

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Desenvolvimento de embalagem antioxidante e antimicrobiana a base de quitosana para armazenamento de cafés especiais

Bruna Casagrande Amorin da Silva

Dissertação apresentada para obter o título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2023**

Bruna Casagrande Amorin da Silva
Bacharel em Biotecnologia

**Desenvolvimento de embalagem antioxidante e antimicrobiana a
base de quitosana para armazenamento de cafés especiais**

Orientadora:
Prof. Dra. **SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI**

Dissertação apresentada para obter o título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

DIVISÃO DE BIBLIOTECADIBD/ESALQ/USP

Silva, Bruna Casagrande Amorin da

Desenvolvimento de embalagem antioxidante e antimicrobiana a base de quitosana para armazenamento de cafés especiais / Bruna Casagrande Amorin da Silva. - - Piracicaba, 2023.

66 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Quitosana 2. Melaço 3. Café 4 Embalagem I. Título

AGRADECIMENTOS

Estes agradecimentos não poderiam começar diferente senão agradecendo aos meus pais, Celso e Silvia, que são os grandes responsáveis e incentivadores da minha caminhada acadêmica desde sempre. Mesmo numa cidadezinha do interior do Rio Grande do Sul, onde iniciei meus estudos na pré-escola, mesmo com todas as adversidades que eu nem entendia naquela época, eles nunca deixaram de priorizar a educação minha e da minha irmã (até demais, né Vick?), e nos mostrar que era através disso que conseguiríamos as maiores conquistas das nossas vidas.

À minha irmã, Victória, que foi quem mais me apoiou e acreditou na minha capacidade em desenvolver este projeto de mestrado, desde a inscrição. À minha vó, Iraci, que mesmo sem saber ler e escrever, aprendeu a enviar áudios no Whatsapp e desde então nunca deixou de mandar uma mensagem de apoio e para saber como eu e meus gatos estávamos. E aproveitando a deixa, não posso deixar de agradecer aos meus pets, meus gatinhos que tem sido meu grande suporte emocional nestes quase um ano e meio morando longe da família; e os cachorros, que mesmo morando com meus pais, recarregam todas as minhas energias quando vou para lá.

Agradeço imensamente a oportunidade dada pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ - USP); à toda coordenação do programa de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo suporte; à minha orientadora, Prof. Dra. Sandra Regina Ceccato Antonini, pelo excelente trabalho e acompanhamento ao longo do meu trabalho; à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar – Campus Araras) em especial ao Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), pelo espaço para desenvolvimento do meu projeto; e à CAPES pela bolsa concedida, tornando assim possível que eu pudesse me mudar do Mato Grosso do Sul para São Paulo para desenvolver meu trabalho com total dedicação.

Também agradeço à Prof. Dra. Kelly Roberta Francisco, pelo auxílio nas análises de caracterização da quitosana e embalagens, e à Prof. Dra. Marta Regina Veruma Bernardi, pela orientação e colaboração com as análises sensoriais. Agradeço a toda equipe e colegas do LAMAM, pelo suporte e ajuda quando precisei, principalmente no início.

Este trabalho também não seria possível sem as doações de materiais de pesquisa das empresas Arati, Baggio Café e Martins Café. Obrigada!

Agradeço aos amigos que fiz aqui em Araras e aos de longa data (oi, Carol), que tornaram esta caminhada muito mais fácil e leve, seja através de rolês duvidosos, de dias de preguiça no sofá, de cafés com lágrimas ou de conversas sérias e necessárias. Não sei por quanto tempo vocês irão permanecer na minha vida, mas saibam que vocês já fizeram muita diferença nesse pedacinho dela.

Bom, acho que também preciso me agradecer por ter sido forte e não ter desistido, por acreditar no meu trabalho. A ansiedade, a solidão, o medo e a insegurança bateram forte várias vezes, mas eu resisti. Às vezes a gente esquece que nosso relacionamento mais longo é com nós mesmos, então quero deixar registrado aqui o quanto tenho orgulho da minha trajetória.

BIOGRAFIA

Bruna Casagrande Amorin da Silva, filha de Celso Amorin da Silva e Silvia Adriane Casagrande Amorin da Silva, nasceu em 1994, em Ijuí – RS.

Iniciou suas atividades de pesquisa em 2013, no Grupo de Estudos em Biotecnologia e Bioprospecção Associados ao Metabolismo da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Graduou-se em biotecnologia pela UFGD em maio de 2016, tendo como tema de trabalho de conclusão de curso “Caracterização do potencial antioxidante do mel de abelhas nativas *Scaptotrigona depilis*”.

Iniciou o mestrado na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) em agosto de 2021.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO E OBJETIVO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Cafés especiais.....	13
2.2 Contaminações microbiológicas e oxidação em cafés.....	14
2.3 Embalagens alternativas para produtos alimentícios e a quitosana.....	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1 Obtenção de quitosana por fermentação de resíduos de camarão por <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> utilizando melão como substrato e desacetilação química.....	19
3.1.1 Microrganismo.....	19
3.1.2 Fermentação dos resíduos de camarão por <i>L. plantarum</i>	19
3.1.3 Obtenção da quitosana.....	20
3.2 Caracterização da quitosana de melão.....	20
3.2.1 Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR).....	20
3.2.2 Difração de Raios-X (DRX).....	20
3.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	21
3.2.4 Determinação da massa molar.....	21
3.3 Formulação dos filmes de quitosana.....	21
3.4 Desenvolvimento das embalagens de papel recobertas com quitosana.....	22
3.5 Análises das embalagens de papel recobertas com quitosana.....	23
3.5.1 Superfície e espessura.....	23
3.5.2 Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR).....	24
3.5.3 Difração de Raios-X (DRX).....	24
3.5.4 Propriedades mecânicas.....	24
3.6 Armazenamento de café nas embalagens de papel revestidas com quitosana.....	24
3.7 Análises físico-químicas dos grãos de café.....	25
3.7.1 Teor de água.....	25
3.7.2 Índice de acidez.....	25
3.8 Análises microbiológicas dos grãos de café.....	26

3.9	Análise de cor instrumental dos grãos de café torrado, grão moído e da bebida.....	26
3.10	Análise de sólidos solúveis totais da bebida (SST).....	27
3.11	Análise estatística.....	27
3.12	Análise sensorial do café.....	27
3.12.1	Preparo do café.....	27
3.12.2	Condições dos testes sensoriais.....	28
3.12.3	Análise descritiva por ordenação.....	28
3.12.4	Teste de preferência do café.....	30
3.12.5	Análise estatística.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1	Caracterização da quitosana de melão.....	35
4.2	Desenvolvimento das embalagens de papel recobertas com quitosana...37	
4.3	Análises físico-químicas e microbiológicas dos grãos de café.....	45
4.4	Análise de cor instrumental dos grãos de café torrado, grãos torrado e moído e da bebida.....	50
4.5	Análise de sólidos solúveis totais da bebida (SST).....	54
4.6	Análise sensorial da bebida.....	54
7	CONCLUSÕES.....	59
	REFERÊNCIAS.....	61

RESUMO

Desenvolvimento de embalagem antioxidante e antimicrobiana a base de quitosana para armazenamento de cafés especiais

Grãos de cafés especiais são sensíveis a fatores como umidade, temperatura e oxigênio, os quais podem propiciar contaminação microbiana e oxidação, encurtando assim a vida de prateleira do produto, fazendo com que o local e a embalagem que armazena os grãos seja crucial para uma boa conservação. Uma embalagem revestida de quitosana pode ser uma opção, uma vez que a quitosana possui propriedades antimicrobiana e antioxidante. Nesse trabalho utilizou-se quitosana produzida em duas etapas (fermentação láctica de melação com resíduos de camarão e desacetilação química) e quitosana Sigma® para a produção de filmes depositados sobre a superfície de papel kraft gramatura 80 g/m². Os filmes foram preparados com quitosana, gelatina, sorbitol e glicerol em solução de ácido acético. Em seguida foram montadas embalagens para armazenamento de grãos de café especial durante 60 dias, com e sem revestimento de quitosana. As embalagens de papel foram avaliadas quanto à resistência mecânica, espectros de infravermelho, difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. As amostras de grãos de café foram analisadas quanto às características físico-químicas (teor de água e acidez) e microbiológicas (bactérias e fungos) a cada 20 dias. Foi realizada análise sensorial (teste de ordenação e preferência) da bebida preparada com os grãos de café armazenados por 60 dias, bem como análise de cor instrumental dos grãos de café, grãos moídos e da bebida, e de sólidos solúveis na bebida. As embalagens revestidas com quitosana apresentaram maior resistência mecânica do que as embalagens sem revestimento. Os filmes de quitosana proporcionaram boa cobertura das fibras de celulose da embalagem. Não houve diferenças estatísticas significativas entre as embalagens para as características físico-químicas e microbiológicas. As embalagens foram eficientes na conservação da cor dos grãos de café, mais favoravelmente para as embalagens revestidas com quitosana de melação e Sigma, porém isso não afetou os resultados da cor da bebida produzida com os grãos. Na análise sensorial, a bebida produzida com os grãos de café armazenados em embalagem revestida com quitosana de melação teve preferência similar à bebida feita com grãos embalados em embalagem sem revestimento, porém verificou-se um resultado mais satisfatório no tratamento com quitosana de melação ao analisar os atributos sabor e impressão global da bebida, e ao apresentar maior percentual de avaliadores atribuindo notas superiores (6 e 7 numa escala de 1 a 7). As embalagens revestidas com quitosana Sigma não apresentaram resultado satisfatório quanto à qualidade sensorial da bebida. A embalagem com deposição de quitosana se mostrou promissora como alternativa de baixo custo e biodegradável para armazenamento de café especial, necessitando de estudos mais detalhados para agregar mais resistência e evitar absorção de água.

Palavras-chave: Quitosana, Melação, Café, Embalagem

ABSTRACT

Development of antioxidant and antimicrobial chitosan-based packaging for special coffee storage

Specialty coffee beans are sensitive to factors such as humidity, temperature and oxygen, which can lead to microbial contamination and oxidation, shortening the shelf life of the product, making the location and packaging that stores the beans crucial for good conservation. A chitosan-based package may be an option, as chitosan has both antimicrobial and antioxidant properties. In this work, chitosan produced in two stages (lactic fermentation of molasses with shrimp waste and chemical deacetylation) and Sigma® chitosan were used for the production of films deposited on the surface of 80 g/m² kraft paper. The films were prepared with chitosan, gelatin, sorbitol and glycerol in acetic acid solution. Then, packages were assembled for the storage of special coffee beans for 60 days, with and without chitosan coating. Paper packages were evaluated for mechanical strength, infrared spectra, X-ray diffraction and scanning electron microscopy. Coffee bean samples were analyzed for physical-chemical (water content and acidity) and microbiological (bacteria and fungi) characteristics every 20 days. Sensory analysis (ordering and preference test) of the beverage prepared with coffee beans stored for 60 days was performed, as well as instrumental color analysis of coffee beans, ground beans and beverage, and of soluble solids in the beverage. Packages coated with chitosan showed greater mechanical resistance than uncoated packages. The chitosan films provided good coverage of the cellulose fibers in the package. There were no statistically significant differences between packages for physical-chemical and microbiological characteristics. The packages were efficient in preserving the color of the coffee beans, more favorably for the packages coated with molasses chitosan and Sigma, but this did not affect the results of the color of the beverage produced with the beans. In the sensory analysis, the beverage produced with coffee beans stored in packaging coated with molasses chitosan had a similar preference to the beverage made with beans packaged in uncoated packaging, but there was a more satisfactory result in the treatment with molasses chitosan when analyzing the beverage's flavor and overall impression attributes, and by having a higher percentage of evaluators assigning higher grades (6 and 7 on a scale of 1 to 7). Packs coated with Sigma chitosan did not show satisfactory results regarding the sensory quality of the drink. The packaging with chitosan deposition proved to be promising as a low-cost and biodegradable alternative for storing specialty coffee, requiring more detailed studies to add more resistance and avoid water absorption.

Keywords: Chitosan, Molasses, Coffee, Packaging

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Desde o início do desenvolvimento da indústria no Brasil, no século XIX, o café teve papel de destaque e o país se tornou um importante produtor mundial. Porém, por muito tempo a qualidade do que era consumido internamente não recebeu grande atenção, um cenário que tem acompanhado a tendência de vários lugares ao redor do mundo e mudado, surgindo assim, um forte mercado de cafés especiais.

Para ser considerado um café especial, os grãos devem ter qualidade superior e atributos sensoriais marcantes e equilibrados, especialmente em relação ao gosto e ao aroma (PAIVA, 2010). Pessoas treinadas e com experiência no assunto realizam análises sensoriais detalhadas para atribuir tais características e assim classificar o café.

Por ser um produto altamente sensível a fatores externos, os cafés especiais em grão têm aproximadamente um mês de vida de prateleira preservando todas as suas características organolépticas, enquanto cafés não enquadrados nesta categoria, comumente encontrados nas gondolas de mercados, tem em torno de seis meses de vida de prateleira. Isto se dá pelas diferenças no processamento, especialmente no perfil de torra, que costuma ser mais claro para cafés especiais, ressaltando assim as características do grão, e conseqüentemente tem-se um produto com maior teor de umidade e atividade de água, o que o torna mais propício à oxidação e também contaminações microbiológicas. Desta forma, a embalagem onde o café é acondicionado se torna uma grande aliada para sua proteção, pois oferece uma barreira física contra luz, umidade, temperatura, microrganismos e outros fatores externos.

A quitosana é um polissacarídeo derivado da quitina, com estrutura quimicamente semelhante à celulose. É encontrada naturalmente na parede de fungos, no entanto, é a partir da desacetilação da quitina do exoesqueleto de insetos, moluscos e crustáceos, que obtém-se sua maior fonte (LIMA *et al.*, 2012). Entre as várias propriedades da quitosana destacam-se as atividades antimicrobiana e antioxidante, além de ser utilizada no ramo da saúde como auxiliar no emagrecimento e na redução do colesterol (CHEVALIER *et al.*, 2016). Devido a sua estrutura semelhante à celulose, também possui potencial como substituto de embalagens, sendo uma importante alternativa de embalagem ambientalmente correta.

Usualmente as embalagens de cafés são compostas de plástico e alumínio, o que não possui um apelo ambiental positivo. Neste contexto, embalagens de celulose revestidas de uma camada de quitosana poderiam ser uma alternativa ecológica, além

de possuir propriedades antioxidante e antimicrobiana, prolongando assim a vida de prateleira do produto. Entretanto, tal embalagem poderia alterar características sensoriais dos cafés especiais, o que requer uma análise minuciosa para elucidação de caso.

Com isto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de embalagens de papel revestidas com quitosana sobre as características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e de cor de café especial por um período de armazenamento de 60 dias. Foi testada a quitosana da marca comercial Sigma® e quitosana produzida em um processo de duas etapas, consistindo de fermentação láctica de resíduos de camarão em meio de melaço de cana-de-açúcar para obtenção de quitina na primeira etapa, seguida de desacetilação química da quitina para obtenção do polímero.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cafés especiais

O cafeeiro é um arbusto da família Rubiaceae e do gênero *Coffea*, de origem africana, mais precisamente da região de Kaffa, na Etiópia (PAIVA, 2021). Entretanto, foi no Oriente Médio, com registros do ano de 575 D.C (ABIC, 2021), que a planta teve seu desenvolvimento explorado, tendo sido o lêmên o responsável pela maneira como consumimos o café hoje, a partir de grãos torrados, e o detentor de grande parte da produção por um longo período (NASCIMENTO *et al.*, 2007; SHIE, 2018; PAIVA, 2021). Em seguida a bebida se popularizou na Turquia com a criação das cafeterias, e não demorou para chegar à Europa, em países como a Itália e França, mas foram os holandeses, que controlavam o comércio europeu e tinham os melhores navios, os responsáveis por espalhar a planta pelo mundo no século XVI (SHIE, 2018).

Desde o início do desenvolvimento da indústria no Brasil, no século XIX, o café teve papel de destaque na economia. Trazido por Francisco de Melo Palheta, como um presente da esposa do governador da Guiana Francesa, inicialmente foi plantando no Pará. Porém, somente quando foi levado para os estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais, é que a planta melhor se adaptou e passou a ser uma cultura significativa, chegando a ser o principal produto de exportação brasileira (SANTOS; ARAÚJO, 2011).

Hoje o Brasil é o maior produtor e exportador de café em grãos do mundo, e mesmo com oscilações do mercado tem se mantido como um produto importante para a economia brasileira, muito provavelmente pelo hábito de grande parte da população mundial em ingerir a bebida (NASCIMENTO *et al.*, 2007). Entretanto, é possível notar uma mudança na exigência de qualidade do consumidor de café, o que explica a expansão do café especial.

No ano de 2004, a ABIC – Associação Brasileira da Indústria do Café lançou o Programa de Qualidade do Café da ABIC (PQC), o qual avalia e classifica os grãos de acordo com a qualidade recomendável geral, sendo dividido da seguinte forma: Tradicional, nota igual ou maior a 4,5 e inferior a 6; Superior, nota igual ou maior a 6 e até 7,2; e Gourmet, nota igual ou superior a 7,3 e até 10 (ABIC, 2004). O PQC tem também o intuito de informar ao consumidor, através de selos na embalagem, o perfil do café, através de sete categorias: tipo (arábica e/ou conilon), bebida, torração (muito

claro, claro, moderadamente claro, médio claro, médio, moderadamente escuro, escuro e muito escuro), moagem (grossa, média grossa, média, média fina, fina), sabor, corpo e aroma (GRÃO GOURMET, 2021).

Entretanto, a categoria de café especial é classificada de acordo com a Metodologia de Avaliação Sensorial da SCAA (*Specialty Coffee Association*), usada e consagrada em todo o mundo, a qual diz que café especial é todo aquele que atinge, no mínimo, 80 pontos na escala de pontuação da metodologia, que vai até 100, sendo avaliados os seguintes atributos: fragrância/aroma, uniformidade (cada xícara representa 20% do lote avaliado), ausência de defeitos, doçura, sabor, acidez, corpo, finalização, harmonia, conceito final (impressão geral sobre o café, a qual é atribuída pelo classificador) (SCAA, 2003). Não existe um padrão para um café atingir esta pontuação, pois a qualidade irá variar de acordo com a subespécie do café, o método de processamento (via seca ou úmida), torrefação adequada, entre outros parâmetros, no entanto, a bebida deve ser equilibrada e processada de forma que preserve e acentue o máximo de características positivas que aquele grão pode oferecer.

Tantos fatores de processamento e classificação fazem com que o café especial seja muito mais sensível à oxidação e contaminações que um café tradicional, por isso a recomendação da maioria dos especialistas é que este tipo de café seja consumido preferencialmente em um mês, ou no máximo dois, após sua torra e moído apenas na hora do consumo, preservando assim o máximo de suas características (GONÇALVES, 2020). Este prazo torna a experiência limitada a quem vive em regiões de difícil acesso ao produto, além de que faz com que o processo seja mais caro para o vendedor final, pois corre o risco de perdas significativas de seu estoque. Por isso, o desenvolvimento de embalagens que otimizem este prazo é importante e interessante para toda a cadeia de consumo do café especial.

2.2 Contaminações microbiológicas e oxidação em cafés

Os cuidados com possíveis contaminações nos grãos de café começam desde a colheita, pois o fruto possui uma microbiota natural e o próprio equipamento de colheita pode conter microrganismos contaminantes ou não (NASCIMENTO *et al.*, 2007). A armazenagem antes do processamento também é um importante ponto de controle, a qual deve ser feita em local sombreado e em sacos de ráfia ou bag abertos.

Desta forma, após a colheita, os frutos devem imediatamente ser lavados e impurezas devem ser tiradas, para então seguir para o processo de secagem, que pode ser por duas vias: seca e úmida. Na via seca, também chamado de café natural, os grãos não são descascados e secam ainda com casca e polpa, neste processo pequenas fermentações podem ocorrer devido à microbiota natural. Na via úmida, os frutos são descascados e despulpados, podendo manter ou não parte da mucilagem, sendo o método que retira e lava totalmente os grãos chamado de café lavado, e o que mantém parte da mucilagem, *honey*. A via úmida otimiza o tempo de secagem do café, porém o café lavado pode ter menos características sensoriais em comparação com os outros métodos. A secagem pode ser feita tanto de forma natural, em terreiros ou locais fechados, revolvendo periodicamente os grãos, quanto por secadores mecânicos (SENAR, 2017).

O método *honey* tem sido um dos preferidos dos produtores de cafés especiais, pois como mantém parte da mucilagem, possui muitos açúcares fermentescíveis e assim é possível fermentar os grãos de forma espontânea ou induzida, através da inoculação de bactérias e leveduras, como a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, já amplamente utilizada na indústria de alimentos. No entanto é imprescindível controlar o tempo de fermentação, temperatura, umidade e sólidos solúveis, para que microrganismos indesejados não se desenvolvam (SENAR, 2017).

A contaminação dos grãos de café crus pode ocorrer principalmente na fase de armazenagem, podendo gerar micotoxinas e ocratoxinas, ocasionando perdas significativas na produção. Pimenta e Vilela (2003) constataram em frutos de café ensacados por 8 dias antes da secagem, a incidência de fungos dos gêneros *Penicillium sp* e *Cladosporium sp*, que após algum tempo diminuíram sua infecção de forma gradativa. No entanto, o número de fungos *Fusarium sp*, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* aumentaram com o decorrer do tempo. Nesta mesma pesquisa, porém utilizando grãos lavados e ensacados por 8 dias antes da secagem, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp* e *Fusarium sp* foram detectados, com diminuição no número de colônias após certo período, e *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus niger* variaram de forma indefinida, com altas taxas de infecção durante todo o experimento. Tais resultados podem ser preocupantes, visto que alguns destes microrganismos são produtores de micotoxinas.

Se na etapa seguinte a secagem não for feita de maneira correta, controlando temperatura e umidade, microrganismos incidentes no período de armazenagem podem persistir e resultar em grãos que não podem ser vendidos. A umidade ideal antes dos grãos seguirem para torra é de 10 a 12% (BELCHIOR, 2020).

O processo de torra dos grãos de café pode variar de acordo com o resultado desejado, no entanto, o máximo permitido de umidade pela legislação brasileira é de 5% (ANVISA, 2005). A RDC 331/2019 e a IN 60/2019 estabelecem apenas padrão microbiológico para *Salmonella* sp., que deve ser ausente/25g e *Escherichia coli*, que deve ser de no máximo 5 UFC/g. Porém, outra fonte de contaminação pode ser na manipulação e armazenamento do consumidor final, ao deixar o produto em ambientes úmidos ou utilizar utensílios contaminados, por isso, a ideia de uma embalagem que minimize esta possível avaria se faz interessante.

Sem dúvida, a oxidação é o principal fator de degradação dos grãos de café, sobretudo dos cafés especiais, uma vez que suas características organolépticas são diretamente afetadas. Este processo pode começar ainda no grão verde, caso ele fique muito tempo armazenado antes da torra, pois os grãos necessitam de oxigênio para continuarem suas atividades metabólicas, no entanto, se esta atividade for muito alta, a camada externa do grão, que contem muito óleo, torna-se rançosa, além de perder características de aroma e sabor (PETICH, 2020). Quando o café é torrado, os óleos tendem a serem liberados ainda mais para a superfície externa (BELCHIOR, 2020), por isso, o oxigênio torna-se ainda mais prejudicial aos grãos, fazendo com que o tipo de embalagem utilizada e o armazenamento correto sejam cruciais na preservação da qualidade do produto.

2.3 Embalagens alternativas para produtos alimentícios e a quitosana

A crescente preocupação com questões ambientais tem mudado os hábitos da população em geral, entre eles, a redução de embalagens e utensílios plásticos de fontes não renováveis tem grande força, visto que existem outras fontes com apelo ecológico e potencial para substituição dos mesmos. Neste contexto, surgem o polietileno verde, e os biopolímeros, que são materiais de origem renovável, normalmente composto por polissacarídeos, proteínas, lipídeos ou uma mistura destes, com capacidade de formar filmes (SARTORI; MENEGALLI, 2016).

O polietileno verde é feito a partir da desidratação do etanol, e apesar de não ser biodegradável, é reciclável e de fonte renovável, sendo uma boa alternativa às

embalagens feitas a partir de polietileno fabricado a partir do petróleo (MORSCHBACHER, 2009).

Os biopolímeros são fontes biodegradáveis, não oferecendo danos quando estão na natureza. Podem ser extraídos diretamente da biomassa de polissacarídeos, usando monômeros de fonte renovável, ou produzidos por microrganismos (COLTRO, SARANTÓPOULOS, JESUS JUNIOR, 2005).

Entre os polímeros mais estudados encontra-se a quitosana, que é um polissacarídeo derivado da quitina. Sua estrutura é quimicamente semelhante à celulose, e é formada pela repetição de unidades β (1-4) 2-amino-2-deoxi-D-glicose, porém os polímeros diferem quanto à proporção relativa das unidades e à solubilidade (LIMA *et al.*, 2012). É encontrada naturalmente na parede de fungos da ordem dos Mucorales, entretanto, é a partir da desacetilação da quitina do exoesqueleto de insetos, moluscos e crustáceos, que se encontra sua maior fonte (LIMA *et al.*, 2012).

A quitosana vem sendo utilizada em diferentes áreas, como a farmacêutica, no auxílio da redução de colesterol e triglicerídeos; alimentos; e biomateriais, na forma de géis, filmes e membranas (SILVA *et al.*, 2006). Além disso, possui atividade antimicrobiana tanto sobre bactérias gram-positivas quanto gram-negativas, conforme demonstrado por Li *et al.* (2006). Isso provavelmente pode se dar pelas propriedades físico-químicas do biopolímero e às características da membrana do microrganismo, a qual é enfraquecida na presença da quitosana (SILVA *et al.*, 2006).

Vários estudos apontam as vantagens da quitosana na utilização como invólucro para alimentos, uma vez que é comestível, pouco interfere nas características sensoriais dos produtos e é um material que aceita muito bem a mistura com outros ingredientes, o que pode agregar em suas características. Ao adicionar componentes gelificantes, é possível obter um filme com a quitosana, o qual é biodegradável, biocompatível, flexível, durável, com boa resistência mecânica, e ainda com moderada permeabilidade à água e oxigênio, além do poder inibidor do crescimento microbiano (ARAÚJO *et al.*, 2012).

Rezende (2010), utilizando queijo minas frescal envolto de gel de quitosana e óleo essencial de orégano, observou a contribuição dos mesmos na conservação do produto. Chevalier *et al.* (2016) comprovaram que as amostras conservaram características sensoriais e microbiológicas por mais tempo em relação à amostra controle ao utilizar revestimento de quitosana em melão minimamente processado.

O potencial da quitosana em embalagens foi demonstrado por Erdawati (2011), ao desenvolver um nanocomposto com polietileno, nanopartículas de quitosana e montmorilonita no qual grãos de café verdes foram armazenados por 21 dias e comparados com embalagem somente de polietileno. Foi observado que a embalagem de nanocompostos diminuiu a difusão de oxigênio, a permeabilidade ao vapor de água, e aumentou a resistência mecânica, características muito positivas para a conservação de alimentos. No entanto, existem poucos estudos que abordam a utilização de quitosana em embalagens, conforme apontado em revisão realizada por Oladzabbasabadi *et al.* (2022).

Uma boa embalagem deve ser capaz de proporcionar uma barreira entre o alimento e o ambiente, protegendo de agentes externos que possam prejudicar a qualidade do produto. Por isso, a quitosana tem se mostrado promissora nesta área, pois além de reutilizar um resíduo industrial, por exemplo cascas de crustáceos, é biodegradável, possui ação antioxidante e antimicrobiana, não é tóxica, forma filmes, e pode ser utilizada tanto sozinha quanto em associação com outros compostos e materiais (SOUZA *et al.*, 2021).

Diante destes fatos, é possível que ao incorporar quitosana como revestimento de embalagens para alimentos, formando assim uma barreira para o ambiente, seja possível melhorar a proteção do produto diante de fatores físico-químicos, como oxigênio e umidade; microbiológicos; além de preservar e até mesmo melhorar as características sensoriais da bebida produzida com os grãos de café.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), Centro de Ciências Agrárias, UFSCar – Campus de Araras. As análises, a não ser quando especificado, foram também realizadas no LAMAM ou em outros laboratórios do Centro de Ciências Agrárias, UFSCar – Campus de Araras.

3.1 Obtenção de quitosana por fermentação de resíduos de camarão por *Lactiplantibacillus plantarum* utilizando melão como substrato e desacetilação química

O procedimento para obtenção da quitosana foi otimizado no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Molecular (LAMAM), Centro de Ciências Agrárias, UFSCar – Campus de Araras, em trabalhos anteriores (TANGANINI *et al.*, 2020; CECCATO-ANTONINI, 2022).

3.1.1 Microrganismo

No processo de bioextração de quitosana, foi utilizada a bactéria *Lactiplantibacillus plantarum* CCT0580 (ATCC8014) pertencente à coleção de culturas do LAMAM, Centro de Ciências Agrárias, UFSCar – Campus de Araras. A manutenção da cultura é realizada em Meio Man-Rogosa & Sharpe (MRS) e armazenada a 4°C.

3.1.2 Fermentação dos resíduos de camarão por *L. plantarum*

Resíduos (cabeça e casca) de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), oriundos da Cooperativa de Indústrias Beneficiadoras da região de Santos, SP, foram obtidos frescos, em blocos embalados a vácuo. Foram lavados com água destilada, secos em estufa a 60 °C por 24 horas, triturados com ajuda de *mixer* e peneirados para a retirada de impurezas. Os resíduos triturados e peneirados foram armazenados em sacos plásticos em *freezer* até a etapa de fermentação.

A bactéria *L. plantarum* foi cultivada em meio MRS líquido até densidade óptica de 1,0. As células foram centrifugadas e adicionadas na proporção de 10% (v/v) a meio de melão de cana-de-açúcar diluído (aproximadamente 1:5, para melão:água destilada) para a concentração de 150 g/L de açúcar redutor total, acrescido de 12 g/L de extrato de levedura, em biorreator de bancada de 1 litro TECNAL, utilizando 5% (m/v) de resíduos de camarão preparados como descrito anteriormente, num volume de final de 700 mL, a 190 rpm, 35°C por 3 dias. Ao final da fermentação, as fases

sólida e líquida foram separadas por centrifugação. A fase sólida foi lavada e centrifugada por 8 minutos a 5000 rpm em temperatura de 4 °C três vezes com água destilada, seca em estufa a 60°C por 24 horas, e utilizada para a fase de desacetilação.

A determinação da concentração de açúcar redutor total no melaço foi feita segundo metodologia de Miller (1959) com modificações, utilizando o método do ácido 3,5-dinitrossalicílico. O melaço foi obtido junto à Usina São João, Araras – SP.

3.1.3 Obtenção da quitosana

A fase sólida pós-fermentação foi submetida ao processo de desacetilação para obtenção de quitosana. Este processo foi realizado pelo método da autoclave, descrito por No *et al.* (2000), modificado. Consiste em adicionar 45% de hidróxido de sódio (NaOH) à amostra de quitina numa proporção de 30:1 (v/m), e submeter à alta temperatura e pressão em autoclave (121 °C a 1 atm) por 120 minutos. Em seguida, a amostra foi lavada com água destilada até pH neutro, e seca em estufa a 60 °C *overnight*.

A quitosana assim obtida foi denominada de quitosana de melaço para diferenciar da quitosana Sigma® utilizada como padrão nos experimentos (doravante chamada de quitosana Sigma). As características da quitosana Sigma são as seguintes: médio peso molecular (190 a 310 Kda), 75–85% de desacetilação, produzida em 18/01/2018, com validade até 18/01/2024.

3.2 Caracterização da quitosana de melaço

3.2.1 Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR da quitosana de melaço e Sigma foram investigados utilizando um espectrômetro FTIR modelo Tensor II (Bruker). Foi utilizado o método de ATR em um intervalo de 500 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹, com resolução de 2 cm⁻¹ e número de varreduras igual a 64.

3.2.2 Difração de Raios-X (DRX)

Os espectros de DRX da quitosana de melaço e Sigma foram obtidos utilizando um difratômetro modelo MiniFlex-XRD da marca Rigaku. Os parâmetros utilizados foram radiação CuK α de 1.5418 Å, 40 kV e 30 mA. Os difratogramas foram obtidos entre os valores de 2.0° a 70.0°, com intervalos de 10.0°/min.

3.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras de quitosana de melão e Sigma foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura (MEV), com o equipamento ThermoScientific Prisma E operando a 20 kV, usando imagem eletrônica secundária e modo de energia dispersiva de raio-X (EDX).

3.2.4 Determinação da massa molar

A determinação da massa molar da quitosana de melão foi feita seguindo o método descrito por Tanganini *et al.* (2020). A quitosana em pó foi adicionada a uma solução de ácido acético a 3% em uma proporção de 1% (m/v) e mantidos sob agitação magnética por 24 horas e então centrifugado a 10.000 rpm por 40 min. O sobrenadante foi recuperado e filtrado através de papel de filtro qualitativo. Hidróxido de amônio foi adicionado até a solução de quitosana atingir pH entre 9–10. O precipitado foi recuperado por filtração em filtro quantitativo, lavado com água destilada, colocado em placas de Petri de poliestireno e seco em estufa (60 °C) *overnight*. Após a secagem, a amostra de quitosana foi dissolvida em solução aquosa de ácido acético 0,3 mol/L e acetato de sódio 0,2 mol/L (pH 4,5), a 600 rpm, por 24 h a 25°C. Medidas viscosimétricas de seis soluções de quitosana na concentração entre $6,0 \times 10^{-4}$ – $3,0 \times 10^{-4}$ g/mL foram realizadas a 25 °C usando um viscosímetro capilar Ostwald (diâmetro de 0,75 mm), o qual foi imerso em banho cinemático (QUIMIS, Q-303SR26, Brasil). A massa molar da quitosana foi determinada calculando a viscosidade intrínseca $[\eta]$ das soluções poliméricas (YDENS *et al.*, 2005) e usando a equação de Mark-Houwink ($[\eta] = K \cdot M^v$), onde M^v é o peso molecular médio viscosimétrico e K e v são constantes para um dado sistema solvente-soluto, com valores de 0,074 e 0,76, respectivamente (RINAUDO *et al.*, 1993).

3.3 Formulação dos filmes de quitosana

O procedimento foi realizado conforme Gómez-Estaca *et al.* (2009), com modificações. A otimização do protocolo para obtenção do filme de quitosana foi realizada anteriormente (CECCATO-ANTONINI, 2022).

Para a obtenção de uma unidade de filme, foram preparadas as seguintes soluções estoque dos polímeros: 1 g de quitosana foi dissolvida em 20 mL de solução aquosa de ácido acético 2% com agitação magnética por 24 h. A solução estoque de gelatina incolor e sem sabor da marca Dr. Oetker® foi preparada pela dissolução de

3 g do polímero em 70 mL de solução aquosa de ácido acético 2% sob agitação magnética por 24 h. Após a dissolução dos polímeros, a solução de quitosana foi misturada com a solução de gelatina, com adição lenta dos plastificantes glicerol e sorbitol (0,6 g de cada plastificante), sendo a dispersão mantida em agitação magnética por 2 h.

Foram produzidos filmes com quitosana de melaço e com quitosana Sigma.

3.4 Desenvolvimento das embalagens de papel recobertas com quitosana

Inicialmente foram realizados testes com papel kraft de gramatura 80 g/m² e 300 g/m², em pedaços pequenos de papel (diâmetro de 9 cm), para verificar a homogeneidade do filme de quitosana sobre o papel e a flexibilidade do papel.

A seguir, as embalagens foram confeccionadas a partir de folhas de papel kraft gramatura 80g/m², nas medidas de 28 x 20 cm. Um volume de 90 mL da solução de filme de quitosana, tanto de melaço quanto Sigma, foi despejada em bandejas de plástico com cerca de 33 x 22 cm e então a folha de papel Kraft foi disposta sobre a solução, pressionando com cuidado para proporcionar maior contato possível entre o papel e o filme de quitosana. Em seguida, as folhas revestidas foram deixadas para secar a 60°C por 24h. Após esse tempo, as folhas de papel revestidas com quitosana foram mantidas em temperatura ambiente por 48 h e montadas em formato de embalagem retangular, de dimensões aproximadas de 18 cm x 13 cm, sendo coladas com goma arábica. Após secas, válvulas de desgaseificação fornecidas pela empresa Arati (São Paulo – SP), foram fixadas na parte interna e a saída de ar furada com auxílio de uma agulha. Aguardou-se novamente a secagem e as embalagens foram guardadas em caixa plástica tampada por cerca de 1 mês até o início do experimento. As embalagens sem quitosana foram feitas da mesma forma, exceto pela etapa de secagem com o filme. A sequência de preparação das embalagens com filme de quitosana está demonstrada na Figura 1.

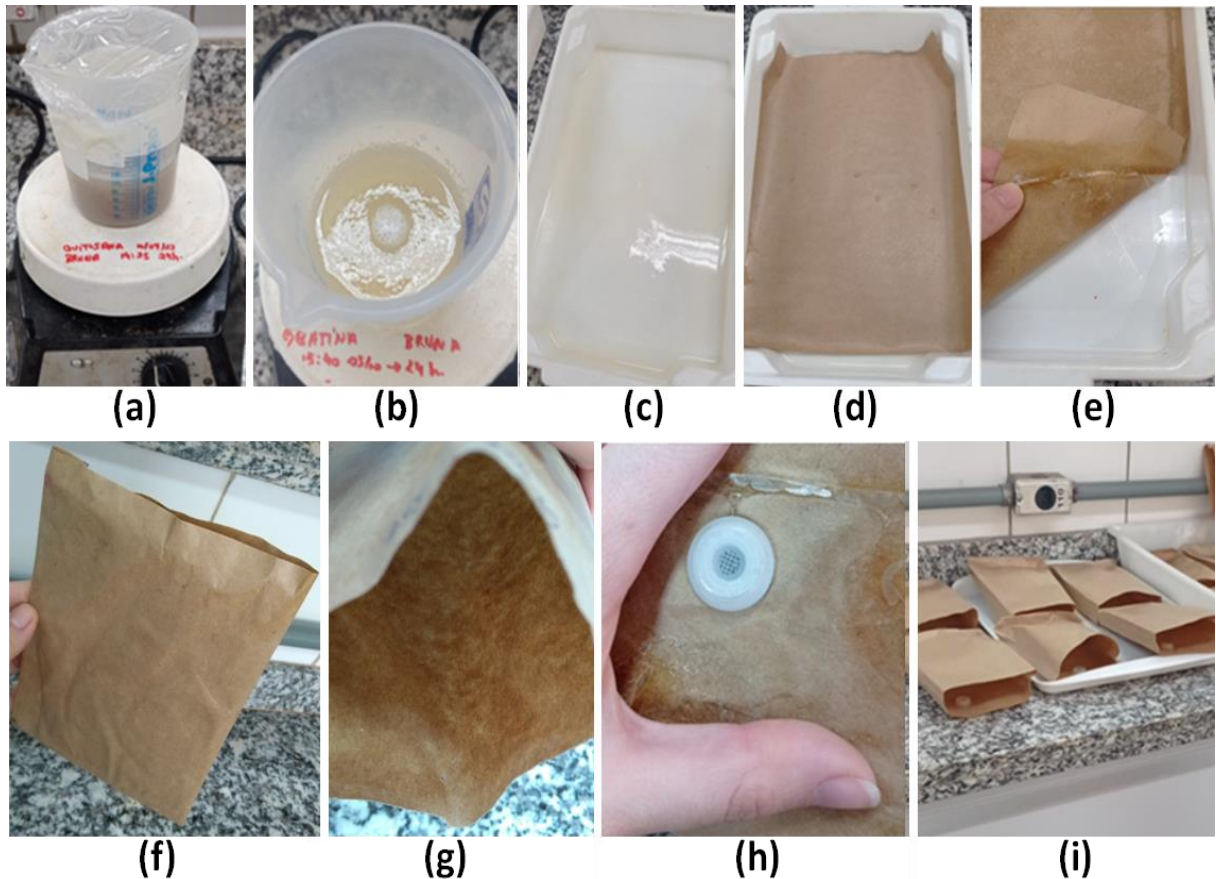


Figura 1. Etapas da produção de embalagem de papel kraft revestido com filme de quitosana. (a), (b) preparo da solução de filme de quitosana sob agitação; (c) solução do filme vertido dentro da bandeja plástica; (d) papel kraft depositado sobre a solução de filme na bandeja; (e) papel kraft sendo destacado da bandeja após 24 h a 60 °C; (f) aspecto da embalagem preparada e colada com goma arábica; (g) aspecto interno da embalagem revestida com quitosana; (h) aplicação da válvula de degaseificação; (i) embalagens mantidas a temperatura ambiente para secagem e prontas para o armazenamento do café.

3.5 Análises das embalagens de papel recobertas com quitosana

3.5.1 Superfície e espessura

Após secagem, os papéis sem e com deposição de filmes de quitosana foram submetidos à microscopia eletrônica de varredura com o equipamento ThermoScientific Prisma E operando a 20 kV.

As micrografias foram obtidas nas ampliações de 22 x, 80 x, 300 x, 600 x e 2000 x para superfície e 200 x para espessura, utilizando fragmentos medindo 1 cm x 1 cm.

3.5.2 Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR dos papéis recobertos e não recobertos com quitosana de melaço e Sigma foram investigados utilizando um espectrômetro FTIR modelo Tensor II (Bruker). Foi utilizado o método de ATR em um intervalo de 500 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e número de varreduras igual a 64.

3.5.3 Difração de Raios-X (DRX)

Os espectros de DRX dos papéis recobertos e não recobertos com quitosana de melaço e Sigma foram obtidos utilizando um difratômetro modelo MiniFlex-XRD da marca Rigaku. Os parâmetros utilizados foram radiação $\text{CuK}\alpha$ de 1.5418 \AA , 40 kV e 30 mA. Os difratogramas foram obtidos entre os valores de 2.0° a 70.0° , com intervalos de $10.0^\circ/\text{min}$.

3.5.4 Propriedades mecânicas

A resistência à tração (deformação) e o alongamento na ruptura (tensão de ruptura) foram determinados usando um analisador de textura (Texturômetro TA XTplus, Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) operando em acordo com ASTM D882 método-02, equipado com garras de tração com carga de 5,0 kg. Os parâmetros do teste foram: abertura de 6,0 cm e velocidades de pré-teste e teste de 2,0e 1,0 mm/s, respectivamente. Cinco repetições foram executadas para cada amostra (papel kraft sem quitosana, papel Kraft revestido com quitosana de melaço e papel kraft revestido com quitosana Sigma), utilizando amostras de forma retangular de 80 mm x 6,0 mm.

Estas análises foram realizadas no Laboratório de P&D Farmacotécnico de Sistemas de Liberação (SisLibe) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP - Campus de Ribeirão Preto.

3.6 Armazenamento de café nas embalagens de papel revestidas com quitosana

O café (*Coffea arabica* variedade especial Bourbon vermelho) de plantações da região da Mogiana Paulista e Sul de Minas utilizado para o experimento foi fornecido pela empresa Baggio Café (Araras-SP), aproximadamente 4 kg. Os grãos de café foram torrados em torrador industrial Probat[®] até atingir coloração entre 65 - 55 da escala Agtron.

Inicialmente os grãos de café foram pesados em porções de 100 g e colocados nas embalagens de papel revestidas com quitosana de melaço e Sigma, além do tratamento controle (embalagem sem revestimento de quitosana), em triplicata para cada tratamento (tipo de embalagem). As amostragens foram feitas em período de 20 dias, por 60 dias, de forma que foram preparadas 9 embalagens para cada tratamento. As embalagens foram fechadas com goma arábica e fita adesiva crepe e dispostas em bandejas de plástico, de forma aleatória, mantidas em sala com pouca movimentação de pessoas, a temperatura ambiente.

A cada 20 dias foram retiradas 3 amostras de cada tratamento para análises, descritas a seguir. Durante todo o tempo de armazenamento, a temperatura e a umidade do ambiente foram monitoradas por meio de termohigrômetro da marca Ion.

Foram realizadas análises em 3 porções de 100 g do café utilizado na montagem do experimento, caracterizando o tempo zero do experimento.

3.7 Análises físico-químicas dos grãos de café

3.7.1 Teor de água

O teor de água dos grãos de café foi determinado pelo método padrão ISO 6673:2003 (ISO, 2003) em estufa a 105 °C, por 16 horas, utilizando-se porções de 10g de café, e os resultados expressos em porcentagem (base seca), através da seguinte fórmula:

Teor de água (%) = $[(m_a - m_f) / m_a] * 100$, onde:

m_a = massa dos grãos antes da secagem;

m_f = massa dos grãos após secagem

3.7.2 Índice de acidez

Inicialmente foi realizado o processo de extração do óleo do café utilizando o procedimento descrito por Quast e Aquino (2004) com modificação. Foram utilizados 40g de grãos de café, distribuídos em 2 frascos erlenmeyer adicionados de 100 mL de clorofórmio de pureza analítica em cada um. A solução de grãos de café com o clorofórmio (20 g de grãos de café para 100 mL de clorofórmio) permaneceu sob agitação constante em temperatura ambiente por 2 h. A fase líquida, contendo solvente e óleo, foi separada da fase sólida (grãos de café) por filtração em filtro qualitativo. Em seguida foi feita a separação do óleo sob vácuo em rotaevaporador, mantendo-se a temperatura de $38 \pm 1^\circ\text{C}$ e pressão de 20 a 30 bar.

Os valores do índice de acidez do óleo foram determinados seguindo as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008) com redução da quantidade de óleo utilizada (cerca de 0,5 g de óleo). O óleo foi dissolvido com 10mL de álcool etílico absoluto e titulado com solução de NaOH 0,01 M, usando-se fenoftaleína como indicador. A titulação persistiu até a coloração rosa persistir por 30 s. A molaridade exata da solução de NaOH foi determinada por titulação com biftalato de potássio.

Determinou-se a acidez do óleo sob a forma de ácido oléico como:

Índice de acidez (%) = $(V \times M \times 28,2) / P$, onde:

V= Volume, em mL, de NaOH gasto na titulação

M= Concentração da solução de NaOH

P= Massa da amostra em gramas

3.8 Análises microbiológicas dos grãos de café

Foi utilizado o método descrito por Silva Junior *et al.* (2015). As amostras de grãos de café (10 g) foram dissolvidas em 90 mL de solução salina (NaCl 0,85%) estéril, deixadas em agitação a temperatura ambiente por 10 minutos. Alíquotas de 1 mL foram plaqueadas em 5 placas para cada amostra pela técnica de *pour-plate* em meio *Plate Count Agar* (PCA) para contagem de bactérias mesofílicas totais, e *Potato Dextrose Agar* (BDA) para contagem de bolores e leveduras. Foram também plaqueadas amostras da diluição 10^{-1} . As placas ficaram em estufa a 30 °C por 5 a 7 dias para bolores/leveduras e 35 °C para bactérias por 48 h. Após esse período, o número de colônias foi contado e o resultado expresso em unidades formadoras de colônias por g de grãos de café (UFC/g), somando-se o número de colônias das 5 placas de cada amostra e multiplicando-se por 2.

3.9 Análise de cor instrumental dos grãos de café torrado, grão moído e da bebida

A determinação de cor das amostras de café em grão torrado, grão moído e bebida foi realizada por meio do sistema CIE $L^*a^*b^*$, utilizando calorímetro Minolta modelo CM-25d onde obteve-se os valores de L^* , a^* , b^* , Croma e *hue* para cada uma das amostras. A coordenada L^* indica luminosidade: 0= negro e 100= branco, a coordenada a^* indica vermelho/verde: +a indica vermelho e -a indica verde, a b^* amarelo/azul: +b indica amarelo e -b indica azul, Croma: saturação da cor: 0=cinza e

100=cor pura, completamente saturada e o *hue* é o valor referente à angulação da cor comparada ao eixo x, sendo 0°=vermelho, 90°=amarelo, 180°=verde e 270°=azul.

Os grãos de café foram moídos em moedor automático Hamilton Beach®, em granulometria média por 10 s para obtenção do pó de café. A bebida foi preparada na proporção de 10 g de pó de café para cada 100 mL de água filtrada fervida entre 92-95 °C, utilizando coador de papel Melita® 103, e não recebeu qualquer tipo de adoçante.

Esta análise foi realizada somente nas amostras retiradas após 60 dias de armazenamento, nos três tipos de embalagens.

Como comparativo, foi também utilizado o sistema ABG Color System®, que consiste em comparar a amostra com discos de cores.

3.10 Análise de sólidos solúveis totais da bebida (SST)

Os teores de SST (° Bx) das amostras de café preparado com os grãos armazenados nos três tipos de embalagem, após 60 dias de armazenamento, foram determinados por leitura direta utilizando-se refratômetro de bancada de Abbé.

3.11 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância para dois fatores (tipo de embalagem e tempo de armazenamento) ou para um fator (tipo de embalagem) para cada variável estudada, e constatada diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$), as médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

3.12 Análise sensorial do café

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Seres Humanos da USP N°. CAAE 60489822.5.0000.5395.

3.12.1 Preparo do café

Os cafés variedade Bourbon vermelho utilizados para os testes sensoriais foram: A = café grão torrado na embalagem revestida com filme de quitosana de melaço; B = café grão torrado na embalagem sem revestimento de quitosana, e C = café grão torrado na embalagem revestida com filme de quitosana Sigma, todos armazenados

por 60 dias, em sala fechada sem circulação de pessoas com temperatura e umidade do ar monitoradas.

Os grãos de café torrados em torrador industrial Probat® até atingir coloração entre 65 - 55 da escala Agtron, foram moídos em moedor automático Halminton Beach®, em granulometria média por 10 s.

A bebida café foi preparada na proporção de 10 g de pó de café para cada 100 mL de água filtrada fervida entre 92-95 °C, utilizando coador de papel Melita® 103. Utilizou-se o tempo de 3 a 5 minutos para a análise sensorial após a infusão e no máximo 30 min (SCAA, 2015).

3.12.2 Condições dos testes sensoriais

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do CCA/UFSCar, em cabines individuais com luz branca. Cada avaliador recebeu 30 mL das três amostras de café em copos plásticos de 50 mL. As amostras foram codificadas com três dígitos e foram apresentadas simultaneamente em todos os testes. A ordem de apresentação foi aleatorizada para cada avaliador e os mesmos lavaram suas bocas com água mineral entre as amostras.

Os avaliadores não treinados para ambos os testes foram recrutados com base na disponibilidade e interesse, tendo sido informados acerca dos produtos e procedimentos dos testes, conforme descrito no projeto cadastrado no Sistema Nacional de Ética em Pesquisa (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética nº 60489822.5.0000.5395).

3.12.3 Análise descritiva por ordenação

A Análise Descritiva por Ordenação (ADO) foi realizada seguindo-se o método de Richter *et al.* (2010). O desenvolvimento da terminologia descritiva foi realizado com 21 avaliadores, utilizando-se o Método Rede (MOSKOWITZ, 1983) com adaptação, uma vez que foram servidas as três amostras ao mesmo tempo. Foi realizada uma sessão, nas quais as amostras foram apresentadas, e foi solicitado aos avaliadores que descrevessem similaridades e diferenças entre as amostras para aparência, aroma, sabor e corpo, conforme ficha apresentada na Figura 2. Os avaliadores para este teste foram seis homens e quinze mulheres com idade entre 19 e 60 anos e frequência média diária de 180 mL da bebida, entre estudantes e servidores da UFSCar – Campus Araras.

Nome: _____ Data: _____ Idade: _____
 QUAL SEU CONSUMO DE CAFÉ POR DIA? _____

1. Primeiro pedimos que você OLHE as três amostras de CAFÉ, avalie a APARÊNCIA das amostras e DESCREVA as similaridades e diferenças entre as amostras.

APARÊNCIA

AMOSTRA

2. Agora, por favor, CHEIRE as amostras e DESCREVA as similaridades e as diferenças entre elas com relação ao AROMA.

AROMA

AMOSTRA

3- Agora, por favor, PROVE as amostras e DESCREVA as similaridades e diferenças em relação ao SABOR.

SABOR

AMOSTRA

4- Agora, por favor, PROVE DE NOVO as amostras de CAFÉ e DESCREVA as similaridades e diferenças entre elas com relação ao CORPO e outras percepções bucais.

CORPO

AMOSTRA

Figura 2. Ficha de levantamento de atributos dos cafés estudados.

Após cada avaliador ter gerado seus próprios termos descritivos, foram conduzidas duas sessões de discussão em grupo para selecionar os termos mais citados, agrupar os semelhantes e desenvolver uma lista de descritores consensual e um glosário. Foram listados os atributos que foram mais citados por pelo menos 50% da equipe. Foi realizada uma sessão para verificar o consenso dos avaliadores quanto aos atributos selecionados.

Foi realizada uma sessão para a avaliação das amostras na Análise Descritiva por Ordenação. Foi solicitado ao avaliador que as ordenasse em ordem crescente de intensidade para cada um dos atributos, conforme ficha apresentada na Figura 3.

3.12.4 Teste de preferência do café

Para a avaliação de preferência entre os cafés, foram utilizados 112 consumidores que avaliaram a preferência da cor, aroma, sabor, corpo e aceitação global, utilizando escala hedônica estruturada facial de sete pontos (MEILGAARD *et al.*, 2007), onde 1=desgostei muito e 7=gostei muito (Figura 4). Os consumidores foram 50 homens e 62 mulheres com idade entre 18 e 67 anos, com frequência média diária de 200 mL da bebida café, entre estudantes e servidores da UFSCar – Campus Araras e do Centro Universitário de Araras (UNAR).

Nome: _____ Idade: _____

Qual a frequência que você bebe café? _____

1. Por favor, olhe os cafés e ordene em ordem crescente a cor marrom.

--	--	--

+ claro + escuro

2. Por favor, cheire os cafés e ordene em ordem crescente ao aroma caramelo.

--	--	--

- intenso + intenso

3. Por favor, cheire os cafés e ordene em ordem crescente ao aroma chocolate.

--	--	--

- intenso + intenso

4. Por favor, cheire os cafés e ordene em ordem crescente ao aroma doce.

--	--	--

- intenso + intenso

5. Por favor, cheire os cafés e ordene em ordem crescente ao aroma ácido.

--	--	--

- intenso + intenso

6. Por favor, cheire os cafés e ordene em ordem crescente ao aroma tostado.

--	--	--

- intenso + intenso

8. Por favor, prove os cafés e ordene em ordem crescente ao sabor chocolate.

- intenso		+ intenso

9. Por favor, prove os cafés e ordene em ordem crescente ao gosto doce.

- intenso		+ intenso

10. Por favor, prove os cafés e ordene em ordem crescente ao gosto ácido.

- intenso		+ intenso

11. Por favor, prove os cafés e ordene em ordem crescente ao gosto tostado.

- intenso		+ intenso

12. Por favor, prove os cafés e ordene em ordem crescente ao corpo (textura).

- encorpado		+ encorpado

13. Agora ordene os cafés em ordem crescente a sua **PREFERÊNCIA DOS CAFÉS**.

menos gostei		mais gostei

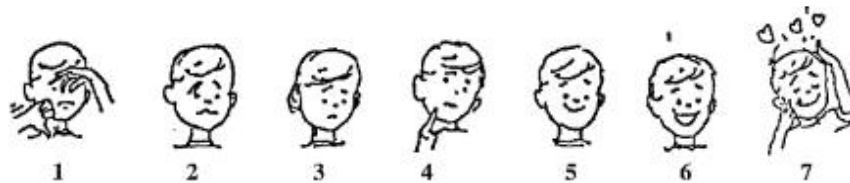
Figura 3. Ficha utilizada no teste de ordenação de atributos levantados nos cafés.

Gênero: _____ Idade: _____

Quantas vezes consome café por semana:

Você está recebendo **TRÊS** amostras de CAFÉ para avaliar cor, aroma, sabor, corpo e impressão global. Utilizado a escala facial de 7 pontos abaixo, por favor coloque sua **nota** para cada atributo.

ESCALA



Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Corpo	Impressão Global

Comentários:

Figura 4. Ficha de análise de sensorial de preferência dos cafés.

3.12.5 Análise estatística

Para os resultados do teste de ordenação, foi utilizado o teste de Friedman (NEWELL; MacFARLANE, 1987) para verificar a diferença entre amostras para cada atributo, considerando-se três amostras e 21 avaliadores.

Os resultados obtidos no teste de preferência foram avaliados utilizando análise de variância (ANOVA), considerando-se significância de 5% e, quando detectadas diferenças significativas entre as médias, foi realizado o teste de Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da quitosana de melão

A quitosana de melão foi comparada à quitosana Sigma por meio das análises de FTIR, DRX e MEV. Os espectros de FTIR mostraram bandas (Figura 5a) de cerca de 3400 cm^{-1} devido aos estiramentos O-H e N-H. As bandas características a 1641 cm^{-1} e 1620 cm^{-1} são atribuídas aos grupos C=O (amida I). A banda a 1558 cm^{-1} corresponde ao grupo N-H group (amida II) e a banda a 1320 cm^{-1} é devida ao estiramento C-N. A banda ao redor de 1380 cm^{-1} devido ao estiramento CH_3 do grupo NHCOCH_3 da quitosana de melão indica que a amostra não está completamente desacetilada.

O espectro de DRX (Figura 5b) da quitosana de melão mostrou picos 2θ a $9,68^\circ$ e $19,52^\circ$, enquanto a quitosana Sigma apresentou picos 2θ a $10,38^\circ$ e $19,96^\circ$, indicando que a quitosana de melão tem um menor grau de desacetilação em comparação à quitosana Sigma. O grau de desacetilação da quitosana de melão (77,93%), determinado anteriormente por Ceccato-Antonini (2022), é de fato inferior ao grau de desacetilação da quitosana Sigma (75-85%), conforme indicação do fabricante.

A amostra de quitosana de melão apresentou agregados grandes e porosos, produzindo um material menos compacto e rugoso em relação à quitosana Sigma (Figura 6a e 6b). Os dados de EDX apresentaram percentuais atômicos de 54,6% de C, 44,8% de O, 0,4% de Mg e 0,1% Ca para a quitosana de melão, enquanto para a quitosana Sigma os percentuais foram de 49,1% de C e 50,9% de O. A presença de Mg e Ca na amostra da quitosana de melão pode estar relacionada ao fato dessa não ter sido purificada.

A massa molar da quitosana de melão foi de $9,97 \times 10^4\text{ g/mol}$ (99,7 KDa), caracterizando a quitosana como de baixa massa molar, em contraposição à quitosana Sigma, que é de média massa molar conforme indicação do fabricante (190 a 310 Kda).

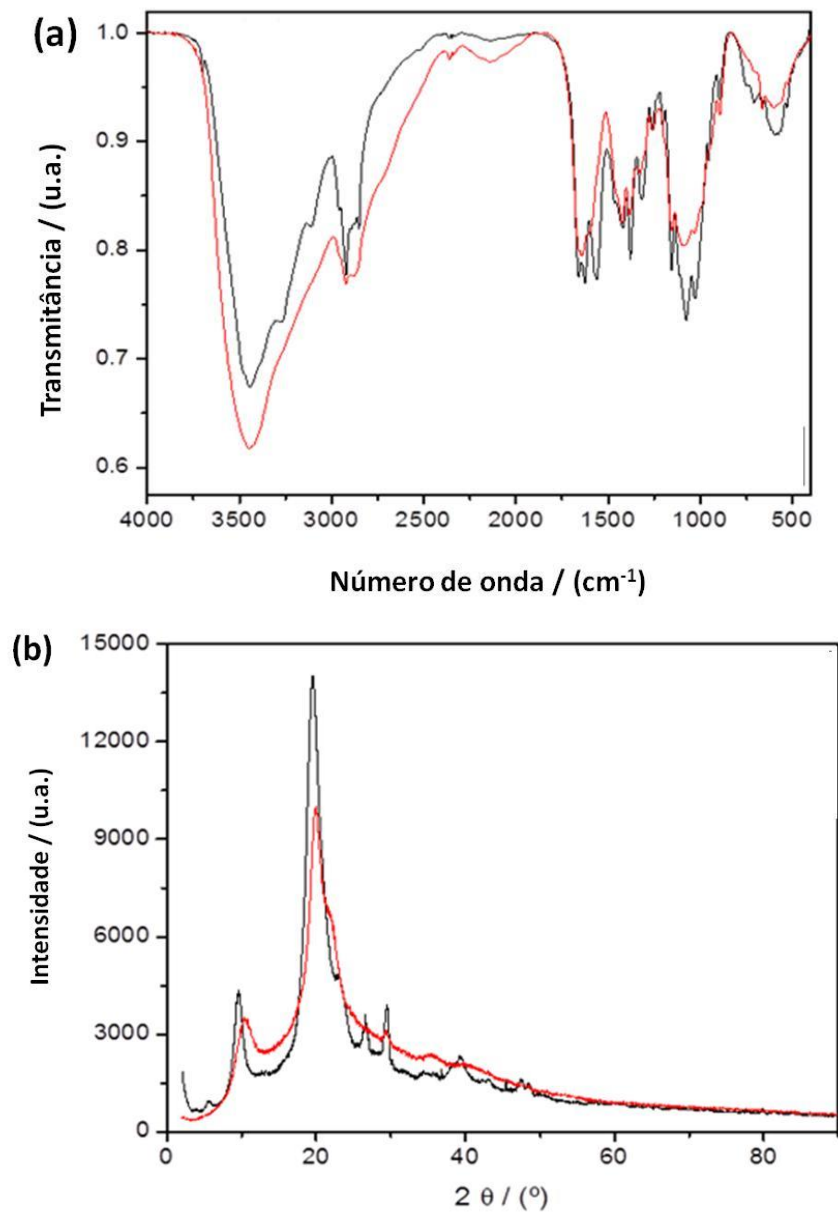


Figura 5. Espectros de FTIR (a) e DRX (b) da quitosana de melão (linha preta) e da quitosana Sigma (linha vermelha).

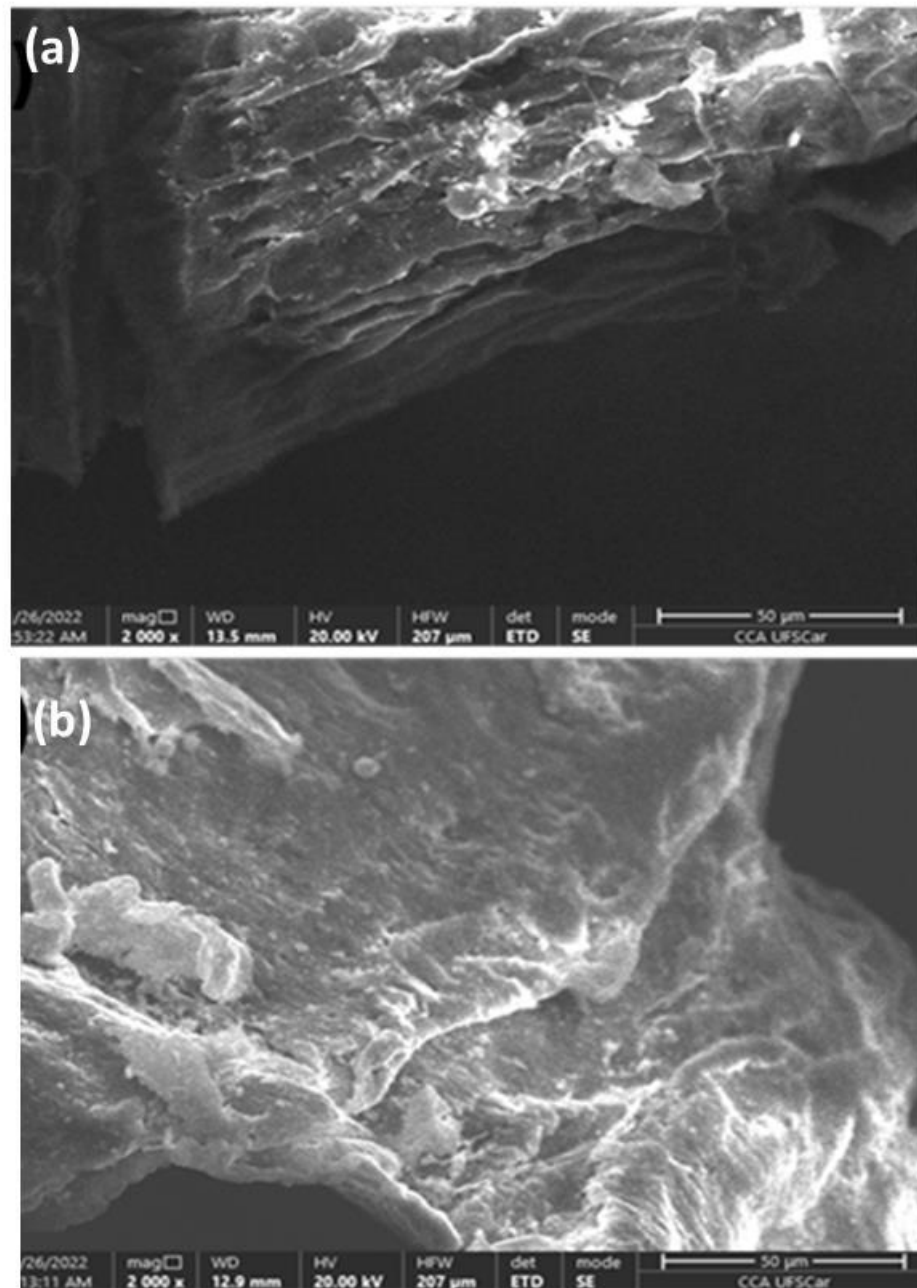


Figura 6. Imagens de MEV da quitosana de melação (a) e quitosana Sigma (b).

4.2 Desenvolvimento das embalagens de papel recobertas com quitosana

A aplicação da solução filme de quitosana de melação foi feita sobre folhas de papel kraft de duas gramaturas, 80 e 300 g/m² para verificar a homogeneidade do filme e a flexibilidade do papel. Os resultados podem ser visualizados na Figura 7, sendo os filmes aplicados sobre pedaços pequenos de papel como teste inicial. Pode ser observada a homogeneidade do filme de quitosana sobre o papel, independentemente da gramatura, e a flexibilidade do papel revestido com o filme de quitosana. O

papel de 80 g/m² foi escolhido para ser trabalhado devido a maior facilidade de manuseio e maior semelhança com embalagens usualmente utilizadas em alimentos.

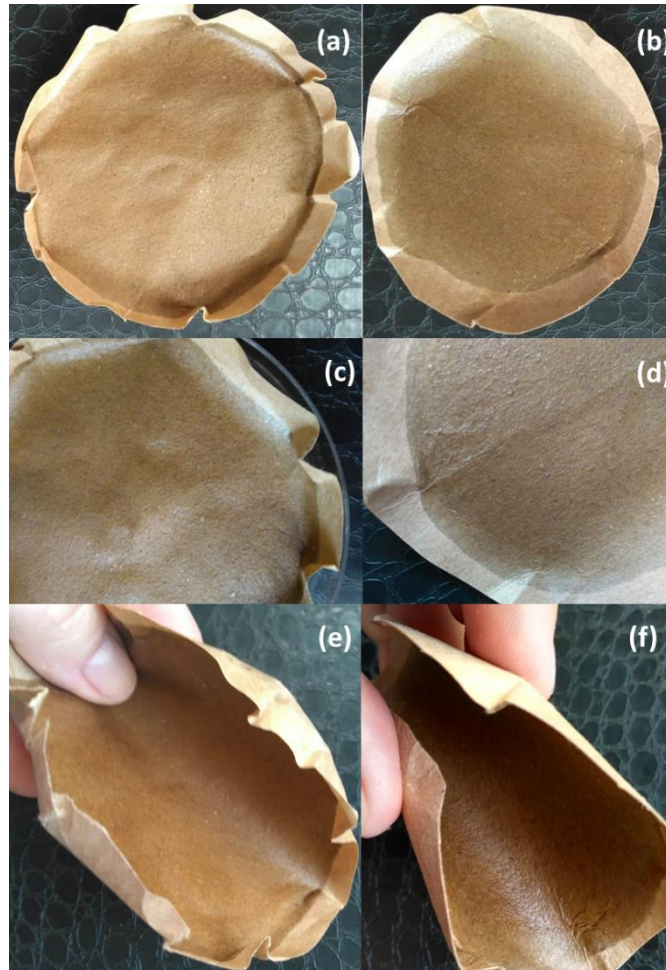


Figura 7. Aspecto do papel kraft gramatura 80 g/m² (a,c, e) e 300 g/m² (b, d, f) revestido com filme de quitosana de melado. Em (c) e (d) é possível ver a homogeneidade do filme de quitosana sobre o papel; em (e) e (f) a flexibilidade do papel com o filme de quitosana.

Quando os filmes de quitosana foram aplicados sobre as folhas de tamanho maior, houve dificuldade em manter a homogeneidade do filme, ficando áreas descobertas com filme sobre o papel. Após algumas tentativas, optou-se por verter o filme em bandeja plástica e em seguida aplicar a folha de papel, com leve pressão para que o filme revestisse o papel da forma mais homogênea possível. Para verificar a espessura do filme e o recobrimento do papel com o filme de quitosana, foi realizada a análise de MEV, cujos resultados estão demonstrados nas Figuras 8 e 9.

As micrografias das Figuras 8a e 8b mostram que o papel escolhido (gramatura 80 g/m²) possui uma superfície rugosa e porosa, evidenciando as fibras da celulose. A imagem da Figura 8c mostra que o papel possui uma variação de espessura mínima e máxima de 65,8 µm e 83,1 µm, respectivamente. As micrografias apresentadas na Figura 8d e 8e são referentes à superfície do papel recoberto pela quitosana Sigma, apresentando aglomerados e regiões mais lisas. O recobrimento do papel com essa quitosana foi efetivo, uma vez que o filme formado encobriu completamente as fibras de celulose e se mostrou bastante aderente ao papel. A espessura mínima e máxima do papel com a adição da quitosana Sigma (Figura 8f) foi de 217,2 µm e 229,3 µm, respectivamente. As imagens na Figura 8g e 8h revelam a superfície do papel recoberta com a quitosana de melação. É possível observar regiões lisas e elevações típicas do processo de secagem do filme, além de se observar a presença de aglomerados. A superfície do papel recoberto com a quitosana de melação é mais rugosa do que aquela recoberta com a quitosana Sigma. Da mesma forma, houve uma boa cobertura e adesão da quitosana de melação sobre o papel, evidenciado pelo recobrimento das fibras de celulose. A espessura mínima e máxima da amostra (Figura 8i) foi de 141,6 e 152,4 µm, respectivamente, mostrando que o filme de quitosana de melação que recobre o papel é mais denso do que o filme formado pela quitosana Sigma.

Imagens de MEV em diversas ampliações foram feitas para visualizar melhor o recobrimento do papel com a quitosana, conforme Figura 9. As micrografias do papel mostram que as fibras de celulose são longas, apresentando uma superfície rugosa e com muitos poros. A amostra contendo a quitosana Sigma apresenta poucas fibras com uma superfície mais lisa e uma menor quantidade de poros quando comparada ao papel sem recobrimento, sugerindo um alto recobrimento da superfície do papel com o filme de quitosana de forma a preencher os poros do material. As micrografias para a amostra de papel com quitosana de melação mostraram que houve um recobrimento das fibras de celulose e que muitos poros do material original foram mantidos. Nesse caso as fibras de celulose foram recobertas com um filme fino de quitosana, o que é evidenciado pela menor rugosidade da superfície e maior diâmetro das fibras quando comparadas com o papel sem recobrimento. Como a viscosidade da solução de quitosana do melação (baixa massa molar) é menor do que a da solução de quitosana Sigma (média massa molar) devido à sua menor massa molar, a solução polimérica pode molhar mais as fibras de celulose e se espalhar pela superfície e pela

espessura do papel, formando uma fina camada da macromolécula sobre o material sem afetar significativamente a quantidade de poros.

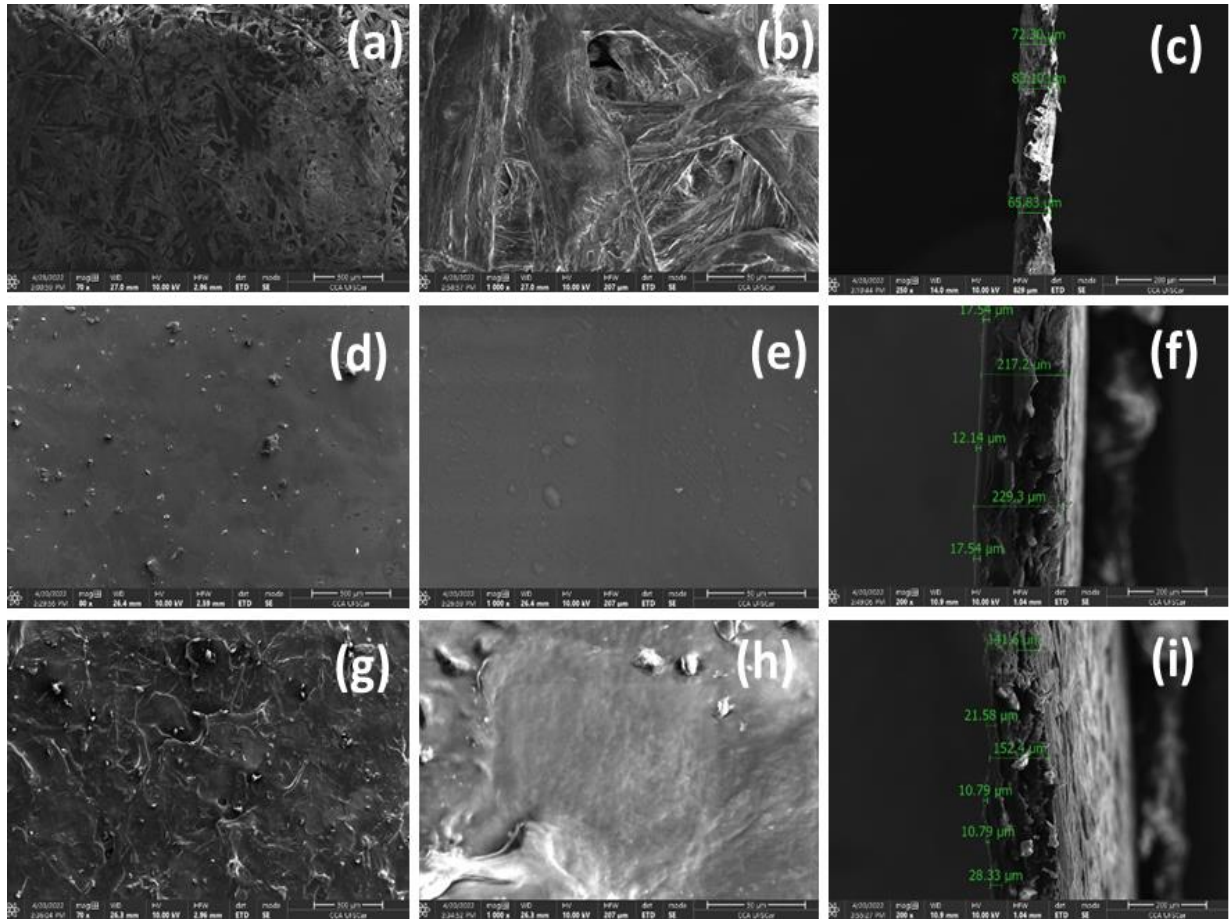


Figura 8. Imagens de MEV do papel kraft gramatura 80 g/m² sem revestimento do filme de quitosana (a, b, c), com revestimento do filme de quitosana Sigma (d, e, f) e com revestimento do filme de quitosana de melão (g, h,i). As imagens em c, f, i indicam a espessura do papel ou filme enquanto as demais imagens mostram a superfície do papel ou filme.

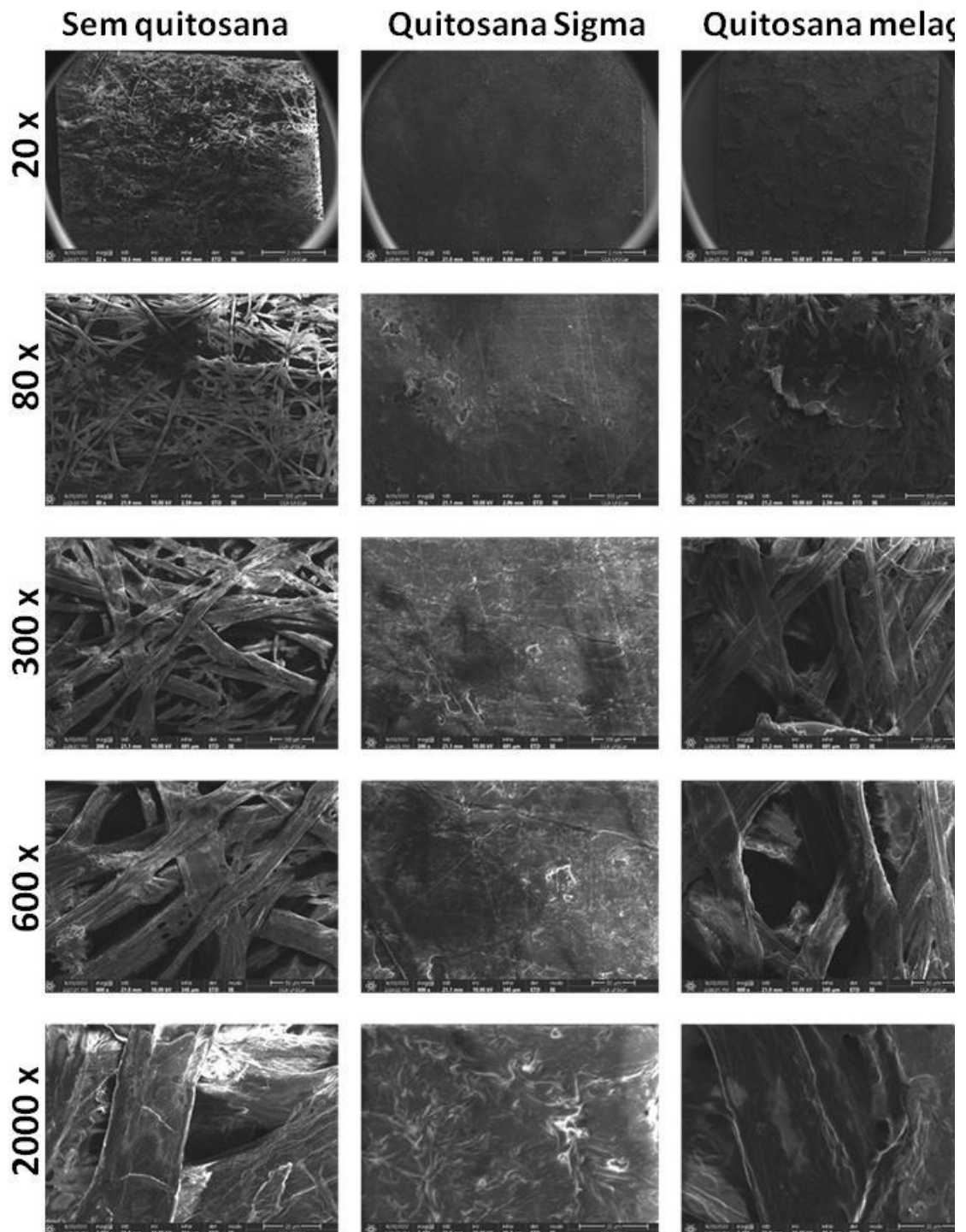


Figura 9. Imagens de MEV do papel kraft gramatura 80 g/m² sem revestimento de quitosana, com revestimento de quitosana Sigma e com revestimento de quitosana de melaço, nas ampliações de 22 x, 80 x, 300 x, 600 x e 2000 x.

Pode ser interessante o papel com a quitosana do melaço permanecer com os poros (como observado nos resultados de MEV) e as fibras de celulose estarem bem

recobertas pela quitosana (o que está evidenciado pelo MEV e FTIR). Assim, as propriedades de permeabilidade e trocas gasosas da embalagem devem estar mantidas, o que pode ser um ponto positivo no caso de acondicionar alimentos. O fato de o papel estar melhor recoberto pela quitosana de melaço quando comparado ao papel recoberto pela quitosana Sigma pode estar ligado à mais baixa viscosidade da solução de quitosana do melaço devido à menor massa molar da macromolécula, o que auxilia no espalhamento do líquido por entre as fibras (e poros) recobrimo melhor as fibras mais internas do papel.

A partir da análise do espectro de FTIR, o papel sem quitosana apresenta as bandas características da celulose: na região de 3300 cm^{-1} , estiramentos -OH; 2900 cm^{-1} , estiramentos C-H; banda forte na região de 1050 cm^{-1} , estiramentos C-O. As amostras de papel recoberto com a quitosana Sigma e quitosana de melaço apresentam as bandas características da quitosana: região de 3300 cm^{-1} , estiramentos N-H e O-H; região de 1640 cm^{-1} , estiramentos C=O (amida I); região de 1550 cm^{-1} , estiramentos C-N (amida II); região de 1320 cm^{-1} , estiramentos C-N (amida III); região de 1050 cm^{-1} , estiramentos C-O (Figura 10a). Esse resultado sugere que as amostras de papel foram devidamente recobertas pelos filmes de quitosana. Na Figura 10b é possível observar os espectros de FTIR separadamente.

Conforme a Figura 11, o espectro de DRX para o papel sem quitosana mostra os picos característicos da celulose em $16,58^\circ$ e $23,04^\circ$. Os espectros de DRX das amostras recobertas com a quitosana Sigma e a quitosana de melaço mostraram que não há variação significativa nas posições dos picos quando comparados aos da celulose, indicando que os filmes de quitosana que recobrem o papel são muito finos e/ou amorfos.

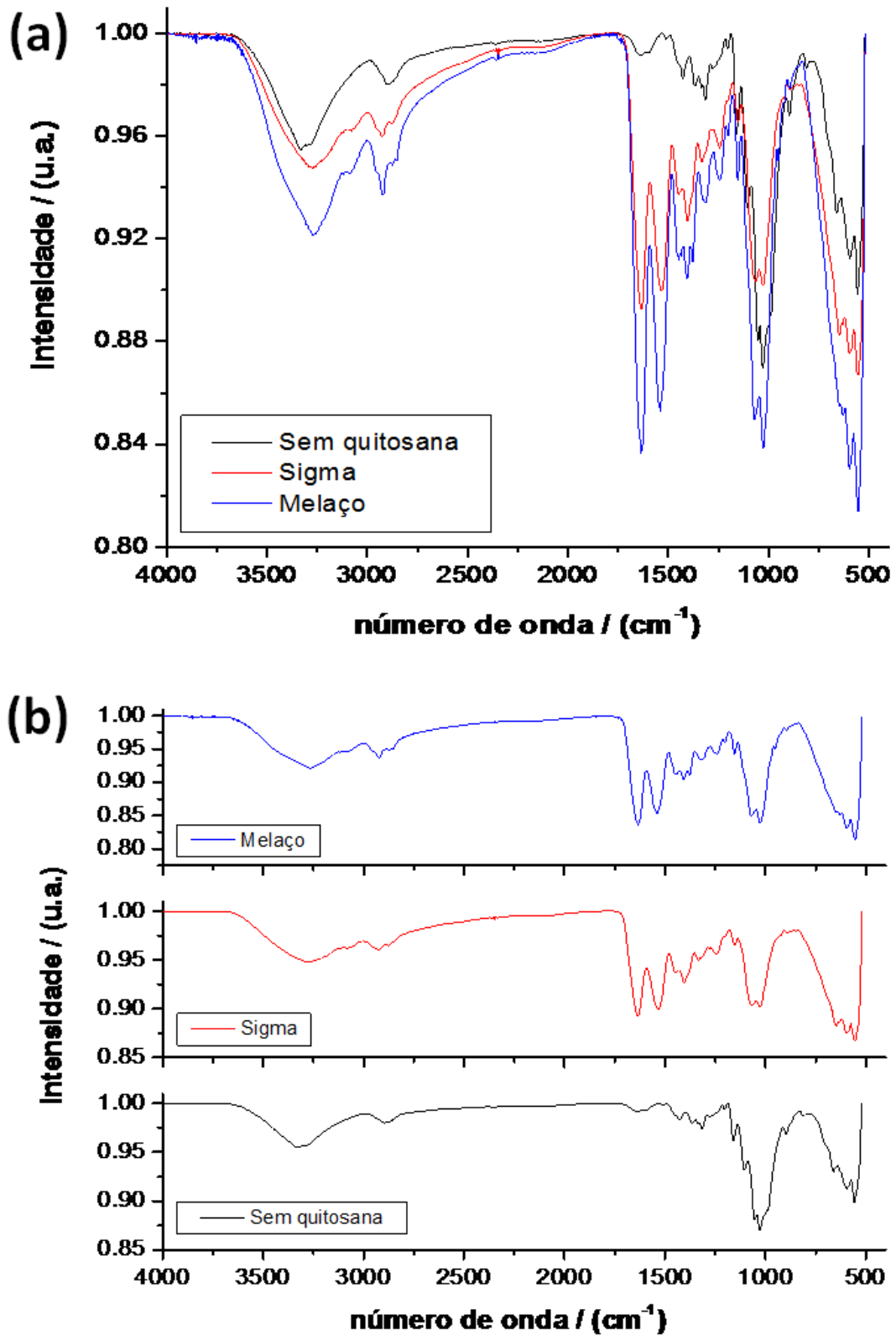


Figura 10. Espectros de FTIR das embalagens de papel sem revestimento de quitosana e com revestimento de quitosana de melaço e quitosana Sigma, apresentados comparativamente (a) e separadamente (b).

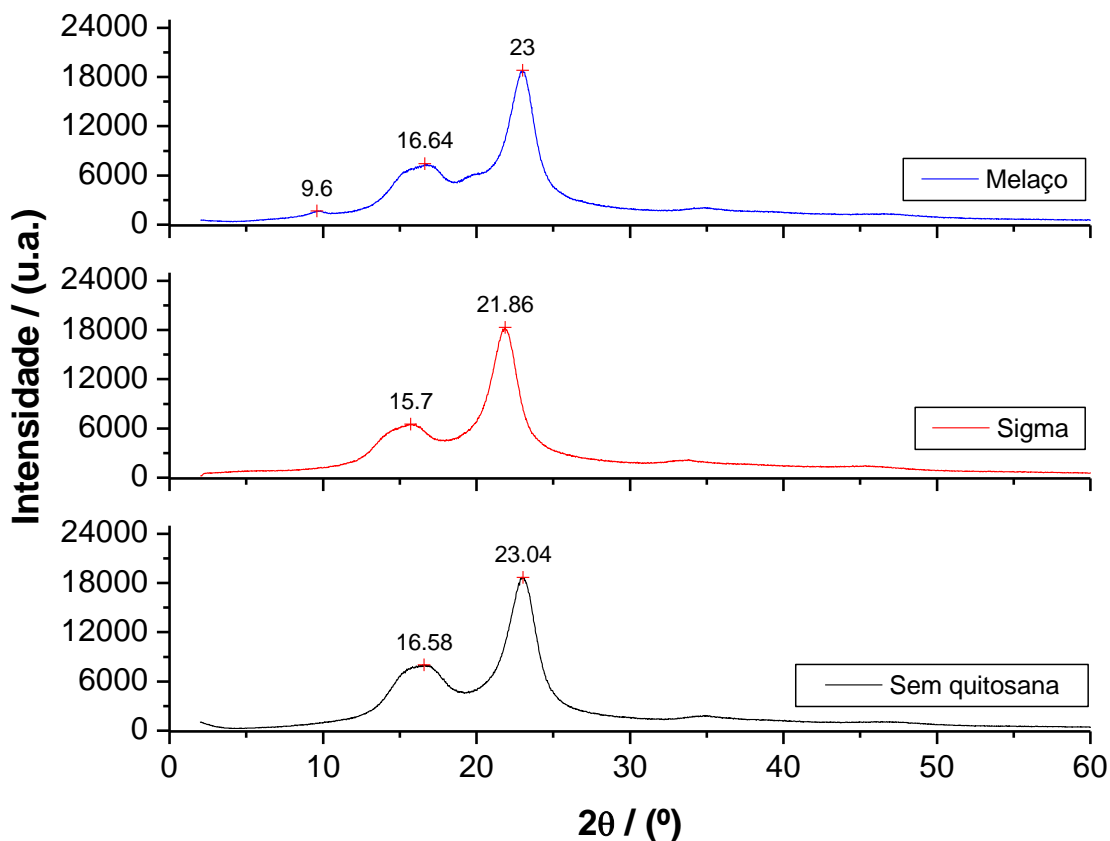


Figura 11. Espectros de DRX das embalagens de papel sem revestimento de quitosana e com revestimento de quitosana de melaço e quitosana Sigma.

Quando analisada a tensão de ruptura do papel (Tabela 1), verifica-se que esta aumenta significativamente de 24,304 para 37,619 e 86,209 MPa para as amostras com a quitosana de melaço e com a quitosana Sigma, respectivamente. O maior valor de tensão de ruptura para a amostra com a quitosana Sigma pode ser explicado pelo recobrimento da celulose por uma camada mais espessa dessa quitosana, como foi observado pela micrografia da Figura 8f. Dessa forma, como a camada que recobre o papel usando a quitosana de melaço é mais fina, tem-se um valor intermediário de tensão de ruptura da amostra. Os valores de deformação do papel não recoberto e das amostras recobertas por quitosana não são significativamente diferentes, ou seja, a deformação (ou afinamento) do papel antes da ruptura não foi impactada pela presença dos dois tipos de quitosana. Este resultado confirma que o recobrimento do papel com quitosana de melaço e com a quitosana Sigma foi efetivo e produziu embalagens mais robustas, com propriedades mecânicas melhoradas, de forma que é

necessário imprimir uma força maior para rasgarem. De fato, o aumento nas interações intermoleculares entre a celulose e a quitosana, principalmente via ligação de hidrogênio (Figura 10), promoveu um bom recobrimento do papel e uma boa adesão entre as cadeias poliméricas, sendo essa a força motriz para o melhoramento mecânico verificado nesse estudo.

Tabela 1. Propriedades mecânicas das embalagens de papel sem revestimento de quitosana e com revestimento de quitosana de melação e quitosana Sigma¹.

Embalagem	Tensão de ruptura (MPa)	Deformação (%)
Sem quitosana	24,304 ± 2,462 a	3,359 ± 0,297 a
Quitosana Sigma	86,209 ± 10,361 c	3,096 ± 0,427 a
Quitosana de melação	37,619 ± 3,438 b	2,965 ± 0,427 a

¹ Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey.

4.3 Análises físico-químicas e microbiológicas dos grãos de café

A análise estatística do índice de acidez dos grãos de café ao longo de 60 dias de armazenamento demonstrou que não houve diferença significativa entre os tratamentos (embalagens revestidas ou não com quitosana) ao longo do tempo, exceto no tratamento com quitosana Sigma aos 40 dias, que difere estatisticamente em relação ao tempo zero (Figura 12). Ou seja, é possível afirmar que independentemente do tempo de armazenamento, as embalagens não influenciaram de forma significativa o índice de acidez dos grãos de café armazenados nas mesmas.

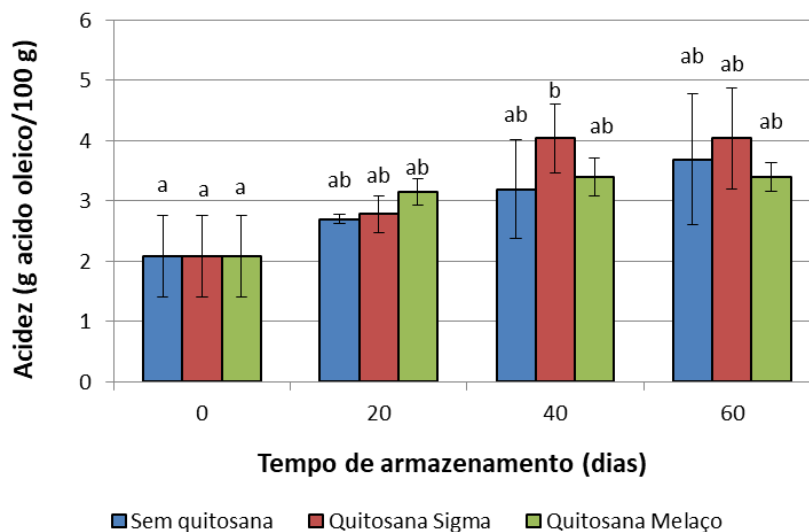


Figura 12. Índice de acidez (g de ácido oleico/100g de amostra) em amostras de grãos de café armazenados em embalagens de papel com e sem recobrimento de quitosana ao longo de 60 dias. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ($p < 0.05$) entre as médias pelo teste de Tukey.

O índice de acidez é um indicativo da oxidação dos grãos, uma vez que a torra traz os óleos mais para superfície do grão (BELCHIOR, 2020), e o contato com oxigênio e luz faz com que estes óleos oxidem e aumentem a acidez.

Em trabalho de Rodriguez, Guzman e Hernandez (2020), os resultados de acidez titulável após a torra de grãos de café da variedade Castillo foram semelhantes aos encontrados neste trabalho. Ao converter os valores do tempo zero e do tempo 20 dias dos três tratamentos aqui avaliados para a mesma unidade de medida do trabalho citado (resultados expressos em ácido clorogênico), foram encontrado valores entre 25,5 mg de ácido clorogênico/g a 38,5 mg de ácido clorogênico/g, os quais são muito próximos aos valores entre 36,5 - 37,9 mg de ácido clorogênico/g da pesquisa comparada. Não há parâmetro normativo que estabeleça um máximo e mínimo de acidez, visto que a qualidade da bebida é atribuída em sua maior parte pela análise sensorial.

Tanto a quitosana de melaço quanto a Sigma foram dissolvidas em solução de ácido acético 2% para a confecção do filme, no entanto, como não há diferença significativa entre os tratamentos, é possível afirmar que o método de dissolução da quitosana não afetou o índice de acidez dos grãos de café armazenados.

Houve um aumento significativo do teor de água dos tempos de 20, 40 e 60 dias em relação ao tempo zero, como pode ser observado na Figura 13. O teor de

água aumentou de 2,3%, quando os grãos de café foram embalados, para 5,0% a 7,1% ao longo de 60 dias de armazenamento nas embalagens.

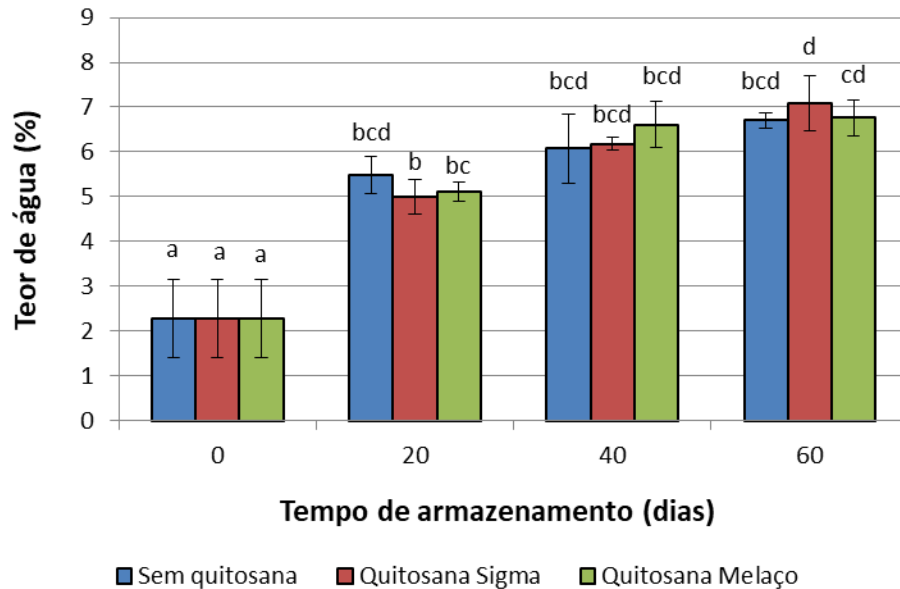


Figura 13. Teor de água (%) em amostras de grãos de café armazenados em embalagens de papel com e sem recobrimento de quitosana ao longo de 60 dias. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ($p < 0.05$) entre as médias pelo teste de Tukey.

Segundo a RDC 277/2005 da ANVISA, o percentual de umidade do café torrado deve ser de no máximo 5%. Os grãos de café durante a torra expandem e liberam vapor d'água, monóxido de carbono (CO) e dióxido de carbono (CO₂) (MEDEIROS *et al.*, 2021), e sua umidade, que quando cru era em torno de 11%, passa a ser de 2 a 4% (SENAR, 2017). Este processo torna os grãos mais porosos, o que os faz ter maior capacidade de absorver água, sendo a etapa de armazenamento em embalagem e local adequados essenciais para a conservação. As amostras utilizadas neste trabalho foram armazenadas em sala fechada, sem outros materiais ou circulação de pessoas, entre os meses de fevereiro a abril de 2023. Esse período é comumente chuvoso no Brasil, o que eleva a umidade relativa do ar, como pode ser observado na Figura 14, que mostra os resultados de temperatura e umidade do ar durante o período de armazenamento. Dentro do período de 20 dias de armazenamento do café, a umidade relativa do ar variou de aproximadamente 60% para 75%, o que pode explicar o aumento considerável do teor de água logo nos primeiros 20 dias. Nos tempos seguintes ao

tempo zero, como pode ser observado na Figura 13, somente o tratamento com quitosana Sigma aos 60 dias de armazenamento foi estatisticamente diferente dos demais, sendo o único que pode ser considerado estatisticamente fora do permitido pelo regulamento. Os demais tratamentos, por não demonstrarem diferença estatística significativa, podem ser considerados dentro do padrão legal.

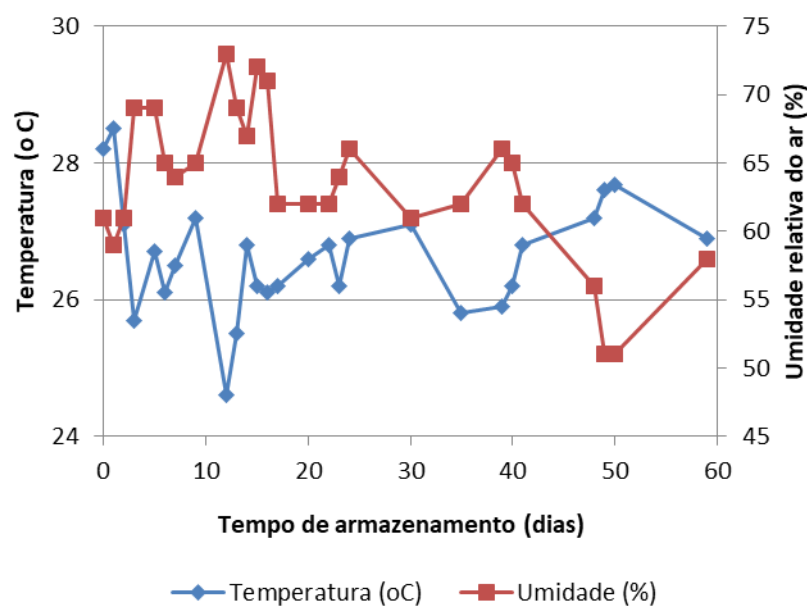


Figura 14. Temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) ao longo dos 60 dias de armazenamento dos grãos de café nas embalagens de papel revestidas e não revestidas com quitosana.

Erdawati (2011) observou em seu estudo de armazenamento de grãos de café cru com embalagem de nanocomposto de polietileno, nanopartículas de quitosana e montmorilonita, que a embalagem foi capaz de manter a umidade em torno de 12,2% durante os 21 dias de observação, tendo resultado superior ao grupo controle.

Devido a natureza higroscópica da celulose e também da quitosana, as embalagens podem ter absorvido a umidade relativa do ar, influenciando no teor de água dos grãos. Este problema poderia ser facilmente resolvido adicionando um elemento com capacidade de repelir água à composição do filme.

A contagem de bactérias mesofílicas totais mostrou variação de 0 a 20,67 UFC/g entre os tratamentos e tempos de armazenamento. Ao analisar a Figura 15, é possível observar que somente o tratamento sem quitosana aos 60 dias é estatisticamente diferente de todos os tratamentos do tempo 20 dias e do tratamento com quitosana de melação aos 40 dias. Os demais tratamentos e tempos não demonstraram

diferença estatística significativa entre eles. De uma forma geral, considera-se que o número de bactérias detectado nas amostras é baixo considerando os padrões microbiológicos para alimentos.

A RDC 331/2019 e a IN 60/2019 estabelecem apenas padrão microbiológico para *Salmonella* sp., que deve ser ausente/25g e *Escherichia coli*, que deve ser de no máximo 5 UFC/g, para café. Nascimento *et al.* (2007), ao analisar 10 amostras de café torrado de uma indústria de João Pessoa – PB, constatou que não houve crescimento de *E. coli* em nenhuma delas. Bergamo (2022), ao analisar café torrado e moído de marcas comerciais e de produtores artesanais não verificou a presença de *Salmonella* nas amostras.

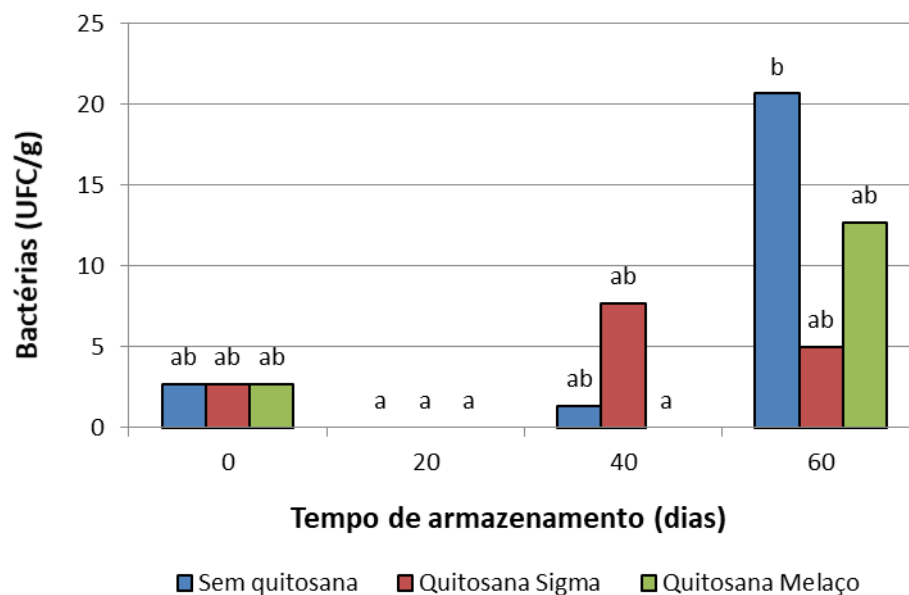


Figura 15. Número de bactérias mesofílicas totais (UFC/g) em amostras de grãos de café armazenados em embalagens de papel com e sem recobrimento de quitosana ao longo de 60 dias. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ($p < 0.05$) entre as médias pelo teste de Tukey.

Apesar dos resultados de não crescimento ou baixo crescimento de fungos nos tempos de 20, 40 e 60 dias, em relação ao tempo zero, estatisticamente não houve diferença entre os tratamentos ao longo do tempo, como pode ser observado na Figura 16, o que indica que a embalagem não influenciou no crescimento de fungos ao longo do tempo deste experimento. Bergamo (2022), ao analisar bolores e leveduras em amostras de café moído comerciais e de produtores artesanais, constatou entre 8 a 14 UFC/g em um café comercial, e nos demais, valores de 1 ou < 1 UFC/g. A autora

atribuiu a contaminação da amostra à embalagem, que era do tipo almofada e tinha aparência desgastada. Na legislação brasileira não há padrão para bolores e leveduras em amostras de café.

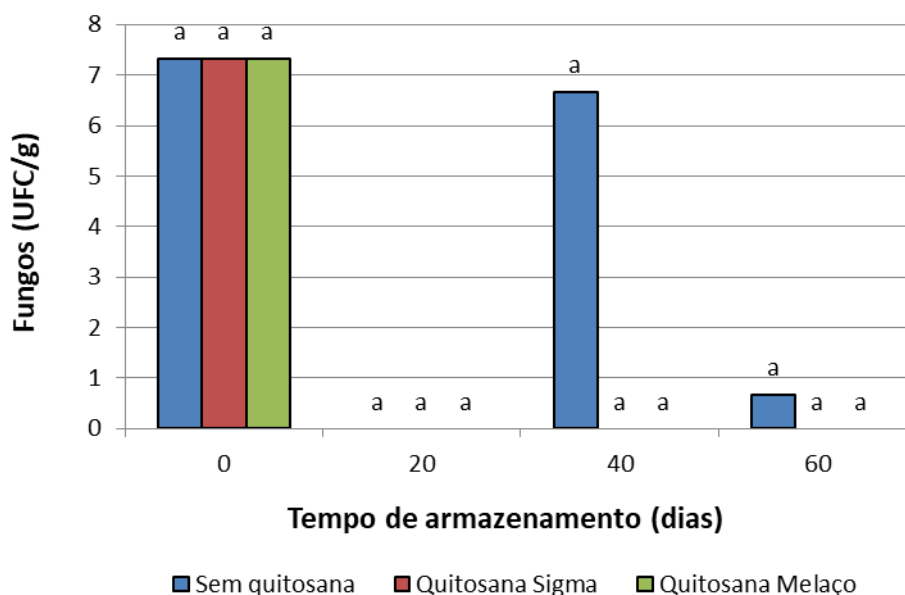


Figura 16. Número de fungos (UFC/g) em amostras de grãos de café armazenados em embalagens de papel com e sem recobrimento de quitosana ao longo de 60 dias. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa ($p < 0.05$) entre as médias pelo teste de Tukey.

Muitos fatores podem interferir nas características de grãos de café, desde a variedade da planta, local do plantio, variantes da safra, armazenamento pós-colheita, torra e armazenamento pós-torra. Ao analisar as características físico-químicas e microbiológicas estudadas neste trabalho ao longo de 60 dias de armazenamento dos grãos de café, não foi possível evidenciar nenhuma grande interferência do tipo de embalagem, exceto na umidade, a qual aumentou ao longo do tempo de forma similar para os três tratamentos.

4.4 Análise de cor instrumental dos grãos de café torrado, grãos torrado e moído e da bebida

Conforme Tabela 2, é possível observar diferença significativa nos parâmetros de L^* , b^* , Croma e *hue* dos grãos de café armazenados em embalagem sem quitosana em relação aos tratamentos com quitosana Sigma e de melaço. Isso indica que entre

os tratamentos, o sem quitosana está mais próximo ao negro em relação à luminosidade, levemente mais amarelo, saturação da cor mais pura, angulação da cor entre vermelho e amarelo levemente mais baixa, o que indica um café levemente mais escuro na coloração dos grãos.

Tabela 2. Cor instrumental dos grãos de café torrados, torrados e moído e da bebida, considerando o armazenamento por 60 dias dos grãos em embalagens de papel kraft com e sem recobrimento de quitosana de melaço e Sigma¹.

Grão torrado	Parâmetros avaliados				
	L*	a*	b*	Croma	hue
Embalagem					
Sem quitosana	42,21 b	4,96 a	5,05 b	6,86 b	44,94 b
Quitosana Sigma	44,25 a	3,81a	4,31a	5,54 a	48,21a
Quitosana melaço	43,94 a	3,80 a	4,16 a	5,42 a	47,16 a
Grão torrado moído					
Embalagem	L*	a*	b*	Croma	hue
Sem quitosana	42,21a	4,96 a	5,05 a	6,86 a	44,94 a
Quitosana Sigma	42,70 a	5,44 a	5,75 a	7,70 a	46,14 a
Quitosana melaço	42,55 a	5,12 a	5,24 a	7,11 a	45,15 a
Bebida café					
Embalagem	L*	a*	b*	Croma	hue
Sem quitosana	24,85 a	0,13 a	0,06 a	0,18 a	24,18 b
Quitosana Sigma	26,10 a	0,21 a	0,10 a	0,28 a	36,66 a
Quitosana melaço	24,80 a	0,16 a	0,05 a	0,22 a	25,45 b

¹ Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey, para cada amostra separadamente (grão torrado, grão torrado moído ou bebida café).

L*: Luminosidade: 0= negro e 100= branco.

a* : coordenada vermelho/verde: +a indica vermelho e -a indica verde.

b* : coordenada amarelo/azul: +b indica amarelo e -b indica azul.

Croma: saturação da cor: 0=cinza e 100=cor pura, completamente saturada.

hue: valor referente à angulação da cor comparada ao eixo x, sendo 0°=vermelho, 90°=amarelo, 180°=verde e 270°=azul.

Para o grão moído, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros. Para a bebida, apenas o parâmetro *hue* indicou uma angulação da cor mais alta para o tratamento com quitosana Sigma em relação aos demais. (Tabela 2).

O fator mais importante para esta análise é o L^* , pois quanto mais alto o valor, maior a luminosidade, ou seja, mais clara é a amostra. Os valores obtidos para grão inteiro e moído condizem com o esperado com a torra informada pelo fabricante para café especial (entre 65 – 55 na escala Agtron). Ao realizar análise de cor pelo método ABG Color System® (Figura 17), o resultado comparativo indicou a cor 4, correspondente ao valor 65 da escala Agtron (Figura 18), indicando um café de torra média-clara. No trabalho de Mendes (2018), valores entre 43 e 34,5 foram encontrados para L^* em *blends* de grãos de café moído de torra clara e média, os quais são próximos ao encontrado neste trabalho.

Para a bebida, a extração faz com que os parâmetros de cor mudem. Santos *et al.* (2020) apontaram valor de 25,10 para L^* em *blend* de café de torra média sob extração com filtro de papel, valor muito próximo ao obtido neste estudo.

No geral, ao comparar com os trabalhos citados anteriormente, onde o tempo de armazenamento não foi estudado e os dados são de torras recentes, pode-se afirmar que todos os tratamentos foram eficientes na conservação da cor dos grãos, com leve vantagem para os tratamentos com quitosana de melaço e Sigma, porém isso não afetou os resultados da qualidade final da bebida, visto que todos os tratamentos são estatisticamente iguais.

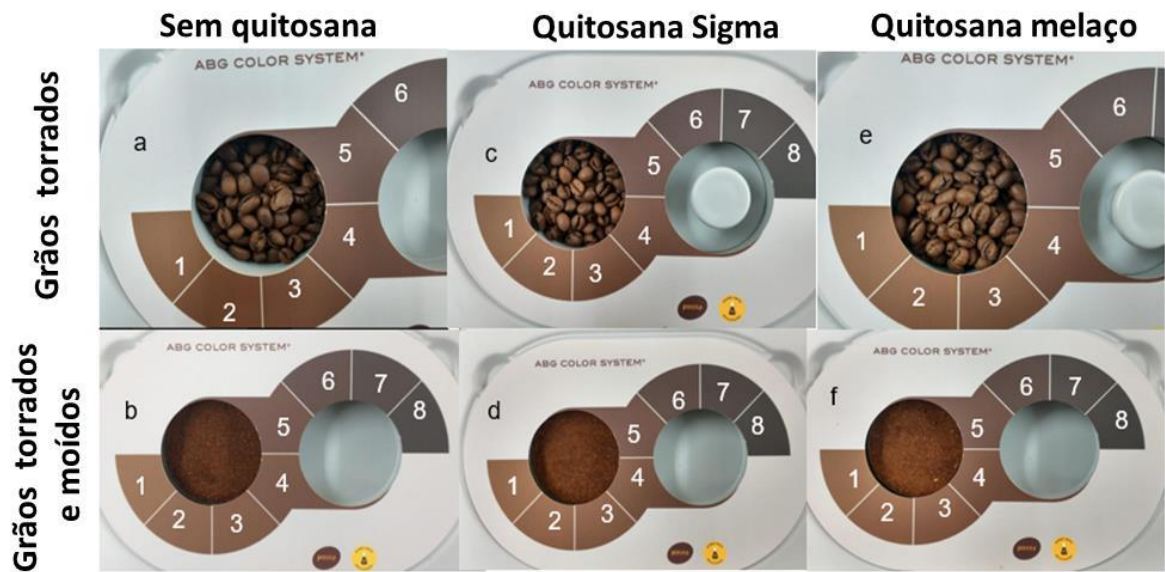


Figura 17. Cor pelo método ABG Color System® dos grãos de café torrados, e torrados e moídos, após armazenamento em embalagens de papel com e sem quitosana por 60 dias.

ABG COLOR SYSTEM®	ESCALA AGTRON® GOURMET	DENOMINAÇÃO DE COR	DENOMINAÇÃO ALTERNATIVA
01	95	Muito Clara	Under Roasted
02	85	Clara	Cinnamon
03	75	Moderadamente Clara	American Roast
04	65	Média Clara	City Roast
05	55	Média	Full City Roast
06	45	Média Escura	Viena Roast
07	35	Escura	French Roast
08	25	Queimada	Italian Roast

ABG COLOR SYSTEM®

Figura 18. Tabela de equivalência ABG Color System® para escala Agrtron fornecida pelo fabricante.

4.5 Análise de sólidos solúveis totais da bebida (SST)

O teor de sólidos totais na bebida foi estatisticamente igual entre os tratamentos, conforme Tabela 3. Este fator é responsável pelo corpo da bebida, e parte dele é perdido durante a torrefação. A quantidade final na bebida depende muito do método de extração.

No trabalho de Santos *et al.* (2020), ao testar diferentes *blends* de café arábica (*Coffea arabica*) e café conilon ou robusta (*Coffea canephora*), com duas torras diferentes e em vários métodos de extração da bebida, foram obtidos valores entre 0,90 (torra clara) e 2,80 (torra média) para o café coado em filtro de papel, valores próximos ao encontrado neste trabalho. No mesmo estudo, foi concluído que métodos que utilizam pressão, como expresso e cafeteira italiana, extraem um maior volume de SST, o que explica estes métodos trazerem bebidas mais encorpadas. O estudo de Braga (2019), realizado com diferentes bebidas também feitas a partir de *blends* e com 100% de café arábica, mostrou valores entre 2,13 e 2,55.

Ao comparar com os estudos citados, que utilizaram torras recentes, é possível afirmar que todos os tratamentos foram eficientes na preservação de SST.

Tabela 3: Sólidos solúveis totais (SST) da bebida de café com grãos armazenados em embalagens de papel kraft sem revestimento e com revestimento de quitosana por 60 dias.

Embalagem	SST (° Bx)
Sem quitosana	2,10 a
Quitosana Sigma	1,60 a
Quitosana de melão	1,83 a

¹ Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey.

4.6 Análise sensorial da bebida

Os atributos levantados pela equipe avaliadora podem ser visualizados na Tabela 4, a qual mostra também a ordenação dos atributos de acordo com a intensidade de cada um. A análise estatística apontou que a cor para os tratamentos com quitosana Sigma e de melão teve diferença significativa em relação à amostra sem quitosana, mas são iguais entre si, sendo a amostra sem quitosana a mais clara e a com quitosana Sigma a mais escura. Este resultado confronta o obtido na análise de cor instrumental dos grãos, o qual aponta o tratamento sem quitosana como mais escuro, e novamente os tratamentos com quitosana Sigma e de melão como estatisticamente

iguais. No entanto, ao analisar a cor instrumental do grão moído e da bebida, não foram constatadas diferenças significativas entre as amostras.

Tabela 4: Ordenação de atributos das bebidas feitas com grãos de café armazenados por 60 dias em embalagens de papel kraft sem revestimento e com revestimento de quitosana de melação e Sigma¹.

Atributo	Embalagem		
	Sem quitosana	Quitosana Sigma	Quitosana Melação
Cor marrom	26 b	57 a	43 a
Aroma caramelo	40 a	40 a	47 a
Aroma chocolate	47 a	39 a	40 a
Aroma doce	45 a	34 a	47 a
Aroma ácido	34 b	51 a	40 ab
Aroma tostado	43 a	42 a	41 a
Sabor caramelo	42 a	41 a	43 a
Sabor chocolate	41 a	41 a	43 a
Gosto doce	40 a	41 a	44 a
Gosto ácido	40 a	37 a	39 a
Sabor tostado	38 a	45 a	43 a
Corpo	38 a	45 a	43 a
Preferência	49 a	33 b	44 ab

¹ Letras diferentes nas linhas indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey.

No teste de preferência (Tabela 5), também não houve diferença significativa na avaliação do quesito cor. Apesar dos resultados em parte conflitantes entre análise sensorial e instrumental, isso pode ser explicado pelos tons da cor marrom serem muito próximos e por estar lidando com o fator de erro humano, uma vez que os avaliadores não são pessoas treinadas e cada um pode ter uma percepção de cor e luz diferente.

Para o aroma ácido, foi apontada diferença significativa entre o tratamento sem quitosana e com quitosana Sigma, sendo a amostra com quitosana Sigma a com aroma mais ácido e a sem quitosana, menos ácida. O tratamento com quitosana de melação é estatisticamente igual aos outros dois. O aroma ácido, desde que de forma

equilibrada, é considerado uma característica positiva para cafés especiais. Os demais aromas não tiveram divergência do ponto de vista estatístico, conforme observado na Tabela 4, dados que corroboram com a análise de preferência (Tabela 5), onde nenhuma diferença significativa para o aroma foi apontada.

Tabela 5: Análise de preferência das bebidas feitas com grãos de café armazenados em embalagens de papel kraft sem revestimento e com revestimento de quitosana de melação e Sigma¹

Embalagem	Atributo				
	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
Sem quitosana	5,00 a	4,81 a	4,34 ab	4,56 a	4,88 ab
Quitosana Sigma	4,71 a	4,85 a	4,15 b	4,61 a	4,71 b
Quitosana Melação	4,95 a	5,26 a	4,73 a	4,80 a	5,21 a

¹ Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa ($p < 0.05$) pelo teste de Tukey.

No teste de ordenação (Tabela 4), não foram apontadas diferenças significativas para nenhum dos atributos de sabor e gosto, porém, no teste de preferência (Tabela 5), para sabor, o tratamento com quitosana de melação se mostrou superior ao tratamento com o tratamento Sigma, enquanto o tratamento sem quitosana foi estatisticamente igual aos dois.

Os atributos corpo (Tabela 4) e textura (Tabela 5) não apontaram diferenças significativas entre os tratamentos em nenhum dos testes. Estas características costumam ser mais complexas de se perceber diferenças, especialmente por um público não especializado no tema, desta forma, o resultado sem diferenças estatísticas está dentro do esperado.

A preferência no teste de ordenação (Tabela 4) apontou o tratamento sem quitosana como preferido dos avaliadores, porém estatisticamente igual à amostra com quitosana de melação. A impressão global (Tabela 5) apontou um resultado parecido, porém com melhor avaliação para o tratamento com quitosana de melação, sendo estatisticamente igual à amostra sem quitosana. Em ambos os testes, o tratamento com quitosana Sigma teve a menor avaliação. Na nota geral de preferência, a amostra com quitosana pode ser considerada boa, a sem quitosana entre intermediária e boa e a com quitosana Sigma, intermediária.

A análise sensorial apresentada no trabalho de Erdawati (2011) demonstrou que as alterações de sabor em carambola armazenada em embalagem de nanocomposto de polietileno, nanopartículas de quitosana e montmorilonita durante 15 dias de armazenamento tiveram efeito positivo.

Ao utilizar diferentes coberturas comestíveis a base de quitosana e extrato de romã em queijo coalho, Melo *et al.* (2023) concluíram que não houve percepção de diferença dos parâmetros sensoriais entre o grupo controle, sem cobertura, e os tratamentos com quitosana e extrato de romã juntos e separadamente, tendo uma boa aceitação dos provadores para todas as amostras.

Neste trabalho também foi possível observar uma boa aceitação do público para todos os tratamentos estudados na análise sensorial. O tratamento com quitosana Sigma teve leve desvantagem nos atributos sabor e impressão global, porém estatisticamente igual ao tratamento sem quitosana. É possível observar uma vantagem da bebida feita com grãos armazenados em embalagem com quitosana de melão nos quesitos de sabor e impressão global, porém sendo estatisticamente igual ao tratamento sem quitosana, desta forma é possível afirmar que este tratamento impactou de forma positiva a percepção dos provadores.

Os resultados da avaliação das notas atribuídas ao atributo 'impressão global' estão apresentados na Figura 19. Verifica-se que o café preparado com grãos armazenados em embalagens de papel revestidas com quitosana de melão recebeu notas 6 e 7 (numa escala de 1 a 7, conforme ficha apresentada na Figura 4) de 58 avaliadores, ou seja, 52% do total de avaliadores, comparado com 37% para revestimento com quitosana Sigma e 40% sem revestimento. Avaliando-se somente a maior nota (nota 7), um número 3 a 4 vezes maior de avaliadores avaliou com nota 7 o café da embalagem com quitosana de melão em relação às outras duas amostras. Esse resultado indica que o café armazenado em embalagem com revestimento de quitosana de melão resultou em melhor qualidade sensorial, e portanto, maior preferência. Uma possibilidade para explicar esta preferência em relação a tratamento com quitosana Sigma, pode ser a via de obtenção da quitosana, visto que a de melão tem uma fase biológica via fermentação, a qual pode ter agregado atributos sensoriais positivos; enquanto a quitosana comercial, apenas fases químicas. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados para afirmar o porque desta diferença.

Os resultados sensoriais, somados aos resultados de resistência mecânica superiores para as embalagens com quitosana (tanto Sigma quanto de melão), ao fato

de as mesmas não impactarem na oxidação dos grãos, leva a conclusão de que o tratamento com quitosana de melação teve os resultados mais satisfatórios quando comparado ao tratamento sem quitosana e com quitosana Sigma. O único empecilho a ser contornado é a absorção de umidade, problema observado em todos os tratamentos, o que requer outros estudos para incorporação de elementos hidrofóbicos à embalagem.

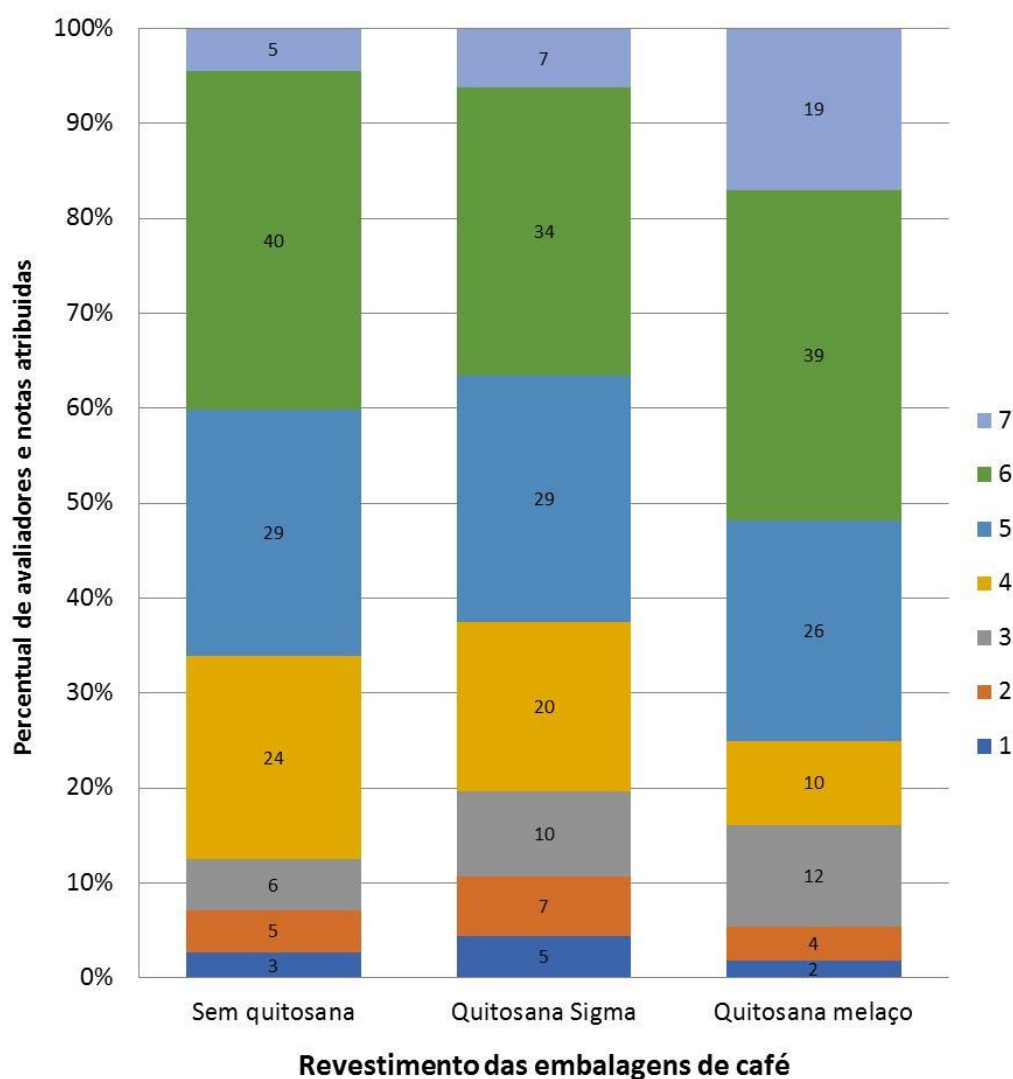


Figura 19. Percentual de avaliadores e notas atribuídas (1 a 7) ao atributo "Impressão global" do café preparado com grãos armazenados por 60 dias em embalagens de papel revestidas e não revestidas com quitosana. Os números dentro das barras referem-se ao número de avaliadores para cada nota atribuída.

7 CONCLUSÕES

O revestimento de embalagens de papel kraft com quitosana para armazenamento de grãos de café especial mostrou aumento da resistência mecânica da embalagem e não teve influência nos parâmetros físico-químicos como teor de água e índice de acidez (oxidação) dos grãos bem como sobre os parâmetros microbiológicos ao longo de 60 dias de armazenamento. As embalagens foram eficientes na conservação da cor dos grãos de café, mais favoravelmente para as embalagens revestidas com quitosana de melaço e Sigma, porém isso não afetou os resultados da cor da bebida produzida com os grãos.

Na análise sensorial, a bebida produzida com os grãos de café armazenados em embalagem revestida com quitosana de melaço teve preferência similar à bebida feita com grãos embalados em embalagem sem revestimento, porém verifica-se um resultado mais satisfatório no tratamento com quitosana de melaço ao analisar os atributos sabor e impressão global da bebida, e ao apresentar maior percentual de avaliadores atribuindo notas superiores (6 e 7 numa escala de 1 a 7). As embalagens revestidas com quitosana Sigma não apresentaram nenhum resultado satisfatório quanto à qualidade sensorial. A diferença nos resultados considerando as duas quitosanas pode ser atribuída, entre outros fatores, à forma de obtenção de quitosana.

Estudos mais aprofundados visando a incorporação de outros elementos que agreguem características de maior resistência e repelência a água à embalagem de papel para armazenamento de café, podem reforçar a potencialidade do uso de embalagens revestidas com quitosana de melaço como alternativa de menor custo e biodegradável para armazenamento de cafés especiais.

REFERÊNCIAS

AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC N° 277**: Regulamento Técnico para Café, Cevada, Chá, Erva-mate e Produtos Solúveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC nº 331 DE 26 DE DEZEMBRO DE 2019**: Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

ARAÚJO, P. M. A. G. *et al.* **Preparação e caracterização de filmes de quitosana/ZnAl₂O₄**. 56º Congresso Brasileiro de Cerâmica -1º Congresso Latino-Americano de Cerâmica - IX Brazilian Symposium on Glass and Related Materials. Curitiba, p. 2723 – 2734, jun. 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **PQC 26-06-2018 REV 30**: Norma de Qualidade Recomendável e Boas Práticas de Fabricação de Cafés Torrados em Grão e Cafés Torrados e Moídos. Rio de Janeiro: Abic, 2004. Disponível em: <https://www.abic.com.br/wp-content/uploads/2021/06/Norma-PQC-26-06-2018-rev-30.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Origem do Café**. 21 de junho de 2021. Disponível em: <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/origem-do-cafe/>. Acesso em: 30 março 2023.

BELCHIOR, V. **A Terra do Café**: as mudanças físicas. 2020. Disponível em: <https://perfectdailygrind.com/pt/2020/08/27/a-torra-do-cafe-as-mudancas-fisicas/>. Acesso em: 11 dez. 2022.

BERGAMO, G. M. **Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de café torrado e moído e de café solúvel comerciais.** 2022. 50 f. TCC 2 (Graduação) - Curso de Licenciatura em química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Londrina, 2022.

BRAGA, M. L. **Comparativo de métodos sensoriais descritivos na avaliação de café torrado e moído.** 2019. Dissertação de Mestrado - Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2019.

CECCATO-ANTONINI, S. R. **Desenvolvimento de filmes e microesferas de quitosana natural impregnados com extratos de resíduos vegetais com propriedades antimicrobianas: aplicação na indústria e agricultura.** São Carlos: UFSCar, 2022a. 86p. (Relatório final de Auxílio a Pesquisa Fapesp – processo 2018/19139-2)

CHEVALIER, R. C. *et al.* Utilização de revestimento comestível à base de quitosana para aumentar a vida útil de melão minimamente processado. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 3, n. 3, p. 130-138, 2016.

COLTRO, L.; SARANTÓPOULOS, C. I.G.L.; JESUS JUNIOR, I. A. BIOPOLÍMEROS USADOS EM EMBALAGEM: propriedades e aplicações. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 8, 2005, Campinas. **Anais...** 2005. p. 1301-1303.

ERDAWAT, R. Effect of Nanocomposite-based Packaging on Postharvest Quality of Water Content-treated Coffee Beans during Storage. **ICBB2011 Proceeding**, v 1, n. 1, p. A 6 – A 15, out. 2011.

GÓMEZ-ESTACA, J., *et al.* Antimicrobial activity of composite edible films based on fish gelatin and chitosan incorporated with clove essential oil. **Journal Of Aquatic Food Product Technology**, v. 1-2, n. 18, p. 46-52, mar. 2009.

GONÇALVES, A. **Café: Prazo de Validade x Prazo de Qualidade.** Vestra Café, 5 nov. 2020. Disponível em: <https://vestracafe.com.br/cafe-prazo-de-validade-x-prazo-de-qualidade/>. Acesso em: 20 março 2023.

GRÃO GOURMET (São Paulo). **Diferença entre Café Gourmet, Café Especial e Tradicional**. 2021. Disponível em: <https://www.graogourmet.com/blog/diferenca-entre-cafe-gourmet-cafe-especial-e-tradicional/>. Acesso em: 10 dez. 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). In: ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (org.) **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 6673:2003**: Green coffee - Determination of loss in mass at 105 degrees C. 2003.

LI, Y. *et al.* Physicochemical characterization and antibacterial property of chitosan acetates. **Carbohydrate Polymers**, n. 67, p. 227-232, jul. 2006.

LIMA, M. M. *et al.* Desenvolvimento e caracterização Físico-Química, Microbiológica e Sensorial de barras de cereais adicionadas de Quitosana e Ômega-3. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3, 2012.

MEDEIROS A. L. T. **Comportamento das propriedades físicas dos grãos de café em diferentes condições de torrefação**. Congresso Internacional da Agroindústria, Recife, jun. 2021.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques** 3rd ed. Boca Raton: CRC Press. p. 387. 1999.

MELO, E. C. C. *et al.* Efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana e extrato de romã em parâmetros de qualidade de queijo coalho. **Scientia Plena**, v. 19, n. 1, 12 fev. 2023.

MENDES, G. A. **Espectroscopia ótica para discriminação de misturas de café arábica e robusta**. Dissertação (mestrado em física). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2018.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem.**, v. 31, p. 426, 1959.

MORSCHBACKER, A. Bio-Ethanol Based Ethylene. **Journal Of Macromolecular Science**: Polymer Reviews, v. 2, n. 49, p. 79-84, abr. 2009.

MOSKOWITZ, H. R. **Product Testing and Sensory Evaluation of Foods - Marketing and R&D Approaches** Westport: Food and Nutrition Press, Inc. p. 605. 1983.

NASCIMENTO, G. S. M., *et al.* Qualidade microbiológica de 10 amostras de café produzido numa indústria de João Pessoa - PB. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO A DOCÊNCIA - UFPB – PRG, 5., 2007, João Pessoa. **Projeto de iniciação à docência**. João Pessoa, 2007.

NEWELL, G.J.; MacFARLANE, J.D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, v. 52, p. 1721-1725, 1987.

NO, H. K. *et al.* Effective Deacetylation of Chitin under Conditions of 15 psi/121 °C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2625–2627, 5 maio 2000.

OLADZADABBASABADI, N. *et al.* Recent advances in extraction, modification, and application of chitosan in packaging industry. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, p. 118876, 1 fev. 2022.

PAIVA, E. F. F. **Avaliação sensorial de cafés especiais**: um enfoque multivariado. 2010. 100 p. Ciência dos alimentos – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

PAIVA, L. **Origem do Café: História, Trajeto e Como Chegou ao Brasil**. 2021. Disponível em: <https://reviewcafe.com.br/dicas-e-receitas/origem-do-cafe/>. Acesso em: 08 dez. 2022.

PETRICH, Ivan. **Contaminação no café verde**: tudo o que você precisa saber. Tudo o que você precisa saber. 2020. Disponível em: <https://perfectdailygrind.com/pt/2021/04/13/contaminacao-no-cafe-verde-tudo-o-que-voce-precisa-saber/>. Acesso em: 11 dez. 2022.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Composição microbiana e ocratoxina a do café (*Coffea arabica* L.) submetido a diferentes tempos de espera antes da secagem. **Ciência e Agrotecnologia - UFLA**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1315-1320, nov. 2003.

QUAST, L. B.; AQUINO, A. D. Oxidação dos lipídios em café arábica (*Coffea arabica* L.) e café robusta (*Coffea canephora* P.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 2, n. 22, p. 325-336, dez. 2004.

REZENDE, L. T. P. **Aplicação de cobertura quitosana e óleo essencial de orégano em queijo minas artesanal**: análises físico-química e sensorial. 2010. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição), Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2010.

RODRIGUEZ, Y. F. B.; GUZMAN, N. G.; HERNANDEZ, J. G. Effect of the postharvest processing method on the biochemical composition and sensory analysis of arabica coffee. **Engenharia Agrícola**, v. 40, n. 2, p. 177–183, abr. 2020.

RICHTER, V. B. *et al.* Proposing a ranking descriptive sensory method. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 21, n. 6, p. 611-620, 2010.

SANTOS, W. W. V. *et al.* Influência das condições de torra e do processo extrativo em blends de café. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 25079–25092, 2020.

SANTOS, L. S.; ARAÚJO, R. B. Café e a Industrialização brasileira. In: SANTOS, L. S.; ARAÚJO, R. B. **História Econômica Geral e do Brasil**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe / Cesad, p. 124-133, 2011.

SARTORI, T.; MENEGALLI, F. C. Development and characterization of unripe banana starch films incorporated with solid lipid microparticles containing ascorbic acid. **Food Hydrocolloids**, n. 55, p. 210-219, 2016.

SENAR. **Café: formação da lavoura.** Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. 1. ed. Brasília: SENAR, 2017b. 92 p. il. ISBN 978-85-7664 -157-5. Disponível em: https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/188-cafe_formacao_da_lavoura.pdf. Acesso em: 30 março de 2023.

SHIE, T. **História do Café:** a origem e trajetória da bebida no mundo. A Origem e Trajetória da Bebida no Mundo. 2018. Disponível em: <https://www.graogourmet.com/blog/historia-do-cafe/>. Acesso em: 08 dez. 2022.

SILVA JUNIOR, L. S.; GELINSKI, J. L. M. N.; SOCCOL, C. R. Análise microbiológica de café em diferentes etapas de processamento obtido pela espécie animal jacu (*Penelope ochrogaster*). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 9., 2015, Curitiba. **Anais eletrônicos...** Curitiba: Sapc / Embrapa, 2016. Disponível em: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/simposio9/230.pdf. Acesso em: 20 dez. 2022.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R. dos; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 1-10, jul. 2006.

SOUZA, F. R. A.; OLIVEIRA, J. S. T.; SILVA, D. P.; OLIVEIRA, M. G.; NEVES, D. D.; SILVA, W. E.; STAMFORD, T. C. M. BIOPOLIMÉROS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS: do aproveitamento de resíduos agroindustriais a produção de biopolímeros. In: VERRUCK, S. (org.). **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Científica, 2021. Cap. 24. p. 370-388.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION OF AMERICA (Estados Unidos da América). **Cupping Protocols**. 2003. Disponível em: <https://sca.coffee/research/protocols-best-practices>. Acesso em: 11 março 2023.

TANGANINI, I. C. *et al.* Bioprocessing of shrimp wastes to obtain chitosan and its antimicrobial potential in the context of ethanolic fermentation against bacterial contamination. 3 **Biotech**, v. 10, n. 3, 135, 2020.