2	1	41	4	2	2	2	3
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	4167	648	769	399	3574	474	364	138	280	273	393	363	310	414	475	106	178	180	1163	416	164	130	184	67
<i>Cladosporium velox</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
<i>Claviceps maximensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clonostachys rogersoniana</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	0	10	0	0	0	0	1	0	0	10	0	0	0	0	0	0
<i>Cochliobolus pallescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
<i>Colletotrichum annellatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	10	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum aotearoa</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum cliviae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Colletotrichum gigasporum</i>	0	0	2	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum queenslandicum</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum salsolae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum siamense</i>	305	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum tropicale</i>	481	0	1	0	52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum vietnamense</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum xanthorrhoeae</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Coniothyrium sidae</i>	196	15	10	58	38	3	18	0	0	4	0	10	9	10	0	2	0	10	0	0	0	0	5	0
<i>Cryptococcus aff. taibaiensis</i> <i>IMUFRJ 51982</i>	2654	568	338	298	243	393	591	72	78	54	164	105	76	129	194	4	48	31	53	13	24	21	49	17
<i>Cryptococcus albidus</i>	28	1	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
<i>Cryptococcus cf. taibaiensis C3/20</i>	0	18	10	23	0	7	19	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	4	0



Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Diaporthe oxe</i>	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Didymella boeremae</i>	0	0	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Didymella coffeae-arabicae</i>	141	0	0	0	29	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	4	73	1	0	2	0	1
<i>Didymella nigricans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	1	0
<i>Didymella subherbarum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Didymosphaeria variabile</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Dioszegia zsoitii</i>	72	0	7	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
<i>Dothistroma pini</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Elsinoe othonnae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	1	0
<i>Epicoccum andropogonis</i>	0	0	0	1	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Epicoccum brasiliense</i>	152	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	0	0	0	33	0	0	0	0	0
<i>Epicoccum nigrum</i>	115	0	0	1	40	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0
<i>Epicoccum sorghinum</i>	0	0	0	0	0	0	0	6	4	4	13	9	0	2	15	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>	27	0	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fellomyces mexicanus</i>	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium acutatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium begoniae</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
<i>Fusarium delphinoides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Fusarium denticulatum</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	6	36	14	9	124	1	48	9	17	16	276	89	29	34	49	37
<i>Fusarium lateritium</i>	16580	552	306	451	7943	439	279	74	15	54	35	100	588	80	104	55	50	83	471	135	66	64	74	34
<i>Fusarium nisikadoi</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	91	0	0	3	33	0	0	4	0	9	18	11	81	1	26	13	19	23	140	29	16	4	13	8
<i>Fusarium pseudensiforme</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	8	0	0	0	0	0
<i>Fusarium sp. E8608n</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0
<i>Fusarium sp. NRRL 22189</i>	0	0	0	0	0	0	0	5	8	26	22	19	93	18	0	16	29	10	38	2	0	10	7	0

Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Fusarium sp. mcp0910</i>	411	13	8	15	9	2	20	14	66	79	88	46	595	84	162	23	95	54	108	92	57	68	41	12
<i>Fusarium subclunatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusicoccum fabicercianum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Fusicolla violacea</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Galactomyces candidum</i>	113	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Galactomyces sp. BPY-54</i>	83	3	0	16	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Galicola pseudophaeosphaeria</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Geosmithia sp. P7-16-7</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hannaella kunmingensis</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hannaella luteola</i>	104	21	6	15	40	8	3	29	18	30	60	88	33	28	113	1	18	22	21	38	54	12	13	8
<i>Hannaella oryzae</i>	103	55	21	13	0	5	14	22	47	27	37	64	63	102	70	20	82	5	66	36	45	17	35	55
<i>Hannaella siamensis</i>	0	0	4	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hannaella sinensis</i>	438	42	40	22	62	6	19	25	52	36	56	77	26	72	72	8	1	12	13	9	23	22	101	48
<i>Hannaella sp. CMON52</i>	1	0	0	0	39	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Hannaella zeae</i>	60	10	15	6	22	1	7	0	0	21	0	17	5	10	12	0	0	0	60	2	0	0	4	4
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	2
<i>Hanseniaspora lachancei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	69	0	5	5	14	12	0	16	12	53	4	5
<i>Hanseniaspora vineae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	1	0
<i>Herpotrichiellaceae sp. G220</i>	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hydropisphaera erubescens</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0
<i>Hyphopichia burtonii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	3	1	5	1	0	0	0	4	1	0	2
<i>Hypocreales sp. s011</i>	39	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kabatiella bupleuri</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Kazachstania exigua</i>	0	54	22	72	175	39	103	1	1	3	2	2	350	30	159	33	304	237	560	694	1324	5731	5630	4148



Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Nigrospora</i> sp. TSS-151	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Nothophoma anigozanthi</i>	50	1	0	0	0	0	0	5	7	11	16	23	18	14	26	1	9	6	1037	14	4	2	6	0
<i>Ochroconis cordanae</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ochroconis mirabilis</i>	5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pantospora guazumae</i>	113	1	3	1	0	0	2	12	13	27	56	67	84	156	74	40	80	83	87	33	49	79	21	44
<i>Papiliotrema perniciosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paraconiothyrium hawaiiense</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	12	3	1	1	7	7	11	1	1	3	1	0	3	0	1	5
<i>Passalora eucalypti</i>	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Passalora loranthi</i>	388	7	2	8	29	27	8	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Passalora pseudotithoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Penicillium adametzoides</i>	13	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium brevicompactum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	8	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Penicillium buchwaldii</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium commune</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium crustosum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium fluviserpens</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium kongii</i>	39	3	3	3	191	3	1	0	2	0	1	0	8	41	9	1	3	0	47	2	0	0	2	4
<i>Penicillium magnielliptisporum</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium neocrassum</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium paxilli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium raistrickii</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium roqueforti</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i> sp. SW-2014e	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Penicillium sumatrense</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phaeosphaeria podocarpi</i>	184	22	4	9	23	15	5	8	0	8	13	11	16	0	8	0	29	0	39	24	0	5	7	6



Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Pleosporales</i> sp. LH241	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
<i>Pleosporales</i> sp. VegaE2-28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudocercospora norchiensis</i>	63	10	6	8	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pyrenochaetopsis leptospora</i>	593	15	20	16	17	4	11	19	2	1	22	2	4	6	28	0	14	0	17	0	3	0	3	1
<i>Rhodosporidium</i> sp. 14Y312	11	16	2	3	19	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhodotorula</i> aff. marina IMUFRJ 52026	87	0	0	3	0	4	6	0	3	21	9	0	0	11	13	8	0	0	0	5	0	5	0	5
<i>Rhodotorula dairenensis</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Rhodotorula</i> sp. MJL-2011	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Robillarda sessilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sarocladium glaucum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sarocladium strictum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0
<i>Selenophoma mahoniae</i>	97	20	10	11	60	5	3	38	82	114	179	230	154	155	153	60	97	151	331	221	90	37	43	23
<i>Septoria oenanthicola</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Setophoma vernoniae</i>	1	0	0	1	0	8	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Simplicillium cylindrosporum</i>	81	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sordariomycetes</i> sp. MAR07	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	7	7	9	40	0	11	28	4	25	18	0	6	14	0
<i>Spencermartinsia</i> sp. ICMP16828	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7	4	0	1	0	0	0	2	0	0	6	0	0	3	0
<i>Sporidiobolus ruineniae</i>	16	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sporobolomyces oryzicola</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sporobolomyces patagonicus</i>	0	3	3	0	0	1	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0
<i>Sporobolomyces</i> sp. TD49	357	68	63	34	84	34	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sporobolomyces</i> sp. Vega180	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sporobolomyces vermiculatus</i>	48	0	0	0	0	2	0	0	0	5	5	0	1	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	8



Espécie	P9_0	P9_1	P9_2	P9_3	P9_4	P9_5	P9_6	P12_0	P12_1	P12_2	P12_3	P12_4	P12_5	P12_6	P12_7	P13_0	P13_1	P13_2	P13_3	P13_4	P13_5	P13_6	P13_7	P13_8
<i>Wickerhamomyces lynferdii</i>	13	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	54	2	0	3	46	16	14	13	21	9	6	4
<i>Xeromyces bisporus</i>	0	0	0	0	0	0	0	8	2	2	12	30	8	2	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Zymoseptoria verkleyi</i>	39	25	0	2	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ascomycete sp. HKC14	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	2	0
cf. <i>Stagonospora</i> sp. CPC 22155	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fungal endophyte	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fungal endophyte EMS53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0
fungal endophyte sp. P1614B	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
fungal sp. E15109D	0	0	0	0	0	0	0	0	15	9	20	6	0	0	31	0	21	0	1	0	0	1	0	0
fungal sp. GZ-2010e	12	0	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fungal sp. NY6758c	0	0	0	0	0	0	0	15	8	12	17	0	5	14	11	1	2	6	98	0	0	2	15	13
fungal sp. acwVHT103_8	35	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
leaf litter ascomycete strain its082	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
leaf litter ascomycete strain its268	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	0	0	0	0
uncultured Ascomycota	2	0	4	2	0	4	0	0	1	4	2	1	1	0	1	10	0	8	0	0	0	0	0	0
uncultured Dothideomycetes	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
uncultured Galactomyces	823	409	210	1270	1434	153	178	0	0	0	0	0	0	0	0	3	26	21	49	0	18	39	56	6
uncultured Hypocreales	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
uncultured Paraconiothyrium	7	1	0	0	0	0	4	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
uncultured Pezizomycotina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
uncultured Pleosporales	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
uncultured Setophoma	53	4	5	2	15	0	4	2	3	0	7	0	3	0	5	1	6	4	0	3	0	7	0	0
uncultured Tetracladium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	7	0	0	0
uncultured fungus	479	70	35	190	240	22	65	65	188	202	179	239	268	220	291	57	128	209	786	200	80	128	154	71

**Tabela A18:** Índice de Pearson ( $p$ -valor  $<0,05$ ) que mostra as correlações positivas e negativas maiores que 0,5 entre a quantidade de sequências de gêneros de bactérias identificadas na análise de identificação genética da comunidade microbiana e a avaliação sensorial

Gênero	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Equilíbrio	Final	Total
<i>Achromobacter</i>	-0,64	-0,22	-0,20	-0,32	-0,09	-0,26	-0,09	-0,24
<i>Agrobacterium</i>	-0,57	-0,54	-0,40	-0,48	-0,43	-0,29	-0,34	-0,51
<i>Belnapia</i>	-0,67	-0,67	-0,53	-0,68	-0,29	-0,57	-0,49	-0,65
<i>Bifidobacterium</i>	0,14	0,19	0,26	-0,05	-0,02	0,56	-0,06	0,15
<i>Bosea</i>	-0,55	-0,39	-0,29	-0,42	-0,38	-0,34	-0,34	-0,45
<i>Citrobacter</i>	-0,60	-0,20	-0,14	-0,38	-0,05	-0,32	-0,13	-0,27
<i>Collinsella</i>	0,08	0,27	0,23	-0,02	0,05	0,60	-0,09	0,18
<i>Cystobacter</i>	0,08	0,27	0,23	-0,02	0,05	0,60	-0,09	0,18
<i>Diaphorobacter</i>	-0,27	-0,33	-0,44	-0,36	-0,18	-0,23	-0,64	-0,41
<i>Epilithonimonas</i>	-0,72	-0,42	-0,32	-0,41	-0,24	-0,37	-0,22	-0,42
<i>Escherichia</i>	-0,53	-0,48	-0,38	-0,36	-0,36	-0,29	-0,31	-0,44
<i>Flectobacillus</i>	-0,26	-0,33	-0,47	-0,35	-0,13	-0,22	-0,66	-0,41
<i>Geodermatophilus</i>	0,00	-0,15	-0,32	-0,09	-0,14	-0,19	-0,53	-0,26
<i>Gracilibacillus</i>	-0,58	-0,18	-0,12	-0,35	-0,03	-0,29	-0,09	-0,24
<i>Kineosporia</i>	-0,03	0,37	-0,07	0,42	0,44	0,38	0,37	0,52
<i>Kocuria</i>	-0,15	-0,30	-0,40	-0,34	-0,17	-0,24	-0,63	-0,39
<i>Kurthia</i>	-0,26	-0,33	-0,47	-0,35	-0,13	-0,22	-0,66	-0,41
<i>Lelliottia</i>	-0,12	-0,28	-0,29	-0,50	-0,17	-0,25	-0,55	-0,38
<i>Leuconostoc</i>	0,23	0,45	0,31	0,56	0,53	0,41	0,35	0,50
<i>Listeria</i>	-0,58	-0,18	-0,12	-0,35	-0,03	-0,29	-0,09	-0,24
<i>Luteolibacter</i>	-0,13	-0,26	-0,32	-0,46	-0,11	-0,24	-0,55	-0,36
<i>Lysobacter</i>	-0,58	-0,18	-0,12	-0,35	-0,03	-0,29	-0,09	-0,24
<i>Marisediminicola</i>	-0,58	-0,18	-0,12	-0,35	-0,03	-0,29	-0,09	-0,24
<i>Marmoricola</i>	-0,53	-0,17	-0,13	-0,34	-0,08	-0,32	-0,08	-0,25
<i>Massilia</i>	-0,65	-0,37	-0,53	-0,27	-0,11	-0,11	-0,18	-0,25
<i>Megamonas</i>	-0,08	-0,18	-0,12	-0,02	-0,03	-0,03	-0,02	-0,08
<i>Melittangium</i>	-0,58	-0,18	-0,12	-0,35	-0,03	-0,29	-0,09	-0,24
<i>Methylobacterium</i>	-0,40	-0,65	-0,47	-0,72	-0,49	-0,59	-0,62	-0,70
<i>Microbacterium</i>	-0,59	-0,34	-0,24	-0,33	-0,25	-0,28	-0,25	-0,35
<i>Micrococcus</i>	-0,26	-0,33	-0,47	-0,35	-0,13	-0,22	-0,66	-0,41
<i>Mycoplana</i>	-0,65	-0,52	-0,25	-0,45	-0,28	-0,39	-0,12	-0,45
<i>Nakamurella</i>	0,05	0,41	0,08	0,55	0,10	0,43	0,34	0,44
<i>Novosphingobium</i>	-0,54	-0,45	-0,32	-0,52	-0,5	-0,43	-0,34	-0,52
<i>Pedobacter</i>	-0,67	-0,63	-0,56	-0,60	-0,45	-0,42	-0,50	-0,64
<i>Polaromonas</i>	-0,50	-0,51	-0,58	-0,46	-0,46	-0,48	-0,53	-0,61
<i>Pseudomonas</i>	-0,38	-0,56	-0,60	-0,59	-0,45	-0,41	-0,61	-0,62
<i>Saccharibacillus</i>	-0,28	-0,32	-0,41	-0,35	-0,18	-0,23	-0,61	-0,40
<i>Salmonella</i>	-0,34	-0,46	-0,42	-0,60	-0,29	-0,42	-0,59	-0,55
<i>Sphingomonas</i>	-0,61	-0,48	-0,47	-0,50	-0,23	-0,36	-0,26	-0,44
<i>Telluria</i>	-0,50	-0,52	-0,51	-0,35	-0,33	-0,31	-0,50	-0,50

<i>Variovorax</i>	-0,56	-0,38	-0,35	-0,33	-0,2	-0,32	-0,15	-0,36
<i>Weissella</i>	0,47	0,54	0,47	0,65	0,64	0,41	0,42	0,63

---

**Tabela A19:** Índice de Pearson (p-valor <0,05) que mostra as correlações positivas e negativas maiores que 0,5 entre a quantidade de sequências de gêneros de fungos identificados na análise de identificação genética da comunidade microbiana e a avaliação sensorial

Gêneros	Fragrância	Sabor	Finalização	Acidez	Corpo	Equilíbrio	Final	Total
<i>Alternaria</i>	0,11	0,33	0,32	0,08	0,04	0,64	0,00	0,25
<i>Claviceps</i>	-0,58	-0,18	-0,12	-0,35	-0,03	-0,29	-0,09	-0,24
<i>Fellomyces</i>	-0,26	-0,33	-0,47	-0,35	-0,13	-0,22	-0,66	-0,41
<i>Kabatiella</i>	-0,24	-0,04	-0,53	0,02	0,14	0,18	-0,31	0,00
<i>Mycosphaerella</i>	-0,12	0,31	-0,07	0,46	0,59	0,39	0,39	0,49
<i>Selenophoma</i>	0,10	0,42	0,12	0,45	0,55	0,49	0,27	0,53
<i>Verticillium</i>	-0,03	0,35	-0,08	0,44	0,34	0,61	0,26	0,49
<i>Zymoseptoria</i>	-0,49	-0,54	-0,53	-0,41	-0,34	-0,33	-0,56	-0,53