

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**APLICAÇÃO DE ÁGUA OZONIZADA COMO AGENTE
SANITIZANTE DURANTE O PROCESSAMENTO DE CAFÉ
ARÁBICA**

FERNANDO JOÃO BISPO BRANDÃO

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp –
Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia (Energia
na Agricultura)

BOTUCATU
Outubro de 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CÂMPUS DE BOTUCATU

**APLICAÇÃO DE ÁGUA OZONIZADA COMO AGENTE SANITIZANTE
DURANTE O PROCESSAMENTO DE CAFÉ ARÁBICA**

FERNANDO JOÃO BISPO BRANDÃO

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Martin Biaggioni

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU

Outubro de 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E
DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Brandão, Fernando João Bispo, 1989-
B817a Aplicação de água ozonizada como agente sanitizante
durante o processamento de café arábica / Fernando João
Bispo Brandão. - Botucatu : [s.n.], 2014
xi, 70 f. : fots. color., grafs., ils. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu,
2014

Orientador: Marco Antonio Martin Biaggioni
Inclui bibliografia

1. Café - Processamento. 2. Café - Fungos. 3. Alimentos
- Contaminação. 4. Ozônio. I. Biaggioni, Marco Antonio
Martin. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de
Ciências Agrônomicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: "APLICAÇÃO DE ÁGUA OZONIZADA COMO AGENTE SANITIZANTE
DURANTE O PROCESSAMENTO DE CAFÉ ARÁBICA"**

ALUNO: FERNANDO JOÃO BISPO BRANDÃO

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCO ANTONIO MARTIN BIAGGIONI

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. MARCO ANTONIO MARTIN BIAGGIONI



PROF. DR. GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA



PROFA. DRA. RENI SAATH

Data da Realização: 29 de julho de 2014.

DEDICATÓRIA

A minha mãe Noêmia Alvarez Brandão Bispo

Ao meu Pai Marcílio Bispo Ferreira

Aos meus irmãos Flávio Marcílio Bispo Brandão

Frederico Anísio Brandão Bispo

Aos meus falecidos avôs

Olinda Alvarez Monteiro

Anísio Queiros Monteiro

João Bispo Ferreira

Antônia Maria Ferreira

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Antonio Martin Biaggioni pelos ensinamentos dedicados a minha formação.

Aos meus companheiros de mestrado: Felipe Carlos Spneski Sperotto, Magnun Antonio Penariol da Silva e Pedro Henrique Bezerra.

Aos meus colegas da República Mato-Minas.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	IX
LISTA DE QUADROS.....	XI
1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY.....	3
3. INTRODUÇÃO.....	5
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
4.1 A cultura do café.....	7
4.2 Processamento dos grãos de café.....	8
4.3 Fungos associados ao café.....	10
4.4 Aspectos químicos, físico-químicos e sensorial do café.....	12
4.5 O ozônio.....	16
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
5.1 Procedência do café.....	20
5.2 Delineamento experimental e análise estatística.....	21
5.2.1 Análise microbiológica.....	21
5.2.2 Análise química, físico-química e sensorial do café.....	22
5.3 Lavagem do café com água ozonizada.....	22
5.3.1 Gerador de ozonização.....	22
5.3.2 Determinação da concentração de ozônio.....	24
5.3.3 Ozonização das amostras.....	24
5.4 Secagem dos grãos.....	25
5.5 Armazenamento dos grãos.....	26
5.6 Análise de qualidade do café.....	26
5.6.1 Análise microbiológica dos grãos.....	27
5.6.2 Análise químicas e físico-químicas dos grãos.....	28
5.6.2.1 Acidez graxa.....	28
5.6.2.2 Açúcares totais e redutores.....	27
5.6.2.3 Compostos fenólicos totais.....	28
5.6.2.4 Condutividade elétrica.....	29
5.6.2.5 Lixiviação de Potássio.....	29

5.6.2.6 Análise sensorial.....	30
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6.1 O teor de água nos grãos.....	31
6.2 Contagem de fungos.....	34
6.2.1 Secagem natural.....	34
6.2.2 Secagem em ambiente controlado.....	39
6.2.3 Comparação entre secagem natural e secagem em ambiente controlado.....	42
6.3 Análise químicas e físico-químicas dos grãos.....	45
6.3.1 Secagem natural.....	45
6.3.1.1 Acidez graxa.....	45
6.3.1.2 Açúcares redutores e totais.....	46
6.3.1.3 Compostos fenólicos totais.....	47
6.3.1.4 Condutividade elétrica.....	48
6.3.1.5 Lixiviação de Potássio.....	50
6.3.1.6 Análise sensorial.....	50
6.3.2 Secagem em ambiente controlado.....	51
6.3.2.1 Acidez graxa.....	51
6.3.2.2 Açúcares redutores e totais.....	52
6.3.2.3 Compostos fenólicos.....	53
6.3.2.4 Condutividade elétrica.....	54
6.3.2.5 Lixiviação de Potássio.....	56
6.3.2.6 Análise sensorial.....	57
7. CONCLUSÕES.....	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema da produção de ozônio por efeito corona.....	17
Figura 2. Fluxograma da ozonização, secagem e armazenamento do café.....	21
Figura 3. Equipamento gerador de ozônio.....	23
Figura 4. Equipamento digital de medição de ozônio dissolvido na água.....	23
Figura 5. Grãos de café aguardando a ozonização.....	24
Figura 6. Secagem em bancadas suspensas, expostas ao sol.....	25
Figura 7. Secagem em bancadas suspensas, em câmara com ambiente controlado.....	25
Figura 8. Detalhe do material plástico durante o armazenamento das amostras.....	26
Figura 9. Método de plaqueamento com gerbox na avaliação microbiológica.....	27
Figura 10. Valores de temperatura (°C) e Umidade Relativa (%) durante o mês de agosto de 2013.....	32
Figura 11. Teor de água durante a secagem dos frutos de café em condição de secagem natural e em ambiente controlado.....	32
Figura 12. Teor de água, após a secagem nos diferentes tempos de ozonização.....	33
Figura 13. Teor de água após o armazenamento nos diferentes tempos de ozonização.....	34
Figura 14. Relação entre a componente principal 1 (PCA ₁) e a componente principal 2 (PCA ₂), discriminando a relação entre os fungos, em três momentos (após a ozonização, após a secagem e após o armazenamento) durante a secagem natural.....	37
Figura 15. Relação entre a componente principal 1 (PCA ₁) e a componente principal 2 (PCA ₂), discriminando a relação entre os fungos, em três momentos (após a ozonização, secagem e armazenamento) na secagem em ambiente controlado.....	41
Figura 16 – Relação entre a componente principal 1 (PCA ₁) e a componente principal 2 (PCA ₂), discriminando a relação entre os fungos, comparando os processamentos por secagem em ambiente controlado e secagem natural.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores percentuais de colonização por fungos no café, pelo processamento de secagem natural.....	35
Tabela 2. Valores dos componentes principais no primeiro eixo (PCA ₁) e segundo eixo (PCA ₂), referentes à associação fungica dos grãos de café após os três momentos durante a secagem natural.....	38
Tabela 3. Valores percentuais de fungos encontrados nos grãos de café por processamento de secagem em ambiente controlado.....	39
Tabela 4. Valores dos componentes principais no primeiro eixo (PCA ₁) e segundo eixo (PCA ₂), referentes à associação fungica dos frutos de café durante a secagem em ambiente controlado, nos três momentos avaliados.....	41
Tabela 5. Valores dos componentes principais no primeiro eixo (PCA ₁) e segundo eixo (PCA ₂), referentes à associação fungica dos grãos de café, comparando os processamentos por secagem natural e secagem em ambiente controlado.....	43
Tabela 6. Valores médios de acidez graxa (mL de KOH 0,1 N 100 g ⁻¹ MS), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	45
Tabela 7. Valores médios de condutividade elétrica (μS cm ⁻¹ g ⁻¹), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	46
Tabela 8. Valores médios de Lixiviação de Potássio (g kg ⁻¹), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	47
Tabela 9. Valores médios de percentagem de açucares redutores, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	48
Tabela 10. Valores médios de percentagem de açucares totais, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	49
Tabela 11. Valores médios de compostos fenólicos, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	50
Tabela 12. Valores médios da análise sensorial, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.....	51
Tabela 13. Valores médios de acidez graxa (mL de KOH 0,1 N 100 g ⁻¹ MS), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	52

Tabela 14. Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$), entre os tempos de ozonização, após a secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	53
Tabela 15. Valores médios de Lixiviação de Potássio (g kg^{-1}), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	54
Tabela 16. Valores médios de percentagem de açúcares redutores, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	55
Tabela 17. Valores médios de percentagem de açúcares totais, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	55
Tabela 18. Valores médios de compostos fenólicos, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	56
Tabela 19. Valores médios da análise sensorial, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Escala de qualidade segundo a Metodologia SCAA para cafés.....	30
--	----

1 RESUMO

Na busca por novos tratamentos de alimentos contra a contaminação por pragas e microrganismos, o ozônio tem se tornado uma alternativa eficiente na redução destes agentes de deterioração, porém, a sua atuação sobre os tecidos vegetais também pode comprometer a qualidade do produto ozonizado. O presente trabalho tem o objetivo avaliar a qualidade do café arábica, lavado em diferentes tempos à uma dose constante de ozônio, e submetido a diferentes tempos de secagem e de armazenamento. Nos tratamentos foram utilizados 2 kg de café da roça por amostra, acondicionados em sacos de malhas plásticas de 1.5 x 0.5 cm, colocadas no tanque do aparelho ozonizador até completar o volume de 105 L. Em seguida, iniciou-se a ozonização mantendo as amostras submersas por diferentes períodos 0 min, 5min, 10min, 20 min e 30 min, com frequente agitação da água e taxa constante de ozônio solubilizado. Após cada tratamento, as amostras de café foram colocadas para secar, em bancadas suspensas, em dois ambientes: expostas ao sol, em condições naturais, e no interior de câmara climatizada com temperatura de 32°C e umidade relativa de 80%. Após a secagem, foram realizadas as análises de qualidade (contagem de fungos, condutividade elétrica, acidez graxa, lixiviação de potássio, açúcar total e redutor, compostos fenólicos totais e análise sensorial). O material oriundo das duas secagens foi armazenado em sacos plásticos no interior do laboratório, durante o período de seis meses, quando foram repetidas as análises de qualidade. O delineamento foi inteiramente ao acaso, com cinco tempos de ozonização 0, 5, 10, 20, 30 min e quatro repetições, sendo utilizada a análise de variância em três momentos: Após a ozonização, após a secagem e após o armazenamento. Para

avaliar o comportamento dos diferentes tempos de ozonização, os dados de contagem de fungos foram avaliados por análise multivariada, através da análise de componentes principais. Os resultados mostram que a aplicação de ozônio, na dose utilizada foi capaz de reduzir parcialmente os fungos, a lavagem com água ozonizada não possui efeito latente na desinfecção microbiana, e não altera a qualidade sensorial da bebida e a secagem natural proporcionou os melhores resultados de qualidade dos grãos.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., fungos, ozônio, qualidade da bebida.

APPLICATION OF OZONATED WATER AS SANITIZER AGENT FOR THE PROCESSING OF COFFEE ARABIC.

Botucatu, 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: FERNANDO JOÃO BISPO BRANDÃO

Adviser: MARCO ANTONIO MARTIN BIAGGIONI

2. SUMMARY

New treatments for food have been researched to control contamination against pests and microorganisms, in this context ozone has become an effective alternative to reduce these agents of deterioration, however its effect on plant tissues may also compromise the quality of the ozonated product. The aims of this study was to evaluate the quality of Arabica coffee, washed at different intervals of time in a constant dose of ozone, and subjected to different times of drying and storage. In each Treatment were used 2 kg of coffee per sample, packed in plastic bags with mesh sized 1.5 x 0.5 cm, placed in the tank ozonizer device until reach the volume of 105 L. In sequence, the ozonation started, keeping the samples immersed for different periods of time 0 min, 5 min, 10 min, 20 min and 30 min, with constant agitation of the water and constant solubilized ozone rate. After completing each treatment, the coffee samples were left to dry on suspended stands in two kinds of environments: exposed to sun under natural conditions, and within acclimatized chamber at 32 °C and 80% relative humidity. Immediately after drying, the quality analysis were performed (microbiological analysis, electrical conductivity, fat acidity, potassium leaching, total sugar and reducer, total of phenolic compounds and sensory analysis). In order to evaluate a possible latent effect of ozonation on the quality of the coffee beans, the material from the two drying process was stored in plastic bags inside the laboratory, for six months, and then the quality analysis were repeated. The experimental design was completely randomized with all the five times of ozonation 0, 5, 10, 20, 30 min and with four repetitions, using variance analysis, complemented by the Tukey test at three moments: After the ozonation, after drying and after storage. To evaluate the behavior of different times of ozonation a multivariate analysis was used. The results show that application of ozone in the dose used was able to partially reduce the fungus, washing with ozone water has no effect on the latent microbial

disinfection and does not affect the sensory quality of the beverage, and natural drying gave the best results in grain quality.

Keywords: *Coffea Arabica*, fungi, ozone, beverage quality.

3 INTRODUÇÃO

Diversos fatores podem interferir na qualidade do café, especialmente aqueles relacionados às etapas de processamento, secagem, beneficiamento e armazenagem. O fruto de café quando colhido possui elevado teor de água, em torno de 60%, podendo criar condições ideais para a contaminação por fungos.

Durante o processamento do café, os frutos passam por uma etapa chamada de lavagem, que tem a função de separar hidraulicamente, por meio da densidade dos frutos, os cafés em diferentes estádios de maturação, sendo eles cereja, verde e bóia, desta forma, a água presente neste processo, possui uma alta carga microbiológica, que pode comprometer a qualidade dos frutos de café nas etapas seguintes de secagem e armazenagem.

Comumente usado no Brasil para secagem dos frutos de café, os terreiros estão sujeitos às condições climáticas, podendo causar prejuízos ao produtor, ou seja, um clima com alta umidade relativa do ar pode aumentar o tempo de secagem dos frutos, além de promover a proliferação de microrganismos.

O desenvolvimento microbiano nos grãos de café prejudica tanto o seu aspecto visual quanto o sabor e o aroma. Os fungos associados aos grãos de café, além da depreciação qualitativa podem produzir micotoxinas, substâncias tóxicas altamente nocivas à saúde humana. Vários gêneros de fungos se associam aos frutos do cafeeiro, incluindo os principais produtores de micotoxinas. A sociedade e os organismos internacionais ligados à saúde e ao meio ambiente criam restrições cada vez mais rigorosas

em relação a presença de microrganismos nos produtos agrícolas, que possam prejudicar a saúde humana.

Neste contexto, o ozônio vem sendo empregado como alternativa na sanitização de frutas, hortaliças e alimentos de origem animal, porém, pouco tem sido estudado como agente higienizador em grãos e cereais. O ozônio é um gás com características antimicrobianas, possui alto potencial oxidante e não deixa resíduos nos alimentos.

Para que ocorra a redução da população microbiana, durante aplicação do ozônio, deve ser considerado o tempo de aplicação, a concentração de ozônio além dos microrganismos envolvidos no tratamento. Uma das principais desvantagens da ozonização é que o gás não é capaz de produzir efeito residual, para evitar novas contaminações microbianas após o tratamento com ozônio.

Os mecanismos de decomposição do ozônio são processos complexos, que dependem de fatores como os tipos de radicais formados em solução e o tipo de matéria orgânica presente. A desvantagem da utilização de ozônio como sanitizante é sua instabilidade. O grande desafio é prever como o ozônio reage com a matéria orgânica, o gás pode oxidar o composto, ou espontaneamente, decompor-se em oxigênio e radicais livres.

A utilização de água ozonizada durante a lavagem do café pode trazer vantagens em relação à aplicação por fluxo contínuo de gás, já que na água o ozônio pode ter maior absorção direta no produto, diferentemente da aplicação por aeração que necessita de um grande período de tempo para que a sanitização seja efetiva. A aplicação de ozônio na água de lavagem do café pode ainda reduzir a carga microbiológica do efluente residuário do processamento, proporcionando benefícios ao meio ambiente.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do café natural, lavado com água ozonizada e submetida a diferentes tempos de secagem e armazenamento.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 A cultura do café

O cafeeiro é uma planta originária do continente africano de regiões com elevadas altitudes e de clima tropical, pertencente à família das Rubiaceas e ao gênero *Coffea*, que reúne diversas espécies. O cultivo por países tropicais envolve consumo próprio e exportação para países de clima temperado, sendo que os maiores produtores são: Brasil, Vietnã e Colômbia (OLIVEIRA et al., 2012).

Dentre as espécies mais cultivadas destaca-se o café arábica (*Coffea arabica* L.), que apresenta melhor qualidade de bebida proporcionando café de maior valor comercial, e alcançando preços superiores aos do robusta (*Coffea canefora* P.), cuja bebida, considerada neutra, é muito usada nas misturas ou *blends* e na indústria de café solúvel, sendo favorecida pelo preço mais reduzido e pela maior concentração de sólidos solúveis, o que representa um maior rendimento industrial (ILLY; VIANNI, 1996).

Segundo dados da CONAB (2013), a safra fechou o ano de 2013, com 49,15 milhões de sacas de 60 quilos beneficiadas de café, sendo inferior ao volume de 50,83 milhões de sacas colhidas na safra 2012. A área plantada com a cultura no país totalizou 2.311.599 hectares, 0,76% inferior à safra passada e corresponde a uma redução de 17.758 hectares. Esta redução se deve principalmente, ao ciclo de baixa bienalidade, e às adversidades climáticas observadas na última safra.

Na produção de café com qualidade, valoriza-se mais os atributos sensoriais, organolépticos e higiênico-sanitários do produto, além dos aspectos relacionados à proteção ambiental e valorização social (BORÉM et al., 2008).

Apesar de ocupar posição de destaque como maior exportador mundial de café, o Brasil ainda perde muito em qualidade, para os grãos produzidos em outros países da América. Um dos principais obstáculos à exportação é a elevada exigência dos mercados consumidores, cada vez mais exigentes em produtos com alto padrão de qualidade (VEGRO et al., 2005).

O país, como líder na produção e exportação de café, bem como, grande consumidor, vem buscando atender às exigências de mercado, recorrendo, inovando e adotando tecnologias de ponta para a produção de alta qualidade (LSPA, 2012).

4.2 Processamento do café

Após a colheita, é feita a lavagem do café, operação que permite a remoção de materiais como gravetos, impurezas leves e materiais mais densos como terra e pedras, que eventualmente não foram separados nas etapas anteriores de colheita. A operação de lavagem é basicamente uma separação por diferença de densidade, e que proporciona a separação do café em dois lotes sendo formado pelos frutos cereja e verde, mais densos, e outro formado pelos frutos menos densos, conhecidos como bóia (BORÉM et al., 2008).

São utilizados dois métodos para o processamento do café: o via seca onde os frutos são processados na sua forma integral, ou seja, com a casca, produzindo frutos secos, conhecidos como café em coco ou café natural; e o via úmida, que produz os cafés em pergaminho, denominados despulpados, desmucilados e descascados quando submetidos à remoção da mucilagem por fermentação, por desmucilador mecânico e sem remoção de mucilagem, respectivamente (PIMENTA; VILELA, 2002).

O processamento por via seca é mais simples, com menor controle operacional. Logo após a colheita, os frutos são secos em terreiro ou em secadores mecânicos, produzindo o café natural. As condições climáticas inadequadas, podem prejudicar a qualidade do café durante a secagem. Tal deterioração ocorre devido à ação de

fungos e bactérias que resultam em fermentações indesejáveis, que ocorrem na mucilagem açucarada dos frutos (SARAIVA et al., 2010).

Na secagem do café natural em coco, a mucilagem do fruto é digerida e liquidificada, constituindo-se, em material alimentar para a semente, proporcionando a continuação do metabolismo das sementes. A variação dos componentes químicos promovem modificações no sabor e aroma do café, que pode variar positivamente ou negativamente, dependendo da presença de fungos contaminantes (CARVALHO et al., 1997).

No Brasil, são usados basicamente dois métodos de secagem dos grãos de café: Secagem em terreiros - esparrama-se o produto sobre pisos construídos de cimento, de tijolo ou asfalto, revolvendo-o continuamente em camadas finas ou grossas, com o auxílio de um rodo ou outro equipamento similar, com o objetivo de movimentar os grãos através do ar; e a secagem em secadores mecânicos –nesta o ar aquecido passa através da massa de grãos por meio de um sistema de ventilação forçada, os equipamentos podem movimentar ou não os grãos dentro do secador (LACERDA FILHO; SILVA, 2006).

Para Silva (2001), o café é um dos produtos de origem agrícola, com a secagem mais difícil de ser realizada a secagem, isto, devido ao seu elevado teor inicial de água, geralmente próximo de 60% b.u (base úmida). A partir desta propriedade, existe a grande possibilidade de ocorrer fermentações durante a primeira fase de secagem, causando redução na qualidade do produto. Além do alto teor inicial de água, o café não possui maturação homogênea dos frutos, necessitando de cuidados e métodos específicos durante a secagem.

Em trabalho com a incidência de fungos durante a pré-colheita até a armazenagem do café, realizado por Parizzi (2005), evidenciou que, o tempo de permanência dos frutos nos terreiros de secagem após passagem pelo lavador, é considerado o ponto mais crítico para a contaminação fúngica, devido ao alto conteúdo de água do fruto, em torno de no momento da colheita.

Segundo Ampessan et al. (2008), o secador de leito fixo em leiras proporciona diminuição na infecção de algumas espécies de fungos, tanto em café beneficiado como no pergaminho, e quanto menor tempo de secagem, menor a possibilidade de contaminação por microrganismos.

Para um armazenamento adequado, o processo deve se iniciar na propriedade, logo após a secagem. O café pode ser armazenado em coco ou em pergaminho, geralmente, nas fazendas o produto fica estocado em tulhas de alvenaria, recobertas ou não de madeira, de forma, que haja uma estabilização interna de seus componentes químicos e homogeneização do teor de água do produto (TOSELLO, 1967).

Dependendo das condições de armazenamento, as características iniciais do café sofrem transformações de aspectos físicos, químicos e sensoriais que se intensificam durante o período de armazenamento e aumentam com fatores ambientais adversos a manutenção da qualidade dos grãos (RIBEIRO et al., 2011).

As interações entre fatores abióticos (temperatura, teor de água, concentração de gases, umidade relativa do ar, tipo e condições do armazém), e fatores bióticos (grãos, insetos, ácaros, fungos e bactérias) transformam os grãos armazenados em um ecossistema, cuja dinâmica, e interação destes fatores, podem levar ao processo de deterioração da massa de grãos, com maior ou menor velocidade (RIGUEIRA et al., 2009).

4.3 Fungos associados ao café

Diversos aspectos podem interferir na qualidade do café, especialmente aqueles relacionados às etapas de colheita, processamento, secagem e armazenagem. Algumas espécies de fungos podem se associar aos grãos de café durante a pós-colheita, ocasionando alterações indesejáveis (FERREIRA et al., 2011).

As condições inadequadas de manejo da pós-colheita dos grãos, e condições de alta temperatura e umidade relativa do local de cultivo, facilitam o desenvolvimento de microrganismos, e conseqüentemente, existe a produção de compostos químicos que diminuem a qualidade do café (CARVALHO et al., 1997).

O alto potencial enzimático dos fungos transforma a matéria orgânica presente no substrato dos frutos em nutrientes, alterando as propriedades físicas e a composição química do café (PIMENTA; VILELLA, 2003).

Os fungos mais comuns que causam deterioração dos grãos são: *Aspergillus* spp, *Cladosporium* spp. (pelo menos duas espécies), *Fusarium* spp. (pelo menos seis espécies), *Phoma* spp. e, algumas espécies do gênero *Penicillium* (SILVA et al., 2000).

Principal micotoxina estudada no café, a ocratoxina A (OTA), tem sua presença atribuída ao fungo *Aspergillus ochraceus* e raramente por *Aspergillus niger* (URBANO et al., 2001).

A Ocratoxina A (OTA) é uma das mais abundantes micotoxinas contaminantes alimentares. Sua ocorrência em diversas commodities agrícolas tem sido considerada uma preocupação global. Esta toxina é produzida principalmente por espécies de *Aspergillus*. A OTA tem efeitos imunossupressor, carcinogênico e nefrotóxicos, e desta forma, a contaminação por esta toxina representa um alto risco para a saúde humana e animal (FUNGARO; SARTORI, 2009).

A formação das micotoxinas, geralmente se inicia no período de maturação no campo, porém, também podem ser formadas durante a pós-colheita (transporte, secagem e armazenagem), especialmente se as condições higiênico-sanitárias não forem as mais adequadas (ABRUNHOSA, 2008).

Na cultura do café, é importante o uso de boas práticas de pós-colheita, de forma a minimizar a fração de cafés bóia, varrição e mistura. A secagem deve ser realizada em terreiro adequadamente revestido. Tais manejos favorecerão a qualidade do café e redução do risco de ocratoxina A nos grãos de café (BATISTA; CHALFOUN, 2007).

Durante as etapas de produção e preparo, a incidência dos fungos *Aspergillus flavus* e espécies do Grupo Nigri no café tendem a aumentar, enquanto que a incidência de *A. ochraceus*, *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. tendem a diminuir à medida que o conteúdo de água do café vai sendo reduzido, da colheita ao beneficiamento (PARIZZI, 2005).

Em um estudo sobre fungos associados a grãos de café beneficiados no sudoeste da Bahia, realizado por Ferreira et al. (2011), mostrou que, o processamento via seca de café, com secagem em terreiro de terra, proporcionou maior infestação fúngica que o processamento por via úmida, com secagem em terreiro de cimento, independentemente do local de origem. Os principais fungos encontrados foram fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, com elevada incidência do gênero *Aspergillus*.

As condições de secagem são um fator primordial para a presença ou não de ocratoxina A, pois devido à falta de uniformidade de maturação do café, os frutos ficam mais tempo no terreiro. Durante a secagem existem teores de água diferentes no mesmo

lote de grãos, e dependendo das condições de secagem (tipo de terreiro e clima), pode-se criar um ambiente favorável à proliferação de fungos produtores de ocratoxina A (BATISTA; CHAFOUEN, 2007).

Muitos países importadores do café brasileiro estabeleceram limites máximos de ocratoxina A, para diversos cereais e outros produtos. Como Estados Unidos, Canadá e União Européia que possuem o limite estabelecido de 1,14 – 2,24 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ao dia (JECFA, 2007). Para o café, o limite é de 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de café torrado e 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o café solúvel. Alguns países impuseram limites também para café o verde de 8-20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (LEONG et al., 2007). No Brasil os níveis de ocratoxina A, permitidos no Café torrado (moído ou em grão) e café solúvel são de 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ABIC et al., 2011).

O país, como líder mundial na produção e exportação de café, além de grande consumidor do produto deve atender às exigências do mercado internacional por produtos de melhor qualidade, buscando sempre adotar novas tecnologias de produção (NASCIMENTO et al., 2008). Existe uma relação inversa entre a ocorrência da ocratoxina A e diferentes padrões qualitativos da bebida, indicando que a política de melhoria do padrão do café reduz também o risco de contaminação por micotoxinas (BATISTA et al., 2003).

4.4 Aspectos químicos, físico-químicos e sensorial do café

A qualidade da bebida do café é diretamente afetada por fatores da composição química dos grãos, estes são determinados por fatores genéticos, ambientais e culturais, e podem ser alterados devido a métodos de colheita, processamento e armazenagem (SILVA, 2000).

De grande popularidade e com aroma e sabor característicos, o café constitui uma bebida consumida mundialmente. Numerosos estudos estão sendo realizados, a fim de relatar as implicações desta bebida na saúde humana (ABRAHÃO, 2011).

O café é formado por vários constituintes químicos voláteis e não voláteis, entre eles os ácidos, aldeídos, cetonas, açúcares, proteínas, aminoácidos, ácidos graxos e compostos fenólicos. Existe, também, a ação das enzimas sobre alguns constituintes gerando produtos de reações, compostos que interferirão no sabor da prova de

xícara. Dentre estes compostos, 29 já foram identificados como os principais responsáveis pelo aroma característico do café torrado e moído (SARRAZIN et al., 2000).

No processamento e secagem dos frutos, podem ocorrer alterações fisiológicas, capazes de comprometer a qualidade da bebida. Alguns trabalhos vêm buscando correlacionar a manutenção da qualidade química e físico-química dos grãos de café, com a qualidade sensorial da bebida durante a pós-colheita do produto (BORÉM et al., 2008; SAATH et al., 2014; TAVEIRA, 2012). Dentre essas análises destacam-se à quantificação analítica dos açúcares, os compostos fenólicos, os sólidos solúveis, a condutividade elétrica, a lixiviação de potássio e a prova de xícara (PEREIRA et al., 2002).

Malta et al. (2005), evidenciaram que os grãos de membranas celulares mal estruturadas, desorganizadas e danificadas, permitem maior lixiviação de solutos apresentando maiores valores de condutividade elétrica.

Segundo Amorim (1978), a perda da permeabilidade e estrutura das membranas celulares conduz à deterioração dos grãos de café, o que pode ser observado pela alta lixiviação de potássio em grãos de bebida inferior. Existe uma relação inversa entre a qualidade da bebida e a condutividade elétrica e lixiviação de potássio de exsudatos de grãos crus (PRETE, 1992).

Sementes mais vigorosas apresentam melhor estruturação das membranas quando embebidas, e conseqüentemente, menores liberação de exsudatos para o exterior das células (MARCOS FILHO, 2005).

Para indicar alterações nos grãos de cafés expostos às infecções após colheita, o teste de condutividade elétrica é o mais indicado, por ser mais sensível que o de lixiviação de potássio, alguns estudos mostram que a lixiviação de potássio segue, proporcionalmente, a mesma tendência da condutividade elétrica. Os testes não se correlacionam com a análise sensorial da bebida (FAVARIN et al., 2004).

A qualidade do Café (*Coffea arabica* L.) pode sofrer alterações negativas devido à hidrólise de triacilgliceróis (TAG), resultando na liberação de ácidos graxos livres (AGL), que são oxidados para produzir off-flavor (BELITZ et al., 2004).

A hidrólise do material graxo inicia-se antes da hidrólise de carboidratos ou proteínas, ou seja, uma das primeiras reações que ocorrem durante a deterioração da membrana celular é a formação de ácidos graxos, assim, o teste de ácidos graxos livres promove a possibilidade de reduzir os efeitos degenerativos sobre a qualidade

fisiológica das sementes, pois permite detectar a fase inicial do processo deteriorativo (BIAGGIONI; BARROS, 2006).

De acordo com Poisson (1979), os lipídios são importantes na definição da qualidade do café, pois a sua alteração, conduz a um aumento da acidez do grão, o que pode prejudicar as características organolépticas do café após a torra. Existe uma relação inversa entre a qualidade do produto e a acidez do óleo de café (ESTEVES, 1960; JORDÃO et al., 1974). A acidez graxa aumenta ao longo do tempo de armazenamento, nas condições de 60 e 80% de umidade relativa. (CORADI et al., 2008).

Os carboidratos estão presentes no grão na forma de polissacarídeos e como açúcares de baixo peso molecular, que incluem tri, di e monossacarídeos redutores e não redutores. Os açúcares redutores referem-se à glicose, frutose e manose, estes apresentam agrupamentos aldeídicos e a sacarose é um dissacarídeo não redutor (EL HALAL, 2008).

No grão de café, estão presentes diversos açúcares de baixo peso molecular, os quais contribuem com o aspecto de doçura da bebida, sendo um atributo de extrema importância em cafés especiais (CORADI et al., 2007; ANDRADE, 2003).

Para Mendonça et al. (2007) a sacarose destaca-se por ter maior quantidade e seu conteúdo pode variar entre as espécies, origem e tipo de processamento. Diferentes concentrações de carboidratos podem explicar diferenças encontradas entre a qualidade de bebidas de café obtidas por diferentes processamentos (SALVA; LIMA 2007).

A qualidade do café está relacionada com a quantidade de açúcar presente no grão, maiores teores são desejáveis (FARAH; DONANGEL, 2006). Uma provável hipótese para a redução dos açúcares durante o processamento é de que parte desses compostos possa estar sendo metabolizada por microrganismos, dessa maneira, espera-se que, quanto maior a deterioração do produto, maior será o consumo de açúcares, causando redução nos teores de açúcares presentes no grão de café (AFONSO JÚNIOR, 2001).

As quantidades de açúcar dependem principalmente da espécie e local de cultivo do cafeeiro, além do estágio de maturação dos frutos (CAMPA et al., 2004), porém, operações de pós-colheita podem ocasionar variações nos teores de açúcares (LOPEZ et al., 2000)

Os açúcares totais, redutores e a qualidade da bebida diminuem com o aumento da temperatura de secagem independente do tipo de processamento (BORÉM et al., 2008).

Para Amorim e Silva (1968), os compostos fenólicos principalmente os ácidos clorogênicos, exercem uma ação protetora, antioxidantes do aldeído. Em condições adversas na colheita e processamento, as enzimas polifenoloxidasas agem sobre os polifenóis diminuindo sua ação e facilitando sua oxidação, interferindo no sabor e no aroma do café após a torra.

Compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, geralmente envolvidos na defesa contra a radiação ultravioleta ou agressão por patógenos. Vários compostos fenólicos têm sido descritos em alimentos vegetais e podem ser agrupados em diferentes classes de acordo com a sua estrutura química básica (como o tipo e número de anéis de fenol), e em diferentes subclasses, de acordo com as substituições específicas na estrutura básica, de associação com carboidratos e formas polimerizadas (MANACH et al., 2004). O teor de compostos fenólicos totais é superior nos cafés de pior qualidade (ABRAHÃO et al., 2011).

Diversos estudos indicam que cafés de frutos verdes e de qualidade inferior, existem maiores quantidades de compostos fenólicos (LEITE et al., 1996). Maiores concentrações de compostos fenólicos, podem ser atribuídas também, ao ataque de fungos, como *Fusarium* spp. que desencadeiam processos fisiológicos de defesa, com a produção desses compostos. Acredita-se que cafés, com processo de secagem inadequado, podem sofrer aumento dos teores de compostos fenólicos totais (AMORIM, 1978).

Chaves e Sproess (1996) afirmam que a metodologia empregada na análise sensorial, determina a aceitabilidade da bebida de café pelo consumidor e podem ser usadas para a melhoria contínua do processo da qualidade da bebida.

A classificação da bebida está relacionada com a composição química dos grãos, que é influenciada tanto por fatores fisiológicos, bem como pelos processos de pós-colheita (secagem, armazenagem, torração e moagem), na qual os grãos são submetidos (BORGES et al., 2004).

Os procedimentos de avaliação da qualidade do café estão baseados em uma série de apreciações de aromaticidade, sabor e aspecto do produto. Profissionais treinados, cuja habilidade deve ser adquirida ao longo de anos de experiência, são os

responsáveis pela avaliação do café. A classificação da qualidade do café é de acordo com aspecto, tipo e classificação da bebida, por prova de xícara (MENCHÚ, 1967).

No Brasil, ainda é utilizada a análise sensorial através da prova da xícara para a classificação da bebida, de acordo com o método de Classificação Oficial Brasileira (COB, 2003).

A *Specialty Coffee Association of America* (SCAA, 2009) sugere a metodologia que avalia os atributos de fragrância do pó, aroma, defeitos, acidez, amargor, sabor, sabor residual, adstringência e corpo da bebida, com avaliação final da qualidade global. Pela avaliação proposta, a qualidade é quantificada com escala decimal de zero a cem pontos, e cafés com pontuação entre 80 e 84 são especiais, os que têm notas entre 75 e 80 são cafés muito bons, e cafés bons variam de 70 a 75 pontos.

4.5 O ozônio

A palavra ozônio vem do grego *ozein* que quer dizer mau cheiro refletindo uma de suas características, ou seja, o forte odor que exala quando em alta concentração. Esta característica foi observada pela primeira vez em 1785, por Van Mauren, próximo a uma descarga elétrica. O gás ozônio é instável, diamagnético, alótropo triatômico (O_3) do oxigênio. Sua composição química foi estabelecida em 1872, pelo físico e químico teuto-suíço Christian Friedrich Schonbein (PEZZI, 2009).

O ozônio é um gás incolor de odor pungente, instável e parcialmente solúvel em água, que se destaca por seu elevado poder oxidante. É um forte agente desinfetante com ação sobre uma grande variedade de organismos patogênicos, incluindo bactérias, vírus e protozoários, apresentando uma eficiência germicida que excede ao cloro (SILVA et al., 2006). Sua utilização descarta a necessidade de manipulação, armazenamento ou uso de embalagens (SANTOS, 2008).

O sistema Corona produz sinteticamente o ozônio, este processo consiste na passagem de fluxo de ar atmosférico ou enriquecido com até 92% de oxigênio molecular (O_2), no interior do equipamento (FALCÃO, 2009). A tensão elétrica deve ser controlada (~10.000 V), para que a energia gerada por essa descarga seja suficiente para romper a molécula de oxigênio, resultando em dois átomos de oxigênio livre (Figura 1).



Figura 1. Esquema da produção de ozônio por efeito corona.

O ozônio vem sendo empregado como agente sanitizante em diferentes áreas, como no tratamento de água potável, efluentes domésticos, entre outros e a utilização do mesmo tem aumentado gradativamente tanto no cenário nacional como no internacional. Novos estudos estão sendo realizados para comprovar a eficiência do uso do ozônio, principalmente na área de processamento de alimentos e na agricultura (RICE; GRAHAM, 2002).

Segundo a Lei de Henry, assim como a maioria dos gases, o ozônio é parcialmente solúvel em água e aumenta sua solubilidade à medida que a temperatura decresce ou a mistura é pressurizada. Grande parte dos tratamentos são efetuados sob condições atmosféricas e temperatura próxima da ambiente, por esta razão, as concentrações de ozônio dissolvido geralmente não ultrapassam cinco ppm (FALCÃO, 2009).

Sabe-se que, em fase aquosa, o ozônio é relativamente instável e decompõe-se facilmente na forma do oxigênio molecular. A taxa de solubilização do ozônio depende do tamanho das bolhas do gás que borbulham na água, pois quanto menores as bolhas formadas, maior a superfície de contato. O tamanho mais adequado deve variar entre 1 e 3 mm de diâmetro. A taxa de fluxo de ozônio e o tempo de contato também afetam a transferência do gás para a água. A agitação da amostra incrementa o contato e a solubilização (KADRE et al., 2001).

Segundo Nascimento et al. (2008), o ozônio é uma tecnologia usada em diversas áreas, com grande flexibilidade e resultados promissores na obtenção e no tratamento de uma infinidade de alimentos. São conhecidas as potentes características oxidantes e microbicidas do ozônio, mas seus mecanismos quando utilizados em tecidos

vivos podem causar danos nas membranas dos alimentos. Os mesmos autores trabalharam com aplicação de ozônio na concentração de 3,5 mg L⁻¹ dissolvido na água, como tratamento prévio à fermentação do café, no experimento foi demonstrando a eficácia do ozônio na melhoria da segurança alimentar do café despulpado, sem alteração perceptível da qualidade da bebida.

O efeito do ozônio, na redução da carga microbiana em águas estudado por Pra (2008), segundo o autor, o ozônio foi aplicado na concentração de 0,316 mg L⁻¹ por 30 s e 0,599 mg L⁻¹ por 300 s em água de lavagem de pescado contaminada artificialmente com *Pseudomonas fragi*. Os resultados indicaram que o ozônio teve capacidade de reduzir a carga microbiana de aeróbios psicrotrófilos em 1,13 ciclos, além de tornar as águas analisadas mais claras e menos turvas.

Os resultados da eficiência da aplicação de ozônio, em queijo parmesão contaminado com *Aspergillus ochraceus*, indicaram que, o ozônio não foi eficaz no combate ao fungo, porém foi eficiente na degradação da ocratoxina A em 50% das amostras, em concentrações de 0,3 - 4 ppm por 2 minutos durante 15 dias (PAIVA, 2009).

O ozônio foi usado isoladamente por Singh et al. (2002), nas concentrações de (0; 5,2; 9,7 e 16,5 mL L⁻¹), no processo de lavagem de alface e cenouras, os autores perceberam que, os tratamentos não foram eficazes na redução significativa na contagem de *Escherichia coli* O157:H7. Porém, lavagens sequenciais de uma mesma amostra, com o ozônio foram capazes de reduzir a contagem dessa bactéria em até 4,28 unidades logarítmicas no tratamento.

No tratamento para a redução da podridão-parda em pêssegos 'Magnum', o ozônio controlou o aumento da lesão de *Monilinia fructicola*, , entretanto, causou danos na epiderme dos frutos quando utilizado na concentração de 0,03L L⁻¹ (SAUTTER et al., 2011)

A suscetibilidade dos adultos de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* e a qualidade fisiológica dos grãos de milho, foi avaliada por Rozado et al. (2008). Tanto os insetos quanto os grãos de milho foram submetidos a uma atmosfera modificada com 50 mg kg⁻¹ de ozônio injetado a um fluxo contínuo de 8,0 L min⁻¹. A espécie que se mostrou mais susceptível foi a *S. zeamais*. O menor período de exposição para controlar 95% dos adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* foi de 23,76 e 64,19 h, em geral, os tratamentos com atmosfera modificada com 50 mg kg⁻¹ de ozônio não afetaram a qualidade fisiológica dos grãos de milho.

A ozonização como tratamento microbiológico em grãos de amendoim, analisada por Alencar et al. (2011), mostrou que, apesar do elevado poder oxidante do ozônio e sua capacidade em relação a despigmentação da pele dos amendoins, a qualidade dos grãos, e a qualidade do óleo de amendoim bruto não foram afetados pela ozonização em concentrações de até 21 mg L^{-1} e em períodos de exposição de até 96 h.

A aplicação de ozônio, por aeração na fumigação de café dentro de contêineres para exportação de café obteve eficácia na redução de urediniósporos de ferrugem (Armstrong et al., 2008). Segundo estes autores a fumigação com 10.000 ppm de gás ozônio sob vácuo - 32 mm Hg a $13,0 \pm 3,0 \text{ }^\circ\text{C}$ eliminou todos os esporos dentro de 1 h. Portanto, a fumigação de ozônio por 6 horas para tratamento contra broca dos bagos de café é mais que suficiente para garantir à segurança de quarentena contra urediniósporos de ferrugem. Os resultados de qualidade de café demonstraram que a fumigação com gás não alterou o sabor e o aroma do café, as duas mais importantes características organolépticas do café.

Para Chiatonne et al. (2008), o uso do ozônio nos alimentos reduz a carga de microrganismos e esporos à níveis que dependem da sua forma de aplicação e de sua concentração. A grande vantagem de seu uso perante outros agentes higienizantes é que o ozônio age diretamente na parede celular de microrganismo, causando a ruptura da membrana e a morte em menor tempo de contato, inviabilizando a recuperação dos microrganismos após o ataque, além de não deixar residual químico nos alimentos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Procedência do café

Os frutos de café foram colhidos na fazenda Santa Margarida, no município de São Manuel-SP. No experimento, foram utilizados aproximadamente 480 litros de café da roça, da variedade Catuai Vermelho, colhidos e separados os cafés verdes e cereja dos bóias, na própria fazenda, por meio de um lavador hidráulico.

Na sequência, o produto úmido foi levado ao Instituto de Biociências, Departamento de Química e Bioquímica, da UNESP-Botucatu-SP, onde, após separação em amostras de 2,0 kg, foi submerso aos tratamentos com água ozonizada. Imediatamente, foi realizada a secagem das amostras no laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas da Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP - Botucatu-SP, seguido de armazenamento em sacos plásticos por seis meses, em ambiente não controlado. A Figura 2 ilustra o processamento das amostras durante o experimento.

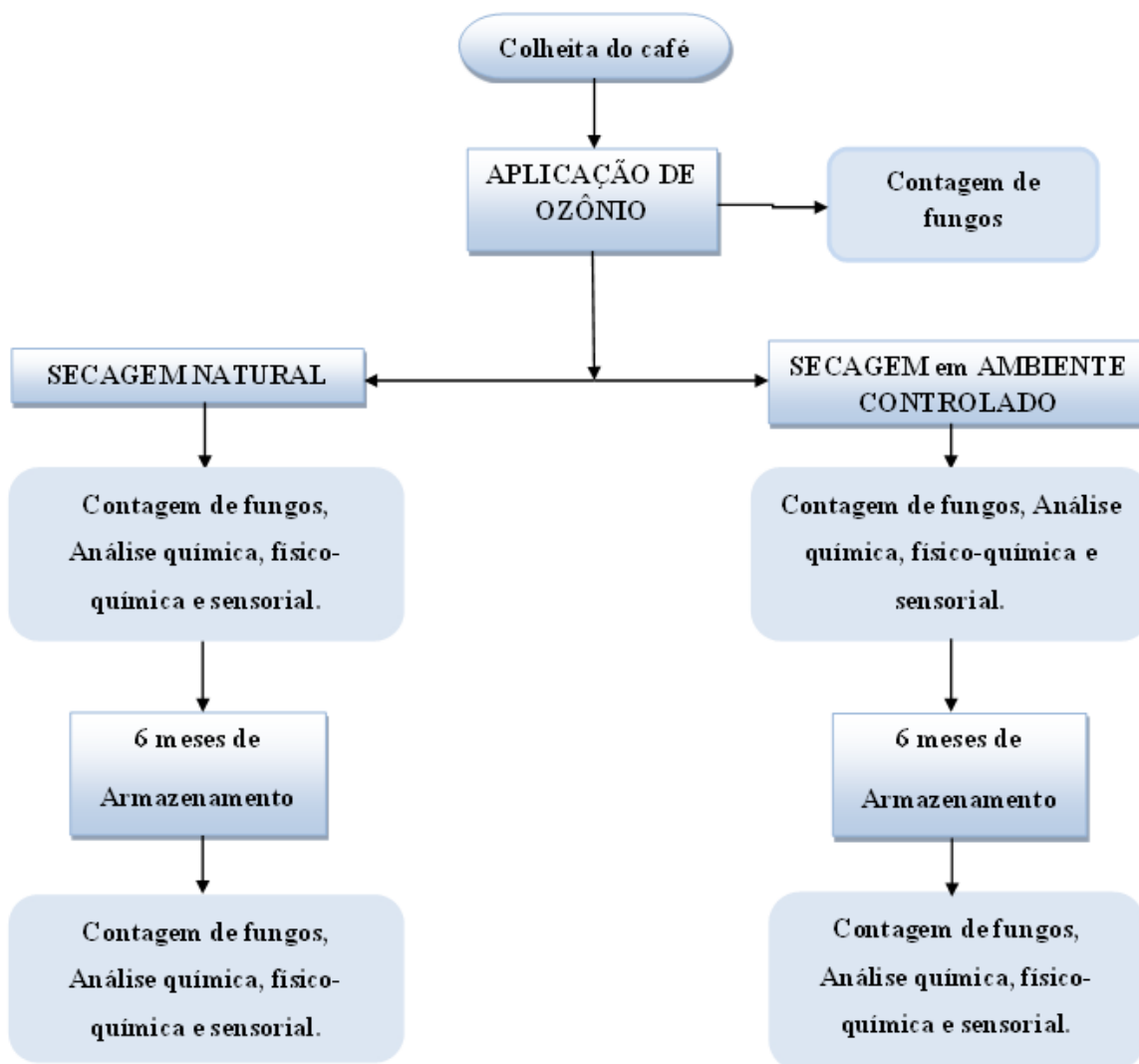


Figura 2. Fluxograma dos procedimentos de ozonização, secagem e armazenamento do café durante o experimento.

5.2 Delineamento experimental e análises estatísticas

5.2.1 Contagem de Fungos

No experimento, foi adotado um delineamento inteiramente ao acaso, com 5 tempos de ozonização (0, 5, 10, 20, 30 min) e 4 repetições em três momentos: Após a ozonização, após a secagem e após o armazenamento. Para compor o

comportamento de cada dosagem nos diferentes momentos foi utilizada a análise multivariada, através da análise de componentes principais.

5.2.2 Análise física, físico-química e sensorial

Para as análises física, físico-química e sensorial, foi adotado um delineamento inteiramente ao acaso, com 5 tempos de ozonização (0, 5, 10, 20, 30 min) e 4 repetições, sendo utilizado a análise de variância, complementadas com o teste de Tukey, em 2 momentos: Após a secagem e após o armazenamento.

5.3 Lavagem do café com água ozonizada

5.3.1 Gerador de ozônio

Para a produção de ozônio, foi utilizado um gerador de ozônio (Degradatox/ OZ Engineering, IndustryEquipment Generators Ozone-LTDA, Porto Alegre, RS), contendo um motor centrífugo com recirculação da água, para ser feita a homogeneização do ozônio dentro do tanque (Figura 3).



Figura 3. (1) Gerador de ozônio durante seu enchimento de água, com volume de 105 L. (2) Equipamento fechado durante a ozonização das amostras.

5.3.2 Determinação da concentração de ozônio

A medida da concentração de ozônio foi realizada por meio de um medidor digital com método de detecção DPD – Bateria 4 AAA – Dimensões: (27.9 x 7 x 5.7 cm), display digital, unidade de medida em mg L^{-1} , tempo de resposta: 1 min – Resolução 0.01 ppm (10 ppb) – Detecção mínima limite: 0.2 ppm (200 ppb) (Figura 4).



Figura 4. Equipamento digital de medição de ozônio dissolvido na água.

5.3.3 Ozonização das amostras

Buscou-se no experimento, simular a lavagem do café, durante o processamento por via seca. Neste processamento tem-se a secagem integral do fruto, originando o café em coco.

Nos tratamentos utilizaram-se 2 kg de café (6 litros), para cada amostra, acondicionadas sacos de tela plástica com malhas de 1.5 x 0.5 cm (figura 5), que foram colocadas no tanque do aparelho ozonizador até completar o volume de 105 L.



Figura 5. Grãos de café acondicionados em sacos de tela plástica aguardando a ozonização.

Antes da ozonização foi realizada uma pré-ozonização por 10 minutos, para ajuste do equipamento, de modo, a estabilizar a quantidade de ozônio solubilizada na água, na concentração de 1ppm. Após este procedimento, o aparelho foi acionado por diferentes períodos (0min, 05min, 10min, 20 min, 30 min).

Durante o experimento, alíquotas da água do sistema foram coletadas e analisadas quanto ao teor de ozônio solubilizado, com a utilização do medidor digital de ozônio.

5.4 Secagem do café

Após cada tratamento, as amostras de café foram levadas ao laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP-Botucatu e colocadas para secar em bancadas suspensas simulando a secagem em terreiros, até atingir umidade aproximada de 12%.

Foram usadas duas condições de secagem, exposto ao sol (Figura 6) e na câmara com ambiente controlado (Figura 7).



Figura 6. Secagem em bancadas suspensas, expostas ao sol, propiciando natural secagem dos frutos.



Figura 7. Secagem em bancadas suspensas, em câmara com ambiente controlado, simulando um clima não propício para a secagem do produto.

A secagem em câmara climatizada com temperatura de 32°C e Umidade Relativa de 80% simula condições inadequadas do clima e de ambiente controlado secagem, podendo propiciar um ambiente favorável, para a proliferação de microrganismos e fermentação dos frutos, comprometendo á qualidade dos grãos.

5.5 Armazenamento do café

Visando avaliar um possível efeito latente do ozônio sobre a qualidade do café, as amostras foram separadas de acordo com suas secagens (natural e ambiente controlado), e acondicionadas em sacos plásticos, permanecendo armazenados por seis meses, em prateleiras suspensas, dentro do Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas, onde se monitorou a temperatura e a umidade relativa do ambiente.



Figura 8. Detalhe do material plástico utilizado com o enchimento dos cafés (1).
Acondicionamento das amostras em prateleiras suspensas (2).

5.6 Análises de qualidade do café

5.6.1 Análises microbiológicas dos grãos

Com o intuito de qualificar e quantificar a contaminação por microrganismos, amostras de café foram submetidas à análise seguindo a metodologia descrita por Dhingra e Sinclair (1996) visando à detecção e identificação de fungos, no Laboratório de Patologia de sementes no Departamento de Proteção de Plantas da UNESP-Botucatu.

Foi utilizado o método de plaqueamento em caixas gerbox, utilizando-se papel tipo Blotter umedecidos com água destilada, nas quais foram incubados 12 grãos obtidos de cada amostra, e colocadas na B.O.D sob a temperatura de 25° C, durante sete dias. Depois desse período, as placas foram examinadas em microscópio estereoscópico para identificação de fungos toxigênicos (Figura 13).

As amostras foram submetidas às avaliações quanto ao número de fungos na superfície dos grãos e quanto ao percentual de colonização por microrganismos contidos no café natural.



Figura 9. Método de plaqueamento com gerbox na avaliação microbiológica.

5.6.2 Análises químicas e físico-químicas dos grãos

5.6.2.1 Acidez graxa

A avaliação da acidez graxa foi realizada conforme procedimento determinado pela AACCC (1995), e o resultado do teor da acidez graxa foi dado pelas equações:

$$\begin{aligned} PS &= [(1 - U (\text{bu})) \times 40\text{g}] \\ AG &= [(V \times 100) / PS] \end{aligned} \quad \text{equação 1}$$

*

PS: peso da amostra seca (g);

U (bu): umidade base úmida %

V: volume gasto de KOH na titulação (extrato + indicador) em mL;

AG: acidez graxa (mL de KOH 100 g⁻¹ de MS).

5.6.2.2 Açúcares totais e redutores

Os açúcares totais foram obtidos pelo método de Lane-Enyon, descrito na AOAC (2005), e determinados pela técnica de SOMOGY adaptada por Nelson (1944). Os teores de açúcares totais e redutores foram determinados, pela espectrofotometria em comprimento de onda de 490 nm e 520 nm, respectivamente. Primeiro foi obtida a curva padrão de glicose ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$). Os dissacarídeos (açúcares não redutores – ANR) foram encontrados pela diferença entre os açúcares totais (AR + sacarose) e os açúcares redutores (AR), os valores foram expressos em $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$.

5.6.2.3 Compostos fenólicos

A análise foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico com o uso do reativo de Folin-Ciocalteu (Horwitz, 1995). Amostras do material seco e moído foram pesadas e colocadas em tubos de centrífuga, contendo acetona 50%. Em seguida foram

levados para banho ultrassônico, por 20 minutos e posteriormente centrifugados durante 10 minutos e o sobrenadante foi recolhido. O precipitado foi re-extraído e os sobrenadantes combinados. Alíquotas de 0,1 mL do sobrenadante foram transferidos para tubos de ensaio, juntamente com 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,5 mL de solução saturada de Na_2CO_3 . Após 2 horas de reação (completa precipitação do carbonato) a leitura de absorbância foi realizada a 725 nm. Os resultados foram expressos em mg fenóis g^{-1} MS equivalente em ácido gálico.

5.6.2.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica dos grãos crus foi determinada adaptando-se a metodologia proposta por Krzyzanowsky et al. (1991), utilizando-se 50 grãos para cada amostra, os quais foram pesados em balança de precisão. Em seguida as amostras foram imersas em 75 mL de água destilada em copos plásticos de 200 mL. Os recipientes foram colocados em estufa ventilada em temperatura de 25°C, por 5 horas. Após a obtenção dos dados foram calculadas as condutividades elétricas, expressas em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ de amostra.

5.6.2.5 Lixiviação de potássio

Após os resultados de condutividade elétrica, foram retiradas alíquotas das soluções de cada amostra, para a determinação da quantidade de íons de potássio lixiviado dos grãos crus. Seguindo a metodologia de Prete (1992), essa determinação foi feita com o auxílio de um fotômetro de chama. Com os dados obtidos, foi calculado o potássio lixiviado, expressando-se o resultado em g kg^{-1} de café beneficiado grão cru.

5.6.2.6 Análise sensorial

Após as amostras de café serem submetidas á aplicação de ozônio, com diferentes concentrações, o café foi beneficiado e posteriormente foi realizada a análise sensorial e classificação da bebida, mediante prova de xícara, por um painel de Juízes Certificados de cafés especiais (SCAA Certified Cupping Judges).

O café foi classificado com critérios numéricos, quanto ao sabor e aroma. Foram utilizadas notas que, compreendidas em determinado intervalo, caracterizaram os diferentes rupos de bebida fina . Os valores adotados foram de acordo com a classificação descrita por (SSCA 2009).

Quadro 1. Escala de qualidade segundo a Metodologia SCAA para café.

PONTUAÇÃO	DESCRIÇÃO	CLASSIFICAÇÃO
90-100	Exemplar	Especial raro
85-89,99	Excelente	Especial origem
80-84,99	Muito bom	Especial
< 80	Abaixo do Grau Especial	Não especial

Fonte: SCAA (2009).

Esse método baseia-se em uma análise sensorial descritiva quantitativa da bebida, utilizando uma escala numérica com intervalos de 0,25 pontos. São dez os parâmetros avaliados, sendo, fragrância (proveniente do pó seco) e aroma (pós-hidratação e pós-quebra da crosta), uniformidade (5 xícaras, cada qual correspondendo estatisticamente a 20% da amostra), ausência de defeitos (fermentações indesejáveis, amargor indesejável), doçura (referência = 0,5% m/v), sabor, acidez (tipo da acidez, intensidade e qualidade), corpo(intensidade e qualidade), finalização (persistência e qualidade residual), equilíbrio/harmonia (interação entre sabor, corpo e acidez) e conceito final (SCAA, 2009).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 O teor de água dos grãos

A secagem do café foi realizada em duas condições: secagem natural, sobre bancadas expostas ao sol, e secagem monitorada, sobre bancada em câmara climatizada.

Seguida da ozonização dos frutos de café, a secagem em condições naturais, foi iniciada no dia 13/08/2013, prologando-se por 11 dias, e finalizada no dia 26/08/2013. Durante este período os elementos climáticos, mantiveram-se em umidade relativa média de 70,2% e temperatura média de 16,58°C (Figura 10).

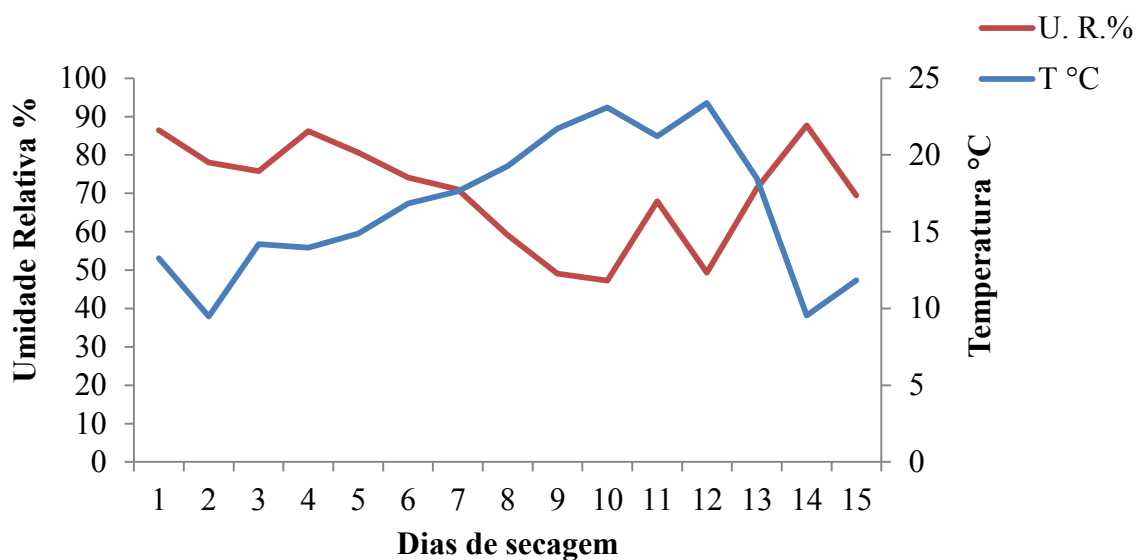


Figura 10. Temperatura (°C) e Umidade Relativa (%) durante o mês de agosto de 2013.

As condições climáticas na cidade de Botucatu-SP, durante a secagem propiciou a retirada da água dos frutos até atingir 11% b.u, considerado o teor de água adequado para a armazenagem, foram necessários 10 dias para a secagem como visto na Figura 11.

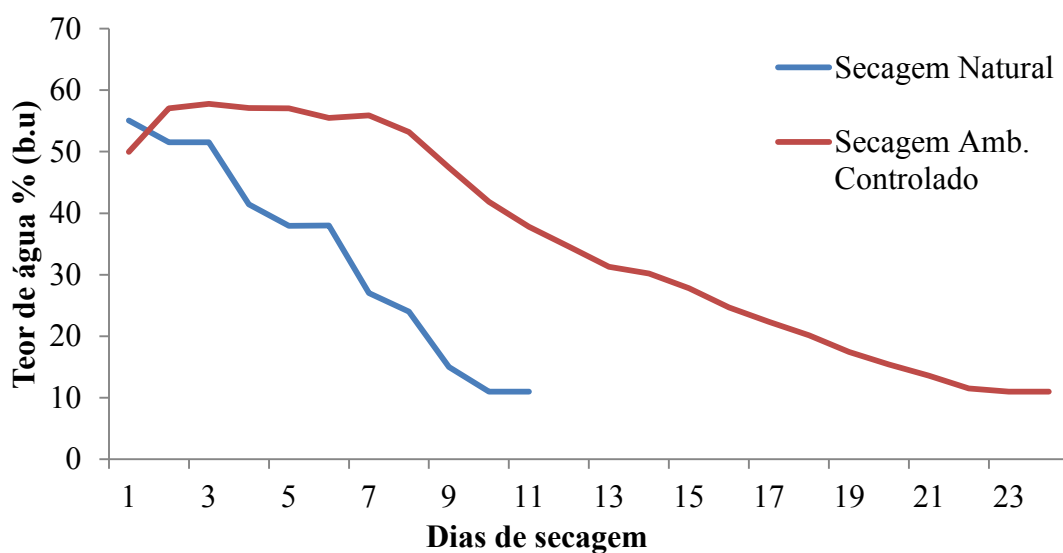


Figura 11. Teor de água durante a secagem dos frutos de café em condição de secagem natural e secagem com ambiente controlado.

Por outro lado na secagem com ambiente controlado, a umidade relativa se manteve em 80% e a temperatura em 32°C. Nessas condições, o processo de redução de água dos frutos do café não foi viável. Levando os frutos a fermentações, e devido à presença de microrganismos, os frutos de café foram conduzidos para o ambiente natural, sendo expostos ao sol até atingirem o teor de água de 11%.

Vale ressaltar que a condição de secagem monitorada não possibilita a secagem dos cafés, isto porque os frutos entram em equilíbrio higroscópico com o ambiente da câmara climatizada, assim, para evitar sua deterioração, as amostras de cafés após 12 dias na câmara climatizada, foram conduzidas juntamente com as bancadas e expostas ao sol (Figura 11).

Na Figura 12, estão os valores médios de teor de água registrados após a secagem, para as duas condições de secagem. Verifica-se que, os teores de água ficaram em torno de 11%, nota-se que, na secagem em ambiente controlado os teores médios de água foram maiores, isto se explicaria pela fermentação provocada por fungos nesta condição de secagem.

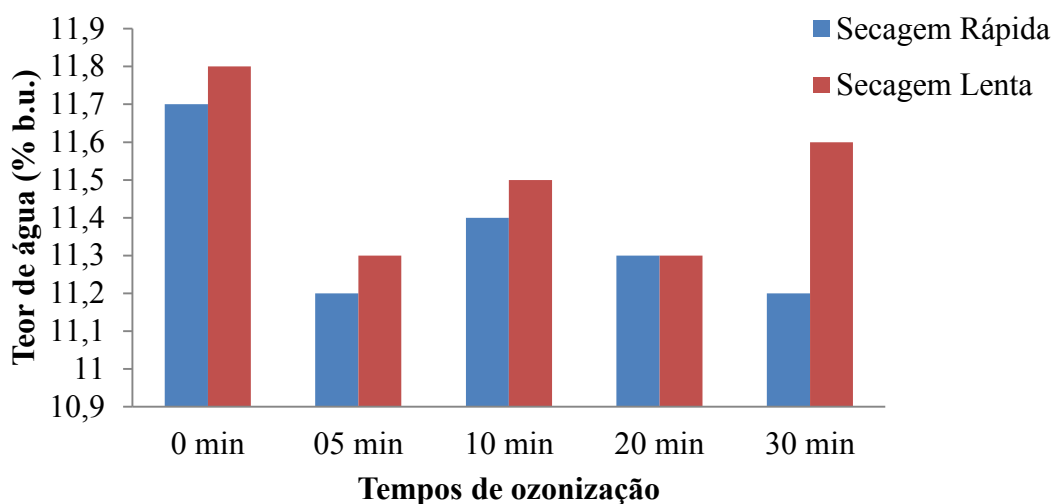


Figura 12. Valores médios de teor de água, após a secagem nos diferentes tempos de ozonização.

Os teores de água após a armazenagem estão expostos na Figura 13. Percebe-se que, mantiveram-se em torno de 11% b.u. durante o armazenamento, a

variação entre as secagens foi pequena, não sendo possível afirmar a interferência destes resultados nas análises realizadas.

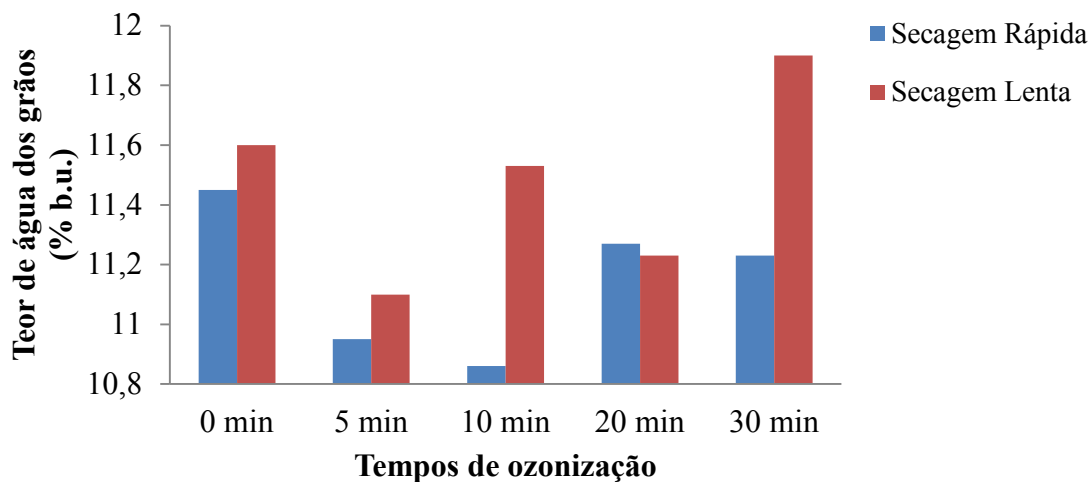


Figura 13. Teor de água após o armazenamento nos diferentes tempos de ozonização.

6.2 CONTAGEM DE FUNGOS

6.2.1 Secagem Natural

Na Tabela 1, são apresentados os valores percentuais da contagem de grãos contaminados com fungos nas amostras de café em coco, em diferentes tempos de tratamento com água ozonizada, por processo de secagem natural, logo após a ozonização, secagem e armazenagem.

Tabela 1. Valores percentuais de colonização por fungos no café, pelo processamento de secagem natural.

Momentos	Tratamentos	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Rhizotopus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Penicilium</i> spp.
Após Ozonização	0 min	72,2	80,5	-	-	-	-
	5 min	30,6	94,4	-	-	-	-
	10 min	44,4	94,4	-	-	-	-
	20 min	11,1	97,2	-	-	-	-
	30 min	5,5	97,2	-	-	-	-
Secagem	0 min	-	94,4	77,7	-	-	-
	5 min	-	100	80,5	8,33	-	-
	10 min	-	100	61,1	33,3	-	-
	20 min	-	100	83,3	33,3	2,7	-
	30 min	-	100	80,5	-	-	-
Armazen.	0 min	91,7	-	-	-	-	22,2
	5 min	63,8	-	-	-	-	44,4
	10 min	77,7	-	-	-	-	11,1
	20 min	100	-	-	-	-	19,4
	30 min	100	-	-	-	-	27,7

Pela Tabela, percebe-se que, após a ozonização à aplicação de ozônio, foi eficaz no controle do fungo do gênero *Fusarium* spp., reduzindo cerca de 95% da presença desta espécie, porém, não houve redução da percentagem de fungos do gênero *Colletotrichum* spp, podendo afirmar que o aumento do tempo de ozonização a 1 ppm, não foi eficiente na redução desta espécie.

Após a secagem, observa-se o prevaletimento de fungos do gênero *Colletotrichum* spp. e *Cladosporium* spp., e em menores percentuais do gênero *Rhizotopus* spp. Não houve a presença de *Fusarium* spp, sugerindo que a presença de *Colletotrichum* spp, *Cladosporium* spp. e *Rhizotopus* spp. inibiu a infestação por *Fusarium* spp.

Em estudo desenvolvido por Favarin et al. (2004), avaliando a qualidade da bebida de café de frutos cereja, submetidos a diferentes manejos pós-colheita, foi observado que o nível de frutos infectados por *Colletotrichum* spp. não foi afetado pela desinfecção com cloreto de benzalcônio. A ausência de frutos infectados por

Colletotrichum sp., no final da secagem pode ser explicada pelo antagonismo com os gêneros *Cladosporium* e *Alternaria*.

Após o armazenamento de seis meses, verificou-se a presença do fungo do gênero *Fusarium* spp. esta espécie é conhecida por ocorrer nos grãos desde a colheita até o armazenamento. O fungo *Penicilium* spp., também foi observado, tal microrganismo é típico de produtos armazenados. Simões et al. (2008), verificou que, o café seco em terreiro de cimento apresentou uma redução de 100% do fungo *Aspergillus restrictus*, porém a contaminação pelo fungo do gênero *Fusarium* spp. aumentou no final do processo de secagem.

Os resultados corroboram Fernandes et al. (2008), que em estudo com controle de fungos através do uso de fungicidas durante a formação e no processo de secagem em terreiro do café, perceberam que não houve consistência de nenhum produto no controle de fungos em frutos no pátio, após 11-13 dias de secagem a pleno sol. Os autores notaram também uma sucessão de fungos nos frutos, em ordem decrescente: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium lateritium*, *C. coffeicola* e *Cladosporium* spp.

Avaliando a composição microbiana do café, submetido a diferentes tempos de espera antes da secagem, Pimenta e Vilela (2003), perceberam que, os fungos do gênero *Penicillium* spp. mantiveram infecção semelhante até os seis dias, diminuindo de forma acentuada após esse período antes da secagem. Já o gênero *Cladosporium* spp, diminuiu de forma progressiva à medida que os frutos foram mantidos ensacados por mais tempo.

Resultados semelhantes com relação ao *Cladosporium* spp, foram observados pelos mesmos autores (PIMENTA; VILELA, 2001) que, trabalhando com frutos de café, lavado e amontoado por diferentes tempos antes da secagem, constataram uma diminuição na infecção dos fungos desse gênero com a elevação no tempo de amontoa. Reforça-se, dessa forma, a hipótese dos autores de que possivelmente existam metabólitos dos processos fermentativos que podem estar inibindo os fungos do gênero *Cladosporium* spp.

Durante a fermentação, secagem e armazenagem de grãos de café Silva et al. (2008), notaram que, fungos do gênero *Penicillium* spp. estavam presentes em todas as amostras, durante a fermentação, secagem e também durante o armazenamento de dois tipos de embalagens (polietileno e juta) de café. As espécies de *Penicillium* spp.

estudadas por Magan Lacey (1984) foram as mais prevalentes, por terem liberado de metabolitos no substrato que inibiram o crescimento de outras espécies de fungos.

A fim de analisar o potencial da concentração de fungos, nas amostras utilizadas no estudo em diferentes momentos, foi aplicada à análise de componentes principais (PCA) utilizando as variáveis ozonização, secagem e armazenamento (Figura 14), através da contagem percentual de fungos. Pela Figura, percebe-se que houve a discriminação entre as variáveis, e que a presença de fungos exerceu comportamentos diferentes entre os momentos.

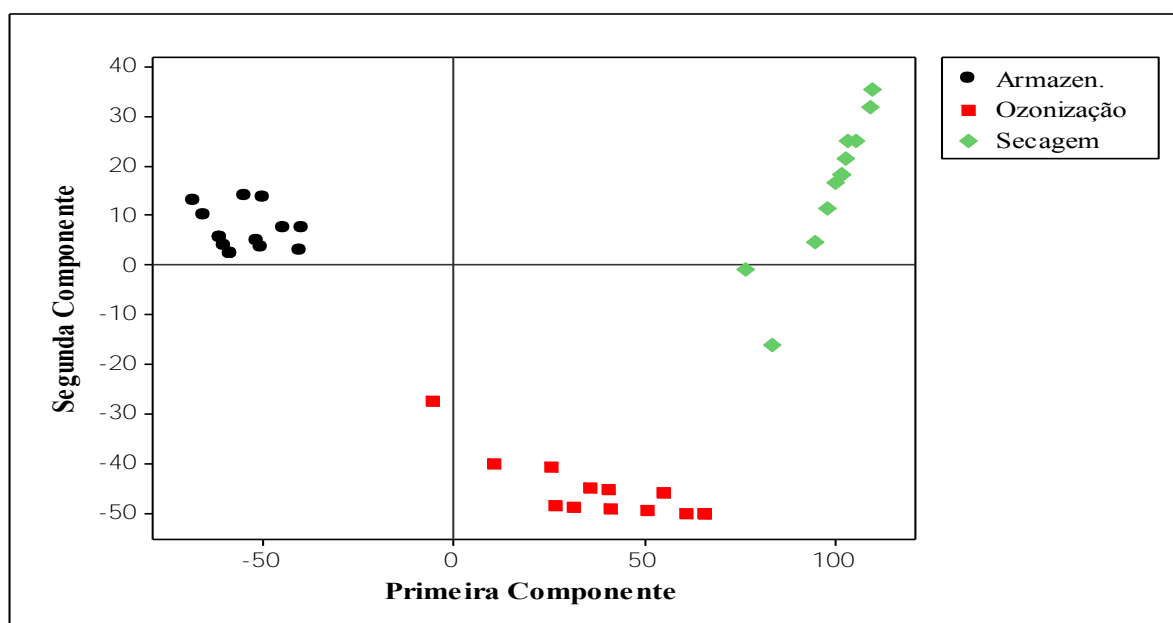


Figura 14. Relação entre a componente principal 1 (PCA_1) e a componente principal 2 (PCA_2), discriminando a relação entre os fungos, em três momentos (após a ozonização, após a secagem e após o armazenamento) durante a secagem natural.

Tabela 2. Valores dos componentes principais no primeiro eixo (PCA₁) e segundo eixo (PCA₂), referentes à associação fungica dos grãos de café após os três momentos durante a secagem natural.

Fungos	PC ₁	PC ₂
<i>Fusarium</i> spp.	- 0,586	0,025
<i>Colletotrichum</i> spp.	0,658	-0,500
<i>Cladosporium</i> spp.	0,434	0,821
<i>Rhizotopus</i> spp.	0,089	0,204
<i>Aspergillus</i> spp.	0,003	0,006
<i>Penicilium</i> spp.	-0,164	0,185
Percentual de representação	75%	14%

Nos resultados da análise multivariada, observa-se que, os grupos de percentagem de fungos possuem diferenças entre os momentos, a PCA₁ representou 75% da informação, devido à alta colonização por fungos do gênero *Fusarium* spp. (-0,586), nos momentos após a ozonização e armazenagem, e *Colletotrichum* spp. (0,685) após ozonização e secagem de acordo com a (Figura 14; Tabela 1). No entanto, a PCA 2, que teve representatividade de 14%, distinguiu o grupo principalmente pelo fato do fungo *Cladosporium* spp. (0,821) provocar infecção apenas durante a secagem, o segundo fungo em importância foi o *Colletotrichum* spp. (-0,500) que foi identificado durante ozonização e no momento após a secagem (Tabela 1).

Em estudo sobre o efeito dos fatores químicos e ambientais no crescimento de *Aspergillus ochraceus* em cafés verdes, realizado por Suárez-Quiroz et al. (2004) foi demonstrado que 92% do processamento via seca (natural) estavam contaminados com fungos dos gêneros *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp, *Mucor* spp, *Eurotium* spp, *Goetrichum* spp e *Botrytis* spp.

A ausência de *Aspergillus* spp. durante a secagem e armazenamento, demonstra que, condições e localização do terreiro que favoreçam uma secagem rápida, são fundamentais para evitar o desenvolvimento de fungos produtores de ocratoxina A. (BUCHELI et al., 2000).

6.2.2 Secagem em ambiente controlado

A Tabela 3 apresenta os valores percentuais de colonização por fungos em frutos de café em coco, em diferentes tempos de lavagem com água ozonizada, por um processo de secagem em ambiente controlado com umidade relativa de 80% e temperatura de 32 °C, após a ozonização, secagem e armazenamento.

Tabela 3. Valores percentuais de fungos encontrados nos grãos de café por processamento de secagem em ambiente controlado.

Momentos	Tratamentos	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Rhizotopus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Penicilium</i> spp.
Após Ozonização	0 min	72,2	80,5	-	-	-
	5 min	30,5	94,4	-	-	-
	10 min	44,4	94,4	-	-	-
	20 min	11,1	97,2	-	-	-
	30 min	5,5	97,2	-	-	-
Secagem	0 min	-	86,1	-	-	-
	5 min	-	94,4	-	-	-
	10 min	-	100	-	-	-
	20 min	-	100	-	-	-
	30 min	-	100	-	-	-
Armazen.	0 min	2,7	-	33,3	47,2	2,7
	5 min	-	19,4	-	52,7	-
	10 min	-	-	-	61,1	-
	20 min	-	-	-	69,4	19,4
	30 min	-	5,5	27,7	66,67	2,7

Conclui-se pela Tabela, que a aplicação do gás controlou o fungo *Fusarium* spp. apenas após a ozonização. Nos momentos secagem e armazenamento, o controle por ozônio não foi eficaz, isto sugere que a aplicação de ozônio não é capaz de obter efeito latente no controle de microrganismos.

Na secagem houve a incidência apenas fungos do gênero *Colletotrichum* spp. inibindo a presença de *Fusarium* spp. e outros fungos, corroborando Favarin et al. (2004); Schmidt et al. (2010), e Bitancourt (1957), que constatou que os

fungos do gênero *Colletotrichum* spp., são abundantes nas diferentes etapas do preparo do café, podendo ocorrer na lavoura e no terreiro durante a secagem.

De acordo com os dados apresentados por Silva et al. (2008), espécies potencialmente produtoras de OTA se tornam prevalentes a partir de 22 dias de fermentação e secagem do café, pela Figura 12, verifica-se que, a secagem em ambiente controlado, foi concluída no vigésimo segundo dia.

No armazenamento, foram encontrados cinco gêneros de fungos, sendo os de maiores valores percentuais, os fungos do gênero *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (Tabela 3), tais fungos são característicos de armazenamento e produtores de micotoxinas.

Os resultados concordam com Silva et al. (2008), estes notaram que, 65% dos grãos estavam infectados por fungos *Aspergillus* spp / *Penicillium* spp na (semana 12) de ensaio de armazenamento. Os autores também notaram que no início do ensaio de armazenamento (semana 1), 60% dos grãos estavam infectadas com fungos, principalmente, por *Alternaria* spp. (50%), *Aspergillus* spp. / *Penicillium* spp. (5%), *Epicoccum* spp. (6%), e alguns poucos por *Fusarium* spp., e *Cladosporium* spp.. Quatro semanas mais tarde, houve uma forte infecção por *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Durante o resto do período de armazenagem, principalmente estes três gêneros foram detectados *Aspergillus* spp / *Penicillium* spp. (62%) e *Fusarium* spp. (36%) em quantidades semelhantes.

Para Cortez (2001), é de suma importância que o café colhido seja preparado o mais rápido possível e submetido à secagem para evitar os processos fermentativos e danos a qualidade do café. Segundo Bucheli e Taniwaki (2002), a secagem dos frutos de café é uma das rotas de contaminação de ocratoxina A.

Trabalhando com a incidência de ocratoxina A em diferentes frações do café, após secagem em diferentes tipos de terreiro, Batista e Chalfoun (2007), observaram que, das amostras analisadas quanto à presença de fungos do gênero *Aspergillus* spp, 29,41% eram de café bóia, 24,44% de mistura, e nas amostras de varrição a contaminação com fungos *Aspergillus* spp. foi de 72,73%.

Para verificar o potencial da concentração de fungos nas amostras utilizadas no estudo nos diferentes momentos, foi aplicada à análise de componentes principais (PCA) utilizando as variáveis ozonização, secagem e armazenamento (Figura

15) através da contagem percentual de fungos. Nota-se que houve a discriminação entre os diferentes momentos, mostrando que os grupos de percentagem de fungos exerceram comportamentos diferentes ao longo das análises avaliadas.

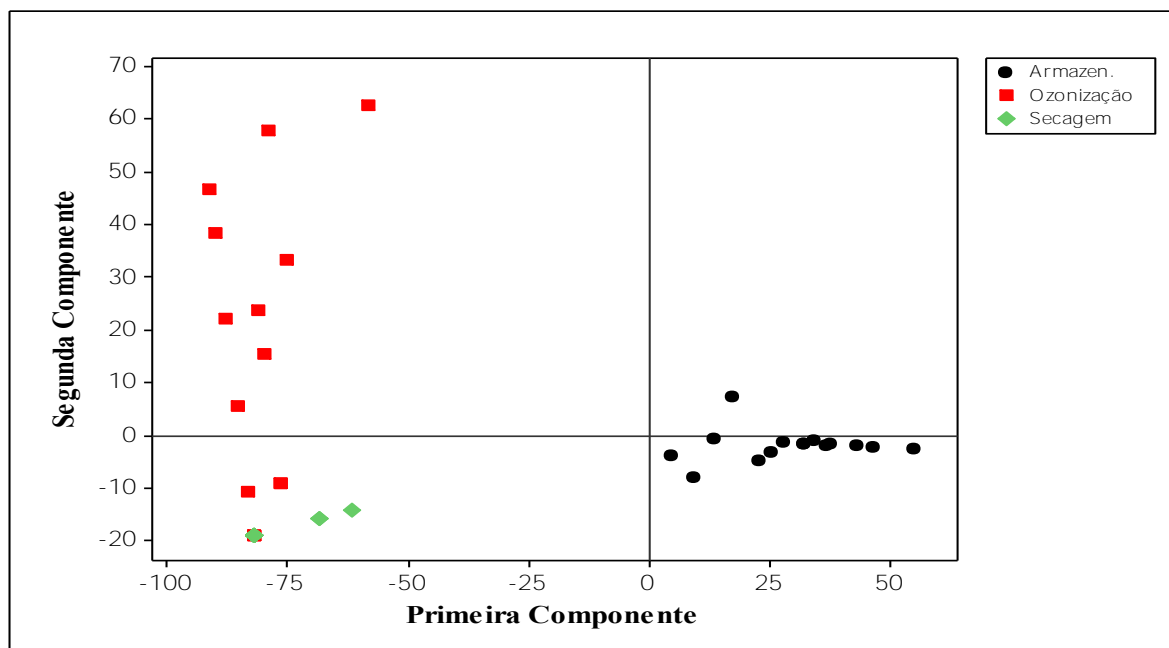


Figura 15. Relação entre a componente principal 1 (PCA₁) e a componente principal 2 (PCA₂), discriminando a relação entre os fungos, em 3 momentos (após a ozonização, secagem e armazenamento) na secagem em ambiente controlado.

Tabela 4. Valores dos componentes principais no primeiro eixo (PCA₁) e segundo eixo (PCA₂), referentes à associação fungica dos frutos de café durante a secagem em ambiente controlado, nos três momentos avaliados.

Fungos	PC₁	PC₂
<i>Fusarium</i> spp.	-0,141	0,982
<i>Colletotrichum</i> spp.	-0,818	-0,188
<i>Rhizotopus</i> spp.	0,069	0,004
<i>Aspergillus</i> spp.	0,552	-0,028
<i>Penicilium</i> spp.	0,049	0,004
Percentual de representação	77%	12%

Os grupos de percentagem de fungos mostraram diferenças entre os momentos, durante a secagem em ambiente controlado, a PCA₁ representou 77% da informação, devido a alta colonização por fungos do gênero *Colletotrichum* spp. (-0,818) nos momentos após a ozonização e secagem de acordo com a (Figura 15; Tabela 3). A PCA₂ que teve representatividade de 12% distinguiu o grupo pela ausência do fungo *Fusarium* spp. (0,982) após a secagem e armazenamento (Tabela 3).

Os resultados deste experimento, concordam com Magan e Lacey (1984) que estudaram o efeito da atividade de água, temperatura e substrato sobre as interações entre fungos de campo e de armazenamento, os autores notaram que houve a colonização de *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., espécies de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em grãos de café, sendo que as duas primeiras espécies estavam presentes no campo e as duas últimas espécies eram colonizadores de grãos de café secos durante o armazenamento, os mesmos observaram que o crescimento de *Cladosporium* spp. foi inibido por espécies de *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp..

A população fungica varia de acordo com o local de cultivo, tipo de preparo dos cafés após a colheita e com qualidade da bebida, predominando os seguintes fungos: *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., e *Aspergillus* spp., (ALVES; CASTRO, 1993).

6.2.3 Comparação entre secagem natural e secagem ambiente controlado

Com o intuito de analisar o comportamento fungico nos diferentes momentos, dentro de cada secagem (natural e ambiente controlado) foi utilizada a PCA, como método de comparação entre as duas secagens estudadas. Pela Figura 16, foi evidenciada a discriminação entre os processos secagens dos frutos de cafés nos momentos analisados (ozonização, secagem e armazenagem). A diferenciação foi devido às características e diferentes resultados percentuais de fungos encontrados em cada secagem.

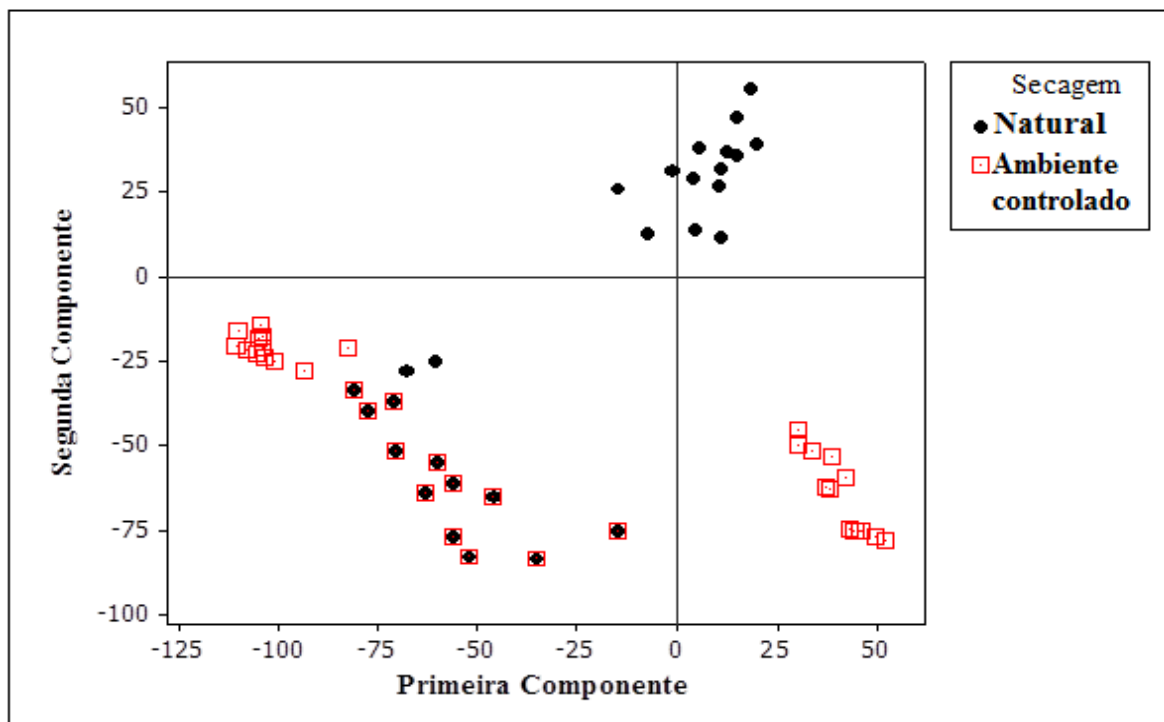


Figura 16. Relação entre a componente principal 1 (PCA₁) e a componente principal 2 (PCA₂), discriminando a relação entre os fungos, comparando os processamentos por secagem em ambiente controlado e secagem natural. Trapézio (ozonização), retângulo (secagem), elipse (armazenamento), triângulo (amostras com *Aspegillus* spp).

Tabela 5. Valores dos componentes principais no primeiro eixo (PCA₁) e segundo eixo (PCA₂), referentes à associação fungica dos grãos de café, comparando os processamentos por secagem natural e secagem em ambiente controlado.

Fungos	PC ₁	PC ₂
<i>Fusarium</i> spp.	0,436	-0,744
<i>Colletotrichum</i> spp.	-0,815	0,332
<i>Cladosporium</i> spp.	-0,295	0,126
<i>Rhizotopus</i> spp.	-0,037	0,105
<i>Aspergillus</i> spp.	0,180	0,554
<i>Penicilium</i> spp.	0,149	-0,057
Percentual de representação	53 %	24 %

Os grupos de percentagem de fungos apresentaram diferenças entre as secagens. A PCA₁ representou 53% da informação, enquanto, a PCA₂ teve 24% de representatividade. A diferenciação houve principalmente devido à presença do fungo *Aspergillus* spp. no armazenamento dentro da secagem em ambiente controlado como visto na Figura 16 delimitado pelo trapézio.

Na ozonização não houve distinção para os tipos de secagem. Pode-se observar que, durante a secagem o fungo *colletrotrichum* spp. não foi influenciado sendo encontrado tanto na secagem natural como em ambiente controlado.

Os resultados corroboram Pimenta e Chalfoun (2001), que estudaram a incidência de ocratoxina A, em diferentes terreiros, os autores notaram que a redução do conteúdo de água dos frutos de café, bem como os cuidados com a higienização dos terreiros e equipamentos utilizados durante os processos de secagem favorecem a redução da incidência dos fungos.

Pelos resultados obtidos, notou-se que, a aplicação de ozônio em diferentes tempos possui resultados positivos na redução de certos microrganismos, porém, a desinfecção não foi completa, mostrando a resistência de alguns fungos na aplicação do gás. Alguns trabalhos relatam que algumas espécies de fungos são mais resistentes a tratamentos com ozônio (RUSSEL et al., 1999).

Independentemente do tipo de secagem, o ozônio não foi capaz de diminuir a colonização por fungos após a secagem e armazenamento, porém, através dos resultados deste experimento, acredita-se que a aplicação deste gás, pode ter potencial na redução na quantidade de microrganismos da água de lavagem, um problema ambiental recorrente nas propriedades de produção de café.

As análises denotam da importância do clima e técnicas adequadas durante a secagem dos grãos. A natural redução de água nos frutos limitando o tempo de exposição às condições climáticas pode diminuir a contaminação por fungos, em especial *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. microrganismos produtores de Ocratoxina A.

6.3 Análises químicas e físico-químicas dos grãos

6.3.1 Secagem natural

6.3.1.1 Acidez Graxa

Como intuito de avaliar a deterioração pela hidrólise de lipídios e formação de ácidos graxos livres em grãos de café, submetidos a diferentes tempos de ozonização e o efeito da mesma após secagem e armazenamento, sob uma condição de secagem natural, foi realizada a análise de acidez graxa nos grãos de café, sendo os valores médios descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Valores médios de acidez graxa (mL de KOH 0,1 N.100 g⁻¹MS), entre tempos de ozonização, após secagem e armazenamento no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	14,56 a	15,37 a
5 min	14,44 a	10,73 b
10 min	13,69 a	12,12 b
20 min	14,13 a	11,88 b
30 min	15,00 a	13,09 ab
CV(%)	8,59	10,95

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Pela Tabela, percebe-se que, após a secagem natural, a ozonização não apresentou efeito imediato significativo na variação dos ácidos graxos livres dos grãos, para os tratamentos testados. Foi detectado, porém o efeito latente, depois de seis meses de armazenagem, tendo o tratamento testemunha (sem ozonização) com os maiores valores e se diferenciando estatisticamente dos demais. Possivelmente, a ausência da ozonização favoreceu uma atividade incipiente de microrganismos. Por outro lado, verifica-se,

também, que no tratamento com mais tempo de exposição ao gás, existiu maior produção de ácidos graxos livres, sugerindo neste caso, um efeito deletério do ozônio.

Resultados similares foram obtidos por Nascimento et al. (2008), que trabalhando com ozônio e ultrassom como processos alternativos para o tratamento do café despulpado, também não encontraram diferenças significativas, em relação a acidez titulável. Segundo os mesmos autores o ozônio degrada a matéria orgânica, levando à produção de ácidos, como o fórmico e acético, supunha-se que haveria aumento significativo de acidez titulável. Entretanto, o tempo de aplicação do gás no experimento não foi suficiente para que houvesse intensa degradação, com formação de ácidos capazes de alterar a acidez.

6.3.1.2 Condutividade Elétrica

Os diferentes tempos de ozonização promoveram o aumento da condutividade elétrica, sendo o maior valor encontrado no tratamento com 30 minutos de exposição do produto à água ozonizada (Tabela 7). O poder oxidante do ozônio pode ter causado dano à membrana celular levando à lixiviação de eletrólitos teciduais promovendo maiores valores de condutividade elétrica.

Tabela 7. Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	35,99 a	33,80 a
5 min	39,57 ab	24,78 a
10 min	34,98 a	24,67 a
20 min	40,32 ab	28,93 a
30 min	46,98 b	27,54 a
CV(%)	11,72	20,55

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em estudo com aplicação de ozônio na forma de aeração contra insetos em milho armazenado Rozado et al. (2008), obtiveram resultados similares, os

autores notaram que, o aumento no tempo de exposição à atmosfera modificada com ozônio causou uma elevação da condutividade elétrica, a partir de 264 horas de tratamento.

Os resultados deste experimento, não corroboraram Nascimento et al. (2008), que não encontraram diferenças na condutividade elétrica, durante a aplicação de ozônio em meio aquoso, em cafés despulpados.

Ainda na Tabela 7, nota-se que, a variação da condutividade elétrica entre os tempos de aplicação de ozônio, após armazenamento de seis meses, não obteve diferenças significativas, sugerindo assim, não existir efeito residual da ozonização.

6.3.1.3 Lixiviação de Potássio

A lixiviação de potássio em função do tempo de ozonização pelo processo de secagem natural, não obteve diferenças significativas, tanto após a secagem como após a armazenagem (Tabela 8).

Tabela 8. Valores médios de Lixiviação de Potássio (g kg^{-1}), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	1,57 a	0,86 a
5 min	1,86 a	0,46 a
10 min	1,74 a	0,48 a
20 min	1,51 a	0,91 a
30 min	2,04 a	0,57 a
CV(%)	33,17	37,24

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos não corroboram Nascimento et al. (2008), que encontraram redução significativa após tratamento com ozônio. Esperava-se que, a lixiviação de potássio seguisse a mesma tendência da condutividade elétrica, aumentando seu nível com o aumento de exposição ao gás, pelo fato do potássio ser o íon mais presente no grão de café com cerca de 40%, desta forma, é provável que tenham se lixiviado outros

íons de menor expressão no café. Estão presentes também nos frutos de café: o magnésio, o rubídio, o cobre, o manganês, o cálcio e o ferro, entre outros (ILLY; VIANI, 1995).

6.3.1.4 Açúcar redutor e açúcar total

A variação do açúcar redutor em diferentes tempos de ozonização e armazenagem estão descrito na Tabela 9. Nota-se que, os maiores valores de açúcares redutores foram encontrados no tratamento testemunha, é possível que à aplicação de ozônio, possa ter hidrolisado a membrana celular e reduzido os teores de açúcares redutores. Nascimento et al. (2008), também, obtiveram redução dos açúcares redutores, em tratamentos com ozônio sob cafés despulpados.

Tabela 9. Valores médios de percentagem de açúcares redutores, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	1,41 a	0,70 ab
5 min	1,27 ab	0,67 b
10 min	1,13 b	0,72 ab
20 min	1,27 ab	0,76 a
30 min	1,12 b	0,75 ab
CV(%)	9,94	5,84

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

No Armazenamento, observa-se que, houve diferença estatística entre os tratamentos, porém, não é possível afirmar que exista a interferência do ozônio. É provável que durante a armazenagem dos grãos, algumas características do café tenham sido alteradas, disfarçando os valores destes açúcares redutores.

Na Tabela 10, verifica-se que, houve redução estatística dos açúcares totais dos grãos de café, durante os tempos de aplicação de lavagem com água ozonizada, assim, como nos açúcares redutores, os menores valores de açúcares totais, após a secagem, foram encontrados no tratamento com 30 minutos de exposição ao ozônio.

Tabela 10. Valores médios de percentagem de açúcares totais, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	9,07 a	4,78 a
5 min	8,23 ab	4,42 ab
10 min	8,05 b	4,29 ab
20 min	7,56 b	4,13 ab
30 min	7,48 b	3,50 b
CV(%)	4,96	10,41

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados concordam com Borém et al. (2008), que encontraram valores de açúcar total entre 8-9%, trabalhando com a qualidade de café natural seco em terreiro.

Os valores corroboram Nascimento et al. (2008), que obtiveram redução estatística de açúcares, após aplicação de ozônio, segundo o autor, o ozônio tem a capacidade de hidrolisar parte da celulose da parede celular e açúcares, bem como outros polissacarídeos.

No armazenamento nota-se que, a redução estatística, nas quantidades de açúcar redutor se manteve, seguindo a mesma tendência dos resultados na secagem, com os menores valores encontrados com 30 minutos de aplicação de ozônio.

A redução de açúcares totais, após o armazenamento em relação a secagem, segundo Taveira (2009), pode ter ocorrido devido à quebra de exoses para a produção de energia, após a mudança da respiração aeróbica para alcoólica devido a falta de oxigênio, já que os cafés foram armazenados em sacos plásticos, que permitia apenas uma troca parcial dos grãos com o oxigênio externo. O consumo de açúcares em condições anaeróbicas é bem maior quando comparado às condições aeróbicas normais para a produção da mesma quantidade de energia.

6.3.1.5 Compostos fenólicos

Na Tabela 11 verifica-se que, não ocorreu variação no teor de compostos fenólicos, esperava-se que, a aplicação do gás pudesse provocar o aumento no teor destes fenóis já que uma reação de mecanismos de defesa das plantas contra ação de danos celulares é a formação de polifenóis. É provável que a dose aplicada de ozônio, seja insuficiente para degradar os compostos liberados dos polímeros durante o tratamento das amostras de café.

Tabela 11. Valores médios de compostos fenólicos (mg 100g⁻¹), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	39,44 a	27,66 a
5 min	37,44 a	33,98 a
10 min	36,31 a	34,95 a
20 min	37,90 a	28,23 a
30 min	36,09 a	28,96 a
CV(%)	12,03	12,27

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Sautter et al. (2011), em tratamentos com ozônio para sanificação de pêssegos, obtiveram resultados diferentes, os autores observaram o aumento significativo no teor de compostos fenólicos, assim como Nascimento et al. (2008), que também obtiveram aumento significativo no teor de polifenóis com o aumento da exposição do produto ao ozônio.

6.3.1.6 Análise sensorial

A qualidade da bebida do café, não se alterou entre os tempos de ozonização (Tabela 12), acredita-se que, a ozonização na dose aplicada de 1ppm não

interfira na qualidade da bebida. Após a armazenagem, também, não houve variação estatística nos tratamentos analisados.

Tabela 12 - Valores médios das notas da análise sensorial, entre os tempos de ozonização e após o armazenamento no processo de secagem natural.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	76,50 a	77,00 a
5 min	77,75 a	77,18 a
10 min	76,62 a	76,56 a
20 min	77,12 a	76,75 a
30 min	78,06 a	77,56 a
CV(%)	1,41	0,96

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados do estudo de qualidade do café corroboram Armstrong et al. (2008) que, avaliando a aplicação de ozônio por aeração na fumigação de café dentro de contêineres para exportação, demonstraram que a fumigação com 10.000 ppm de gás O_3 sob vácuo -32 mm Hg a $13,0 \pm 3,0^\circ C$, durante 6,0 h, não afetou a qualidade sensorial do café. Resultados semelhantes também, obtiveram Nascimento et al. (2008) trabalhando com água ozonizada na qualidade de bebida em café despulpado.

6.3.2 Secagem em ambiente controlado

6.3.2.1 Acidez graxa

A ozonização após a secagem não revelou efeito imediato sobre a acidez graxa entre os tempos testados, sugerindo que o ozônio na dose aplicada, não foi capaz de atuar sobre os lipídios dos grãos de café durante a lavagem (Tabela 13).

Após o período de armazenamento de seis meses, notou-se que houve diferença significativa entre os tempos de ozonização, cuja tendência, a exemplo do

que ocorreu na secagem natural, foi obter os maiores níveis de ácidos graxos livres nos tratamentos sem ozonização e com 30 minutos de exposição ao gás.

Possivelmente, o efeito latente detectado nestes dois tratamentos foi devido a uma atividade mais intensa de microrganismos (ausência de ozonização) durante o armazenamento e, no caso da ozonização por 30 minutos, pode ser atribuído a um efeito deletério do ozônio sobre os lipídios, aumentando o nível dos ácidos graxos livres.

Tabela 13. Valores médios de acidez graxa (mL de KOH 0,1 N.100 g⁻¹M.S.), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	13,23 a	16,79 a
5 min	12,60 a	14,69 bc
10 min	12,11 a	13,29 c
20 min	12,31 a	14,44 bc
30 min	13,75 a	16,04 ab
CV(%)	12,38	5,09

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O aumento dos ácidos graxos após a armazenagem em comparação com a secagem pode ter sido devido, a exposição dos ácidos à oxidação, causada pela desestruturação da membrana, ocorrendo a rancificação do café. A rancidez é percebida mediante compostos indesejáveis causados pelas reações de oxidação e hidrólise de certos componentes, principalmente dos lipídios, que tornam o produto indesejável para o consumo (TAWFIK; HUYGHEBAERT, 1999).

6.3.2.2 Condutividade elétrica

Analisando a Tabela 14, verifica-se que, os tempos de ozonização após a secagem e armazenamento não se diferenciaram estatisticamente. Os altos valores

de condutividade elétrica encontrados na condição de secagem em ambiente controlado em comparação com a secagem natural se deve a forte interação causada por microrganismos característicos neste tipo de secagem, sendo que o longo tempo para redução do teor de água nos grãos propiciou condição suficiente para a colonização por fungos, danificando as membranas celulares ocasionando o aumento da condutividade elétrica.

Tabela 14. Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	56,39 a	30,04 a
5 min	54,33 a	30,73 a
10 min	53,54 a	27,79 a
20 min	55,72 a	37,73 a
30 min	56,70 a	36,40 a
CV(%)	5,89	18,10

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados similares obtiveram Alencar et al. (2011) que, investigando o efeito da aplicação de ozônio na qualidade do amendoim, perceberam que não houve variação significativa na condutividade elétrica da solução que continha os grãos de amendoim, pela interação de períodos de concentração de gás ozônio. Os valores médios da solução que continha os grãos, expostos ou não ao gás ozônio, em diferentes períodos de exposição, manteve-se dentro da faixa de 80 e 90 S g cm^{-1} . Santos (2008) também não encontrou diferenças na condutividade elétrica do milho, depois da saturação com o gás ozônio 100 ppm.

6.3.2.3 Lixiviação de Potássio

A lixiviação de potássio, não obteve diferenças significativas entre os tempos de ozonização após a secagem e armazenagem (Tabela 15).

Tabela 15. Valores médios de Lixiviação de Potássio (g kg^{-1}), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	1,49 a	0,30 a
5 min	1,31 a	0,30 a
10 min	1,28 a	0,27 a
20 min	1,36 a	0,37 a
30 min	1,59 a	0,36 a
CV(%)	17,69	18,04

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Silva et al. (2002), observou que, durante a armazenagem, existe uma tendência de crescimento inicial da lixiviação de potássio e posterior diminuição até o final do armazenamento, para os grãos com diferentes níveis de umidade, retirados tanto do terreiro como do secador. Isto explicaria a redução da lixiviação de potássio no armazenamento em comparação com a secagem encontrada neste trabalho. Godinho et al. (2000) verificaram que, os grãos de café armazenados beneficiados apresentaram maiores valores de lixiviação de potássio em relação ao café armazenado em coco.

6.3.2.4 Açúcar redutor e açúcar total

Analisando a Tabela 16, percebe-se que, a ozonização na dose aplicada após a secagem, não produziu efeito imediato sobre os açúcares redutores, no armazenamento de seis meses, não existiu diferenciação estatística entre os tempos de exposição dos frutos à água ozonizada.

Em comparação com a secagem natural, percebe-se que, os açúcares redutores na secagem em ambiente controlado foram sensivelmente menores, é possível, que a fermentação promovida por microrganismos nesta condição de secagem tenha reduzido a quantidade de açúcares redutores.

Tabela 16. Valores médios de percentagem de açúcares redutores, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem processo de secagem em ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	0,50 a	1,01 a
5 min	0,49 a	0,93 a
10 min	0,50 a	0,89 a
20 min	0,49 a	0,86 a
30 min	0,47 a	0,97 a
CV(%)	9,31	7,81

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

A ozonização na dose aplicada, após a secagem não produziu efeito imediato sobre os açúcares totais (Tabela 17), e assim como nos açúcares redutores, a ação de microrganismos nesta condição de secagem reduziram os valores de açúcares totais em comparação com a secagem natural.

Tabela 17. Valores médios de percentagem de açúcares totais, entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	5,03 a	4,30 a
5 min	4,94 a	5,56 b
10 min	4,31 a	5,45 ab
20 min	4,39 a	5,88 b
30 min	4,40 a	5,16 ab
CV(%)	10,79	10,34

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Após o armazenamento, verifica-se que houve diferenciação estatística, sendo que os menores valores médios são para o tratamento testemunha, porém,

não se pode afirmar que exista interferência da ozonização. Já que se esperava uma redução dos teores de açúcares em maiores tempos de exposição ao ozônio, a hipótese mais provável é que durante o armazenamento os teores de açúcares tenham sofrido interferência de microrganismos.

A redução dos açúcares totais no armazenamento em relação à secagem, segundo Santos et al. (2009), pode ser atribuída a uma possível ocorrência de processos fermentativos ocasionados por microrganismos, pelo fato dos frutos do café serem um potente substrato para reprodução de fungos.

6.3.2.5 Compostos fenólicos

Nota-se pela Tabela 18, que após a secagem, o teor de polifenóis alterou-se estatisticamente entre os tempos de ozonização, sendo que o tratamento com 30 minutos de aplicação de gás obteve o menor valor, porém, não é possível afirmar que exista o efeito da ozonização, é provável que os resultados estejam sendo mascarados pela fermentação microbiana, durante esta secagem em ambiente controlado. Após a armazenagem, não houve variação estatística nos tratamentos analisados.

Tabela 18. Valores médios de compostos fenólicos (mg 100 g⁻¹), entre os tempos de ozonização, após secagem e armazenagem no processo de secagem em ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	12,62 ab	24,21 a
5 min	11,63 abc	26,01 a
10 min	15,27 a	25,06 a
20 min	10,62 bc	26,11 a
30 min	8,15 c	29,87 a
CV(%)	16,90	19,73

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

O aumento da produção de compostos fenólicos após a armazenagem em comparação com a secagem pode ser causada pela presença de microrganismos originados de contaminação durante a secagem, desta forma, existe a produção de compostos fenólicos como método de defesa à infestação por fungos (AFONSO JUNIOR, 2001).

6.3.2.6 Análise sensorial

Pela Tabela 19, verifica-se que, as notas de qualidade da bebida do café, não se alteraram entre os tempos de ozonização, sugerindo que o gás na dose aplicada de 1ppm não interfira na análise sensorial. Após a armazenagem, também, não houve variação estatística nos tratamentos analisados.

Tabela 19. Valores médios da análise sensorial, entre os tempos de ozonização e após o armazenamento no processo de secagem ambiente controlado.

Tratamentos	Secagem	Armazenagem
0 min	75,12 a	73,25 a
5 min	75,50 a	72,88 a
10 min	73,37 a	72,06 a
20 min	74,12 a	72,38 a
30 min	74,37 a	72,44 a
CV(%)	2,58	0,95

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados corroboram Nascimento et al. (2008) e Armstrong et al. (2008), que não encontraram diferenças significativas em tratamentos com ozonização, na análise sensorial do café.

A redução da qualidade sensorial da bebida no armazenamento em comparação com a secagem, pode ter ocorrido devido, ao processo fermentativo pela ação de microrganismos, como bactérias, bolores e leveduras, que deteriora as membranas dos grãos (JONES; JONES, 1984). A continuidade deste processo de fermentação implica na

alteração de compostos químicos dos grãos e da bebida, resultando em sabor e odor desagradáveis (VANOS, 1988).

A redução da qualidade da bebida de café, de acordo com Bozza et al. (2009), pode estar relacionada com o número elevado de fungos do gênero *Aspergillus* spp. a presença deste gênero, pode indicar uma maior participação nos processos fermentativos que alteram a qualidade da bebida de café. Foi verificado na condição de secagem em ambiente controlado um maior percentual de fungos, inclusive do gênero *Aspergillus* spp. (Tabela 3).

7 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos nesse trabalho pode-se afirmar que:

A aplicação de ozônio, na dose de 1 ppm por minuto, sobre o café natural, foi capaz de diminuir a contaminação de fungos do gênero *Fusarium* spp.

A lavagem com água ozonizada não é capaz de manter o controle microbiano, após a secagem e armazenagem do café natural.

Em relação às análises químicas e físico-químicas, a ozonização aumentou a condutividade elétrica e acidez graxa após armazenagem e diminuiu os valores de açúcar redutor e total.

A lavagem com água ozonizada na dose aplicada neste experimento, não alterou a qualidade da bebida.

A secagem natural proporcionou os melhores resultados de qualidade.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. methods 02- 02A: fat acidity: rapid method, for grain. In: **Approved methods of the American Association of the Cereal Chemists**. Saint Paul, v.1, 1995.

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Regulamento Técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. Instrução normativa N°7/2011. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/media/IN07-2011-Ocratoxina.pdf>>. Acesso em: 26 Fevereiro de. 2013.

ABRAÃO, S. A. et al., compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.), **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 414-420, mar./abr., 2011.

ABRUNHOSA, L. J. **Estratégias para o controle de ocratoxina A em alimentos**. 236 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) - Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal, 2008.

AFONSO JÚNIOR, C. **Aspectos físicos, fisiológicos e de qualidade do café em função da secagem e do armazenamento**. 2001. 384 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

ALENCAR, E.R; et al., Effect of the ozonization process on the quality of peanuts and crude oil, **R. Bras.Eng. Agríc. Ambiental**, v.15, n.2, p.154–160, 2011

ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a bebida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 26., 1993, Aracaju. **Resumo...** Aracaju: SBF 1993. ref. 329).

AMORIN, H.V.; SILVA, O.M. Relationship between the polyphenoloxidase activity of coffee beans and quality of the beverage. **Nature**, New York, n. 219, p.381-382, 1968.

AMORIM, H. V. **Aspectos bioquímicos e histoquímicos do grão do café verde relacionados com a deterioração de qualidade**. Piracicaba: ESALQ, 1978. 85p. Tese de Livre docência.

AMPESSAM; F. et al. **Desenvolvimento de microrganismos durante a secagem de café cereja descascado**; VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil- Vitória - ES. 2008.

ANDRADE, E. T.; BORÉM, F. M.; HARDOIM, P. R. Cinética de secagem do café cereja, bóia e cereja desmucilado em quatro diferentes tipos de terreiros. **Revista Brasileira de Armazenamento-Especial Café**, Viçosa, n. 7, p.37-43, 2003.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 15th ed. Washington, DC, v. 2. 1990.

ARMSTRONG, J. W. et al. **Ozone fumigation to control quarantine pests in green coffee**; Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions; Orlando - Florida, 2008.

BATISTA, L.R.; CHALFOUN, S.M.; PRADO, G.; SCHWAN, R.F.; WHEALS, A.E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans. In: **International Journal of Food Microbiology**, N. 85, p. 293-300. 2003.

BATISTA, L. R., CHAFOUEN, S. M. Incidência de ocratoxina a em diferentes frações do café (*coffea arabica* L.): bóia, mistura e varrição após secagem em terreiros de terra, asfalto e cimento. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 804-813, maio / jun., 2007.

BELITZ, H. D.; GROSCHE, W.; SCHIEBERLE, P.; In *Lipids in Food Chemistry*. Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P., eds.; **Springer-Verlag**: Heidelberg, 2004.

BIAGGIONI, M. A. M; BARROS, R. E. Teste de acidez graxa como índice de qualidade em arroz, **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 679-684, jul./ago., 2006.

BITANCOURT, A.A. O tratamento das cerejas de café para melhorar a bebida. **O Biológico**, v.23, p.1-11, 1957.

BORÉM; F; M. et al. Qualidade do café natural e despulpado após secagem em terreiro e com altas temperaturas; **Ciência. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1609-1615, set./out., 2008.

BORGES, M. L.A.; Mendonça, J. C. F.; França, A. S., Oliveira, L. S., Correa, P. C. Efeito da torração em parâmetros físicos de cafés de diferentes qualidades. **Revista Brasileira de Armazenagem**, n.8, p.613, 2004.

BRASIL. Instrução Normativa nº 8, de 11 de junho de 2003. Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade para a Classificação do Café Beneficiado Grão Cru. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, p 22-29, 13 jun. 2003. Seção 1.

BUCHELI, P.; KANCHANOMAI, C.; MEYER, I.; PITTET, A. Development of ochratoxin A during robusta (*Coffea canephora* L.) coffee cherry drying. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. 48(4): 1358-1362, 2000.

BUCHELI, P.; TANIWAKI, M. H. Research on the origin, and on the impact of post-harvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee: review. **Food Additives and Contaminants**, Oxford, v. 19, n. 7, p. 655-665, July 2002.

CAMPA, C.; BALLESTER, J. F.; DOULBEAU, S.; DUSSERT, S.; HAMON, S.; NOIROT, M. Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. **Food Chemistry**, Washington, v. 88, p. 39-43, Jan. 2004.

CARVALHO, V. D.; Chagas, S. J. R.; Souza, S. M.C. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.18,n.187, p.5-20, 1997.

CHAVES, J. B. P. e SPROESSER, R. L. Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas. **Imprensa Universitária**, 1996. 81p.

CHIATONNE; P; V. et al. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos; **Alim. Nutr., Araraquara** v.19, n.3, p. 341-349, jul./set. 2008.

COFFEE TALK. The world of coffee. The New Java U. Vashon, WA, USA: **Coffee Talk**, 2002. p. 23-49.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – café**. Brasília, dezembro - 2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 2 de março de 2014.

CORADI, P. C. et al. Effect of drying and storage conditions on the quality of natural and washed coffee. **Coffe Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 38-47, jan/jun. 2007.

CORADI, P. C; BORÉM, F. M; OLIVEIRA, J. A. qualidade do café natural e despolpado após diferentes tipos de secagem e armazenamento, **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.12, n.2, p.181–188, 2008.

CORTEZ, J. G. **Efeito de espécies e cultivares e do processamento agrícola e industrial nas características da bebida do café.** 2001. 71 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2001.

DHINGRA, O.; SINCLAIR, J.B. **Basic Plant Pathology Methods** – Second edition, 434 p., CRC Press, 1996.

EL HALAL, S. L. M; **Composição, processamento e qualidade do café.** Trabalho de conclusão de curso em Química de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2008.

ESTEVES, A. B. Acidificação, ao longo do tempo da gordura do grão de café cru. **Estudos Agrônômicos**, v.1, n.4, p.297-317, 1960.

FALCÃO, H.L. Ozonium Systems Ltda. Divulgação da empresa, **folder explicativo e imagens de produtos.** Porto Alegre, 2009.

FARAH, A.; DONANGEL, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v.18, n.1, p.23-36, 2006.

FAVARIN, J. L. et al. Qualidade da bebida de café de frutos cereja submetido a diferentes manejos pós colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 2, p. 187-192, fev. 2004.

FERNANDES, N. T; et al; Controle de fungos endofíticos que infectam frutos de café na fase de formação e no processo de secagem em terreiro, Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil – **Resumos Expandidos**, pg. 389, Poços de Caldas, MG, 2000.

FERREIRA, G. F. P; et al., Fungos associados a grãos de café (*Coffea arabica* L.) beneficiados no sudoeste da Bahia. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.3, p.98-102, 2011.

FUNGARO, M. H. P., SARTORI, D. An Overview on Molecular Markers for Detection of Ochratoxigenic Fungi in Coffee Beans, **Braz. Arch. Biol. Technol.** v.52 n. special: pp.1-9, Nov. 2009.

GODINHO, R. P.; VILELA, E. R.; OLIVEIRA, G. A.; CHAGAS, S. J. de R.; Variações na cor e na composição química do café (*Coffea arabica* L.) armazenado em coco e beneficiado. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, ESPECIAL, n.1, p.38-43, 2000.

GOLDSTEIN, J. L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 371-382, Dec. 1963.

HORWITZ, H. Official method of analysis of the association of official agricultural chemists. 8 ed. *As. Agricultural Chemistry*, Washington, p.144, 1995.

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso coffee**: the chemistry of quality. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1996. 253 p.

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), 2001. **Safety evaluations of certain mycotoxins in food**. WHO Food Additives Series 47. World Health Organization, Geneva.

JONES, K.L.; JONES, S.E. Fermentations involved in the production of cocoa, coffee and tea. In: BUSHELL, M.E. (Ed.). **Progress in industrial microbiology**: modern applications of traditional biotechnologies. New York: Elsevier, 1984. p.433-458.

JORDÃO, B. A.; et al., Armazenamento de café a granel em silo com ventilação natural. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 2, 1974, Poços de Caldas. **Anais**. Poços de Caldas: MIC-IBC, 1974. p. 385.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal. Food Science**, v.66, n.9, p. 1241-1252, 2001.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relatos dos testes de vigor disponíveis as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 15-50, mar. 1991.

LACERDA FILHO, A. F; SILVA, J, S.; Secagem de café em combinação, **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.10, n.3, p. 671-678, 2006.

LEONG, S. L.; et al., Ochratoxin A production Aspergilli in vietnamese green coffee beans. **Letters in Applied Microbiology**, v. 45, p. 301-306, 2007.

LEITE, I. P.; VILELA, E. R.; CARVALHO, V. D. Efeito do armazenamento na composição química do grão em diferentes processamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 159-163, mar. 1996.

LOPEZ, L. M. V. et al. Avaliação da qualidade de grãos de diferentes cultivares decafeeiro (*Coffea arábica* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 1, p. 3-8, 2000.

LSPA - **Levantamento sistemático da produção agrícola**, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, Rio de Janeiro v.25 n.02 p.1-88 fev.2012.

MAGAN, N.; LACEY, J. Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 1984, 83-93.

MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; CHAGAS, S. J. de R. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1015-1020, set./out. 2005.

MANACH, C; SCALBERT, A; MORAND, C; RÉMÉSY C; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am. J. Clin. Nutr.** 79:727-747. 2004.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p. (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, v. 12).

MENCHÚ, E. F. La determinación de localidad del café. Parte 1. Características, color y aspecto. **Agricultura de las Americas**, Kansas City, Missouri, v.16, n.5, p.18-21, 1967.

MENDONÇA, L. M. V. L. et al. Composição química de grãos crus de cultivares de *Coffea arábica* L. suscetíveis e resistentes à *Hemileiavastatrix* Berg et Br. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 413-419, mar./abr. 2007.

NASCIMENTO, L; C. et al. Ozônio e ultra-som: processos alternativos para o tratamento do café despulpado; **Ciência e Tecnologia de Alimento**. Campinas, 28(2): 282-294, abr.-jun. 2008.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemists**, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 75-84, Apr. 1944.

NOGUEIRA, B. L. **Características físicas, químicas e biológicas do café (*Coffea arábica* L.) natural e descascado**, Dissertação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título Magister Scientiae, Viçosa-MG, 2010.

OLIVEIRA, I. P., OLIVEIRA, L. C., MOURA, C. S. F. T. Cultura do Café: histórico, classificação e fases de crescimento, **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, Agosto 2012.

PAIVA, F. G. F. **Eficiência da aplicação ozônio em queijo parmesão contaminado com *Aspergillus ochraceus***. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia de Alimentos) – UNISINOS. Porto Alegre, 2009.

PARIZZI, F. C; Incidência de fungos da pré-colheita ao armazenamento. **Tese em Engenharia Agrícola** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

PEREIRA, R.G.F.A.; VILLELA, T.C.; ANDRADE, E.T. **Composição química de grãos de café (*Coffea arabica* L.) submetidos a diferentes tipos de pré-processamento**. In: II SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2002, Vitória-ES. Resumos... Vitória: Embrapa Café, 2002. p. 826-831.

PEZZI, E. **O uso do ozônio como sanitizante em pós-colheita de produtos agrícolas**. Monografia do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu “Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrado de Pragas e Doenças de plantas”, 2009. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFGRS.

PIMENTA, C. J.; CHALFOUN, S. M. Composição microbiana associada ao café em coco e beneficiado colhido em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.3, p.677-682, 2001.

PIMENTA, C. J.; VILELLA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.), lavado e submetido a diferentes tempos de amontoa no terreiro. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 2, p. 3-10, 2001. Especial.

PIMENTA, C. J.; VILELLA, E. R. Qualidade do café (*coffea arabica* L.) colhido em sete épocas diferentes na região de Lavras-MG. Lavras: **Ciênc. Agrotec.** Edição especial, p.1481-1491, 2003.

POISSON, J. Aspects chimiques e tbiologiques de la composition du café vert. *In:* **Huitième Colloque International ser le Café**, ASIC, Paris, 33-57, 1979.

PRA, I. **Efeito do ozônio na destruição de microrganismos aeróbios psicrotrófilos e *Pseudomonas fragi* em água**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia de Alimentos) – UNISINOS.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1992.

RIBEIRO, F. C., BORÉM, F. M., GIOMO, G. S. LIMA, R. R., MALTA, M. R., FIGUEIREDO, L. P., 2011. Storage of green coffee in hermetic packaging injected with CO. **Journal of Stored Products Research**, 47, 341-348.

RICE, R. G.; GRAHAM, D. M. Recent developments in food and agricultural uses of ozone, Annual Conference – **Ozone Applications in a Changing Regulatory Environment**. North Caroline: IOA- Raleigh, 2002, p.1-12.

RIGUEIRA, R. J. de A.; LACERDA, F. A. F. de; VOLK, M. B. S.; CECON, P. R. Armazenamento de grãos de café cereja descascado em ambiente refrigerado. **Engenharia na Agricultura**, Jaboticabal, v. 17, n. 4, p. 323-333, jul./ago. 2009.

ROZADO, A.F.; FARONI, L.R.A; URRUCHI, W.M.I.; GUEDES, R.N.C.; PAES, J. L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12 n.3,p 282-285, 2008.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. 3. ed. Oxford: **Blackwell Science**, 1999. 826 p.

SAATH, R. et al., Activity of some isoenzymatic systems in stored coffee grains. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.38, n. 1, p.15-24, jan./fev., 2014

SALVA, T.J.G.; LIMA, V.B. A composição química do café e as características da bebida e do grão. **O agrônomo**, Campinas. v. 59, n.1, p. 57-59, 2007.

SANTOS. J, E. **Difusão e cinética da decomposição do ozônio no processo de fumigação de grãos de milho (*Zeamays*)**; Tese em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa-Viçosa, MG, 2008.

SANTOS, M. A; CHALFOUN, S. M; PIMENTA, J. P; Influência do processamento por via úmida e tipos de secagem sobre a composição, físico-química e química do café (*Coffea arabica* L), **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 213-218, jan./fev., 2009.

SARAIVA, S. H. et al., Efeito do processamento pós-colheita sobre a qualidade do café conillon, **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, n.9, 2010.

SARRAZIN, C.; LEQUÉRE, J. L.; GRETSCH, C.; LIARDON, R. Representativeness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction methods, **Food Chemistry**, v.70, p.99-106, 2000.

SAUTTER, C. K; et al., Controle da podridão-parda e características físico-químicas de pêssegos 'Magnum' submetidos a tratamentos pós-colheita com elicitores abióticos, **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 58, n.2, p. 172-177, mar/abr, 2011.

SCHMIDT, C. A. P; MIGLIORANZA, E; HOMECHIN, M; Microflora associada aos grãos de café em coco e beneficiado produzidos no paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa - Paraná - Brasil , ISSN: 1981-3686/ v. 04, n. 01: p. 10-18, 2010.

SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; ABREU, L. M.; DIAS, E. S.; SCHWAN, R. F. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. **Food Microbiology**, London, v.25, n.8, p.951-957, 2008. doi:10.1016/j.fm.2008.07.003.

SILVA, C. F; BATISTA, L. R; SCHWAN, R. F; Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*coffea arabica* L.) beans, **Brazilian Journal of Microbiology**, 2008, 39:521-526.

SILVA, J.S.; BERBERT, P.A.; AFONSO, A.D.L.; RUFATO, S. Qualidade dos grãos. In: SILVA, J.S. Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas. Viçosa, MG: **Aprenda fácil**, 63-105, 2000.

SILVA, J.S.; BERBERT, P.A.; AFONSO, A.D.L.; RUFATO, S. Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas. In: SILVA, J.S. Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas. Viçosa, MG: **Aprenda fácil**, 416-44p, 2000.

SILVA, J. S. Secagem e armazenagem de café: tecnologias e custos. In: **Viçosa: UFFV** editor: Juarez de Sousa e Silva. 2001.162p.

SILVA; S; B. et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos **Revisões / Reviews DOI: 10.5433/1679-0359, v 32, n° 2, 2006, p 659.**

SILVA, R. P. G.; VILELA, E. R.; PEREIRA, R. G. F. A; BORÉM, F. M. **qualidade de grãos de café (*coffea arabica* l.) armazenados em coco, com diferentes níveis de umidade.** In: II SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2002, Vitória-ES. Resumos. Vitória: Embrapa Café, 2002. p. 981-990.

SIMÕES, R. O; FARONI, L. M. A; QUEIROZ, D. M; Qualidade dos grãos de café (*coffea arabica* l.) em coco processados por via seca. **Revista Caatinga**, Mossoró-Brasil, v.21, n2, p.139-146 maio/junho de 2008.

SINGH, N. et al. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. **Lebensm.-Wiss.u.- Technol.**, v. 35, p.720-729. 2002.

SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. **J. Biol. Chem.**, v. 153, p. 6168, 1944.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA. Metodologia SCAA de avaliação de cafés especiais. **Guia rápido – Green coffee.** 7 p. 2009.

http://www.scaa.org/SCAA/CuppingProtocols/QuickGuidebyEnseiNeto_Portuguese/RevMar09. < />. Disponível em: http://coffeetraveler.net/wp-content/files/903-SCAACuppingMethod_RESUMO_3a.pdf Acesso em: 31 julho. 2013.

SUÁREZ-QUIROZ, M. L.; GONZÁLEZ-RIOS, O.; BAREL, M.; GUYOT, B.; SCHORR-GALINDO, S.; GUIRAUD, J. P. Effect of chemical and environmental factors on *Aspergillus ochraceus* growth and toxigenesis in green coffee. **Food Microbiology**, London, v. 21, n. 6, p. 629-634, Dec. 2004a.

TAVEIRA, J. H. S. et al., Perfis proteicos e desempenho fisiológico de sementes de café submetidas a diferentes métodos de processamento e secagem. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.10, p.1511-1517, out. 2012.

TAVEIRA, J. H. S; **Aspectos fisiológicos e bioquímicos associados à qualidade da bebida de café submetido a diferentes métodos de processamento e secagem.** 2009. f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, 2009.

TAWFIK, M.S.; HUYGHEBAERT, A. Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. **Food Chemistry**, v.64, p.451-459, 1999.

TOSELLO, A. Beneficiamento e armazenamento. In: GRANER, E. A.; GODOY JUNIOR, C. **Manual do cafeicultor**. São Paulo: Melhoramentos, 1967. cap. 10, p. 247-257.

URBANO, G.R.; TANIWAKI, M.H.; LEITANO, M.F. DE F.; VICENTINI, M.C. Ocurrence of ochratoxin A – Producingfungi in raw Brazilian coffee. **Journal of Food Protection**. 64(8): 1226-1230, 2001.

VANOS, V. Preliminary microbial ecological studies en “Rio taste” coffee beans. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 12., 1987, Montreux. **Annales**. Paris: Association Scientifique Internationale du Café, 1988. p.353-376.

VEGRO, C. L. R.; PINO, F. A.; NOGUEIRA JR, S.; MORICOCHI, L. Do café verde ao café torrado e moído: vantagens e dificuldades na exportação. **Revista Brasileira de Comércio Exterior**, Rio de Janeiro, v.19, n.84, p.60-71, 2005.