

RESÍDUO DE CAFÉ UM SUBSTRATO PROMISSOR PARA A PRODUÇÃO INDUSTRIAL DE BIOPRODOTOS COM ALTO VALOR AGREGADO

CARLOS RICARDO SOCCOL¹

INTRODUÇÃO

O mercado do café é um dos mais importantes no mundo: centenas de milhões de consumidores, mais de 1,5 bilhões de xícaras de café bebidas todos os dias, 20 milhões de usos, anualmente 100 milhões de sacas de 60 Kg produzidas em mais de 70 países tropicais. Após o petróleo, o café é o segundo produto em valor no mercado mundial. É aproximadamente um dos primeiros mercados mundiais de produtos agrícolas junto com a cana-de-açúcar, trigo, carne bovina e algodão. Com 4% do mercado mundial de produtos alimentícios, representa no mercado internacional aproximadamente 10 bilhões de dólares por ano. Sendo a primeira bebida não alcoólica de países desenvolvidos, a importação de café é direcionada para países mais industrializados. Os primeiros importadores de café no mundo são os Estados Unidos (18 milhões de sacas de 60 Kg) seguidos pela Alemanha, França e Japão. O preço do café é estabelecido no mercado em termos que flutuam de acordo com elementos climáticos, eventos políticos e flutuações monetárias. O café solúvel representa consumo de 85% na Inglaterra, 50% Japão, 35% Canadá, 26% Espanha, 13 % França e 10% Alemanha. Para café descafeinado, representa 10 % do mercado mundial (4% do café torrado consumido na França) Os maiores consumidores são alemães e suíços [1].

¹ UFPR – Universidade Federal do Paraná, Depto. De Engenharia Química, Laboratório de Processos Biotecnológicos. Curitiba-PR, CEP: 81531-970. Fone: (41) 361-3191- E-mail: soccol@ufpr.br

Os cinco países maiores produtores de café são: Brasil, Colômbia, Indonésia, México e Costa do Marfim. Estes países são responsáveis por 60% da produção mundial de café.

Os resíduos mais importantes do tratamento das cerejas de café são a polpa na via úmida e a casca na via seca. Como 80 % do café produzido no Brasil é proveniente do método de via seca, estima-se que nosso país produza todos os anos aproximadamente 30 milhões de sacas de casca, muito próximo da produção do grão de café. Este subproduto atualmente não possui utilização, devido sua importante concentração de componentes tóxicos (cafeína, polifenóis e taninos). Embora os produtos tóxicos, esta matéria-prima é muito rica em diferentes biomoléculas (carboidratos, proteínas, gordura e pectinas) para utilização como substrato em diferentes bioprocessos [5-39].

A TRANSFORMAÇÃO INDUSTRIAL DO CAFÉ

No Brasil, a colheita das cerejas de café é feita tradicionalmente de duas maneiras: manualmente que proporciona uma bebida de melhor qualidade, pois somente as cerejas maduras são colhidas; e segundo a colheita por derrça que consiste na retirada das cerejas com galhos, tendo mistura de cerejas maduras e verdes [2]. As cerejas de café sofrem diversas operações de pós-colheita que têm por objetivo a remoção de seus envelopes (polpa, mucilagem, filme). Existem dois processos para a obtenção do grão comercializável.: a via úmida e a via seca (Fig. 1).

A via úmida

As frutas são vertidas em grandes esteiras (1 a 2 t). Elas são lavadas em água corrente para remoção de refugos; as cerejas são então despulpadas. O processo de despulpamento separa a polpa dos grãos. Eles passam por uma etapa de fermentação de 24 a 36 h são lavadas energicamente para eliminação de polpa remanescente. Os grãos são secos ao sol em áreas cimentadas ou artificialmente em secadoras. Após secos os grãos são selecionados eletrônica ou manualmente e então condicionados em sacas de 60 Kg prontos para expedição. Esta técnica se aplica geralmente aos melhores arábicas. Esta operação consome água em abundância [1].

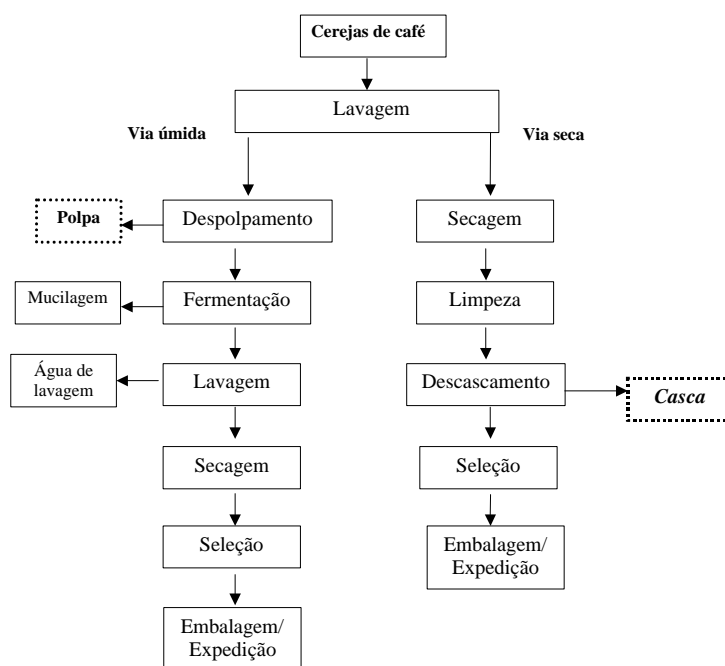


Figura 1- Diferentes estágios do tratamento das cerejas de café pelas vias seca e úmida [2].

Na saída da secagem da cereja, a polpa e a mucilagem constituem a casca que engloba as sementes. O despolpamento consiste na explosão da casca em instrumentos de percussão ou fricção. Esta operação gera um dos resíduos mais importantes do beneficiamento de café: a casca [3].

A via seca

Após a colheita, as cerejas são imediatamente secas ao sol em áreas de secagem. As cerejas são espalhadas em finas camadas ($\pm 30 \text{ Kg/m}^2$), revolvidas freqüentemente, cobertas durante a noite e no período de chuvas [4]. É algumas vezes difícil obter cerejas secas a 12% de umidade por simples secagem ao sol; uma secagem artificial final é então feita em secadores estáticos, rotatórios ou verticais.

Os resíduos mais importantes do tratamento das cerejas de café são a polpa na via úmida e a casca na via seca. Como 80% do café produzido no

Brasil é proveniente da via seca , estima-se que nosso país produz todos os anos aproximadamente 30 milhões de sacas de casca, uma quantidade muito similar da produção de grãos. Este sub-produto atualmente não possui utilização, devido a sua alta concentração em componentes tóxicos (cafeína, polifenóis e taninos). A casca é uma matéria-prima muito rica em diferentes biomoléculas que retorna ao solo embora queimada. É neste tipo de subproduto que trabalhamos após alguns anos com vistas ao desenvolvimento de bioprocessos que permitem a detoxificação com a ajuda de fungos e também como substrato para outros bioprocessos [5-39].

COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CASCA E DA POLPA DE CAFÉ

A Tabela 1 mostra a composição da casca e da polpa de café reportada por alguns autores. A composição da polpa de café difere da casca, entretanto a natureza dos compostos presentes em ambas é extremamente similar.

Tabela 1- Composição das casca e da polpa de café (% peso seco).

Componentes	1 ^a	2 ^a	3 ^b
Carboidratos	50	44	57.8
Proteínas	10	12	9.2
Fibras	18	21	-
Lípídeos	2.5	-	2
Cafeína	1.3	1.25	1.3
Taninos	1.8-8.56	-	4.5
Polifenóis	-	1	-
Pectinas	-	-	12.4

^a Polpa de café, ^b Casca de café

Pode haver diferença na composição percentual dos constituintes, dependendo do processo e eficiência, variedade da cultivar, condições de cultivo como tipo de solo, etc.

A cafeína é um composto ativo, um estimulante natural muito poderoso. É a principal substância que causa um efeito estimulante do café. Também está presente na casca e na polpa de café numa concentração de aproximadamente 1,3% em base seca. Os taninos geralmente são considerados como fator antinutricional e impossibilitam a utilização da polpa de café em mais de 10 % na ração animal.

Informações dos taninos da polpa de café são algumas vezes contraditórias e tais dados como estão disponíveis, algumas vezes são difíceis de serem interpretados devido à utilização de métodos analíticos não específicos. Dependendo da cultivar o teor de taninos também pode diferir. Por exemplo, a polpa de café de cultivares de frutas amarelas poderia ser mais rica em taninos condensados (proantocianidinas) do que a polpa de cultivares de frutas vermelhas. O ácido clorogênico (5-ácido 5-cafeoilquinico) foi reportado como o constituinte principal (42%) na polpa de café. A epicatequina e os ácidos isoclorogênicos são os outros principais componentes com concentrações de aproximadamente 21 e 29%, respectivamente. Catequina, rutina e ácido ferrulico são os outros componentes, que estão presentes nas concentrações de 1-2%.

PRODUTOS E APLICAÇÕES

Tradicionalmente a casca e a polpa de café obtiveram apenas aplicações limitadas como fertilizantes, ração animal, biocomposto, etc. Essas aplicações utilizaram apenas uma fração da quantidade disponível e não foram tecnicamente muito eficientes. Estudos recentes focaram suas aplicações como substratos em bioprocessos. Tentativas também foram realizadas para sua detoxificação para aplicação em ração animal e para utilização do material detoxificado como substrato eficiente para a produção de produtos com maior valor agregado como enzimas, ácidos orgânicos, aromas, cogumelos, etc. Como a casca e a polpa de café possuem uma boa quantidade de açúcares fermentescíveis, estes constituem um substrato apropriado para o cultivo de fungos e leveduras.

Detoxificação biológica da casca e da polpa de café

Vários autores testaram diferentes cepas de fungos (*Rhizopus arrhizus*, *Phanerochaeta chrysosporium*, *Penicillium crustosum*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Flammulina velutipes*) para degradação de compostos antifisiológicos como cafeína e taninos presentes na polpa e na casca de café.

O principal objetivo destes bioprocessos é melhorar a utilização da casca e da polpa de café para ração animal. Utilizando *Rhizopus arrhizus*, os melhores resultados com casca de café na degradação de cafeína foram (87%) e taninos (65%). O fungo *Phanerochaeta chrysosporium* foi capaz de metabolizar 70,8 e 45% de cafeína e taninos respectivamente. Cepas de *Aspergillus* sp., isoladas da casca de café degradaram 92 % de cafeína e 65 % de taninos.

Fungos comestíveis foram testados para detoxificação da casca de café. A redução de cafeína e taninos foi respectivamente 61 e 80% para culturas de *Pleurotus*. Com *Lentinus edodes*, na casca de café fermentada residual, obteve-se uma redução da concentração de cafeína de 40 % e 12 % de taninos. Finalmente com *Flammulina velutipes* a redução do conteúdo de cafeína e taninos foi respectivamente 10,2 e 20,4%.

Produção de aromas microbianos

Uma nova tentativa para agregar valor à casca de café foi sua utilização como substrato para a produção de compostos aromatizantes para aplicação na indústria alimentícia com leveduras e fungos. Existe uma substituição remarcável na escolha do consumidor para alimentos e aromatizantes produzidos naturalmente (em comparação aos sintéticos). Então, a produção de aromas por meios fermentativos possui um futuro promissor. A levedura *Pachysolen tannophilus* e o fungo *Ceratocystis fimbriata* foram utilizados em fermentação no estado sólido para síntese de compostos aromatizantes. Resultados na utilização da casca de café e extrato de casca de café apresentaram superioridade a casca de café tratada com vapor. O cultivo com levedura produziu um forte aroma alcoólico frutal. Junto com etanol que foi o principal composto produzido, o acetaldeído, acetato de etila, isobutanol, acetato de isobutila, etil-3-hexanoato e acetato de isoamila também foram produzidos pela cultura dando um aroma forte

de abacaxi. Quando a leucina foi adicionada ao meio, um forte odor de banana foi encontrado com quantidades maiores de álcool isoamílico e acetato de isoamila.

O fungo *Ceratocystis fimbriata* foi utilizado com casca de café tratada com vapor suplementada com glicose. O meio sólido com 20 e 35% de glicose, desenvolveu um forte aroma de abacaxi, resultando numa produção de 6,58 e 5,24 mmol/l por grama de voláteis totais (VT), respectivamente. Compostos como acetaldeído, etanol, isopropanol, acetato de etila (representando 80,5 e 75,4% de VT, respectivamente), etil isobutirato, isobutil acetato. Etil-3-hexanoato foram identificados no headspace das culturas. Com 46% de glicose, apenas um fraco odor foi observado e a produção de VT foi fraca. A adição de leucina aumentou a produção de VT (8,29 mmol/l por grama), especialmente para etil acetato e isoamil acetato e um forte odor de aroma banana foi detectado. A biossíntese de compostos voláteis não aumentou pela adição de óleo de soja e foi reduzida pela adição de sais minerais.

Produção de enzimas, ácido cítrico e ácido giberélico

As primeiras tentativas de aplicação da polpa e da casca de café foram a produção de enzimas como pectinases, tanases, cafeinases, celulases, proteases, β - amylase, β -glucoamilase e lipase utilizando cepas de *A. niger* ou bactérias anaeróbicas. Quando a FES foi utilizada para a produção de ácido cítrico utilizando casca de café com uma cepa de *A. niger*, a casca de café resultou em maior produção de ácido cítrico (g/Kg de substrato) do que farelo de trigo, farelo de arroz e farelo de arroz desengordurado. Rendimentos com base na quantidade de amido consumido foram quase similares para bagaço de cana-de açúcar prensado e casca de café. A casca de café também pode ser utilizada como fonte de carbono para a produção de ácido giberélico por *Gibberella fujikuroi* e por sua forma imperfeita, *Fusarium moniliforme*.

Inicialmente a casca de café foi utilizada como substrato para o crescimento do fungo, por ser muito rica em açúcares redutores, em proteínas e sais minerais. Para reduzir os custos da produção de ácido giberélico, a técnica de FES foi adaptada diretamente para o crescimento do fungo *G.fusikuroi* em casca de café.

Primeiramente, foram testadas diferentes cepas do gênero *Gibberella*

para testar a capacidade de produção de ácido giberélico (GA3) por FES e por FS em um hidrolisado de casca de café. Estas cepas são provenientes de bancos de culturas internacionais e algumas cepas também foram isoladas de plantações de café de Brasil. A cepa LPB-6 foi selecionada para estudos posteriores de produção de ácido giberélico com casca de café como meio de cultura.

Sabe-se que outros ácidos orgânicos como ácido benzóico, ácido cianídrico e seus derivados são potentes inibidores do crescimento de plantas. Estes compostos também podem inibir a biossíntese de ácido giberélico por *Giberrela fujikuroi*. Contrariamente, as cerejas de café e seus subprodutos contêm grandes concentrações de ácido caféico, ácido clorogênico e ácido tânico (derivado de ácido benzóico). Para eliminar os compostos tóxicos das cerejas de café e aumentar a produção de ácido giberélico, a casca de café foi tratada com um agente alcalino que solubiliza os compostos fenólicos que inibem a síntese de GA3 (Patente n° 525-INPI Brasil,2000). Após eliminação destes fatores tóxicos, foi possível incrementar a produção de GA3 para 112,6 mg/Kg de casca de café. Representa um aumento de 3 vezes da produção inicial de GA3.

Após tratamento químico da casca de café notou-se uma fraca redução de lipídeos e cinzas. Por outro lado, a concentração de açúcares totais e proteínas não foi modificada.

Para aumentar a produção de ácido giberélico enquanto utilizava-se a casca de café como substrato para o crescimento de *G.fusikuroi*, inicialmente estudou-se a relação C/N. Sabe-se da literatura que num meio de cultura a relação C/N ideal para a produção de ácido giberélico varia entre 20 e 100. No caso da casca de café, a relação C/N está entre 13 e 15. Para aumentar os valores de C/N adicionou-se o bagaço de mandioca, um sub-produto abundante e de baixo custo no Brasil, tendo uma alta concentração de carbono.

Os melhores resultados foram obtidos com mistura de casca de café com diferentes concentrações de bagaço de mandioca. Notou-se que a mistura de 30% de bagaço de mandioca com 70% de casca de café permitiu uma melhor produção de ácido giberélico (230,5 mg/Kg substrato). Esta mistura possui relação C/N de 43. É necessário notar que uma mistura que contem mais de 45% de bagaço de mandioca promove uma redução considerável na produção de ácido giberélico.

A partir destes resultados, estudos posteriores foram realizados com

a mistura de 70% de casca de café e 30% de bagaço de mandioca. Diferentes sais minerais reportados na literatura como tendo influência na produção de GA3, foram misturados ao substrato misto (70% de casca de café + 30% de bagaço de mandioca) para avaliar seus efeitos na produção de GA3. Apenas dois sais minerais (FeSO_4 and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) tiveram influência positiva na produção de GA3. A adição de uma solução nutritiva contendo 30 mg de $\text{FeSO}_4/100$ ml de H_2O e 10 mg de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/100$ ml de H_2O . A adição desta solução ao substrato misto permitiu um aumento de 70% em relação à produção anteriormente obtida sem a adição de solução salina. Na presença de solução salina, a concentração de GA3 alcançou 389 mg de GA3/Kg de substrato.

A otimização de outros parâmetros de cultura como: temperatura de incubação (26 e 30°C), pH inicial do meio (5,3), umidade inicial (70 %), exercem um importante papel na produção de GA3. Com estas condições otimizadas a produção de GA3 foi de 894 mg/kg de substrato seco.

Compostagem e produção de biogás

Uma das aplicações tradicionais da polpa de café é sua utilização como composto. Geralmente o sistema de pilhas aberto era empregado que não é um método eficiente pois resulta num produto com poucas características desejáveis. A principal causa é a macro e micro-fauna presente como *Acarida*, *Coleoptera*, *Collembola*, *Diptera*, *Eisenia*, *Oligochaeta*, *Perionyx*, *Thysanoptera*, etc. que geralmente crescem nas camadas superiores das pilhas, sem penetração muito profunda. A compostagem possui vantagem das capacidades biológicas e fisiológicas da macro-fauna crescente no resíduo sólido. Achados experimentais de Aranda and Barois (1999)¹⁰ demonstraram que a compostagem da polpa de café possui viabilidade técnico-econômica e utilidade deste enorme resíduo da indústria cafeeira.

Tentativas foram realizadas para a utilização de resíduos da indústria cafeeira, principalmente de casca e polpa de café para a produção de biogás em digestão anaeróbica. De acordo com as estimativas, a partir de 1 tonelada de polpa de café, 131 m³ de biogás podem ser produzidos por digestão anaeróbica que seria equivalente a 100 L de petróleo em valor combustível. O material digerido pode ser usado como meio de crescimento para horticultura.

Produção de cogumelos

Pleurotus

A cepa de *Pleurotus ostreatus* LPB 09 foi selecionada e cultivada em três diferentes substratos, casca de café, borra de café, e uma mistura de borra e folhas de café (60:40) tendo eficiências biológicas de 96,5; 90,4 e 76,7%, respectivamente após 60 dias de cultura. Também se observou que quando as folhas de café foram utilizadas como substrato único, o cogumelo levou 5 dias para invadir completamente o substrato mas não houve frutificação do cogumelo. Contrariamente, não houve diferença significativa na produção do cogumelo fresco quando se utilizaram taxas de inoculação (spawn) do substrato entre 10 e 25%.

Lentinus edodes

A cepa *L. edodes* LPB 02 foi selecionada para desenvolvimento em casca de café. Notou-se que o cogumelo levou 20 dias para invadir o substrato completamente mas não houve a produção de carpóforos. Quando a casca de café foi tratada com água em ebulição durante uma hora e utilizada como substrato para o crescimento de *L. edodes*, o crescimento foi muito vigoroso. Observou-se que após completa invasão do substrato pelo micélio do cogumelo, apareceu uma mudança de coloração do substrato. O primeiro fluxo de cogumelos aconteceu após 60 dias de cultura e a eficiência biológica foi de 85,8 %. Quando a borra de café foi utilizada como substrato, o micélio invadiu o substrato após 20 dias e os primeiros fluxos de cogumelos apareceram após 56 dias de cultura com uma eficiência biológica de 88,7 %. Com o substrato misto, a colonização total do substrato pelo micélio ocorreu após 25 dias de incubação, os primeiros fluxos de cogumelo aconteceram após 65 dias com uma eficiência biológica de 78,4 %. O tratamento da casca de café com água fervente aumenta a solubilidade dos componentes tóxicos que podem inibir a formação de frutos.

Flamulina velutipes

A cepa *F. velutipes* LPB 01 foi selecionada para crescimento em casca de café. O substrato foi completamente invadido pelo micélio após

15 dias de cultura e os primeiros fluxos de cogumelo se deram após 25 dias de inoculação. A eficiência biológica foi de 55,8 %. Não existe na literatura internacional qualquer referência do cultivo de *F. velutipes* na casca de café.

Utilizando-se borra de café como substrato para *F. velutipes*, este foi invadido pelo micélio após 12 dias e os primeiros fluxos de cogumelo apareceram após 21 dias; o segundo fluxo após 45 dias e a eficiência biológica foi de 78,3 %.

Estes resultados demonstraram que os cogumelos comestíveis *P. ostreatus*, *L. edodes* e *F. velutipes*, podem ser cultivados no substrato essencialmente composto de casca de café. A produção de corpos de frutificação destes cogumelos pode alcançar elevados rendimentos (Kg de corpos de frutificação produzidos /Kg resíduo seco) de acordo com a natureza dos resíduos da agroindústria cafeeira.

Hidrólise da casca de café

Uma outra tentativa na utilização da casca de café tem sido a hidrólise da casca e uso do hidrolisado para outros propósitos. A hidrólise pode ser realizada utilizando-se ácidos diluídos ou tratamento com vapor. Urbaneja et al. (1996) utilizou ácido sulfúrico diluído para hidrólise da polpa de café. Foram obtidos xilose, arabinose, frutose, glicose, sacarose ou maltose. A arabinose foi produzida em maior concentração seguida pela glicose. A eficiência geral da hidrólise foi de 64 e 67% para açúcares totais e redutores, respectivamente. Woiciechowski et al (1999) compararam a hidrólise da casca de café com ou sem ácidos minerais. A fração solúvel em água foi constituída principalmente por açúcares da hemicelulose. Os melhores resultados (48,18 g/l de açúcares redutores) foram obtidos quando as condições de hidrólise foram 121 °C por 15 min, sem adição de nenhum ácido. O hidrolisado foi utilizado para a produção de ácido láctico.

CONCLUSÃO

A casca e a polpa de café oferecem oportunidades com grande potencial para sua utilização como substrato para bioprocessos. Estudos

recentes demonstraram viabilidade para a produção de uma variedade de produtos como enzimas, compostos aromáticos, cogumelos, etc., assim agregando valor para estes subprodutos. A aplicação tradicional da polpa e da casca de café como ração animal também pode ser incrementada pela utilização de métodos biotecnológicos eficientes. A compostagem também oferece uma atraente alternativa. A detoxificação biológica da polpa e da casca de café promete novas utilizações destes subprodutos pela remoção dos compostos antinutricionais como cafeína e taninos. O hidrolisado de casca de café também oferece boas oportunidades de utilização como substrato para bioprocessos.

A aplicação da polpa e da casca de café em bioprocessos por um lado providencia substratos alternativos e por outro ajuda na resolução de problemas de poluição, que causam suas deposições.

Agradecimento : O autor agradece ao PNP&D/Café-Embrapa pelo apoio financeiro (sub-projeto 19 1999.079.01)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Café Brochure éditée par Le Comité Français du Café, Paris,59p.
- Brand, D. Détoxification biologique de la coque de café par les champignons filamenteux en milieu solide. Tese de mestrado, UFPR, Brasil, 1999.
- Perraud-Gaime, I. 1996. Cultures mixtes en milieu solide de bactéries lactiques et des champignons filamenteux pour la conservation et décaféination de la pulpe de café. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, France, 209p.
- Coste, R. 1989. *Caféiers et cafés*. Maison neuve et Larose et ACCT. (Eds), Paris, 373p.
- Brand, D., Pandey, A., Roussos, S., Soccol, C. R. Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state. *Enzyme and Microbial Technology*. 26 (1-2), 127-133,2000.
- Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., Brand, D., Mohan, R., Roussos, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocess. *Biochemistry Engineering*. 6 (2), 153-162, 2000.
- Soares, M., Christen, P., Pandey, A., Soccol, C. R. Fruity flavour production by *Ceratocystis fimbriata* grown on coffee husk in solid state fermentation. *Process Biochemistry*.35.(8), p.857 - 861, 2000.
- Medeiros, A., Pandey, A., Soccol, C. R., Freitas, R. J. S., Christen, P. Optimization of production of aroma compounds by *Kluyveromyces marxianus* in solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 6 (1), p.33-39, 2000.
- Leifa, F., Pandey, A., Soccol, C. R. Solid state culturing - an efficient method to use toxic agro-industrial residues. *Journal of Basic Microbiology*.40 (3),p. 177-187,2000.
- Leifa, F., Pandey, A., R, Mohan., Soccol, C. R. Use of various coffee industry residues for the production of *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation. *Acta Biotechnologica*. 20 (1), p. 41-52, 2000.
- Brand, D., Pandey, A., Rodrigues-Leon J., Roussos, S., Soccol, C.R., Packed bed column fermenter and kinetic modeling for up-grading the nutritional quality of coffee husk by solid state fermentation. *Biotechnology Progress*, 2001, 17, p.1065-1070.
- Soccol, C.R., Woiciechowski, A.L., Brand, D., Mchado, C.M. M., Soares, M.,

- Christen, P., Pandey, A. Experiencia brasileira na valorização biotecnologica de subprodutos da agroindustria do cafe. In: *Proceedings of III International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR-Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 323-328.
- Leifa, F., Raimbault, M., Soccol, C.R., Mohan, R. Production of edible mushroom *Lentinus edodes* on the coffee spent ground. In: *Proceedings of III International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 377-380.
- Leifa, F., Raimbault, M., Soccol, C.R., Mohan, R. Solid state fermentation and *Pleurotus ostreatus* on the coffee residues. In: *Proceedings of III International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR-Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 381-383.
- Soares, M., Christen, P., Pandey, P., Raimbault, M., Soccol, C.R. Produção de aroma frutal por *Ceratocystis fimbriata* em residuo solido da agroindustria do café. In: *Proceedings of III International Seminar on biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR-Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 385-388.
- Vandenbergh, L.P.S., Pandey, A., Soccol, C.R., Produção de ácido cítrico por *Aspergillus niger* LPB 21 em fermentação no estado solido com casca de cafe. In: *Proceedings of III, International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR-Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 389-392.
- Leifa, F., Pandey, A., Raimbault, M., Soccol, C.R., Mohan, R. Selection of strains of *Volvariella volvacea* and characteristics on the extract of coffee husk. In: *Proceedings of III, International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR-Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 397-400.
- Fernando Kawata, Ashok Pandey, Sevatinas Roussos, Maria Carolina Rocha dos Santos. Detoxificação Biologica da Casca de cafe por Fungos Filamentosos em fermentação no estado solido. In: *Proceedings of III International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry*. Londrina-PR-Brazil, Iapar/IRD, 2000, p. 397-400.
- Leifa, F., Pandey, A., Soccol, C. R. Cultivation of *Pleurotus* sp. on coffee residues in: *3rd. International conference on mushroom biology and mushroom products*, 1999, Sydney. *Proceedings 3rd. International conference on mushroom biology and mushroom products*. Sydney - Australie, 1999. p.301 – 311

- Leifa, F., Pandey, A., Soccol, C. R. Growth of *Lentinus edodes* on the coffee industry residues and fruit body Production in: 3rd. International conference on mushroom biology and mushroom products, 1999, Sydney-Australie Proceedings 3rd. *International conference on mushroom biology and mushroom products.* , 1999. p.293 – 300.
- Soares M, Christen P, Soccol C R. Fruity aroma production by microorganisms grown on solid coffee waste. *IV Congresso Latinoamericano de Biotecnologia y Bioingenieria.* Huatulco, Oaxaca, Mexico, 1999, p.480
- Marlene Soares, Ashok Pandey, Pierre Christen, Maurice Raimbault, Carlos Ricardo Soccol. A novel approach for the production natural aroma compounds using coffee husk. In : *Coffee Biotechnology and Quality* Ed : Kluwer academic publisher. Vol.1, 419-425.
- Roaussos, S., Augur, C., Perraud-Gaime, I., Pyle, L., Suacedo-Castanheda, G., Soccol, C.R., Ferrao, I., Raimbault, M. Development of bioprocesses for the conservation , detoxification and value-addition of coffee pulp and coffee husk- Biopulca Project. In : *Coffee Biotechnology and Quality* Ed : Kluwer academic publisher.vol.1, 377-392,2000 (in Press).
- Woiciechowski, A., Pandey, A., Machado, M.C.C., Cardoso, E., Soccol, C.R., Process optimization to recover its fermented sugar. In : *Coffee Biotechnology and Quality* Ed : Kluwer academic publisher. Vol.1, 419-425,2000.
- Brand, D., Roussos, S., Barnd, I., Soccol, C.R., Microbial degradation of caffeine and tannins from coffee husk. In : *Coffee biotechnology and quality* Ed : Kluwer academic publisher. Vol.1, 393-400,2000.
- Leifa, F., Pandey, A., Soccol, C.R., Production of mushrooms on Brazilian coffee industry residues. In : *Coffee biotechnology and quality* Ed : Kluwer academic publisher.vol.1, 427-436,2000.
- Machado C.M.M. Oliveira B.H., Pandey A, Soccol C R. Coffee husk as substrate for the production of gibberelic acid by fermentation in : *Coffee biotechnology and quality* Ed : Kluwer academic publisher.vol.1, 401-408,2000.
- Sera, T., Soccol, C. R., Pandey, a., Roussos, S. *Coffee Biotechnology and Quality* . Kluwer Academic Publisher, 2000, v.01. p.625.
- Ried C.R, Tumoru S, Soccol C. R., Roussos S. Coord. *Proceedings of III International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry.* Londrina-PR-Brazil, Ed. Iapar/IRD, 2000, 513p.

- Production d'Acide Gibbérellique par fermentation en milieu solide avec des substrats mixtes. Pt. Br. DEINPI/PR . 0000525-8, 2000. Autores : Carlos Ricardo Soccol, Cristina Maria Monteiro et Braz Heleno de Oliveira.
- Soares, M. Production d'arômes de fruits par *Pachsolium tannophilus* et *Ceratocystis fimbriata* cultivés sur coques de café en fermentation en milieu solide. Tese de Mestrado, UFPR, Brasil, 1998. Fan Leifa . Production de Champignons comestibles du genre *Pleurotus* sur des résidus solides de l' agro-industrie du café. *Année de la soutenance* : 1999.
- Machado C.M.M. Production d'acide gibbérellique par fermentation en milieu solide sur des bio-résidus de l' agro-industrie du café. Tese de Mestrado, UFPR, Brasil, 2000.
- Cristiane V. Tagliari Correa. Extraction et purification des enzymes responsables de la détoxification des coques de café par fermentation en milieu solide These en cours a l' Université de Campinas- UNICAMP – Brésil.
- Pandey, A., Soccol, C.R., Rodrigues-Leon, J.A., Nigam, P. Solid State Fermentation : Fundamentals and Applications. Asiatech Publishers Inc.2000, p.221.
- Christen, P., Meza, J.C., Revah, S. 1997. Fruity aroma production in solid state fermentation by *Ceratocystis fimbriata* : influence of the substrate type and presence of precursors. *Mycol. Resear.*, **101**, 911-919.