

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

ETANOL E DIÓXIDO DE CARBONO NA REMOÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA E
PERFIL DE VOLÁTEIS EM CAQUI 'RAMA FORTE'

Catherine Amorim
Engenheira Agrônoma/IFC

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Sistemas de Produção Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Dezembro de 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Amorim, Catherine
Etanol e dióxido de carbono na remoção da
adstringência e perfil de voláteis em caqui 'Rama
Forte' / Catherine Amorim. -- 2018.
123 f.
Orientador: Renar João Bender.

Coorientadora: Lucimara Rogéria Antoniolli.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2018.

1. Marcadores voláteis. 2. Destanização. 3.
Diospyros kaki L.. 4. Qualidade sensorial. I. Bender,
Renar João, orient. II. Antoniolli, Lucimara Rogéria,
coorient. III. Título.

CATHERINE AMORIM
Bacharela em Agronomia - IFC

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 17.12.2018
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 07.01.2019
Por

RENAR JOÃO BENDER
Orientador - PPG Fitotecnia
UFRGS

CHRISTIAN BREDEMEIER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

LUCIMARA ROGÉRIA ANTONIOLLI
Coorientadora
EMBRAPA Uva e Vinho/Bento Gonçalves

PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA
PPG Fitotecnia/UFRGS

EDUARDO SEIBERT
IFC - Campus Santa Rosa do Sul

RICARDO ALFREDO KLUGE
ESALQ/USP

PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA
Diretor em exercício da
Faculdade de Agronomia

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial aos meus pais Giordani Augusto Amorim e Cintia Amorim, que me ensinaram os valores da vida e a nunca desistir de lutar, sempre me apoiando. Obrigada por me tornarem a pessoa que eu sou hoje! Também a minha avó Shirley da Rosa Amorim e ao meu padrinho Giovani José Amorim que também fizeram parte da minha jornada até aqui. Vocês são parte importante da minha vida!

Ao meu orientador, professor Renar João Bender, pela orientação, exemplo, confiança, amizade e sabedoria passadas nesses dois anos.

À minha coorientadora, Dra. Lucimara Rogéria Antonioli, pelos ensinamentos, exemplo de profissionalismo, amizade, comprometimento, e também pelas “brincas” que me trouxeram até aqui.

Ao professor Eduardo Seibert pelo apoio e incentivo na realização deste curso e pela colaboração na minha formação acadêmica durante os meus anos de iniciação científica que me fizeram seguir adiante na área.

Ao pessoal do laboratório de pós-colheita da Embrapa Uva e Vinho, Wanderson, Daniela, Luana, Michele, Thaina, Taiana, Maira e Vanessa, pela colaboração nas análises, parceria e amizade. Vocês foram substanciais neste trabalho. Sem vocês eu jamais teria dado conta deste projeto sozinha.

Aos pesquisadores Dr. Kirley Marques Canuto e Dra. Deborah Garruti, ao pós-doutorando Elenilson Godoy e ao analista Paulo Ribeiro, da Embrapa Agroindústria Tropical, e à professora Tigresa Rodrigues, da Universidade Estadual do Vale do Acaraú, pelas orientações e auxílio nas análises de perfil volátil e sensoriais.

À Dra. Ana Beatriz Costa Czermainski, pesquisadora da Embrapa Uva e Vinho, pelo auxílio nas análises estatísticas dos dados.

Aos alunos de pós-graduação do Laboratório Multiusuário de Química de produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical por me receberem e me guiarem em Fortaleza.

Ao pessoal do laboratório de pós-colheita da UFRGS, Sandra, Francisco, Fernanda, Flávia, Lucas, Guilherme, Fernando, Lídia e Gustavo pela amizade e convivência.

Ao pessoal da “pousada” da Embrapa, Cristina, Simone, Jucenil, Cléber, Isadora, Isis, Carlos, João, Marcelo, Thaina, e Tais, pela parceria e amizade. Levarei cada um de vocês comigo para a vida!

Ao meu namorado, Tuan Henrique Smielewski de Souza, pelo companheirismo, apoio e por sempre estar comigo em todas as minhas escolhas e caminhos.

Aos professores e funcionários do PPG Fitotecnia da UFRGS que de alguma forma contribuíram na minha formação até aqui.

Ao produtor Sr. Oscar Borille por ter nos recebido e doado parte dos frutos utilizados na execução deste trabalho.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de realização do mestrado.

À Embrapa Uva e Vinho pela oportunidade e estrutura disponibilizada para realização do projeto de dissertação, por meio do Projeto SEG 02.14.03.011.00.00 – Inovações tecnológicas aplicáveis às etapas de pós-colheita e comercialização do caqui – Liderança: Lucimara Rogéria Antonioli.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudos.

A todos vocês

Muito obrigada!

ETANOL E DIÓXIDO DE CARBONO NA REMOÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA E PERFIL DE VOLÁTEIS EM CAQUI 'RAMA FORTE'¹

Autora: Catherine Amorim

Orientador: Renar João Bender

Coorientadora: Lucimara Rogéria Antonioli

RESUMO

Caquis 'Rama Forte' necessitam de remoção artificial da adstringência prévia ao consumo *in natura*. Várias são as técnicas empregadas para esse propósito, dentre elas, são comuns a utilização de etanol e de atmosferas com altas concentrações de CO₂. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de compostos voláteis da polpa de caquis 'Rama Forte' tratados com etanol e CO₂ ao longo do processo de perda de adstringência, identificando o momento da destanização e as alterações nos atributos físicos, químicos e sensoriais de qualidade dos frutos. Foram realizadas cinco colheitas no decorrer da safra 2016-2017 (4 e 17 de abril, e 2, 5 e 11 de maio de 2017), quando os frutos foram submetidos aos tratamentos de destanização com etanol 1,70 mL kg⁻¹ durante 6 h, CO₂ 70% durante 18 h e controle (frutos não destanizados). Após o tratamento para destanização, os frutos foram mantidos por até 8 dias em condição ambiente e avaliados quanto a: perda de massa, teor de taninos solúveis, índice de adstringência, firmeza de polpa, coloração de casca (ângulo Hue e índice de cor), perfil sensorial e perfil volátil presente na polpa. Ambos os tratamentos foram eficazes em promover a destanização dos caquis 'Rama Forte', embora o tempo necessário para a completa remoção da adstringência tenha sido diferente. Frutos destanizados com etanol mantiveram-se firmes e com coloração de casca alaranjada, semelhantes aos frutos controle, durante oito dias após o tratamento de remoção da adstringência, enquanto que aqueles destanizados com CO₂ amoleceram rapidamente, à medida que a coloração avermelhada da casca se intensificou. Caquis colhidos em meados e final da safra apresentaram desuniformidade no amadurecimento após a destanização com CO₂. A perda da adstringência ocorre mais lentamente em caquis colhidos no final da safra, os quais também perdem firmeza de polpa e ganham coloração de casca mais rapidamente. A adstringência apresenta correlação positiva com o amargor, tanto nos caquis destanizados com CO₂ quanto naqueles destanizados com etanol. A percepção sensorial da adstringência possivelmente não está relacionada apenas ao teor de taninos solúveis presente na polpa e, possivelmente, sofre influência da doçura e do amargor. Dentre os 42 compostos orgânicos voláteis identificados nos caquis 'Rama Forte' submetidos aos tratamentos de remoção da adstringência por meio da utilização de CO₂ ou etanol, o 2,4-di-terc-butilfenol e o 1-pentadecanal foram apontados como potenciais marcadores para a redução da adstringência nos frutos.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (123f.) Dezembro, 2018.

ETHANOL AND CARBON DIOXIDE ON ASTRINGENCY REMOVAL AND VOLATILE PROFILE OF 'RAMA FORTE' PERSIMMON FRUIT¹

Author: Catherine Amorim
Adviser: Renar João Bender
Co-Adviser: Lucimara Rogéria Antonioli

ABSTRACT

'Rama Forte' persimmon fruit need artificial removal of astringency prior to consumption. Several techniques are used for this purpose, among which ethanol and high concentrations of carbon dioxide (CO₂) are the most common. The objective of this study was to evaluate the volatile profile of 'Rama Forte' persimmon fruit treated with ethanol and CO₂ along the process of astringency loss, identifying the time of deastringency, and the changes on the physical, chemical and sensory quality attributes of the fruit. Five pickings were carried out along the season 2016-2017 (April 4 and 17, and May 2, 5 and 11 2017). Fruit were submitted to deastringency treatments with ethanol 1.70 mL kg⁻¹ for 6 hours, CO₂ 70% for 18 hours, and control (fruit without deastringency treatment). Fruit were kept for up to 8 days at room conditions and evaluated for fresh mass loss, soluble tannins content, astringency index, flesh firmness and skin color (Hue and color index), sensory and volatile profile in the flesh. Both treatments were effective in promoting the astringency removal of 'Rama Forte' persimmons although the time to obtain ready-to-eat fruit was different. Ethanol-treated fruit remain firm and with orange skin color, like the control fruit, during eight days after the astringency removal treatment, while the CO₂-treated persimmons softened quickly and had the reddish color of the skin intensified. Persimmon fruit from mid and late season show unevenness in ripening when they have the astringency removed by CO₂. The loss of astringency occurs more slowly in persimmon fruit from the end of the season, which also lose flesh firmness and become colorful more quickly. Astringency has a positive correlation with bitterness on persimmons from both deastringency treatments. The astringency perception may be not related only to the soluble tannins content in the flesh and, is possibly influenced by sweetness and bitterness. Among the 42 volatile organic compounds identified on 'Rama Forte' persimmon fruit submitted to the astringency removal treatments by CO₂ or ethanol, the 2,4-di-tert-butylphenol and the 1-pentadecanal were identified as potential marker compounds for astringency reduction in the persimmon fruit.

¹Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (123p.) December, 2018.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Aspectos Botânicos.....	3
2.2 O Caqui no Brasil.....	4
2.3 A Cultivar ‘Rama Forte’.....	5
2.4 Pós-Colheita.....	5
2.5 Taninos.....	6
2.6 Remoção da Adstringência.....	7
2.6.1 Dióxido de carbono (CO ₂).....	8
2.6.2 Etanol.....	9
2.7 Compostos Voláteis.....	10
2.8 Referências Bibliográficas.....	11
3 CAPÍTULO 1 - Destanização de caquis ‘Rama Forte’ com etanol ou dióxido de carbono.....	15
RESUMO.....	16
ABSTRACT.....	16
3.1 Introdução.....	17
3.2 Material e Métodos.....	18
3.2.1 Material.....	18
3.2.2 Descrição do experimento.....	18
3.2.3 Análise de dados	20
3.3 Resultados e Discussão.....	21
3.3.1 Resultados.....	21
3.3.2 Discussão.....	25
3.4 Conclusões.....	29

	Página
3.5 Referências Bibliográficas.....	29
4 CAPÍTULO 2 - Efeito da destanização de caquis 'Rama Forte' no decorrer da safra por meio da exposição ao vapor de etanol ou ao dióxido de carbono.....	32
RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	33
4.1 Introdução.....	34
4.2 Material e Métodos.....	35
4.2.1 Material.....	35
4.2.2 Métodos.....	36
4.2.3 Análise de dados	37
4.3 Resultados e Discussão.....	37
4.3.1 Resultados.....	37
4.3.2 Discussão.....	46
4.4 Conclusões.....	51
4.5 Referências Bibliográficas.....	51
5 CAPÍTULO 3 - Perfil sensorial de frutos de caquizeiro 'Rama Forte' destanizados com etanol e dióxido de carbono.....	55
RESUMO.....	56
ABSTRACT.....	56
5.1 Introdução.....	57
5.2 Material e Métodos.....	58
5.2.1 Material.....	58
5.2.2 Tratamentos.....	58
5.2.3 Avaliação sensorial.....	59
5.2.4 Avaliações físicas e químicas de qualidade.....	61
5.2.5 Delineamento e análise estatística.....	62
5.3 Resultados e Discussão.....	62
5.3.1 Resultados.....	62
5.3.1.1 Destanização com etanol.....	62
5.3.1.2 Destanização com dióxido de carbono.....	66
5.3.2 Discussão dos resultados.....	71
5.4 Conclusões.....	76

	Página
5.5 Referências Bibliográficas.....	76
6 CAPÍTULO 4 - Compostos voláteis associados à perda da adstringência em caquis 'Rama Forte'	81
RESUMO.....	82
ABSTRACT.....	82
6.1 Introdução.....	83
6.2 Material e Métodos.....	85
6.2.1 Material.....	85
6.2.2 Tratamentos de remoção da adstringência	85
6.2.3 Avaliação sensorial de percepção da adstringência em caquis 'Rama Forte'	87
6.2.4 Taninos solúveis.....	87
6.2.5 Preparo das amostras e análise HS-SPME/CG-MS.....	87
6.2.6 Análise quimiométrica	88
6.3 Resultados e Discussão.....	90
6.3.1 Identificação dos compostos orgânicos voláteis (VOC).....	90
6.3.2 Quimiometria exploratória dos dados CG-MS.....	91
6.3.3 Análise de regressão multivariada.....	94
6.3.4 Discussão.....	96
6.4 Conclusões.....	100
6.5 Referências Bibliográficas.....	100
7 CONCLUSÕES GERAIS.....	105
8 APÊNDICES.....	106

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 1	
1 Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 02/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 h ou CO ₂ 70% 18 h e mantidos em condição ambiente (\pm 17 °C) por até 8 dias após a destanização.....	23
CAPÍTULO 2	
1 Firmeza de polpa, cor da casca (ângulo Hue e índice de cor), índice de adstringência e taninos solúveis de caquis 'Rama Forte' em cada uma das três colheitas ao longo da safra 2017. Média e erro padrão da média.....	38
2 Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 04/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 h ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (\pm 20 °C) por até 8 dias após a destanização.....	39
3 Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 17/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 horas ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (\pm 18 °C) por até 8 dias após a destanização.....	41
4 Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 05/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 horas ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (\pm 16 °C) por até 8 dias após a destanização.....	45
CAPÍTULO 3	
1 Colheita de caquis 'Rama Forte' e distribuição da coleta de amostras de forma que os frutos fossem avaliados nos 8 dias posteriores à destanização.....	60

- 2 Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol (1,70 mL kg⁻¹) durante 6 horas, avaliados imediatamente após a destanização e aos cinco e oito dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). Tonalidade da casca (TC), doçura (DC), amargor (AM), adstringência sensorial (AS), firmeza sensorial (FS), firmeza em N (FN), índice de cor (IC) e taninos solúveis (TS)..... 66
- 3 Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% durante 18 horas, avaliados imediatamente após a destanização e aos cinco e oito dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). Tonalidade da casca (TC), doçura (DC), amargor (AM), adstringência sensorial (AS), firmeza sensorial (FS), firmeza em N (FN), índice de cor (IC) e taninos solúveis (TS)..... 70

CAPÍTULO 4

- 1 VOC detectado em frutos controle (não tratados) de caquizeiro 'Rama Forte' e naqueles tratados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹, com o respectivo tempo de retenção (TR em minutos), índice de retenção (IR), pico m/z, e percentual (%) de correspondência..... 90
- 2 VOC (marcados com x) em caquis 'Rama Forte' adstringentes (sem tratamento de destanização), mantidos em condição de laboratório durante oito dias após a colheita, com o respectivo tempo de retenção (TR em minutos)..... 94
- 3 Adstringência sensorial e teor de taninos solúveis (%) (TS) em caquis 'Rama Forte' tratados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas e mantidos por até oito dias em condição ambiente (20 ± 5 °C)..... 95
- 4 Parâmetros estatísticos obtidos por modelagem de regressão multivariada utilizando a regressão PLS para caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas e mantidos por até oito dias em condição ambiente (20 ± 5 °C)..... 95

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1 Produção e área plantada de caqui nos anos de 2011 a 2015 no Brasil (Adaptado de IBGE, 2017).....	4
2 Quantidade produzida de caqui em lavouras dos principais estados produtores do Brasil no ano de (IBGE, 2017).....	5
3 Processo de formação do acetaldeído por meio do piruvato e álcool etílico (Edag & Kluge, 2009).....	10
CAPÍTULO 1	
1 Escala de notas para determinação do índice de adstringência, a partir da impressão de caqui 'Hachia' cortado longitudinalmente, em papel filtro com FeCl ₃ . 1 = não adstringente, 2 = ligeiramente adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente (Gazit & Levy, 1963).....	20
2 Perda de massa (A), teor de taninos solúveis (B), firmeza de polpa (C), ângulo Hue da cor da casca (D) e índice de cor da casca (E) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 02/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 horas ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 17 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).....	23
3 Caquis 'Rama Forte' colhidos em 02/05/2017, sem destanização aos dois (1A) e oito (2A) dias, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ durante 6 horas aos dois (1B) e oito (2B) dias, e destanizados com CO ₂ 70% durante 18 horas aos dois (1C) e oito (2C) mantidos em condição ambiente (± 17 °C).....	24

4 Firmeza de polpa (A) e índice de cor da casca (B) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 02/05/2017, destanizados com CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 17 °C) por até 8 dias após a destanização	24
--	----

CAPÍTULO 2

1 Teor de taninos solúveis (A), firmeza de polpa (B), ângulo Hue da cor da casca (C) e índice de cor da casca (D) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 04/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 horas ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 20 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1 %) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).....	39
2 Teor de taninos solúveis (A), firmeza de polpa (B), ângulo Hue da cor da casca (C) e índice de cor da casca (D) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 17/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 horas ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).....	41
3 Firmeza de polpa (A) e índice de cor da casca (B) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 17/04/2017, destanizados com CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) por até 8 dias após a destanização.....	42
4 Caquis 'Rama Forte', colhidos em 17/04/2017, destanizados com CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) logo após a destanização (0), e aos dois, seis e oito dias após a destanização.....	43
5 Teor de taninos solúveis (A), firmeza de polpa (B), ângulo Hue da cor da casca (C) e índice de cor da casca (D) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 05/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg ⁻¹ 6 horas ou CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 16 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo	

(0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).....	44
6 Firmeza de polpa (A) e índice de cor da casca (B) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 05/05/2017, destanizados com CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 16 °C) por até 8 dias após a destanização.....	46
7 Caquis 'Rama Forte', colhidos em 05/05/2017, destanizados com CO ₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 16 °C) por três, quatro e cinco dias após a destanização.....	46
CAPÍTULO 3	
1 Perfil sensorial da aparência de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol (1,7 mL kg ⁻¹ 6 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).....	63
2 Perfil sensorial do aroma e sabor de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol (1,7 mL kg ⁻¹ 6 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).....	64
3 Perfil sensorial da textura de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol (1,7 mL kg ⁻¹ 6 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).....	65
4 Perfil sensorial da aparência de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO ₂ (70% 18 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).....	67

- 5 Perfil sensorial do aroma e sabor de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ (70% 18 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias)..... 68
- 6 Perfil sensorial da textura de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ (70% 18 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias)..... 69

CAPÍTULO 4

- 1 a) Sistema de coordenadas de pontuação 3D (PC1 x PC2 x PC3) dos frutos controle e avaliados imediatamente após o tratamento com CO₂ 70% durante 18 horas e nos oito dias subsequentes de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C), com projeção do plano PC1 x PC2; b) gráfico de influência dos resíduos T2 x F de Hotelling relacionados ao PC1; c) loadings relevantes plotados na forma de linhas..... 92
- 2 a) Sistema de coordenadas de pontuação 3D (PC1 x PC2 x PC3) dos frutos controle e avaliados imediatamente após o tratamento com etanol 1,7 mL.kg⁻¹ durante 6 horas e nos oito dias subsequentes de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C), com projeções no plano PC1 x PC2; b) gráfico de influência dos resíduos T2 x F de Hotelling relacionados ao PC1; c) loadings relevantes plotados na forma de linhas..... 93

1 INTRODUÇÃO

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) é uma frutífera com origem na Ásia, onde tem sua maior produção mundial. No Brasil, a produção de caquis está em crescimento e a comercialização ainda depende da disponibilidade sazonal. A produção desta fruta se concentra nas regiões Sul e Sudeste, sendo os estados de São Paulo e Rio Grande do Sul os maiores produtores, conforme indicam dados do IBGE (2017). Um indício da expansão da cultura, no país, é que apesar da tradição e das condições climáticas favoráveis do sul e sudeste, a região Nordeste está aparecendo nas estatísticas nacionais (IBGE, 2017).

Um dos problemas comuns na pós-colheita de caquis adstringentes é a necessidade de tratamentos que induzam à remoção artificial da adstringência. Os frutos são colhidos ao atingirem a maturação comercial, quando ainda estão firmes e taninosos. Nessa condição, torna-se necessária a remoção artificial da adstringência, já que o caqui não perde a adstringência após a colheita.

A pesquisa busca alternativas para a melhor remoção da adstringência, sem que haja perda da qualidade visual e gustativa dos frutos. Alguns tratamentos já estão consolidados no mercado mundial, como o uso de etileno, de etanol ou de dióxido de carbono (CO₂), sendo este último, ainda em estágio de implantação no Brasil. A principal vantagem do uso de CO₂ na destanização, é a perda mais rápida da adstringência em relação aos outros dois tratamentos, e que diferentemente destes primeiros, o CO₂ mantém a firmeza do fruto por mais tempo.

Por outro lado, as pesquisas relacionadas à composição do perfil de compostos voláteis da polpa dos caquis ainda são incipientes. Esses ensaios (Besada *et al.*, 2012; Martineli *et al.*, 2013) tem o objetivo de possibilitar a identificação do momento em que o fruto perde por completo a adstringência, tornando-se apto ao consumo, por meio de um ou mais marcadores voláteis que indiquem esse momento.

A partir dessas considerações, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o perfil de compostos voláteis da polpa de caquis 'Rama Forte' tratados com etanol e CO₂ ao longo do processo de perda de adstringência, de forma a identificar o momento em que a destanização ocorre, bem como avaliar os atributos de qualidade físico-químicos e o perfil sensorial dos frutos oriundos desses tratamentos, correlacionando-os ao perfil de voláteis identificado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos Botânicos

De nome científico *Diospyros kaki* L., os caquis comumente comercializados são uma cultura originária da Ásia e pertencente à família Ebenaceae. Outra espécie bastante comum é *Diospyros virginiana* L., utilizado geralmente com porta-enxerto. A cultura tem seu centro de origem nas regiões montanhosas da China Central e do Leste, de onde foi levada para a Coreia e Japão no final do século XII, iniciando ali o seu cultivo (Pinto, 2010). Foi só no final do século XIX que a cultura foi levada para outros países além do Oriente, onde o seu plantio comercial se desenvolveu principalmente nos Estados Unidos, Itália, Brasil e Israel (Kitagawa & Glucina, 1984).

As cultivares de caqui encontradas no mercado brasileiro são divididas em três grupos de acordo com o teor de adstringência e cor de polpa. Esses grupos, segundo Brackmann (2003), são: Sibugaki, cujos frutos apresentam polpa sempre adstringente e amarela, podendo ter ou não sementes; Amagaki, que possuem polpa não adstringente e amarela, independentemente da presença ou não de sementes; e Variável, que são aqueles que quando sem sementes apresentam polpa taninosa e amarela, e quando com sementes a polpa tem coloração escura (caqui “chocolate”) e não adstringente.

Exemplos de variedades do grupo Sibugaki são ‘Taubaté’, ‘Pomelo’ e ‘Rubi’; ‘Fuyu’ e ‘Jiro’ pertencem ao grupo Amagaki e ‘Rama Forte’, ‘Giombo’ e ‘Kaoru’ são exemplos de cultivares do grupo Variável.

Segundo Ito (1971), as cultivares de caqui podem ser divididas em duas categorias: PC (constantes em relação à polinização), ou seja, quando os frutos não apresentam mudança de coloração quando polinizados, e PV (variáveis em relação à polinização), que é quando a polpa se apresenta clara quando não polinizado e escura quando polinizado. Dessa forma, surgem as classificações:

PCNA (polinização constante não adstringente), PCA (polinização constante adstringente), PVNA (polinização variável não adstringente) e PVA (polinização variável adstringente). A cultivar Rama Forte é classificada como PVA.

2.2 O Caqui no Brasil

O caquizeiro é cultivado em escala comercial basicamente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, principalmente nos Estados de São Paulo e do Rio Grande do Sul.

No Brasil, o caqui apresentou média de produção anual em torno de 192.327 t no ano de 2015, segundo dados publicados no ano de 2017 pelo IBGE (Figura 1), o que é uma produção baixa se comparada às outras frutas mais tradicionais no país, como a banana, que teve produção de 6,8 milhões de t no mesmo ano, a laranja que ficou em torno de 16,7 milhões de t, ou ainda a uva, que teve produção de aproximadamente 1,5 milhões de t em 2015 (IBGE, 2017).

A área plantada dessa frutífera no país, nos anos de 2011 a 2015, não apresentou grande variação, ficando entre 8.100 e 8.700 ha (Figura 1). A mesma figura também indica que a produção também não se modificou muito, tendo aumento de cerca de 40.000 t nos mesmos cinco anos.

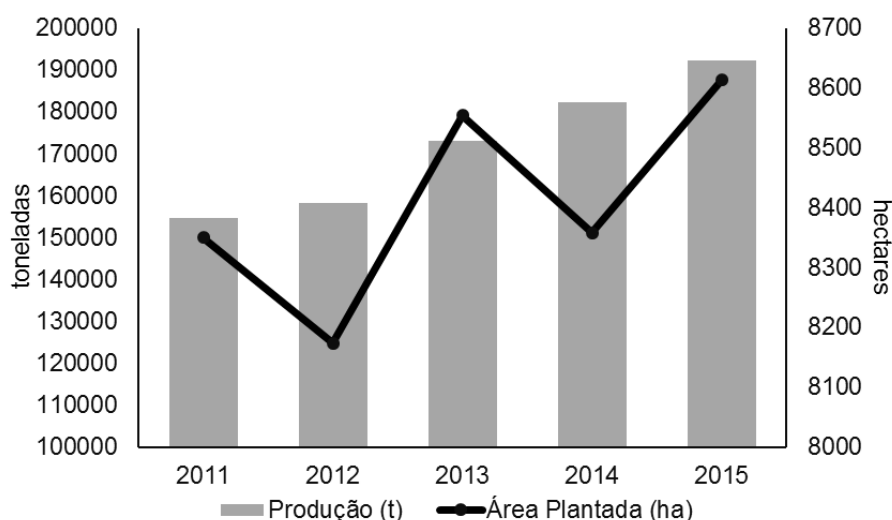


FIGURA 1. Produção e área plantada de caqui nos anos de 2011 a 2015 no Brasil (Adaptado de IBGE, 2017).

Como o caquizeiro é uma cultura que se adapta aos climas temperado e subtropical, a produção de caquis se concentra nos estados das regiões Sul e Sudeste do país. O estado de São Paulo foi o maior produtor no ano de 2014, com

média anual de 105.879 t, seguido pelo Rio Grande do Sul, que produziu em torno de 33.790 t. Além de estados duas regiões tradicionais (sul e sudeste) a Bahia aparece nas estatísticas, porém com produção ainda muito pouco expressiva de 32 t (Figura 2).

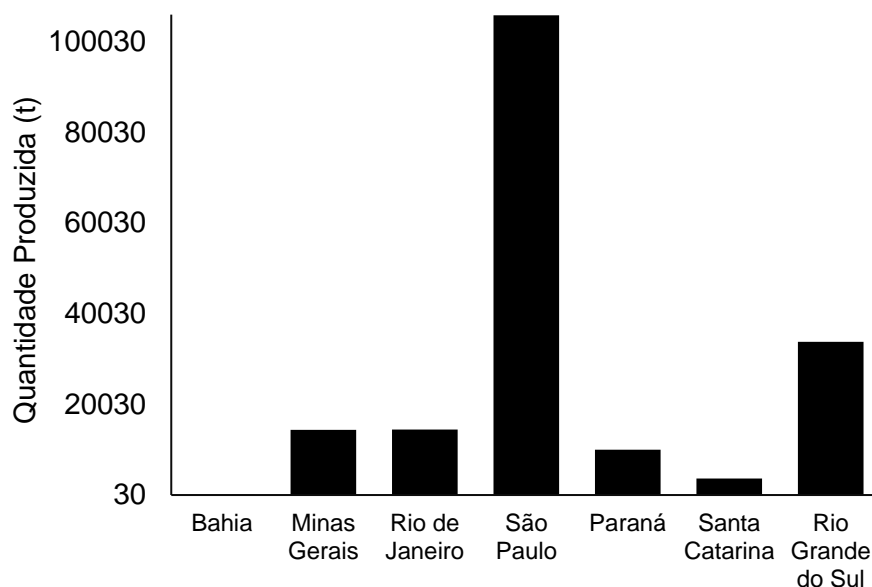


FIGURA 2. Quantidade produzida de caqui em lavouras dos principais estados produtores do Brasil no ano de 2014 (IBGE, 2017).

2.3 A Cultivar Rama Forte

‘Rama Forte’ é uma cultivar do tipo PVA, que apresenta polpa taninosa e geralmente sem sementes. Por esse motivo, necessita de remoção artificial da adstringência (Gardin *et al.*, 2012). É uma cultivar que apresenta polpa macia quando os frutos estão maduros e, conseqüentemente, altamente perecíveis no período pós-colheita. Conseqüentemente, o caqui ‘Rama Forte’, apresenta dificuldades em sua comercialização. Isso estimula a busca por métodos de destanização que minimizem as perdas por danos mecânicos, sendo que ainda existem poucos autores que trabalham com esses efeitos na cultivar (Muñoz, 2002; Gardin *et al.*, 2012).

2.4 Pós-Colheita

O caqui é um fruto climatérico e que apresenta período curto de conservação após a colheita. Segundo Girardi *et al.* (2003), a reduzida conservação dos frutos se deve à sua alta sensibilidade ao etileno externo.

Segundo Kitagawa & Glucina (1984) caquis não-adstringentes tendem a apresentar conservação mais longa em relação aos adstringentes. Esses autores salientam que o processo de remoção da adstringência reduz bastante a vida útil do fruto e, igualmente, depende do método utilizado.

2.5 Taninos

Taninos são substâncias pertencentes ao grupo de compostos fenólicos flavonóides (Silva & Silva, 1999). Estes compostos estão presentes em frutas como, uva, romã, maçã, pera, kiwi, damasco e caqui e que podem estar presentes nos vegetais nas formas, hidrolisável (taninos solúveis) e não hidrolisável (tanino insolúvel) (Singleton & Kratzer, 1973). Os taninos não hidrolisáveis são também chamados de taninos condensados e ambas as formas possuem a habilidade de formar complexos, que são formados pela união de unidades de taninos hidrolisáveis e condensados (Santos & Mello, 1999).

Taninos hidrolisáveis são ésteres de ácidos gálicos ou elágicos, formados pelo na rota do ácido chiquímico (Heldt, 1997), durante a fotossíntese, sendo os taninos elágicos resultantes da união entre moléculas de ácido gálico (Santos & Mello, 1999). Já os taninos condensados, ainda segundo Santos & Mello (1999), são oligômeros e polímeros formados a partir da condensação de unidades de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol. São esses taninos que conferem coloração vermelha ao fruto, por isso são também chamados de proantocianidinas.

Nos frutos, o tanino está contido em células de tanino. Essas são denominadas idioblastos de tanino, que são células especializadas, geralmente maiores que as parenquimáticas adjacentes (Vitti, 2009). Quando a polpa é submetida à ação mecânica da mastigação, essas células de tanino são rompidas (Kitagawa & Glucina, 1984) liberando o tanino solúvel e fazendo com que haja a percepção da adstringência. Os taninos possuem a capacidade de formar complexos juntamente com proteínas (Santos & Mello, 1999). Quando o fruto entra em contato com a saliva presente na boca, as proteínas ali presentes, como a amilase, reagem com o tanino do fruto, formando um precipitado que se une aos receptores de sabor, causando a sensação de adstringência (Ittah, 1991).

No caso dos caquis adstringentes, as moléculas de tanino estão naturalmente presentes na forma hidrolisável, como taninos gálicos, sendo polimerizados após o amadurecimento e processos de destanização (Edagi &

Kluge, 2009), e convertidos na forma condensada, insolúvel (Matsuo & Ito, 1982) o que confere ao fruto o sabor e coloração característicos.

2.6 Remoção da Adstringência

Caquis adstringentes precisam ser submetidos ao tratamento pós-colheita de destanização para poderem ser comercializados e consumidos. Segundo Edagi & Kluge (2009), há três formas de induzir a destanização em frutos dos caquizeiros, promovendo o seu amadurecimento, submetendo-os a ambiente com baixo oxigênio ou à atmosfera com etanol.

Dentre os métodos de destanização utilizados, destacam-se: destanização em câmaras com ethephon (nome comum do ácido 2-cloro-etil fosfônico), etileno, dióxido de carbono e vapor de etanol (Matsuo *et al.*, 1976; Kato, 1990; Antonioli *et al.*, 2000; Yamada *et al.*, 2002; Blum *et al.*, 2008; Novillo *et al.*, 2014). Enquanto que o ethephon e o etileno agem por meio do estímulo do amadurecimento, com consequente perda da adstringência, o CO₂ e o etanol promovem a formação de acetaldeído, composto responsável pela insolubilização dos taninos solúveis.

Yamada *et al.* (2002) relataram os métodos de destanização usados nos países orientais, para consumo do fruto, onde o caqui é mais tradicionalmente cultivado e consumido no mundo. Segundo esses autores, na China, o caqui é consumido como frutos macios secos e sobremaduros, quando ocorre a perda natural da adstringência, já no Japão, em tempos idos, eram usadas as técnicas como a imersão em água morna e exposição ao vapor de etanol. Entretanto, atualmente o dióxido de carbono vem sendo bastante utilizado no país para consumo da fruta ainda firme.

A perda natural da adstringência nos frutos de caquizeiro, pode se dar de duas maneiras. A primeira está relacionada às cultivares do grupo PCNA. Nesses frutos, as células de tanino são menores em relação às cultivares adstringentes, com peso molecular baixo e pouca reatividade (Taylor, 1993). O segundo mecanismo, a perda de adstringência ocorre nas cultivares adstringentes e PVNA à medida que o fruto amadurece na planta. Isso ocorre pela produção de etanol e acetaldeído pela semente (Sugiura *et al.*, 1979). Isso condiz com o princípio do uso de aplicações de etanol e atmosfera rica em CO₂ (estimulação da produção de acetaldeído) ou indução da aceleração da maturação, a fim de estimular a produção

desses dois compostos pelos frutos, para realização da remoção artificial da adstringência.

2.6.1 Dióxido de Carbono (CO₂)

A técnica de remoção da adstringência com dióxido de carbono é realizada colocando-se os frutos em câmara hermética mantida a 25°C, onde se injeta CO₂ em altas concentrações (Muñoz, 2002). A alta concentração de CO₂ gera uma condição de anaerobiose, ativando enzimas fermentativas, como a piruvato descarboxilase e a álcool desidrogenase, que atuam transformando o piruvato (Taiz et al, 2017).

A partir da ação dessas enzimas fermentativas sobre o piruvato, ocorre a formação de acetaldeído, que condensa os taninos hidrolisáveis. Assim, há a transformação do tanino solúvel em um polímero de tanino insolúvel (Muñoz, 2002), fazendo com que não se perceba mais a sensação de adstringência na boca. Segundo Matsuo *et al.* (1976), os frutos tratados com altas concentrações (geralmente acima de 60%) de CO₂ perdem a adstringência em 3 a 5 dias e permanecem firmes e com boa qualidade, porém há alguns relatos de amolecimento parcial da polpa.

A relação entre a concentração e o tempo de exposição ao gás são de extrema importância. Exposições muito prolongadas podem resultar no amolecimento da polpa e no surgimento de desordens fisiológicas. Muñoz (2002) observou que 33 % dos caquis 'Rama Forte' expostos por 24 horas a 90% de CO₂ apresentaram manchas negras na polpa, sendo que após 48h de exposição cerca de 70 % dos frutos apresentaram a desordem. Arnal & Del Río (2003) ao testarem CO₂ em caquis 'Rojo Brillante' também puderam observar que quanto maior o tempo em que o fruto fica exposto ao gás, maior e mais rápida é a destanização, o que acaba causando redução da firmeza.

Como em escala comercial o tratamento de destanização é feito sob temperatura ambiente, há uma diferença entre as temperaturas do início da temporada, que geralmente são maiores, em relação às temperaturas do final da safra. Isso torna necessário, que para os frutos tratados ao final da temporada, sob temperaturas mais baixas (geralmente inferiores a 15 °C), deve-se prolongar a duração do tratamento, para que este seja mais eficiente (Novillo *et al.*, 2015).

2.6.2 Etanol

A destanização com vapor de etanol consiste na utilização de etanol líquido, de forma que ele vaporize e possa ser absorvido pela epiderme do fruto, no interior de câmaras herméticas. Conforme a revisão bibliográfica realizada, a concentração de etanol e o tempo de destanização varia com a cultivar (Kato, 1987; Antoniulli *et al.*, 2000; Muñoz, 2002; Edagi *et al.*, 2009; Novillo *et al.*, 2015).

O etanol penetra no fruto a partir da sua absorção pela epiderme. Logo, a enzima álcool desidrogenase produz acetaldeído, a partir deste etanol absorvido pelo fruto (Oshida *et al.*, 1996). Dessa forma, o acetaldeído formado irá condensar os taninos presentes no fruto (Muñoz, 2002), tornando-os insolúveis.

A figura 03 apresenta duas rotas de formação do acetaldeído. Conforme os autores da figura (Edagi & Kluge, 2009), a primeira, por meio do piruvato ($C_3H_6O_3$), mecanismo que ocorre na destanização por CO_2 , e a segunda, a rota inversa, por meio do álcool etílico (C_2H_6O), mecanismo que ocorre na remoção de adstringência por etanol.

No Brasil, a maioria dos trabalhos encontrados de destanização artificial com etanol são com caquis 'Giombo' (Antoniulli *et al.*, 2000; Edagi *et al.*, 2009; Monteiro *et al.*, 2014). Antoniulli *et al.* (2000), trabalhando com caquis 'Giombo' expostos ao vapor de etanol em diferentes tempos de exposição a 20 °C, na concentração de 3,85 mL etanol L⁻¹ câmara, constataram que para esta cultivar o período de exposição de 24 horas manteve uma melhor qualidade dos frutos (variáveis analisadas: teor de taninos solúveis, firmeza de polpa, perda de massa fresca, pH, sólidos solúveis, acidez titulável e teor de ácido ascórbico) durante os dez dias de avaliação. Edagi *et al.* (2009) avaliando diferentes concentrações e tempos de exposição ao etanol, em caquis 'Giombo', consideraram que a concentração de 1,75 mL kg⁻¹, durante 12 horas, foi suficiente para destanizar os frutos, e estes tornaram-se aptos ao consumo em quatro dias. Esses autores também concluíram que a refrigeração não influenciou no processo de perda de adstringência para frutos dessa cultivar. Monteiro *et al.* (2014), também avaliando concentrações e tempos de exposição ao etanol em caquis 'Giombo', também obtiveram melhores resultados para a dose de 1,75 mL kg⁻¹ durante 12 horas, em que os frutos se mantiveram com firmeza superior a 20 N. Já Muñoz (2002), avaliou a remoção artificial da adstringência de caquis 'Rama Forte' com etanol. O autor obteve melhores resultados aplicando 1,70 mL kg⁻¹ durante 6 e 12 h sob temperatura

ambiente de 25 °C e 90% UR, sendo que esses frutos se mantiveram firmes durante os oito dias de avaliações realizadas.

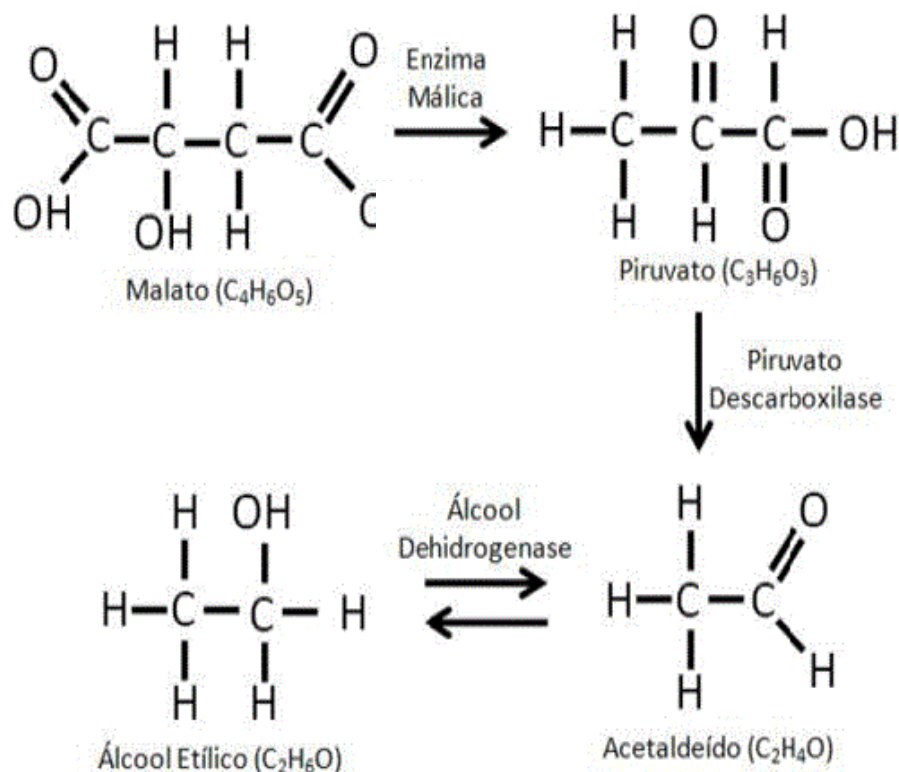


FIGURA 3. Processo de formação do acetaldeído por meio do piruvato e álcool etílico (Edagi & Kluge, 2009).

2.7 Compostos Voláteis

A liberação de aroma pelos frutos ocorre durante o processo de amadurecimento, quando há a formação de substâncias voláteis que ao serem liberadas compõem o aroma característico (Chitarra & Chitarra, 2005).

Os voláteis estão presentes nos frutos como óleos essenciais, em misturas complexas, tendo concentrações muito baixas (< 100 ppm) e peso molecular geralmente inferior a 250 g/mol (Chitarra & Chitarra, 1990). Esses valores são encontrados em frutos bastante aromáticos como laranja, abacaxi, maracujá e uva. Em frutos em que o aroma não é tão intenso, essa concentração tende a ser mais baixa ainda, dificultando a sua identificação.

Trabalhos relacionados à identificação de compostos voláteis presentes no caqui citam os terpenos (hidrocarbonetos) Limoneno, p e o-cimeno, β-pineno, entre outros; os ésteres isopropil-decanoato, heptanoato de etila, etil metanoato; os ácidos palmítico, acético, heptanóico; os aldeídos hexanal, (E)-2-hexanal, octanal, acetaldeído; e os álcoois etanol, 1-hexanol, η-butanol, isobutil; dentre outros tipos

de substâncias como cetonas e fenilaldeídos (Horvat *et al.*, 1991; Besada *et al.*, 2012; Martinelli *et al.*, 2013).

Martinelli *et al.* (2013) destanzaram caquis 'Mikado' com etanol na proporção de 7 mL kg⁻¹ de fruto. Esses autores identificaram apenas seis compostos voláteis nos frutos controle, com redução para três no decorrer do armazenamento. Nos frutos destanzados foram encontrados 11 compostos, porém, com o decorrer do armazenamento, esse número também foi reduzido para três dos compostos anteriormente identificados havendo, entretanto, o aparecimento de um novo composto (*o*-cimeno). Já Besada *et al.* (2012) estabeleceram o perfil de voláteis de 12 cultivares diferentes de caqui (PCA, PVA, PVNA, PCNA) e do total de 67 compostos encontrados, benzenoacetaldeído, aldeídos derivados de lipídios (heptanal, octanal e decanal) e fenilfuranonas (dihidrobenzofurano e 3(2H)-benzofuranona) foram identificados como possíveis marcadores para indicar a perda de adstringência.

2.8 Referências Bibliográficas

ANTONIOLLI, L. R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes períodos de exposição ao vapor de álcool etílico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, out. 2000.

ARNAL, L.; DEL RÍO, M. A. Removing astringency by carbon dioxide and nitrogen-enriched atmospheres in persimmon fruit cv. "Rojo Brillante". **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 1516-1518, 2003.

BESADA, C. et al. Volatile compound associated to the loss of astringency in persimmon fruit revealed by untargeted GC-MS analysis. **Metabolomics**, Boston, v. 9, p. 123-171, 2012.

BLUM, J. et al. Destanização do caqui "Giombo" com etanol e ethephon. **Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 1, p. 54-59, jan./fev. 2008.

BRACKMAN, A. A produção, o consumo e a qualidade do caqui no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, abr. 2003.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: FAEPE, 1990. 320 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: FAEPE, 2005. 720 p.

EDAGI, F. K. et al. Remoção da adstringência de caquis 'Giombo' com subdosagens de etanol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, out. 2009.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 585-594, mar./abr. 2009.

GARDIN, J. P. P. et al. Qualidade de caqui 'Rama Forte' após armazenamento refrigerado, influenciada pelos tratamentos 1-MCP e/ou CO₂. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1043-1050, dez. 2012.

GAZIT, S.; LEVY, Y. Adstringency and its removal in persimmon. **Israel Journal of Agricultural Research**, Rehovot, v. 13, n. 3, p. 125-132, 1963.

GIRARDI, C. L. et al. Conservação de caqui (*Diospyros caqui* L.) cv. Fuyu, pela aplicação de 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 54-56, abr. 2003.

HELDT, H. W. **Plant biochemistry and molecular biology**. Oxford: University Press, 1997. 522 p.

HORVAT, R. J. et. al. Volatile compounds from the mesocarp of persimmons. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 1, p. 262-263, 1991.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**. [2017]. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 14 maio 2017.

ITO, S. The persimmon. In: HULME, A. C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971. v. 2, p. 281-301.

ITTAH, Y. BSA-Bound persimmon tannin interactions with other proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 39, p. 2119-2122, 1991.

KATO, K. Astringency removal and ripening as related to temperature during the de-astringency by ethanol in persimmon fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 55, n. 4, p. 498-509, 1987.

KATO, K. Astringency removal and ripening in persimmons treated whit ethanol and ethylene. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 205-207, 1990.

KITAGAWA, H.; GLUCINA, P. G. **Persimmon culture in New Zealand**. Wellington: Science Information Publishing Centre, 1984. 73 p.

MARTINELLI, M. et al. Caqui cv. 'Mikado': análise de compostos voláteis em frutos adstringentes e destanizados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 8, p. 1516-1521, ago. 2013.

MATSUO, T.; ITOO, S. A model experiment for de-astringency of persimmon fruit with high carbon dioxide treatment: in vitro gelation of kaki-tannin by reacting with acetaldehyde. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 46, n. 3, p. 683-689, 1982.

MATSUO, T.; SHINOHARA, J.; ITO, S. An improvement on removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide gas. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 215-217, maio 1976.

MONTEIRO, M. F. M. et al. Remoção da adstringência de caqui 'Giombo' com etanol em doses e tempos diferentes. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 15, n. 2, p. 160-167, 2014.

MUÑOZ, V. R. S. **Destanização do caqui (Diospyros caqui L.) 'Rama Forte'**. 2002. 164 f. Tese (Doutorado) - Engenharia Agrícola, Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

NOVILLO, P.; BESADA, R. G. C.; SALVADOR, A. Astringency removal of 'Rojo Brillante' persimmon by combining CO₂ and ethanol application. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 1079, p. 599-604, 2015.

NOVILLO, P. et al. Deadstringency treatment with CO₂ induces oxidative stress in persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 16-22, 2014.

OSHIDA, M.; YONEMORI, K.; SUGIURA, A. On the nature of coagulated tannins in astringent-type persimmon fruit after an artificial treatment of astringency removal. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 8, p. 317-327, 1996.

PINTO, D. M. **Tecnologias de pós-colheita em caqui 'Fuyu'**. 2010. 165 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

PROGRAMA BRASILEIRO PARA MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA. Normas de classificação: caqui. São Paulo: CEAGESP, 2009. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/classificacao/caqui/caqui.html>>. Acesso em: 03 set. 2017.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1999. 1097 p.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 5-19, jan./abr. 1999.

SINGLETON, V. L.; KRATZER, F. H. Plant phenolics. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Toxicants accuring naturally in foods**. Washington, DC, 1973. 624 p.

SUGIURA, A. et al. Changes in the ethanol and acetaldehyde contents of Japanese persimmon fruits in relation to natural loss of astringency. **Studies from the Institute of Horticulture**, Kyoto, v. 9, p. 41-47, 1979.

TAIRA, S. Astringency in persimmon. In: LINKSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Org.). **Modern methods of plant analysis**. Berlin: Springer, 1996. v. 18, p. 97-110.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

TAYLOR, J. E. Exotics. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (Ed.). **Biochemistry of fruit ripening**, London: Chapman & Hall, 1993. p. 151-186.

VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui 'Rama Forte' em função da época d'e colheita**. 2009. 123 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

YAMADA, M. et al. Varietal differences in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among oriental astringent persimmons of japanese and chinese origin. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, p. 63-72, 2002.

3 CAPÍTULO 1

Destanização de caquis 'Rama Forte' com etanol ou dióxido de carbono

RESUMO

Caquis 'Rama Forte' necessitam de remoção artificial da adstringência prévia ao consumo *in natura*. Várias são as técnicas utilizadas para esse propósito, dentre elas, são comuns as aplicações de vapor de etanol e a utilização de atmosferas com altas concentrações de dióxido de carbono (CO₂). O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito dos tratamentos de destanização com etanol e dióxido de carbono em caquis 'Rama Forte'. Caquis 'Rama Forte' foram colhidos com coloração amarelo alaranjada e submetidos aos tratamentos de destanização com etanol 1,70 mL kg⁻¹ durante 6 horas, CO₂ 70% durante 18 horas e controle (frutos sem destanização). Após o tratamento para destanização, os frutos foram mantidos por até 8 dias em condição ambiente (± 17 °C) e avaliados diariamente quanto à perda de massa, teor de taninos solúveis, índice de adstringência, firmeza de polpa e coloração de casca (ângulo hue e índice de cor). Frutos dos três tratamentos apresentaram aumento linear na perda de massa, sem ultrapassar o limite aceitável. Frutos controle apresentaram leve redução no teor de taninos solúveis e na firmeza de polpa, além de permanecerem com a coloração alaranjada. Caquis destanizados com etanol perderam a adstringência após quatro dias e mantiveram os valores de firmeza de polpa e coloração de casca próximos aos apresentados pelos frutos controle. Caquis destanizados com CO₂ apresentaram teor de taninos solúveis abaixo do limite que caracteriza frutos não adstringentes desde o término do período de exposição ao gás. Observou-se certa desuniformidade no amadurecimento desses frutos, com amolecimento da polpa e avermelhamento dos frutos a partir do quarto dia. Ambos os tratamentos foram eficazes a destanização dos caquis 'Rama Forte', embora o tempo para obtenção de frutos destanizados tenha sido diferente. Frutos destanizados com etanol mantiveram-se semelhantes aos frutos controle durante oito dias após o tratamento de remoção da adstringência, enquanto que aqueles destanizados com CO₂ amoleceram rapidamente, apesar da antecipada perda de adstringência apresentada por esses frutos.

ABSTRACT

'Rama Forte' persimmon fruit need artificial removal of astringency prior to consumption. Several techniques are used for this purpose, among which ethanol vapor and high concentrations of carbon dioxide (CO₂) are the most common. The objective of the present study was to evaluate the effect of deastringency treatments performed by ethanol and carbon dioxide on 'Rama Forte' persimmons. 'Rama Forte' persimmon fruit were harvested with orange-yellow skin color and submitted to deastringency treatments with ethanol 1.70 mL kg⁻¹ for 6 hours, CO₂ 70% for 18 hours and control (fruits without deastringency treatment). After treatments fruit were kept for up to 8 days at room conditions (± 17 °C) and daily evaluated for fresh mass loss, soluble tannin content, astringency index, flesh firmness and skin color (Hue and color index). Fruit from the three treatments showed a linear increase in the fresh mass loss, but it did not exceed the acceptable limit. Control fruit showed slight reduction in the content of soluble tannins and flesh firmness and kept the orange color of the skin. Persimmons treated with ethanol vapor lost their astringency after four days and maintained flesh firmness and skin color values close to those presented by the control fruit. Persimmon fruit submitted to CO₂ deastringency treatment presented soluble tannin content below the limit that characterizes non-astringent fruit since the end of the gas exposure period. Ripening of these fruit was uneven with flesh softening and skin redness from the fourth day. Both treatments were effective in promoting the astringency removal of 'Rama Forte' persimmons, although the time to obtain ready-to-eat fruit was different. Ethanol treated persimmons remained as the control fruit during eight days after the treatment for astringency removal, whereas those that had the astringency removed by CO₂ softened quickly.

3.1 Introdução

O caqui (*Diospyros kaki* L.) pertence à família Ebenaceae. Segundo Ito (1971), o gênero *Diospyros* é cultivado na Ásia e América do Norte. Atualmente, a China é o maior produtor mundial, com cerca de 2.300.000 t/ano, seguida pela Korea (323.000 t), Japão (253.000 t) e Brasil, que figura em quarto lugar com cerca de 131.000 t (FAO, 2016).

Em nível nacional, as cultivares de maior volume de produção são, a cv. Rama Forte, com cerca de 61% de participação, a cv. Giombo com 24%, a cv. Fuyu com 14% e a cv. Kyoto com 8% da produção (Prohort, 2018).

As cultivares de caqui são classificadas em quatro grupos de acordo com a polinização e a presença ou não de adstringência na polpa (Ito, 1971). Os grupos são: Polinização Constante Adstringente (PCA), Polinização Constante Não Adstringente (PCNA), Polinização Variável Não Adstringente (PVNA) e Polinização Variável Adstringente (PVA). Frutos das cultivares PVNA serão não adstringentes, independentemente da presença de sementes, enquanto que os caquis das variedades PVA, irão apresentar adstringência na polpa, com exceção das regiões próximas às sementes. A cv. Rama Forte é classificada como PVA, necessitando, portanto, de remoção da adstringência prévia ao consumo (Gardin *et al.*, 2012).

São várias as técnicas que podem ser utilizadas para remoção da adstringência, dentre elas, as mais comuns são as aplicações de etileno, de vapor de álcool etílico e a utilização de atmosferas com altas concentrações de dióxido de carbono (CO₂) (Matsuo *et al.*, 1976; Kato, 1990; Yamada *et al.*, 2002; Novillo *et al.*, 2014). Os dois últimos métodos agem pela polimerização e condensação dos taninos solúveis presentes na polpa, que são convertidos para sua forma insolúvel pela produção de acetaldeído (Taira, 1996).

A técnica de destanização com altas concentrações de CO₂ tende a proporcionar caquis 'Hiratanenashi' aptos ao consumo em torno de três a cinco dias (Matsuo *et al.*, 1976). Para caquis 'Giombo' tratados com três concentrações de etanol (1,75, 3,5 e 7,0 mL.kg⁻¹), Edagi *et al.* (2009) obtiveram frutos completamente destanizados após seis dias. Já, Antonioli *et al.* (2000) indicaram o melhor período para consumo de caquis 'Giombo' tratados com etanol 3,85 L.m⁻³, entre o quarto e oitavo dia.

Em função dos resultados variados de tratamentos de destanização, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito dos tratamentos de destanização com etanol e dióxido de carbono em caquis 'Rama Forte'.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Material

Caquis cv. Rama Forte foram colhidos no município de Antônio Prado, RS (latitude 28° 51' S, longitude 51° 16' W, altitude 658 m, clima Aw segundo classificação de Köppen) no dia 2 de maio de 2017. Foram colhidos cerca de 300 frutos, que foram acomodados em caixas plásticas de colheita (36 x 55 x 30,5 cm) forradas com plástico polibolha, a fim de evitar que os frutos sofressem qualquer tipo de dano mecânico durante o transporte.

Na chegada ao laboratório de pós-colheita da Embrapa Uva e Vinho em Bento Gonçalves, RS, realizou-se a seleção dos frutos quanto à ausência de doenças e de danos mecânicos e quanto à coloração (amarelo-alaranjada) e tamanho (classes 6 e 7) segundo as Normas de Classificação, Padronização e Identificação do Caqui do Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura (2009).

3.2.2 Descrição do experimento

A partir dos frutos selecionados, foram separados 100 caquis a fim de constituir o tratamento controle (frutos sem tratamento de destanização e mantidos sob as mesmas condições). O restante dos frutos foi dividido em dois lotes igualmente de 100 frutos, a fim de compor os tratamentos de destanização. O primeiro tratamento tratou da destanização dos frutos por meio da exposição ao CO₂ (fornecido pela Linde em forma de cilindros tipo *rent-and-go*), na concentração de 70% durante 18 horas. O segundo tratamento consistiu na exposição ao vapor de etanol (p.a. da marca Synth) na concentração 1,70 mL kg⁻¹ de fruto durante 6 horas. As respectivas concentrações e tempos de exposição aplicadas para ambos os tratamentos foram selecionadas com base nos resultados obtidos por Muñoz (2002) e Vitti (2009).

Para aplicação dos tratamentos, os frutos foram acomodados em caixas plásticas vazadas (36 x 55 x 30,5 cm), alternando, para cima ou para baixo, o posicionamento do cálice dos frutos em camadas sucessivas, de forma a não

causar fermentos aos frutos. Estas caixas foram colocadas dentro de caixas plásticas herméticas (61 x 97 x 60 cm), com sistema de ventilação interna. O etanol foi aplicado na forma líquida no fundo da caixa hermética, sem que houvesse contato direto com os frutos. Após o fechamento da caixa, o sistema de ventilação foi acionado de forma a auxiliar na vaporização do etanol e promover a homogeneização da atmosfera interna.

Para a destanização com CO₂, injetou-se o gás por meio de um sistema de injeção automático após o fechamento da caixa. A composição gasosa da atmosfera interna foi constantemente monitorada por meio de analisador de gases (Illinois Instruments e Gaspac Advance modelo GS3) para garantir a concentração de CO₂ em 70%.

Após o período de exposição ao agente destanizador, as caixas foram abertas e ventiladas. Cada um dos lotes foi dividido em amostras de 20 frutos, que foram acondicionados em caixas plásticas vazadas e mantidas em condição ambiente (± 17 °C). Os caquis foram avaliados no dia da colheita (avaliação inicial), imediatamente após o término do período de exposição aos agentes destanizadores (dia 0) e a cada 2 dias durante o período de 8 dias.

Os caquis foram avaliados, individualmente, quanto à perda de massa, teor de taninos solúveis, índice de adstringência, firmeza de polpa, e coloração de casca. A avaliação de perda de massa foi realizada em quatro subamostras de 5 frutos.

A perda de massa fresca foi calculada pela diferença entre a massa inicial e a massa final de cada subamostra dos tratamentos, sendo os resultados expressos em % de perda de massa fresca, segundo a fórmula:

$$\text{Perda de massa (\%)} = (\text{Massa inicial} - \text{Massa final}) \times 100.$$

O teor de taninos solúveis foi quantificado por espectrofotometria, conforme metodologia proposta por Taira (1996) e os resultados foram expressos porcentagem de ácido gálico (% ácido gálico).

O índice de adstringência (IA) foi determinado conforme método descrito por Gazit & Levy (1963). Este método consiste na avaliação visual da adstringência, por meio da impressão da polpa do fruto cortado equatorialmente sobre papel de filtro preparado com solução a 5% de cloreto férrico (FeCl₃). As impressões foram comparadas à escala de notas, de 1 a 5 elaborada por Gazit & Levy (1963) onde 1

= não adstringente, 2 = ligeiramente adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente (Figura 1).

A firmeza de polpa foi determinada em penetrômetro eletrônico digital (Güss Fruit Texture Analyzer) com ponteira de 8 mm, sendo os resultados expressos em Newton (N). Para isso, foi retirada uma porção fina da casca na região equatorial em duas faces equidistantes do fruto.

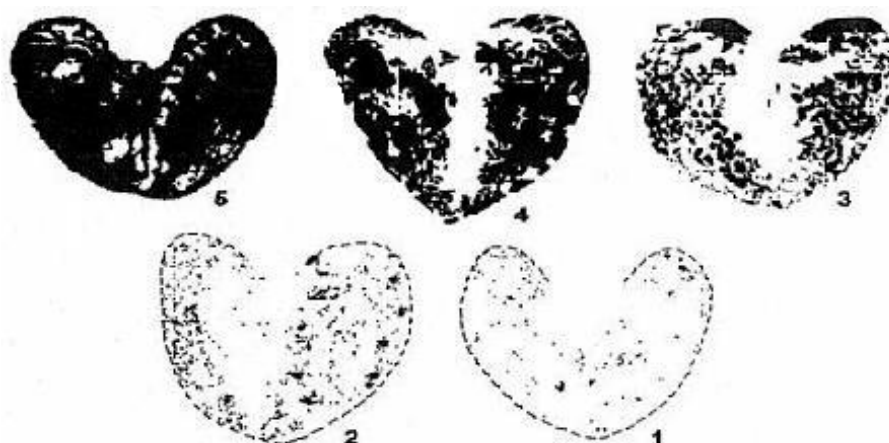


FIGURA 1. Escala de notas para determinação do índice de adstringência, a partir da impressão de caqui 'Hachia' cortado longitudinalmente, em papel filtro com FeCl_3 . 1 = não adstringente, 2 = ligeiramente adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente (Gazit & Levy, 1963).

A coloração de casca foi avaliada em colorímetro (Minolta, CR-400) no espaço de cor CIELAB, sendo os resultados expressos em: L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde), b^* (coordenada amarelo/azul), C^* (Croma – saturação da cor), h (Ângulo Hue – tonalidade). Para a apresentação dos resultados optou-se por utilizar as medidas do ângulo Hue e Índice de Cor (IC). O IC foi calculado pela fórmula publicada em López Camelo & Gómez (2004):

$$\text{IC} = (2000 \times a^*) / L^* \times C^*.$$

3.2.3 Análise de dados

A análise de regressão polinomial foi utilizada para verificar o efeito do tempo pós-tratamento (T_0, T_2, \dots, T_8), sobre os atributos taninos solúveis, firmeza de polpa, coloração de casca (ângulo Hue e índice de cor) e perda de massa. Para os atributos firmeza de polpa e índice de cor de casca, devido à alta variabilidade dos dados das amostras, a análise foi efetuada para dois subconjuntos determinados com base nos valores da mediana das amostras em cada tempo. As proporções de

frutos em cada classe de adstringência foram comparadas pelo teste binomial ($p_0 = 0,5$). Para as análises dos dados foi utilizado o PROC REG (opção Stepwise) do SAS™ (SAS Institute Inc., 2009).

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Resultados

Os caquis do tratamento controle e os submetidos aos tratamentos de destanização durante os oito dias de manutenção em condição ambiente ($\pm 17\text{ }^\circ\text{C}$) apresentaram aumento linear na perda de massa fresca. Caquis controle perderam 2,68% da massa fresca inicial ao término dos oito dias, enquanto que os frutos destanizados com etanol e CO_2 perderam 3,19% e 4,82%, no mesmo período, respectivamente. Caquis expostos à atmosfera com alta concentração de CO_2 apresentaram a maior perda de massa, sendo observados valores médios de 2,46% ao quarto dia pós-destanização. Este percentual é próximo aos percentuais observados nos frutos controle somente no oitavo dia (Figura 2A).

No momento da colheita, os caquis apresentavam 1,0% de taninos solúveis, índice de adstringência de 5,00, firmeza de polpa de 72,31 N, ângulo Hue da cor da casca de $68,40^\circ$ e IC de 11,98.

Frutos controle apresentaram uma leve redução no teor de taninos solúveis, variando entre 0,58 e 0,42% durante os oito dias, enquanto que aqueles submetidos ao tratamento com etanol tiveram o teor reduzido de 0,34 para 0,064% (Figura 2B). A partir do quarto dia foram observados valores médios de 0,076%, que se mantiveram abaixo de 0,1%, limite máximo preconizado por Taira (1996) para obtenção de frutos não adstringentes, até o término dos 8 dias de avaliação.

Apesar da regressão não ter sido significativa, caquis destanizados com CO_2 , com exceção de poucos frutos, mantiveram os teores de taninos solúveis constantes no intervalo entre 0,09 e 0,03% durante todo o período. Com relação ao índice de adstringência (Tabela 1), 100% dos frutos controle permaneceram com adstringência de moderada a alta durante os oito dias de avaliação. Caquis tratados com etanol permaneceram com pelo menos 85% dos frutos com adstringência entre os índices 3, 4 e 5 até o sexto dia após o tratamento para destanização. No oitavo dia, 65% dos frutos ainda estavam com adstringência de moderada a alta.

Logo após a destanização com CO_2 , 25% dos frutos apresentavam adstringência entre os índices 1 e 2. O percentual de frutos com adstringência baixa

subiu para 75% ao quarto dia, atingindo 90% deles ao término dos oito dias de avaliação.

Frutos expostos ao etanol apresentaram leve redução na firmeza de polpa, variando entre 73,68 e 60,88 N. Tais valores ficaram próximos aos observados nos frutos controle que mantiveram a firmeza da polpa entre 72,35 e 63,35 N durante os oito dias de armazenagem (Figura 2C). Já os caquis destanizados com CO₂, apresentaram dois comportamentos distintos de amolecimento de polpa a partir do quarto dia após a exposição dos frutos ao tratamento de destanização (Figura 2C).

Em decorrência dos dados observados formarem duas nuvens, foi realizada a separação destes com base no valor da mediana e aplicada a análise de regressão para cada nuvem de dados formada. Os frutos classificados no grupo 1 (acima do valor da mediana) apresentaram valores de firmeza entre 85,55 e 37,79 N, enquanto que aqueles pertencentes ao grupo 2 (abaixo da mediana), tiveram a firmeza reduzida até 1,17 N ao sétimo dia, sendo que no quarto dia foram observados valores médios de 17,33 N (Figura 3A).

O ângulo hue da cor da casca (Figura 1D) dos frutos controle permaneceu entre 67,77 e 61,93° durante os oito dias, assim como os frutos destanizados com etanol, cujos valores médios ficaram entre 67,87 e 60,99°. Caquis expostos ao CO₂, apresentaram valores médios iniciais de 70,15°, que sofreram redução até 54,47°, indicando a maior tendência ao avermelhamento da casca desses frutos em relação aos demais tratamentos.

Os dados de IC para frutos provenientes dos tratamentos controle e etanol, assim como observado para o ângulo Hue, variaram pouco, sendo os intervalos de 12,37 a 15,89 e 12,29 a 16,61, respectivamente (Figura 2B e Figura 3). Já os caquis destanizados com CO₂ apresentaram, assim como observado na firmeza, distintos comportamentos, apresentados na figura 4. Os valores médios do primeiro grupo variaram entre 12,89 e 32,03, com aumento acentuado entre o segundo e o sexto dias, quando os valores médios aumentaram de 15,75 para 32,03. O segundo grupo foi representado por uma equação linear, em que os valores médios variaram entre 9,94 e 21,94, indicando que esses frutos apresentaram menor evolução na cor da casca em relação àqueles que compuseram a nuvem de dados acima da mediana (Figura 3).

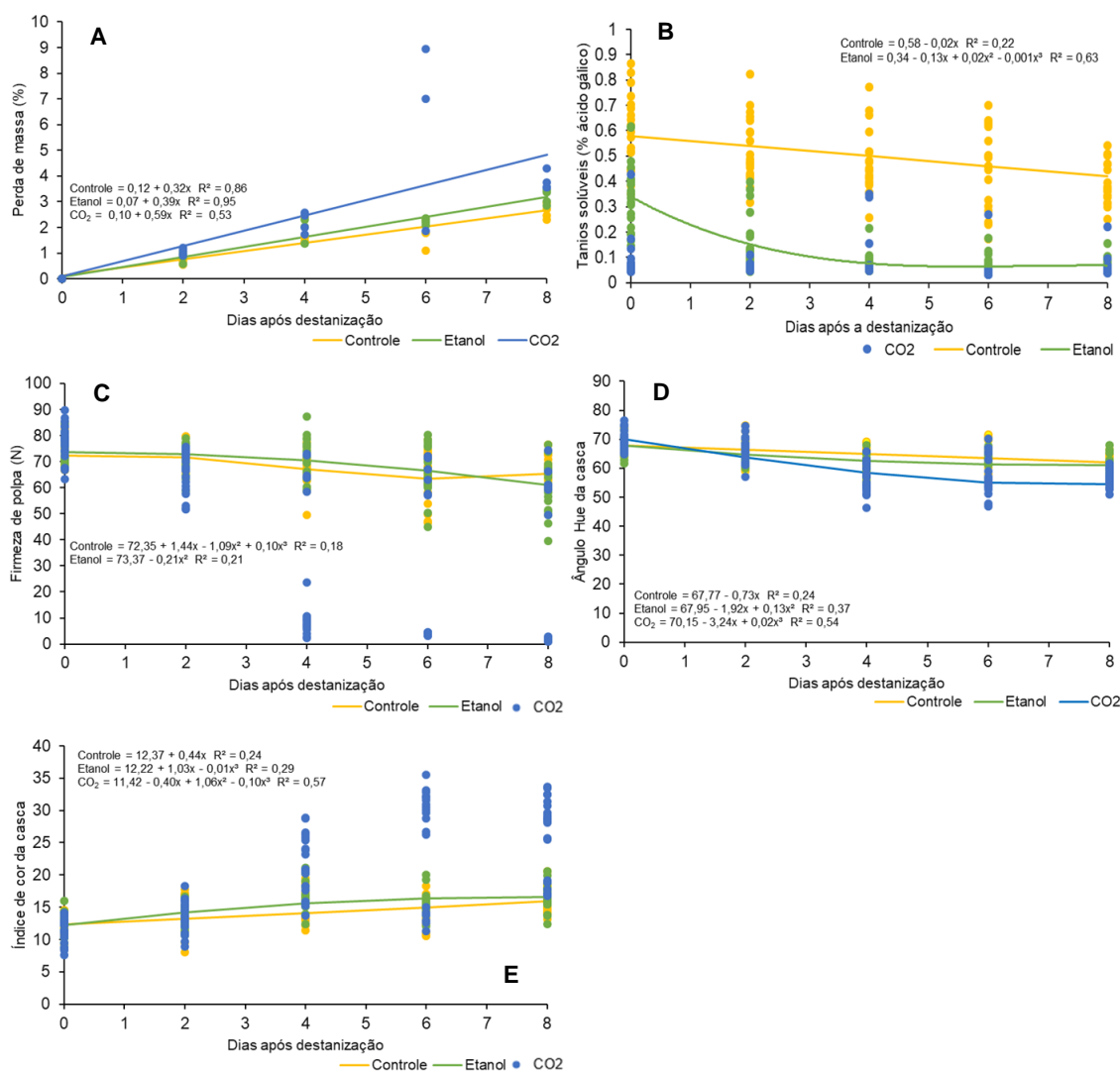


FIGURA 2. Perda de massa (A), teor de taninos solúveis (B), firmeza de polpa (C), ângulo Hue da cor da casca (D) e índice de cor da casca (E) de caquis ‘Rama Forte’ colhidos em 02/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 17 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).

TABELA 1. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis ‘Rama Forte’, colhidos em 02/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 17 °C) por até 8 dias após a destanização.

Colheita	Tempo (dias)	Classe de Índice de Adstringência	
		Baixa (1 a 2)	Moderada/Alta (3 a 5)
		Percentual de frutos (%)	Percentual de frutos (%)
Controle			
02/05/2017	0		100
	2		100
	4		100
	6		100

continuação TABELA 1. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 02/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 17 °C) por até 8 dias após a destanização.

	8		100
Etanol			
02/05/2017	0		100
	2		100
	4		100
	6	15	85
	8	35	65
Dióxido de Carbono (CO₂)			
02/05/2017	0	25	75
	2	50	50
	4	75	25
	6	90	10
	8	90	10

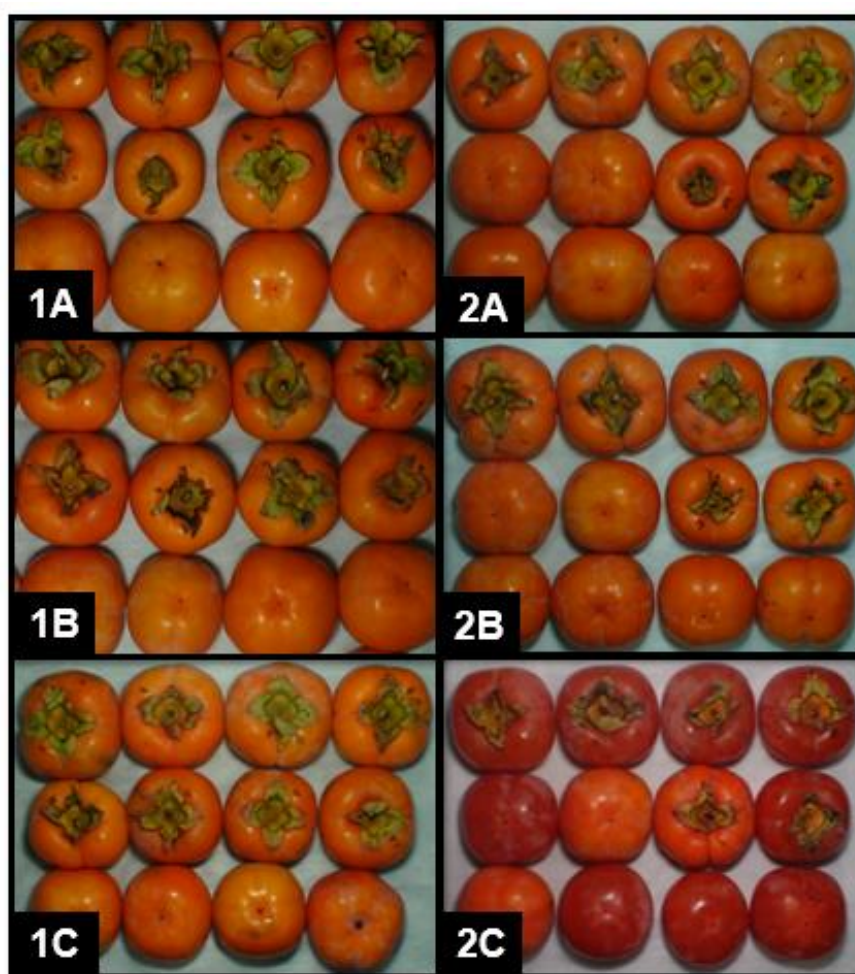


FIGURA 3. Caquis 'Rama Forte' colhidos em 02/05/2017, sem destanização aos dois (1A) e oito (2A) dias, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ durante 6 horas aos dois (1B) e oito (2B) dias, e destanizados com CO₂ 70% durante 18 horas aos dois(1C) e oito(2C) mantidos em condição ambiente ± 17 °C).

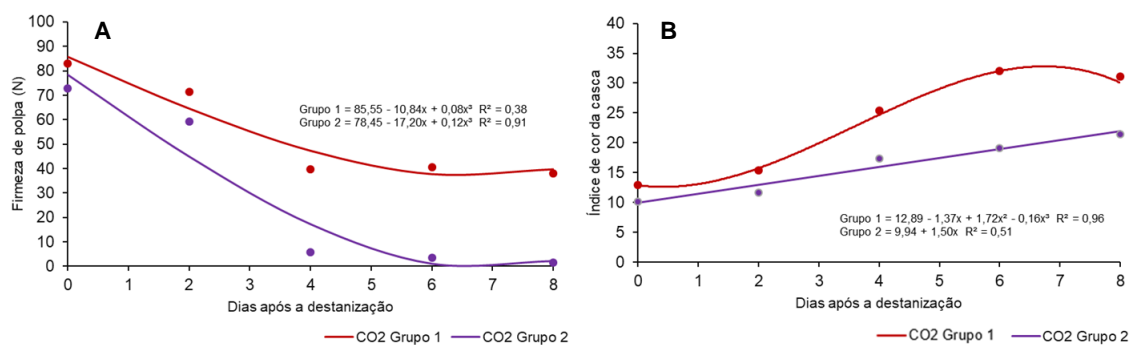


FIGURA 4. Firmeza de polpa (A) e índice de cor da casca (B) de caquis ‘Rama Forte’ colhidos em 02/05/2017, destanizados com CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 17 °C) por até 8 dias após a destanização.

3.3.2 Discussão

Caquis destanizados com etanol e CO₂ perderam, respectivamente, cerca de 0,5 e 2,0% a mais de massa fresca em relação aos frutos controle (2,68%). No entanto, nenhum dos tratamentos ultrapassou o limite aceitável de perda de massa para produtos hortícolas, que segundo Finger & Vieira (1997) é de 5 a 10%. Muñoz (2002) ao testar os mesmos tratamentos de destanização utilizados neste estudo em caquis ‘Rama Forte’, constatou 7,06% de perda de massa nos frutos destanizados com etanol ao final de oito dias de manutenção em condição ambiente (± 25 °C), enquanto que aqueles destanizados com CO₂ apresentaram cerca de 5,85 % de perda. No entanto, nenhum dos dois tratamentos testados pelo autor diferiu do controle. Vitti (2009), ao destanizar também caquis ‘Rama Forte’ com diferentes concentrações e tempos de exposição ao etanol e ao CO₂, observou a menor perda de massa, ao final de 16 dias de manutenção em condição ambiente (22 ± 1 °C), em caquis colhidos no início da safra e destanizados com CO₂ 70% durante 12 horas. Em contrapartida, frutos colhidos e destanizados no final da safra apresentaram a maior perda de massa quando tratados com 70% de CO₂ durante 12 e 18 h, e mantidos também a 22 ± 1 °C.

Ambos os tratamentos promoveram a destanização dos caquis dentro do período de oito dias de avaliação. No entanto, o CO₂ proporcionou maior rapidez na remoção da adstringência. Segunda Taira (1996), com concentrações inferiores a 0,1 % de taninos solúveis na polpa, os frutos podem ser considerados não adstringentes. Médias inferiores a esse valor foram observadas no quarto dia após a exposição dos frutos ao vapor de etanol, enquanto que os caquis tratados com CO₂ apresentaram-se abaixo desse limite após o término das 18h de exposição ao gás.

Em experimento conduzido por Muñoz (2002), os caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol demoraram cerca de cinco dias para perder completamente a adstringência, ao passo que os submetidos à atmosfera com alta concentração de CO₂ levaram apenas dois dias. Antonioli *et al.* (2000) destanizando caquis cv. Giombo com etanol 3,85 L.m⁻³, durante 24, 36 e 48 horas obtiveram frutos destanizados em quatro dias após os tratamentos. Novillo *et al.* (2015) obtiveram caquis 'Rojo Brillante' não adstringentes após dois dias do tratamento com CO₂ a 98% durante 18 e 24 horas.

A lenta destanização promovida pelo etanol é explicada por Sund & Theorell (1963). A enzima álcool desidrogenase, catalizadora da reação de oxidação do etanol em acetaldeído, possui uma constante de equilíbrio extremamente pequena ($2,14 \times 10^{-11}$) e um valor de Km (concentração do substrato para qual a velocidade da reação é a metade da velocidade máxima) relativamente pequeno para o acetaldeído ($4,4 \times 10^{-4}$). Como a reação é reversível, a formação de etanol é favorecida em detrimento da formação de acetaldeído, e como esse composto é responsável pela polimerização dos taninos solúveis (Ito, 1971; Sugiura *et al.*, 1979), leva mais tempo para acumular quantidade suficiente do composto para destanizar completamente os frutos. Já a reação induzida pelo CO₂ é catalisada pela enzima piruvato descarboxilase que metaboliza o piruvato, convertendo-o em acetaldeído (Ben-Arie & Sonego 1993, Taira, 1996; Taiz *et al.*, 2017).

Caquis destanizados com etanol apresentaram valores inferiores a 0,1% no quarto dia após a destanização, entretanto a maior parte desses frutos mantiveram-se com adstringência moderada a alta durante oito dias de armazenagem, de acordo com a escala de notas para determinação do índice de adstringência proposta por Gazit & Levy (1963). Frutos destanizados com CO₂ mantiveram-se com teores abaixo de 0,1% durante todo o período, entretanto, a maioria (75%) dos caquis só foi considerada com adstringência baixa no quarto dia.

Estes resultados indicam que as duas formas de avaliação da adstringência, uma por meio da determinação analítica dos taninos solúveis e comparação ao valor de referência preconizado por Taira (1996) e outra por meio da avaliação subjetiva proposta por Gazit & Levy (1963) conduzem a resultados distintos. Portanto, há a necessidade de estudos de correlação entre os teores de taninos solúveis e testes sensoriais e a validação da escala existente.

Caquis de elevada qualidade devem apresentar, de acordo com Kato (1990), firmeza de polpa entre 14,7 e 24,5 N durante a comercialização. Frutos destanzados com etanol mantiveram a coloração alaranjada da casca e a firmeza de polpa semelhantes aos frutos controle, ao passo que os caquis destanzados com CO₂ amoleceram e adquiriram coloração vermelha rapidamente, além de apresentarem desuniformidade quanto ao amadurecimento a partir do quarto dia. Muñoz (2002) obteve resultados contrários para essa cultivar. O autor observou que enquanto que os frutos tratados com etanol começaram a amolecer no quarto dia, aqueles tratados com CO₂ mantiveram os valores de firmeza semelhantes aos frutos controle. No entanto, Vitti (2009) obteve caquis 'Rama Forte' com firmeza de 20,51 N, ao término de 16 dias, quando destanzados com etanol. Ainda com relação aos dados deste autor, para os caquis destanzados com CO₂, a firmeza de polpa ficou acima de 22 N, após 14 dias, quando os frutos foram colhidos no início e meados de safra e atingiu o valor de 11,87 N quando colhidos no final da safra. O mesmo autor relatou desuniformidade no amadurecimento dos frutos destanzados com CO₂ 80% durante 12 e 18 horas onde, em um mesmo lote de frutos inicialmente alaranjados, foram observados frutos em avançado estágio de amadurecimento e outros menos maduros.

A desuniformidade no amadurecimento foi igualmente citada por Muñoz (2002), porém em caquis tratados com etanol. Alguns autores citam que a velocidade de amadurecimento dos frutos está relacionada à concentração e ao tempo de exposição aos agentes destanzadores utilizados, ou seja, quanto mais elevados, mais rapidamente ocorre o amadurecimento dos frutos (Kato, 1990; Muñoz, 2002; Vitti, 2009).

Outros fatores que interferem são a cultivar (Del Bubba *et al.*, 2009), a temperatura ambiente e o estágio de maturação do fruto (Antoniolli *et al.*, 2000; Salvador *et al.*, 2007; Vitti, 2009). Segundo Ben-Arie & Sonogo (1993), a temperatura age sobre a ação de certas enzimas envolvidas na destanização, enquanto que o estágio fisiológico, interfere na atividade respiratória do fruto (Valero & Serrano, 2010).

O vapor de etanol pode acelerar o amadurecimento, uma vez que ocorre o aumento da taxa respiratória (Itamura *et al.*, 1997) e, conseqüentemente, a produção de etileno dos frutos durante a destanização. O processo de destanização por si, altera a produção de etileno, independentemente do método utilizado, em

que frutos em estádios de maturação mais avançados irão apresentar produção menor de etileno em detrimento daqueles em estádios iniciais (Salvador *et al.*, 2007).

De acordo com Ben-Arie & Guelfat-Reich (1976), o CO₂ pode atuar por meio duas vias durante a destanização. Na primeira, curtos períodos de exposição ao gás ativam a ação de algumas enzimas envolvidas no amolecimento da polpa, que antes estavam inibidas pela presença dos taninos solúveis. Na segunda via, tempos de exposição mais prolongados ao CO₂ inibem a respiração e a produção de etileno, desacelerando o amadurecimento. Ambos os comportamentos foram observados no período pós-destanização de frutos submetidos à mesma condição, supondo-se, portanto, que a ativação ou não dessas enzimas durante a anaerobiose pode estar relacionada ao estágio fisiológico do fruto. Adicionalmente, a cor da casca utilizada comercialmente para padronização e uniformização do lote, pode não expressar adequadamente o estágio de maturação dos caquis, ressaltando-se a importância da associação de outros parâmetros aos já utilizados para indicação do estágio de maturação apropriado para colheita e remoção da adstringência.

3.4 Conclusões

Ambos os tratamentos são eficazes em destanizar os caquis 'Rama Forte' cultivados na região dos Campos de Cima da Serra, RS, colhidos com coloração de casca amarelo-alaranjado.

Caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol 1,7 mL.kg¹ durante 6 horas apresentam perda da adstringência no quarto dia após o tratamento e se mantêm firmes por até oito dias em condição ambiente (± 17 °C). Em contrapartida, caquis expostos a 70% de CO₂ durante 18 horas apresentam-se não adstringentes imediatamente ao término do tratamento, mas com amolecimento da polpa, avermelhamento da casca e desuniformidade no amadurecimento a partir do quarto dia após a destanização.

3.5 Referências Bibliográficas

ANTONIOLLI, L. R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes períodos de exposição ao vapor de álcool etílico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, out. 2000.

BEN-ARIE, R.; GUELFAT-REICH, S. Softening effects of CO₂ treatment for removal of adstringency from stored persimmon fruits. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 101, n. 2, p. 179-181, 1976.

BEN-ARIE, R. SONEGO, L. Temperature affects astringency removal and recurrence in persimmon. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 6, p. 1397-1400, 1993.

DEL BUBBA, M. et al. Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. **Journal of Food Composition and Analysis**, London, v. 22, p. 668-677, 2009.

EDAGI, F. K. et al. Remoção da adstringência de caquis 'Giombo' com subdosagens de etanol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, out. 2009.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Production of Persimmon: top 10 producers 2016**. Rome, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 04 out. 2018.

FINGER, F. L.; VIEIRA, G. **Controle da perda pós-colheita de água em produtos hortícolas**. Viçosa: UFV, 1997. 29 p. (Cadernos Didáticos, 19).

GARDIN, J. P. P. et al. Qualidade de caqui 'Rama Forte' após armazenamento refrigerado, influenciada pelos tratamentos 1-MCP e/ou CO₂. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1043-1050, dez. 2012.

GAZIT, S.; LEVY, Y. Adstringency and its removal in persimmon. **Israel Journal of Agricultural Research**, Rehvot, v. 13, n. 3, p. 125-132, 1963.

ITAMURA, H.; OHHO, Y.; YAMAMURA, H. Characteristics of fruit softening in Japanese persimmon 'Saijo'. **Acta Horticulture**, Lauven, n. 436, p. 179-188, 1997.

ITO, S. The persimmon. In: HULME, A. C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971. v. 2, p. 281-301.

KATO, K. Astringency removal and ripening in persimmons treated with ethanol and ethylene. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 205-207, 1990.

LÓPEZ CAMELO, A. F.; GÓMEZ, P. A. Comparison of color ripening. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 534-537, jul./set. 2004.

MATSUO, T.; ITO, S. On mechanisms of removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide treatment I. Some properties of the two processes in the de-astringency. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v. 18, p. 17-25, 1977.

MATSUO, T.; SHINOHARA, J.; ITO, S. An improvement on removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide gas. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 215-217, maio 1976.

MUÑOZ, V. R. S. **Destanização do caqui (*Diospyros caqui* L.) 'Rama Forte'**. 2002. 164 f. Tese (Doutorado) - Engenharia Agrícola, Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

NOVILLO, P.; BESADA, R. G. C.; SALVADOR, A. Astringency removal of 'Rojo Brillante' persimmon by combining CO₂ and ethanol application. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 1079, p. 599-604, 2015.

NOVILLO, P. et al. Deadstringency treatment with CO₂ induces oxidative stress in persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 16-22, 2014.

PROGRAMA BRASILEIRO PARA MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA. Normas de classificação: caqui. São Paulo: CEAGESP, 2009. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/classificacao/caqui/caqui.html>>. Acesso em: 03 set. 2017.

PROHORT. **Panorama do caqui comercializado no ETSP-Ceagesp, 2016**. 2018. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/2016-06-03-10-48/decidindo-o-futuro-do-caqui.html?showall=&start=05>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

SAS INSTITUTE INC. Reg procedure (Proc REG). In: SAS INSTITUTE. **SAS/STAT® 9.2 user's guide**. 2nd ed. Cary, 2009. p. 1351-1478.

SALVADOR, A. et al. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. Rojo Brillante. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, p. 181-188, 2007.

SUGIURA, A. et al. Changes in the ethanol and acetaldehyde contents of Japanese persimmon fruits in relation to natural loss of astringency. **Studies from the Institute of Horticulture**, Kyoto, v. 9, p. 41-47, 1979.

SUND, H.; THEORELL, H. Alcohol dehydrogenase. In: BOYER, P. D.; LARDY, H.; MYRBÄDK, K. (Ed.). **The enzymes**. New York: Academic Press, 1963. v. 7, p. 25-83.

TAIRA, S. Astringency in persimmon. In: LINKSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Org.). **Modern methods of plant analysis**. Berlin: Springer, 1996. v. 18, p. 97-110.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

VALERO, D.; SERRANO, M. **Postharvest biology and technology for preserving fruit quality**. London: CRC Press, 2010. 264 p.

VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui 'Rama Forte' em função da época d'e colheita**. 2009. 123 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

YAMADA, M. et al. Varietal differences in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among oriental astringent persimmons of japanese and chinese origin. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, p. 63-72, 2002.

4 CAPÍTULO 2

Efeito da destanização de caquis 'Rama Forte' no decorrer da safra por meio da exposição ao vapor de etanol ou ao dióxido de carbono

RESUMO

Caquis 'Rama Forte' são do tipo adstringente, portanto, necessitam de remoção da adstringência prévia ao consumo. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do etanol e do dióxido de carbono, utilizados como agentes destanizadores de caquis 'Rama Forte', sobre os atributos de qualidade de frutos colhidos no decorrer da safra. Foram colhidos caquis 'Rama Forte' no estágio de maturação correspondente à coloração amarelo alaranjada da casca, em três épocas durante a safra 2016-2017 (04 e 17 de abril, e 5 de maio de 2017), e destanizados com etanol $1,7 \text{ mL kg}^{-1}$ por 6 horas ou CO_2 70% por 18 horas. Os frutos foram mantidos em condição ambiente e avaliados diariamente até o oitavo dia após o tratamento para destanização quanto ao teor de taninos solúveis, índice de adstringência, firmeza de polpa e coloração de casca (ângulo Hue e índice de cor). Caquis destanizados com etanol perderam a adstringência ao quarto dia após o tratamento quando provenientes da primeira colheita e ao quinto e sexto dias, nas colheitas subsequentes, respectivamente. Estes frutos mantiveram a firmeza e a coloração de casca alaranjada durante oito dias. Caquis destanizados com CO_2 provenientes das duas primeiras colheitas perderam a adstringência logo após o término do tratamento, enquanto que aqueles colhidos mais tardiamente levaram cerca de quatro dias para a total destanização. Frutos da primeira colheita, a partir do terceiro dia, apresentaram amolecimento de polpa e ganho da coloração avermelhada na epiderme. A perda da adstringência ocorre mais lentamente em caquis colhidos no final da safra, embora os teores de taninos solúveis iniciais sejam mais baixos nesses frutos. Caquis colhidos tardiamente perdem firmeza de polpa e ganham coloração de casca mais rapidamente após o tratamento de destanização quando comparados aos colhidos no início e meados de safra. Ambos os tratamentos foram eficazes em destanizar caquis 'Rama Forte'. Enquanto que caquis tratados com etanol perdem a adstringência em torno do quinto dia e mantêm a firmeza da polpa, caquis destanizados com CO_2 iniciam a perda da adstringência logo ao término da exposição ao gás, mas tendem a amadurecer mais rapidamente. Caquis de meados e final de safra ao serem destanizados com CO_2 apresentam desuniformidade no amadurecimento.

ABSTRACT

'Rama Forte' persimmons belong to the astringent group; therefore, the astringency have to be removed prior to consumption. The objective of this study was to evaluate the effects of the ethanol and carbon dioxide, used as deastringent agents, on the quality attributes of 'Rama Forte' persimmons harvested during the season. 'Rama Forte' persimmons were harvested at the maturity stage of orange-yellow skin color at three times during the 2016-2017 season (April 4 and 17, and May 5, 2017), and treated with ethanol $1,7 \text{ mL kg}^{-1}$ for 6 hours or CO_2 70% for 18 hours. The fruit were kept at room condition and evaluated daily until the eighth day after the deastringency treatment for the soluble tannin content, astringency index, flesh firmness and skin color (Hue and color index). Ethanol treated persimmons lost their astringency on the fourth day after the treatment when they came from the first harvest and on the fifth and sixth days, on subsequent harvests, respectively. These fruits maintained the firmness and the orange skin color for eight days. Persimmon fruit from the first two harvests treated with CO_2 lost the astringency right after the end of treatment, while those harvested later took about four days for total deastringency. Fruit from the first harvest showed flesh softening and skin reddish color from the third day after the treatment. The loss of astringency occurs more slowly in persimmon fruit harvested at the end of the season, although the initial soluble tannin contents are lower in these fruits. Persimmon fruit from the late harvest lose flesh firmness and become reddish more quickly after deastringency treatment when compared to those harvested at the beginning and mid harvest. Both treatments were effective in removing the astringency of 'Rama Forte' persimmons. While persimmon fruit treated with ethanol lose their astringency around the fifth day and maintain high flesh firmness, persimmons treated with CO_2 begin to lose astringency soon after the exposure to the gas but tend to ripen more

quickly. Persimmon fruit from mid and late season show unevenness in ripening when they have the astringency removed by CO₂.

4.1 Introdução

O caquizeiro (*Diospyrus caqui* L.) é um fruto originário da China que ganhou também grande importância no Japão (Salunkhe & Desai, 1984) de onde foi difundido para o resto do mundo (Kitagawa & Glucina, 1984). No Brasil, as cultivares de caquizeiro são divididas em três grupos: “sibugaki”, que compreende as cultivares de frutos de polpa taninosa, “amagaki”, cultivares de frutos não adstringentes e “variável”, que são as cultivares que apresentam frutos de polpa adstringente quando sem sementes e parcial ou totalmente não adstringente quando com sementes, além de apresentarem coloração “chocolate” ao redor das sementes (Campo-Dall’Orto *et al.*, 1996).

Frutos do tipo adstringente necessitam de remoção da adstringência prévia ao consumo. Existem duas vias metabólicas que proporcionam a remoção da adstringência de caquis. A primeira é através da indução do amadurecimento, geralmente com aplicação de etileno, e a segunda é por meio do estímulo à produção de acetaldeído pelo fruto, que polimeriza as moléculas de taninos solúveis (Matsuo & Ito, 1977; Antonioli *et al.*, 2002; Edagi *et al.*, 2009; Terra *et al.*, 2014).

A indução da síntese de acetaldeído pode se dar, principalmente, por meio da exposição dos frutos ao vapor de etanol ou a condições com altas concentrações de dióxido de carbono (CO₂) (Matsuo *et al.*, 1976; Edagi & Kluge, 2009; Novillo *et al.*, 2014).

Caquizeiros da cv. Rama Forte pertencem ao grupo “variável” (PENTEADO, 1986). Seus frutos são vermelhos e de polpa macia e succulenta, o que dificulta o transporte e a comercialização poucos dias após a destanização.

Os efeitos dos agentes destanizadores sobre alguns atributos de qualidade, como firmeza de polpa e coloração da casca dos frutos ainda não estão claros, havendo respostas que variam conforme a cultivar e as condições do tratamento de remoção da adstringência. Muñoz (2002), avaliando caquis ‘Rama Forte’ destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ concluiu que os frutos começaram a perder firmeza no segundo dia após a destanização, enquanto que aqueles submetidos a 70% de CO₂ durante 18 horas mantiveram a firmeza da polpa semelhante aos frutos controle durante 14 dias a 25 °C.

O mesmo comportamento de amolecimento da polpa de frutos destanizados com etanol foi observado por Antonioli *et al.* (2002) em caquis 'Giombo' destanizados com 3,85 L.m⁻³ de álcool etílico. Em contrapartida, Biasi & Gerhart (1992) ao destanizar caquis cv. Okira e Martins & Pereira (1989) concluem que a destanização com etanol possibilita a manutenção da firmeza de polpa. Já a exposição de caquis 'Rojo Brillante' e 'Morali' a concentrações entre 60 e 98 % de CO₂ reduziu significativamente a firmeza dos frutos (Arnall & Dell Río, 2003; Öz *et al.*, 2005).

Um dos fatores que possivelmente interfere na obtenção das diferentes respostas é o estágio de maturação do fruto no momento da colheita. Vitti (2009), avaliando caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol 1,70 mL.kg⁻¹ e CO₂ a 70% no decorrer de duas safras consecutivas, observou que os frutos colhidos em meados e final da safra encontravam-se em estádios mais avançados de amadurecimento, o que resultou em maior perda de firmeza após os tratamentos.

Então, para avaliar o comportamento de caquis da cv. Rama Forte submetidos aos tratamentos de destanização com etanol e do dióxido de carbono foi conduzido o presente trabalho. Os frutos foram avaliados quanto aos atributos de qualidade em diferentes épocas de colheitas e após um período de manutenção sob condições de armazenamento no decorrer de uma safra.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Material

Caquis 'Rama Forte' foram colhidos no município de Antônio Prado, RS (latitude 28° 51' S, longitude 51° 16' W, altitude 658 m, clima Aw segundo classificação de Köppen). Foram realizadas três colheitas ao longo da safra de 2017: 04 e 17 de abril e 5 de maio (1^a, 2^a e 3^a colheitas, respectivamente). Os frutos foram acondicionados em caixas plásticas de colheita (36 x 55 x 30,5 cm) forradas com plástico polibolha e transportados ao laboratório de pós-colheita da Embrapa Uva e Vinho.

No laboratório os caquis foram selecionados quanto à coloração amarelo-alaranjada da casca e quanto ao tamanho (classes 6 e 7), segundo as Normas de Classificação, Padronização e Identificação do Caqui do Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura (2009).

4.2.2 Métodos

Para cada colheita, os frutos selecionados foram separados em dois lotes de 160 frutos. Cada lote foi submetido a um tratamento de destanização. O primeiro tratamento consistiu na exposição dos frutos ao vapor de etanol na dose de $1,70 \text{ mL.kg}^{-1}$ durante 6 horas. O segundo tratamento consistiu na exposição dos caquis a uma concentração de 70% de dióxido de carbono (CO_2) por 18 horas.

Para a realização dos tratamentos, os frutos foram acondicionados em caixas plásticas vazadas ($36 \times 55 \times 30,5 \text{ cm}$) que, por sua vez, foram acomodadas no interior de caixas plásticas herméticas com dimensões de $61 \times 97 \times 60 \text{ cm}$ equipadas com sistema de ventilação interna. O etanol foi aplicado na forma líquida no fundo da caixa hermética, sem que houvesse contato direto com os frutos. Após o fechamento da caixa, o sistema de ventilação foi acionado, de forma a auxiliar na vaporização do etanol e promover a homogeneização da atmosfera interna da caixa hermética. Para a destanização com CO_2 , injetou-se o gás por meio de um sistema de injeção automático após o fechamento da caixa. A composição gasosa da atmosfera interna foi constantemente monitorada por meio de analisador de gases (Illinois Instruments e Gaspac Advance modelo GS3) no intuito de manter a concentração interna de CO_2 em 70%.

Após a realização dos tratamentos, as caixas foram abertas e ventiladas. Cada um dos lotes foi dividido em amostras de 20 frutos, que foram acondicionados em caixas plásticas vazadas e mantidas em condição ambiente ($\pm 20 \text{ }^\circ\text{C}$ na 1ª colheita, $\pm 18 \text{ }^\circ\text{C}$ na 2ª colheita e $\pm 16 \text{ }^\circ\text{C}$ na 3ª colheita). Os caquis foram avaliados no dia da colheita, imediatamente ao término do período de exposição aos agentes destanizadores e nos oito dias subsequentes aos tratamentos.

A cada dia foi analisada uma amostra de 20 frutos quanto ao teor de taninos solúveis, índice de adstringência, firmeza de polpa e coloração de casca.

O teor de taninos solúveis foi determinado por espectrofotometria, conforme metodologia proposta por Taira (1996). Os resultados foram expressos em gramas de ácido gálico por 100 g de polpa (g.100g^{-1}).

O Índice de adstringência (IA) foi determinado conforme método proposto por Gazit & Levy (1963). Este método consiste na avaliação visual da adstringência, por meio da impressão da polpa do fruto cortado equatorialmente sobre papel de filtro impregnado com solução de 5% de cloreto férrico (FeCl_3). As impressões foram comparadas visualmente com uma escala de notas, de 1 a 5, onde 1 = não

adstringente, 2 = ligeiramente adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente (Gazit & Levy, 1963).

Para as avaliações de firmeza de polpa foram retiradas duas porções finas e equidistantes da casca na região equatorial dos frutos para a realização de duas medições da resistência da polpa à penetração. A determinação foi realizada com penetrômetro digital (Güss Fruit Texture Analyzer), utilizando ponteira metálica de 8 mm e o resultado expresso em Newton (N).

A coloração de casca foi determinada em duas leituras equidistantes na região equatorial dos frutos. A determinação foi realizada com colorímetro Minolta modelo CR-400 (espaço de cor CIELAB), sendo os resultados expressos em: L* (luminosidade), a* (coordenada vermelho/verde), b* (coordenada amarelo/azul), C* (Croma – saturação da cor) e h (Ângulo *Hue* – tonalidade). O Índice de cor (IC) foi calculado pela fórmula publicada em (López Camelo & Gómez (2004):

$$IC = (2000 \times a^*) / L^* \times C^*$$

4.2.3 Análise dos dados

A fim de verificar o efeito do tempo após a aplicação dos tratamentos sobre os frutos, as medidas amostrais (n=20) dos atributos taninos solúveis, firmeza de polpa e coloração de casca (ângulo Hue e índice de cor) foram submetidas à análise de regressão polinomial. Para os atributos firmeza de polpa e índice de cor de casca (segunda e terceira colheitas), devido à alta variabilidade dos dados, procedeu-se a análise de regressão separadamente para dois subconjuntos determinados com base nos valores da mediana (valores acima e abaixo da mediana). As proporções de índice de adstringência foram comparadas pelo teste binomial ($p_0 = 0,5$). As análises foram realizadas usando-se o PROC REG do SAS™ (SAS Institute Inc., 200).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Resultados

Os caquis colhidos no início de abril apresentaram, na colheita, 1,0 % de taninos solúveis, IA de 4,95, firmeza de polpa de 74,86 N, ângulo Hue de 70,25° e IC de 10,86 (Tabela 1).

TABELA 1. Firmeza de polpa, cor da casca (ângulo Hue e índice de cor), índice de adstringência e taninos solúveis de caquis 'Rama Forte' em cada uma das três colheitas ao longo da safra 2017. Média e erro padrão da média.

	Firmeza (N)	Ângulo Hue	Índice Cor	Índice Adstringência	Taninos Solúveis (% ácido gálico)
Colheita 04/04/2017					
Média	74,86	70,25	10,86	4,95	1,00
Erro	1,69	0,88	0,50	0,05	0,04
Colheita 17/04/2017					
Média	73,39	77,36	6,97	4,85	0,73
Erro	1,17	0,66	0,36	0,11	0,04
Colheita 05/05/2017					
Média	71,67	63,81	14,56	5,00	0,68
Erro	1,38	0,92	0,50	0,00	0,04

Frutos expostos aos tratamentos com etanol ou com CO₂ apresentaram 0,88 e 0,08 % de taninos solúveis imediatamente ao término dos tratamentos, respectivamente (Figura 1A). O tratamento com etanol proporcionou a redução gradativa dos teores de taninos solúveis da polpa, atingindo valores de 0,06 e 0,03 % aos três e oito dias após o tratamento, respectivamente (Figura 1A). Já as concentrações de taninos solúveis na polpa dos frutos tratados com CO₂ mantiveram-se entre 0,08 e 0,04 % durante os oito dias após a destanização. Quanto ao índice de adstringência (Tabela 2), 100% dos caquis tratados com etanol foram classificados como moderadamente a muito adstringentes com índices variando de 3 a 5 até o terceiro dia. Caquis foram classificados como ligeiramente a não adstringentes com índices entre 1 e 2 a partir do quinto dia após o tratamento, havendo, no quarto dia, a transição dos frutos entre as classes moderada/alta (3 a 5) e baixa (1 e 2). A totalidade dos frutos tratados com CO₂ foi classificada como ligeiramente a não adstringente durante os oito dias de avaliação.

A firmeza de polpa (Figura 1B) dos frutos expostos ao etanol se manteve entre 67,43 e 52,07 N durante os oito dias de avaliação. Em contrapartida, os frutos expostos à atmosfera de CO₂ apresentaram redução gradativa na firmeza de polpa, muito embora a regressão não tenha sido significativa, atingindo valores médios de 9,76, 4,41 e 1,90 N, após três, cinco e oito dias após a destanização, respectivamente.

O ângulo Hue (Figura 1C) da cor de casca apresentou uma tendência de mudança da cor alaranjada para a cor vermelha em frutos de ambos os tratamentos. No segundo dia após a destanização, os frutos tratados com etanol e

CO₂ apresentaram valores de 67,49 e 66,40°, respectivamente. Entre os dias três e sete, os caquis tratados com CO₂ apresentaram valores médios inferiores aos frutos tratados com etanol, indicando que esse tratamento favoreceu a evolução na coloração da casca em direção ao vermelho.

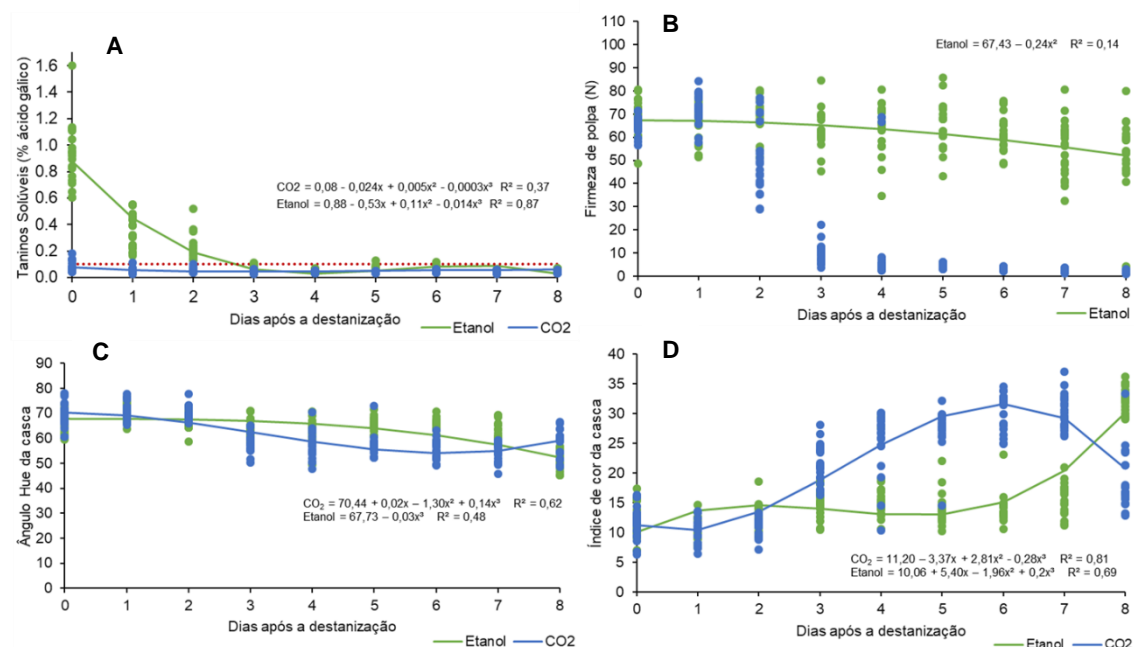


FIGURA 1. Teor de taninos solúveis (A), firmeza de polpa (B), ângulo Hue da cor da casca (C) e índice de cor da casca (D) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 04/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (\pm 20 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).

TABELA 2. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 04/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 h ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (\pm 20 °C) por até 8 dias após a destanização.

Colheita	Tempo (dias)	Classe de Índice de Adstringência	
		Baixa 1-2	Moderada/Alta 3 a 5
Percentual de frutos (%)			
Etanol			
04/04/2017	0		100
	1		100
	2		100
	3		100
	4	65	35
	5	100	
	6	100	
	7	100	
	8	100	

continuação TABELA 2. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 04/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 20 °C) por até 8 dias após a destanização.

Dióxido de Carbono (CO₂)		
04/04/2017	0	100
	1	100
	2	100
	3	100
	4	100
	5	100
	6	100
	7	100
	8	95

Foi observado um aumento gradativo no IC da casca (Figura 1D) dos caquis expostos ao CO₂, cujos valores variaram entre 10,36 e 31,66, indicando a mudança de coloração da casca para o vermelho. Caquis destanizados com etanol apresentaram aumento acentuado nos valores médios a partir do sexto dia após a destanização.

Em meados de abril, os frutos colhidos apresentavam 0,73% de taninos solúveis, IA de 4,85, firmeza de polpa de 73,39 N, ângulo Hue de 77,33° e IC de 6,97 (Tabela 1).

O comportamento do teor de taninos solúveis dos caquis, para ambos os tratamentos, foi semelhante ao observado na colheita anterior, entretanto os valores médios observados ao término da exposição ao vapor de etanol (0,43%) corresponderam à aproximadamente metade dos teores determinados nos frutos da colheita anterior submetidos ao mesmo tratamento. O teor de taninos solúveis observado ao término da exposição dos frutos ao CO₂ (0,09%) foi semelhante ao observado preliminarmente (Figura 2A).

No 4° dia após a destanização, frutos provenientes de ambos os tratamentos apresentavam concentração semelhante de taninos solúveis: de 0,07 e 0,06%, para os frutos tratados com etanol e CO₂, respectivamente (Figura 2A). Quanto ao índice de adstringência (Tabela 3), a totalidade dos frutos destanizados com etanol permaneceu com adstringência moderada a alta com índices variando de 3 a 5 até o quarto dia. A transição entre as classes foi observada ao quinto dia, quando 20% dos frutos ainda permaneciam com índices entre 3 e 5 e 80% deles foram classificados como ligeiramente a não adstringentes (índices 1 e 2).

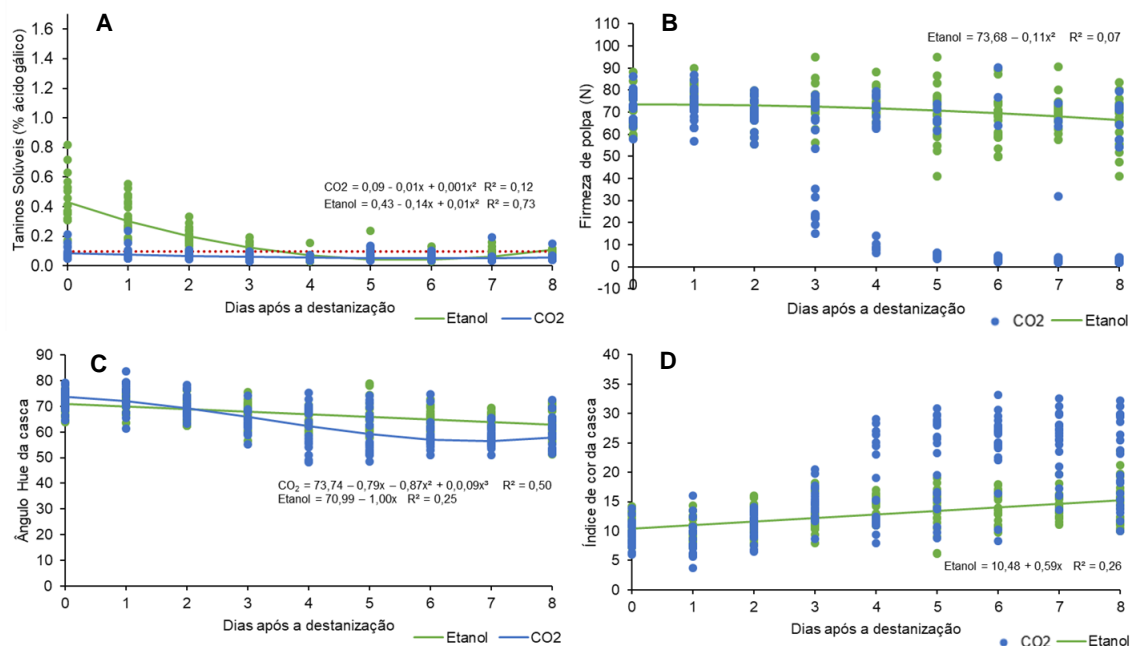


FIGURA 2. Teor de taninos solúveis (A), firmeza de polpa (B), ângulo Hue da cor da casca (C) e índice de cor da casca (D) de caquis ‘Rama Forte’ colhidos em 17/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).

TABELA 3. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis ‘Rama Forte’, colhidos em 17/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) por até 8 dias após a destanização.

Colheita	Tempo (dias)	Classe de Índice de Adstringência	
		Baixa 1-2	Moderada/Alta 3 a 5
Percentual de frutos (%)			
Etanol			
17/04/2017	0		100
	1		100
	2		100
	3		100
	4		100
	5	80	20
	6	100	
	7	100	
	8	100	
Dióxido de Carbono (CO2)			
17/04/2017	0	85	15
	1	95	5
	2	100	

Continuação TABELA 3. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 17/04/2017, destanizados com etanol 1,70 mL.kg⁻¹ 6 h ou CO₂ 70% 18 h e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) por até 8 dias após a destanização.

3	90	10
4	90	10
5	100	
6	100	
7	100	
8	100	

No sexto dia, 100% dos caquis apresentaram baixa adstringência. Até o quarto dia, 10% dos frutos tratados com CO₂ ainda permaneciam na classe de moderada/alta adstringência. Já no quinto dia, todos os frutos estavam com baixa adstringência.

A firmeza dos frutos destanizados com etanol se manteve entre 73,68 e 66,64 N durante os oito dias de manutenção em condição ambiente (Figura 2B). Já os frutos expostos à alta concentração de dióxido de carbono apresentaram dois comportamentos distintos a partir do terceiro dia, quando se observou a separação dos valores em duas nuvens. Adotou-se, como critério, a separação dos dados pelo valor da mediana, obtendo-se, portanto, duas nuvens de dados, uma com valores acima e outra com valores abaixo da mediana. A essas duas nuvens de dados, aplicou-se o teste de regressão (Figura 3A). Frutos classificados como grupo 1 apresentaram redução linear na firmeza de polpa, atingindo valores de 36,57 N ao 8° dia. Caquis classificados como grupo 2, apresentaram redução mais acentuada, atingindo firmeza de polpa de 2,96 N após 6 dias da destanização, mantendo-se em até 2,7 N ao oitavo dia.

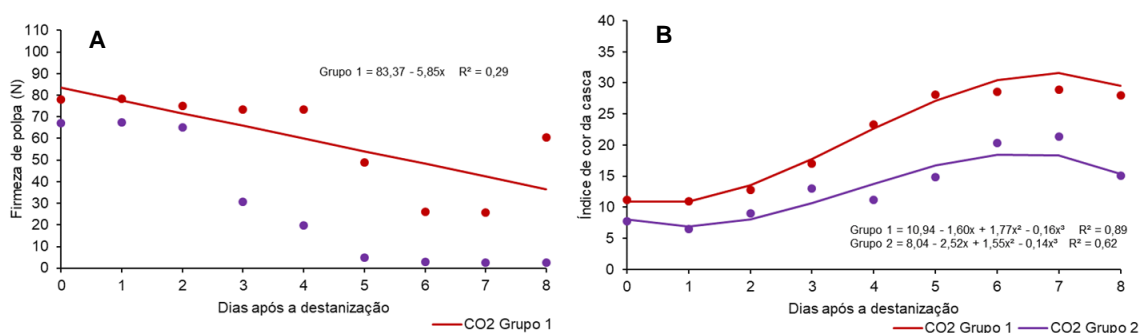


FIGURA 3. Firmeza de polpa (A) e índice de cor da casca (B) de caquis 'Rama Forte' colhidos em 17/04/2017, destanizados com CO₂ 70% 18 h e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) por até 8 dias após a destanização.

O ângulo Hue apresentou comportamento semelhante ao da colheita anterior (Figura 2C). Caquis destanzados com etanol atingiram 62,99° aos oito dias, enquanto que aqueles tratados com CO₂ apresentaram valores médios inferiores aos dos frutos expostos ao etanol entre o terceiro (65,97°) e o oitavo (57,82°) dias após os tratamentos. O IC dos caquis tratados com etanol se manteve entre 10,48 e 15,20 durante os oito dias (Figura 2D), indicando que esses frutos permaneceram alaranjados. O mesmo comportamento de separação em nuvens observado nos valores de firmeza dos caquis expostos ao CO₂ foi observado no IC. A separação pelo valor da mediana indicou a existência de dois grupos com valores distintos, porém com o mesmo comportamento no decorrer do período.

O grupo acima da mediana apresentou valores médios entre 10,94 e 31,59, indicando o avermelhamento da casca desses frutos, enquanto que os valores da segunda nuvem permaneceram entre 8,04 e 18,48, indicando que não houve evolução na coloração desses frutos (Figuras 3B e 4).



FIGURA 4. Caquis 'Rama Forte', colhidos em 17/04/2017, destanzados com CO₂ 70% 18 h e mantidos em condição ambiente (± 18 °C) logo após a destanização (0), e aos dois, seis e oito dias após a destanização.

Caquis colhidos no início de maio apresentaram 0,68 % de taninos solúveis, IA de 5,00, firmeza de polpa de 71,67 N, ângulo Hue de 63,81° e IC de 14,56 (Tabela 1).

O teor de taninos solúveis apresentou comportamento similar ao das colheitas anteriores, para ambos os tratamentos (Figura 5A). Frutos tratados com

etanol apresentaram valores médios iniciais de 0,42% de taninos solúveis, sendo que ao terceiro e ao oitavo dias as médias estavam em torno de 0,1 e 0,04%, respectivamente. Já os valores médios de taninos solúveis observados nos caquis destanizados com CO₂ variaram entre 0,14 e 0,03% no decorrer dos oito dias após a destanização.

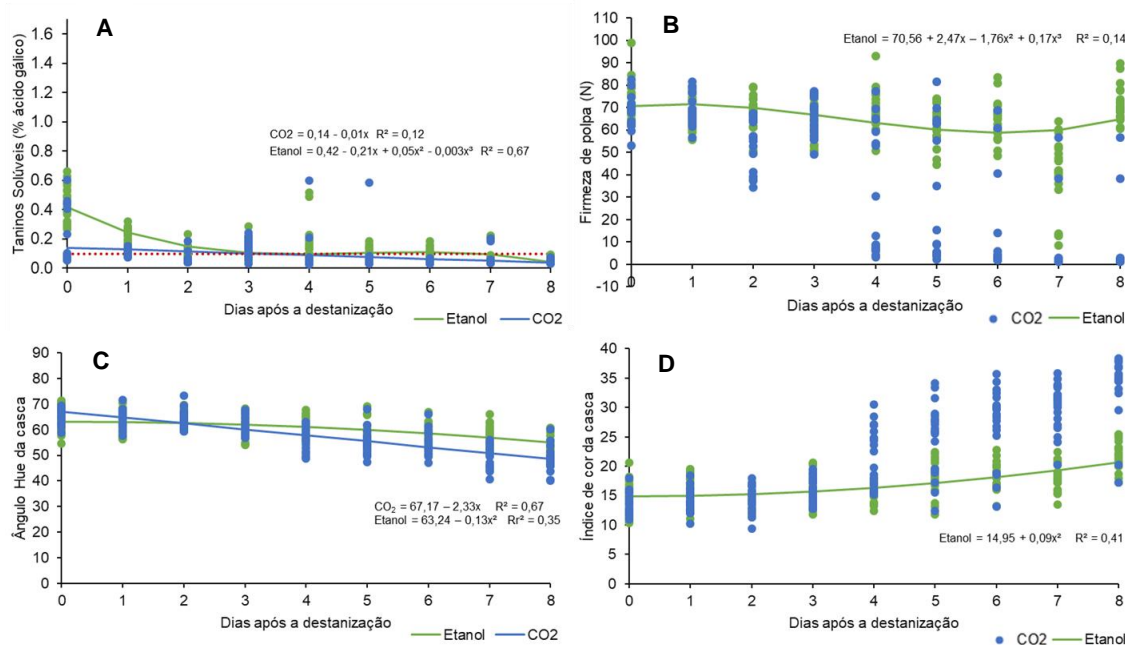


FIGURA 5. Teor de taninos solúveis (A), firmeza de polpa (B), ângulo Hue da cor da casca (C) e índice de cor da casca (D) de caquis ‘Rama Forte’ colhidos em 05/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 16 °C) por até 8 dias após a destanização. A linha horizontal (A) refere-se ao valor máximo (0,1%) de taninos solúveis para obtenção de frutos apropriados para consumo (não adstringentes).

O IA de todos os caquis expostos ao vapor de etanol permaneceu entre as classes 3 e 5, com moderada a alta adstringência até o quarto dia após destanização. A transição entre as classes moderada/alta a baixa ocorreu no quinto dia, quando 55 % dos frutos apresentavam adstringência moderada a alta e 45% destes caquis apresentavam baixa adstringência. No sexto dia, 100% dos caquis se enquadravam na classe de baixa adstringência (Tabela 4).

Já, a destanização com alta concentração de CO₂ proporcionou frutos em ambas as classes em praticamente todo o período, com exceção do terceiro dia, quando 100% dos frutos estavam com adstringência moderada/alta e do sexto e do oitavo dias, quando 100 % dos caquis estavam com baixa adstringência (Tabela 4).

TABELA 4. Proporções das classes baixa e média/alta de índice de adstringência de caquis 'Rama Forte', colhidos em 05/05/2017, destanizados com etanol 1,70 mL kg⁻¹ 6 horas ou CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (\pm 16 °C) por até 8 dias após a destanização.

		Classe de Índice de Adstringência	
		Baixa 1-2	Moderada/Alta 3 a 5
Colheita	Tempo (dias)	Percentual de frutos (%)	Percentual de frutos (%)
Etanol			
05/05/2017	0		100
	1		100
	2		100
	3		100
	4		100
	5	45	55
	6	100	
	7	100	
	8	100	
Dióxido de Carbono (CO₂)			
05/05/2017	0	20	80
	1	10	90
	2	40	60
	3		100
	4	80	40
	5	95	5
	6	100	
	7	90	10
	8	100	

A firmeza dos caquis destanizados com etanol variou entre 71,44 e 58,74 N (Figura 5B), enquanto que aqueles destanizados com CO₂ apresentaram dois comportamentos distintos, assim como observado anteriormente nos frutos colhidos em meados de abril. Essa separação pôde ser observada a partir do quarto dia. As duas nuvens, separadas pelo valor da mediana, apresentaram valores médios da regressão entre 71,26 N e 11,18 N para o grupo 1, e entre 64,77 e 1,55 N para os frutos classificados no grupo 2, sendo que a regressão para esses frutos não foi significativa (Figura 6A).

O ângulo Hue da cor da casca apresentou comportamento semelhante ao observado nas colheitas realizadas no início e meados de abril, porém com valores ligeiramente inferiores aos anteriormente observados, principalmente para os frutos expostos ao etanol (Figura 5C), indicando maior tendência de mudança em direção ao vermelho desses frutos em relação aos provenientes das colheitas anteriores.

O IC se manteve entre 14,95 e 20,71 durante os oito dias de avaliação dos frutos expostos ao vapor de etanol (Figura 5C). Frutos vermelhos provenientes da destanização com CO₂ foram observados ao quarto dia e a mesma separação dos dados em duas nuvens foi constatada, principalmente, no quinto e sexto dias que se seguiram à destanização (Figura 5C). Assim, como observado nos valores de firmeza, as duas nuvens apresentaram comportamentos semelhantes, uma delas variando entre 13,20 e 37,52, representando os frutos mais vermelhos, e outra variando entre 12,12 e 31,32.

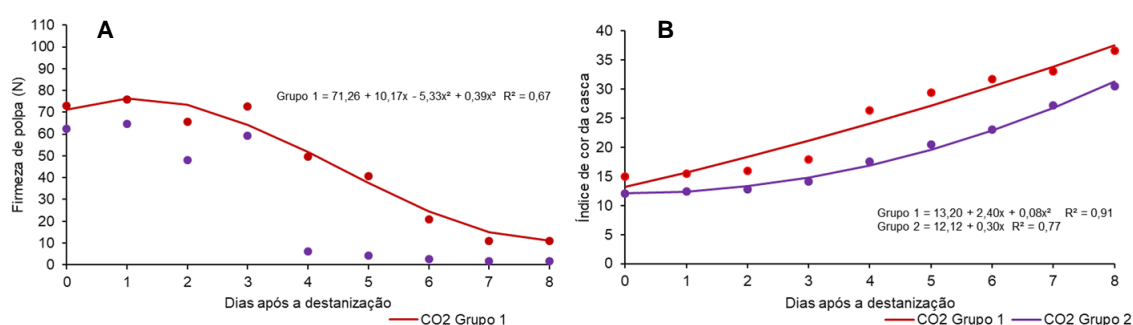


FIGURA 6. Firmeza de polpa (A) e índice de cor da casca (B) de caquis ‘Rama Forte’ colhidos em 05/05/2017, destanizados com CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 16 °C) por até 8 dias após a destanização.



FIGURA 7. Caquis ‘Rama Forte’, colhidos em 05/05/2017, destanizados com CO₂ 70% 18 horas e mantidos em condição ambiente (± 16 °C) por três, quatro e cinco dias após a destanização.

4.3.2 Discussão

Observou-se, nesse estudo, que os caquis colhidos no início de abril apresentavam 1,0% de taninos solúveis, ao passo que os colhidos em meados de abril apresentaram 0,73% e aqueles colhidos mais tardiamente apresentaram teores de taninos solúveis ainda mais reduzidos, de 0,68%. Com o decorrer da safra, os frutos encontram-se em estádios de maturação mais avançados e, conseqüentemente, com menores teores de taninos solúveis na polpa (Novillo *et al.*, 2015). Em estudo com caquis ‘Rojo Brillante’ e ‘Giombo’ colhidos em sete

diferentes estádios de maturação, observou-se que caquis 'Rojo Brillante' colhidos no estágio 1 apresentavam 2,09% de taninos solúveis na polpa, enquanto que aqueles colhidos no estágio 7 apresentavam 0,04%. Já, os caquis 'Giombo' revelaram concentrações de 1,87% e 0,4%, quando colhidos nos mesmos estádios de maturação (Tessmer, 2014).

Apesar das concentrações iniciais de taninos solúveis terem sido menores com o avanço da safra, observou-se uma tendência dos frutos colhidos mais tardiamente em demorarem mais tempo para perder a adstringência. Isso ocorre porque, para a mesma concentração e tempo de exposição a um determinado agente destanizador, o processo de destanização é mais lento em condições de menores temperaturas (Besada *et al.*, 2010). O decréscimo nas temperaturas desacelera o processo de respiração (Honório & Moretti, 2002) e outros processos metabólicos.

Atmosferas ricas em CO₂ geram ambiente anóxico que fazem com que o fruto entre em respiração anaeróbica, metabolizando o piruvato proveniente da glicólise com formação de acetaldeído, pela ação da enzima piruvato descarboxilase, e etanol, pela ação da álcool desidrogenase (Taiz *et al.*, 2016). A aplicação de etanol age pela rota contrária na fermentação, fazendo com que a enzima álcool desidrogenase converta esse composto em acetaldeído (Kerbaui, 2008), que é o responsável pela insolubilização dos taninos presentes na polpa (Matsuo & Ito, 1977 e Pesis & Ben-Arie, 1984). A velocidade das reações químicas é diretamente proporcional à temperatura, ou seja, à medida que a temperatura aumenta, a energia cinética e a velocidade das moléculas também é elevada (Costa, 2018).

Logo, em condições de menor temperatura observadas a partir de meados da safra, as reações ocorrem mais lentamente, com menor produção de acetaldeído e menor velocidade de polimerização dos taninos solúveis. Novillo *et al.* (2015) observaram maior acúmulo de acetaldeído na polpa de caquis 'Rojo Brillante' destanizados com etanol e CO₂ em temperaturas mais elevadas. Segundo Antonioli *et al.* (2002), a temperatura durante a destanização de caquis 'Giombo', induzida pelo vapor de etanol, influenciou tanto na perda da adstringência, quanto nos atributos de qualidade relacionados ao amadurecimento.

Ambos os tratamentos foram eficazes em promover a destanização dos caquis 'Rama Forte', embora o etanol tenha proporcionado frutos com baixos teores

de taninos solúveis mais tardiamente. Segundo Taira (1996), caquis com concentrações inferiores a 0,1% de taninos solúveis são considerados não adstringentes. Caquis tratados com etanol alcançaram teor de taninos solúveis abaixo de 0,1% entre o terceiro e o quarto dia. Caquis destanizados com CO₂ no início e meados de abril já apresentavam mais de 85% dos frutos com teores abaixo desse valor desde o término das 18h de exposição ao gás, enquanto que aqueles colhidos mais tardiamente apresentaram 100% dos frutos com teores abaixo de 0,1% de taninos solúveis no segundo dia após o tratamento.

Muñoz (2002) ao testar os mesmos tratamentos do presente estudo, obteve caquis 'Rama Forte' completamente destanizados após cinco dias quando tratados com etanol e em 48h quando expostos ao CO₂. Biasi e Gerhardt (1992) obtiveram caquis 'Okira' completamente destanizados após seis dias da imersão em etanol 50% durante 2 minutos. Já, Matsuo *et al.* (1976) observaram que o conteúdo de taninos solúveis em caquis 'Hiratanenashi' começou a decrescer significativamente após 24h da exposição dos frutos ao CO₂.

As firmezas de polpa iniciais observadas nas três colheitas foram 74,86, 73,39 e 71,67 N, respectivamente, indicando leve redução da firmeza dos frutos no decorrer da safra. Os índices de cor, nos mesmos períodos, foram 10,86, 6,97 e 14,56. Notou-se que os frutos colhidos mais tardiamente apresentavam-se mais avermelhados, muito embora aqueles colhidos em meados de abril tenham apresentado o menor IC. Caquis colhidos tardiamente, por apresentarem menor firmeza de polpa, sofrem amolecimento mais acentuado durante o período pós-destanização (Vitti, 2009). Salvador *et al.* (2007) testando vários estádios de maturação de caquis 'Rojo Brillante' no decorrer da safra, colhidos com base na cor da casca, sugeriram que aqueles provenientes dos estádios iniciais de maturação têm sua firmeza menos afetada em relação aos colhidos nos estádios subsequentes.

Os caquis destanizados com etanol mantiveram os valores de firmeza em, no mínimo, 52,07 N, e coloração de casca alaranjada, enquanto que aqueles submetidos ao CO₂ se tornaram moles e avermelhados a partir do terceiro dia, na 1ª colheita, e do quinto e quarto dia, na 2ª e 3ª colheitas, respectivamente. Em estudos preliminares caracterizou-se que caquis 'Rama Forte' com coloração laranja-avermelhada pouco intensa da casca apresentam valor de ângulo Hue em

torno de 57°, enquanto que aqueles de coloração muito intensa apresentam ângulo Hue de 42°.

Segundo Kato (1990), o ideal para comercialização de caquis é que apresentem firmeza de polpa entre 14,7 e 24,5 N, de forma que estejam firmes o suficiente para suportarem o manuseio, porém com textura gelatinosa. Essa faixa de firmeza pode ser um bom indicativo para comercialização de caquis, porém para consumo aceita-se, no Brasil, frutos da cv. Rama Forte com firmeza de polpa bastante baixa, uma vez que os frutos dessa cultivar são, tradicionalmente, consumidos vermelhos e com polpa macia e suculenta.

Os caquis destanizados com etanol mantiveram elevada firmeza de polpa durante os oito dias subsequentes ao tratamento, supondo-se, portanto, que o período para comercialização e consumo possa ser estendido. Esses resultados diferem dos encontrados por Muñoz (2002), que ao destanizar caquis 'Rama Forte' também com etanol 1,70 mL.kg⁻¹ durante 6h, observou que os frutos começaram a amolecer no quarto dia após o tratamento.

Antoniolli *et al.* (2000) testando diferentes tempos de exposição de caquis 'Giombo' ao etanol, sugeriram que o período para consumo dos frutos fosse estendido somente até o oitavo dia em decorrência do amolecimento da polpa. Esse amolecimento acontece porque a destanização com vapor de etanol aumenta a taxa respiratória dos frutos (Itamura *et al.*, 1986) e, conseqüentemente, a produção de etileno, acelerando o amadurecimento e a perda de firmeza (Itamura, 1997), por meio da quebra de pectinas e polissacarídeos presentes na parede celular (Honório & Moretti, 2002).

Já, Vitti (2009) obteve caquis 'Rama Forte', destanizados com etanol 1,70 mL.kg⁻¹ durante 6h, com valores de firmeza em torno de 20,51 N ao final de 16 dias de manutenção em condição ambiente. Biasi & Gerhardt (1992) também concluíram que o tratamento de caquis 'Okira' com etanol 50% manteve a firmeza da polpa. Monteiro *et al.* (2014) sugeriram que quando aplicado em altas doses, o etanol compromete a estrutura dos frutos, deixando-os mais suscetíveis à desidratação e à perda de firmeza, no entanto a destanização de caquis 'Giombo' com 1,75 mL.kg⁻¹ durante 12 horas foi suficiente para promover a perda da adstringência e manter a firmeza dos frutos.

Tanto Muñoz (2002), quanto Vitti (2009) ao destanizarem caquis 'Rama Forte' com CO₂ 70 %, obtiveram frutos firmes durante o período avaliado. Em

contrapartida, Arnal & Del Río (2003) observaram perda de firmeza e aumento do índice de cor em caquis 'Rojo Brillante' tratados com CO₂ 98% durante 18 horas. Yin *et al.* (2012) também observaram rápida perda de firmeza em caquis 'Mopan' destanizados com CO₂ 95%. Esses mesmos autores também citaram que houve aumento imediato do teor de etileno na polpa dos frutos após o término do tratamento com CO₂. O caqui apresenta comportamento atípico durante o climatério, uma vez que a produção de etileno é baixa, no entanto, este gás parece ter papel fundamental no controle do amadurecimento desses frutos (Yin *et al.*, 2012). Durante a anaerobiose, induzida pelo CO₂, os processos de respiração e produção de etileno são reduzidos (Taiz *et al.*, 2016), desacelerando a maturação.

Caquis provenientes da segunda e terceira colheitas apresentaram desuniformidade na evolução dos atributos de qualidade relacionados ao amadurecimento, não observada preliminarmente nos frutos da primeira colheita, quando todos os frutos amoleceram e adquiriram coloração vermelha. A variação no amadurecimento dos frutos destanizados com CO₂ é explicada por Ben-Arie & Guelfat-Reich (1976). Segundo esses autores, existem duas vias, por meio das quais o CO₂ pode atuar. Na primeira, períodos curtos de exposição ao agente acabam ativando a ação de certas enzimas envolvidas no amolecimento da polpa, antes inibidas pela presença dos taninos solúveis. Na segunda via, tempos mais prolongados de exposição ao CO₂ agem inibindo a respiração e a produção de etileno e, portanto, desacelerando o amadurecimento. Entretanto, Muñoz (2002) concluiu que algum subproduto da anaerobiose possa ativar as enzimas relacionadas aos processos de amadurecimento ao obter frutos firmes e destanizados quando expostos por menores períodos ao CO₂.

Considerando que os diferentes comportamentos foram observados em caquis submetidos ao mesmo tratamento e, portanto, à mesma concentração de CO₂, supõe-se que a ativação ou não de determinadas enzimas durante a anaerobiose pode estar relacionada ao estágio fisiológico em que o fruto se encontra, associado ou não à temperatura de destanização, uma vez que tal comportamento foi observado a partir de meados de safra, quando as temperaturas normalmente começam a cair na região Sul do Brasil.

Adicionalmente, a cor da casca utilizada como atributo de indicação do estágio de maturação para colheita pode ser insuficiente para promover a elevada homogeneidade do lote quanto à maturação dos frutos, havendo a necessidade de

busca por indicadores de maturação que, associados à cor da casca, possam reduzir a heterogeneidade pós-destanização observada nesse estudo. Outro tema a ser investigado é a influência das condições ambientais a que os frutos estão sujeitos durante o desenvolvimento no comportamento pós-destanização de caquis 'Rama Forte' expostos ao etanol e às altas concentrações de CO₂, visto que os resultados obtidos a partir de caquis provenientes da região dos Campos de Cima da Serra do Rio Grande do Sul foram contrários aos obtidos por Munõz (2002) e Vitti (2009), que investigaram a destanização em caquis 'Rama Forte' colhidos no Estado de São Paulo. As condições de temperatura desde a florada (setembro-outubro) até a colheita dos frutos (março-maio), distintas entre as duas regiões de produção, podem induzir condições fisiológicas, e talvez anatômicas, que levem ao comportamento desigual dos caquis 'Rama Forte' destanizados e à evolução diferenciada dos atributos de qualidade relacionados ao amadurecimento em frutos provenientes de lotes homogêneos na colheita. Há ainda, certa discrepância entre os teores de taninos solúveis que caracterizam frutos não adstringentes (Taira, 1996) e o índice de adstringência (Gazit & Levy, 1963), indicando a necessidade de validação da atual escala de índice de adstringência

4.4 Conclusões

A perda da adstringência ocorre mais lentamente em caquis colhidos no final da safra, à medida que perdem firmeza de polpa e ganham coloração de casca mais rapidamente após o tratamento de destanização. A partir de meados da safra, caquis destanizados com CO₂ apresentam desuniformidade no amadurecimento.

Ambos os tratamentos são eficientes em destanizar os caquis 'Rama Forte' cultivados na região dos Campos de Cima da Serra, RS, e colhidos no estágio de maturação amarelo-alaranjado. Os frutos destanizados com etanol 1,7 mL kg⁻¹ 6h perdem a adstringência entre o quinto e sexto dia e mantêm a firmeza e a cor alaranjada da casca por até 8 dias com condição ambiente (± 17 °C). Frutos destanizados com CO₂ no início e meados de abril perdem a adstringência imediatamente após a destanização, enquanto que aqueles destanizados no início de maio demoram quatro dias para a total remoção da adstringência.

4.5 Referências Bibliográficas

ANTONIOLLI, L. R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes períodos de exposição ao vapor de álcool etílico.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, out. 2000.

ANTONIOLLI, L. R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 687-691, 2002.

ARNAL, L.; DEL RÍO, M. A. Removing astringency by carbon dioxide and nitrogen-enriched atmospheres in persimmon fruit cv. "Rojo Brillante". **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 1516-1518, 2003.

BEN-ARIE, R.; GUELFAT-REICH, S. Softening effects of CO₂ treatment for removal of astringency from stored persimmon fruits. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 101, n. 2, p. 179-181, 1976.

BIASE, L. A.; GERHART, I. R. Efeito da aplicação de vinagre, álcool e ethephon na destanização de caquis cv. Okira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 31-36, 1992.

CAMPO-DALL'ORTO, F. A. Novo processo de avaliação da adstringência dos frutos no melhoramento do caquizeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 2, p. 237-243, 1996.

COSTA, H. M. **Físico-química aplicada à farmácia**. Rio de Janeiro: SESES, 2018. 178 p.

EDAGI, F. K. et al. Remoção da adstringência de caquis 'Giombo' com subdosagens de etanol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, out. 2009.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 585-594, mar./abr. 2009.

GAZIT, S.; LEVY, Y. Astringency and its removal in persimmon. **Israel Journal of Agricultural Research**, Rehovot, v. 13, n. 3, p. 125-132, 1963.

HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. Fisiologia pós-colheita de frutas e hortaliças. In: CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L (Ed.). **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa, 2002. p. 59-81.

ITAMURA, H. Relationships between fruit softening, respiration and ethylene production after deastringent treatment by alcohol in japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. Var. Hiratanenashi) fruits harvest at various stages. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 55, n. 1, p. 89-98, 1986.

ITAMURA, H.; OHHO, Y.; YAMAMURA, H. Characteristics of fruit softening in Japanese persimmon 'Saijo'. **Acta Horticulture**, Lauven, n. 436, p. 179-188, 1997.

KATO, K. Astringency removal and ripening in persimmons treated with ethanol and ethylene. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 205-207, 1990.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 455 p.

KITAGAWA, H.; GLUCINA, P. G. **Persimmon culture in New Zealand**. Wellington: Science Information Publishing Centre, 1984. 73 p.

LÓPEZ CAMELO, A. F.; GÓMEZ, P. A. Comparison of color ripening. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 534-537, jul./set. 2004.

MARTINS, F. P.; PEREIRA, F. M. **Cultura do caqui**. Jaboticabal: Funep, 1989. 52 p.

MATSUO, T.; ITO, S. On mechanisms of removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide treatment I. Some properties of the two processes in the de-astringency. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v. 18, p. 17-25, 1977.

MATSUO, T.; SHINOHARA, J.; ITO, S. An improvement on removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide gas. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 215-217, maio 1976.

MONTEIRO, M. F. M. et al. Remoção da adstringência de caqui 'Giombo' com etanol em doses e tempos diferentes. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 15, n. 2, p. 160-167, 2014.

MUÑOZ, V. R. S. **Destanização do caqui (Diospyros caqui L.) 'Rama Forte'**. 2002. 164 f. Tese (Doutorado) - Engenharia Agrícola, Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

NOVILLO, P.; BESADA, R. G. C.; SALVADOR, A. Astringency removal of 'Rojo Brillante' persimmon by combining CO₂ and ethanol application. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 1079, p. 599-604, 2015.

NOVILLO, P. et al. Deadstringency treatment with CO₂ induces oxidative stress in persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 16-22, 2014.

ÖZ, A. T.; ÖZELKOK, I. S.; ALBAYRAK, B. Sugar and tannin content changes in persimmon fruit during artificial ripening with dry ice. **Acta Horticulture**, Leuven, n. 682, 2005.

PENTEADO, S. R. Cultura do caqui. In: PENTEADO, S. R. **Fruticultura de clima temperado em São Paulo**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 157-173.

PESIS, E.; BEN-ARIE, R. Involvement of acetaldehyde and ethanol accumulation during induced deastringency of persimmon fruits. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, p. 896-899, 1984.

PROGRAMA BRASILEIRO PARA MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA. Normas de classificação: caqui. São Paulo: CEAGESP, 2009. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/classificacao/caqui/caqui.html>>. Acesso em: 03 set. 2017.

SALUNKHE, D. K.; DESAI, B. B. **Postharvest biotechnology of vegetables**. Florida: CRC Press, 1984. v. 2.

SAS INSTITUTE INC. Reg procedure (Proc REG). In: SAS INSTITUTE. **SAS/STAT® 9.2 user's guide**. 2nd ed. Cary, 2009. p. 1351-1478.

SALVADOR, A. et al. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. Rojo Brillante. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, p. 181-188, 2007.

TAIRA, S. Astringency in persimmon. In: LINKSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Org.). **Modern methods of plant analysis**. Berlin: Springer, 1996. v. 18, p. 97-110.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

TERRA, F. A. M. et al. Aplicação de 1-metilciclopropeno e sua influência no processo de remoção da adstringência com etanol em caqui 'Gionbo' refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 2, p. 210-216, fev. 2014.

TESSMER, M. A. **Estudos anatômicos e fisiológicos de frutos de caquizeiro (Diospyros kaki L.) quanto ao acúmulo de taninos e ao processo de destanização**. 2014. 115 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

VALERO, D.; SERRANO, M. **Postharvest biology and technology for preserving fruit quality**. London: CRC Press, 2010. 264 p.

VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui 'Rama Forte' em função da época d'e colheita**. 2009. 123 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

YIN, X. et al. Expression of ethylene response genes during persimmon fruit astringency removal. **Planta**, Berlin, n. 235, p. 895-906, 2012.

5 CAPÍTULO 3

**Perfil sensorial de frutos de caquizeiro 'Rama Forte' destanzados com
etanol ou dióxido de carbono**

RESUMO

A cv. Rama Forte pertence ao grupo de caquis adstringentes, necessitando de remoção da adstringência prévia ao consumo. Técnicas comuns de destanização são as aplicações de vapor de etanol e de altas concentrações de CO₂. Este trabalho teve como objetivo avaliar e correlacionar as alterações nos atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' submetidos aos processos de destanização com etanol ou dióxido de carbono. Caquis 'Rama Forte' foram colhidos no estágio de maturação amarelo-alaranjado e submetidos aos tratamentos de destanização por etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas ou CO₂ 70% durante 18 horas. Os frutos foram mantidos em condição ambiente e avaliados diariamente até o oitavo dia após os tratamentos. A análise sensorial descritiva quantitativa foi empregada para avaliar os caquis quanto aos atributos: tonalidade laranja-avermelhada da casca, tonalidade laranja da polpa, translucidez da polpa, aroma característico, sabor característico, doçura, amargor, adstringência, firmeza de polpa, succulência e crocância. As análises físicas e químicas foram utilizadas na determinação da coloração da casca, firmeza de polpa e teor de taninos solúveis. Caquis 'Rama Forte' colhidos no estágio de maturação comercial (cor de casca amarela-alaranjada) e submetidos ao tratamento de destanização com etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas apresentam perda da adstringência sensorial a partir do quinto dia após o tratamento e mantém a tonalidade alaranjada da casca, polpa opaca, firme e crocante por até oito dias em condição ambiente (18 ± 3 °C). Caquis expostos a 70% de CO₂ durante 18 horas apresentam perda da adstringência desde o primeiro dia após o tratamento, com redução acentuada a partir do quarto dia, porém estes frutos se tornam avermelhados, translúcidos e succulentos à medida que ganham sabor, doçura e aroma. As correlações entre atributos sensoriais e físicos são presentes em maior número nos caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% por 18 horas. A adstringência apresenta correlação positiva com o amargor, tanto nos caquis destanizados com CO₂ quanto naqueles destanizados com etanol. A percepção da adstringência possivelmente não está relacionada apenas ao teor de taninos solúveis presente na polpa dos caquis.

ABSTRACT

The cv. 'Rama Forte' belongs to the group of astringent persimmons and as such requiring removal of astringency before consumption. Common techniques for deastringency of fruit are exposition to ethanol vapor and of high concentrations of CO₂. The objective of this study was to evaluate and correlate the changes in the sensory, physical and chemical attributes of 'Rama Forte' persimmon fruit submitted to deastringency processes with ethanol or carbon dioxide. 'Rama Forte' persimmons were harvested at the maturity stage of orange-yellow skin color and submitted to deastringency treatments by ethanol 1.7 mL kg⁻¹ for 6 hours or CO₂ 70% for 18 hours. The fruit were kept at room condition and evaluated daily until the eighth day after the deastringency treatment. The Quantitative Descriptive Analysis was used to evaluate the attributes reddish orange color of the skin, orange color of the flesh, flesh translucency, characteristic taste and aroma, sweetness, bitterness, astringency, flesh firmness, juiciness and crispness. Physical and chemical evaluations were skin color, flesh firmness and soluble tannins content. 'Rama Forte' persimmons harvested at the commercial maturity stage (orange-yellow skin color) and submitted to deastringency treatment by ethanol 1.7 mL kg⁻¹ for 6 hours show loss of astringency from the fifth day after treatment and keep the orange skin color, and opaque, firm and crispy flesh for up to eight days at room conditions (18 ± 3 °C). Persimmon fruit exposed to CO₂ 70% for 18 hours show loss of astringency from the first day after treatment, with marked reduction from the fourth day, but these fruit become reddish, translucent and juicy as they gain flavor, sweetness and aroma. The correlations between sensory and physical attributes are present in a larger number on the CO₂ treated 'Rama Forte' persimmons. Astringency shows a positive correlation with bitterness on persimmons from

both destringency treatments. The astringency perception may be not related only to the soluble tannins content in the flesh of persimmons.

5.1 Introdução

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.), por se adaptar bem aos climas temperado e subtropical, é uma cultura que está concentrada principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil. Os estados de São Paulo e do Rio Grande do Sul destacam-se como maiores produtores nacionais (IBGE, 2017).

A cultivar Rama Forte pertence ao grupo PVA (polinização variável adstringente) segundo a classificação de Ito (1971). Seus frutos não perdem a adstringência quando colhidos no estágio de maturação comercial e necessitam de remoção artificial da adstringência para que se tornem apropriados para o consumo. Os métodos de destanização mais comuns consistem em submeter os frutos a atmosferas com dióxido de carbono (CO₂), álcool etílico, etileno, ethephon e carbureto de cálcio, além do vinagre, que tem sido utilizado de forma empírica (Matsuo *et al.*, 1976; Kato, 1990; Blum *et al.*, 2008; Novillo *et al.*, 2014).

A exposição de caquis 'Rama Forte' ao vapor gerado a partir de 1,7 mL de etanol por kg de fruto durante 6 horas foi suficiente para que os frutos perdessem a adstringência em cinco dias (Muñoz, 2002). Da mesma forma, a exposição ao CO₂ 70% durante 12 e 18 horas foi igualmente suficiente para que os frutos se tornassem não adstringentes, porém em dois dias apenas (Muñoz, 2002). O mesmo autor observou que as concentrações abaixo de 70 % de CO₂ não são suficientes para que haja perda da adstringência, ao passo que as concentrações de 90% e tempos de exposição muito altos (acima de 24 horas) podem causar amolecimento e escurecimento de polpa.

Vários são os manuscritos relacionados à destanização de caquis (Muñoz, 2002; Yamada *et al.*, 2002; Arnal & Del Río, 2003; Vitti, 2009; Novillo *et al.*, 2014; Novillo *et al.*, 2015, Antonioli *et al.*, 2000; Blum *et al.*, 2008; Edagi *et al.*, 2009; Terra *et al.*, 2014), que abordam, principalmente, aspectos do processo de remoção da adstringência e da qualidade relacionada aos atributos físicos e químicos dos frutos. No entanto, pouco foi encontrado na literatura quanto à percepção sensorial de caquis destanizados. Salvador *et al.* (2007, 2008) utilizaram a avaliação sensorial como ferramenta para estimar a adstringência de caquis 'Rojo Brillante', enquanto Akyildiz *et al.* (2004) empregaram a avaliação sensorial para determinar o sabor, a adstringência e a cor de caquis 'Türkay' desidratados.

A abordagem comparativa entre os atributos físicos, químicos e sensoriais de qualidade tem sido empregada para framboesas (Stavang *et al.*, 2015) e morangos (Gunness *et al.*, 2009). Alguns compostos responsáveis pelo sabor, um dos indicadores mais importantes da qualidade de frutos, interagem somente com os receptores presentes na língua (Valero & Serrano, 2010) e não são detectados pelos métodos físicos e químicos comumente empregados. Por conseguinte, os testes sensoriais consistem numa importante ferramenta na avaliação da percepção das alterações físicas e químicas pelo consumidor.

Neste intuito, o presente trabalho teve como objetivo avaliar e correlacionar as alterações nos atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' submetidos aos processos de remoção da adstringência por meio do uso de etanol e do dióxido de carbono.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Material

Caquis da cv. Rama Forte foram colhidos em pomar comercial localizado no município de Antônio Prado, RS à latitude 28° 51' S, longitude 51° 16' W, altitude 658 m e um clima Aw segundo classificação de Köppen. Cinco colheitas foram realizadas entre os meses de abril e maio de 2017.

Na colheita, os caquis foram selecionados quanto à coloração da casca. Em seguida, foram acondicionadas em caixas plásticas (36 x 55 x 30,5 cm) protegidas internamente por plástico polibolha, para evitar quaisquer danos durante o transporte. Os frutos foram novamente selecionados no laboratório quanto à ausência de danos mecânicos e sintomas de pragas e doenças e padronizados quanto à coloração amarela-alaranjada da casca e ao tamanho (classes 6 e 7), conforme as Normas de Classificação, Padronização e Identificação do Caqui do Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura, (2009).

5.2.2 Tratamentos

Para cada uma das colheitas, foram selecionados 380 frutos. Vinte caquis foram reservados para a avaliação inicial da qualidade e o restante foi dividido em dois lotes de 180 frutos. Um destes foi submetido ao tratamento de destanização com etanol (da marca Synth, p.a.) na concentração 1,70 mL kg⁻¹ de fruto por 6

horas. O segundo lote foi submetido à exposição de dióxido de carbono (CO₂) (Linde, fornecido em forma de cilindros tipo *rent-and-go*) 70%, durante 18 horas. Ambos os tratamentos foram aplicados em temperatura ambiente (20 ± 5 °C).

Para a destanização com etanol, os caquis foram acondicionados em caixas plásticas vazadas (36 x 55 x 30,5 cm), e estas foram acomodadas no interior de caixas plásticas herméticas (61 x 97 x 60 cm) providas de sistema interno de ventilação. O etanol foi colocado no fundo da caixa hermética, sem que houvesse contato com os frutos. O sistema de ventilação foi acionado imediatamente após o fechamento da caixa, auxiliando na vaporização do etanol e promovendo a homogeneização da atmosfera interna da caixa.

Os frutos foram acondicionados da mesma forma para a destanização com CO₂. A caixa foi fechada e o gás foi injetado a partir de um cilindro por meio de um sistema de injeção automática. A composição gasosa da atmosfera interna foi constantemente monitorada por meio de um analisador de gases (Gaspac Advance modelo GS3, Illinois Instruments) até que fosse atingida a concentração desejada de CO₂. Posteriormente, a concentração de CO₂ foi monitorada regularmente a fim de se manter em 70%.

Após o período de exposição ao agente destanizador, as caixas foram abertas e ventiladas. Os frutos foram mantidos em condição ambiente (20 ± 5 °C) e avaliados imediatamente após a destanização (tempo 0) e após 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou 8 dias. A cada dia, foram avaliados 15 frutos de cada tratamento quanto aos atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade.

5.2.3 Avaliação Sensorial

O método de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) detalhado em Stone *et al.* (1974) foi utilizado para treinar a equipe de provadores e conduzir as análises sensoriais.

Os provadores foram recrutados dentre os funcionários da Embrapa - Centro Nacional de Uva e Vinho - por meio de um questionário a fim de identificar consumidores do fruto, hábito de consumo e disponibilidade para participação nas avaliações. Os membros da equipe foram submetidos aos testes de reconhecimento de odores e de gostos básicos, seguidos pelo método de rede para definição dos descritores. Os termos citados por cada provador foram agrupados, determinando-se os seguintes descritores sensoriais para a avaliação do caqui

'Rama Forte': tonalidade laranja-avermelhada da casca, tonalidade laranja da polpa, translucidez da polpa, aroma característico, sabor característico, doçura, amargor, adstringência, firmeza de polpa, suculência e crocância.

Os provadores foram treinados quanto aos descritores e suas respectivas referências de intensidade em uma escala linear não estruturada de 9 cm ancorada nos dois extremos pelos termos ausente/pouco intenso e muito intenso. Caquis 'Rama Forte' com períodos pós-destanização entre 0 (imediatamente após o término do tratamento para remoção da adstringência) e 8 dias foram oferecidos durante o treinamento e a análise das amostras. As definições dos descritores e suas respectivas referências são apresentadas no apêndice 1.

As amostras, constituídas por duas porções longitudinais da metade distal do fruto, foram servidas monadicamente em pratos plásticos codificados com números aleatórios de três dígitos. As amostras destinadas à avaliação do aroma foram servidas em taças de vidro com tampa, juntamente com a respectiva amostra a ser degustada. Água e biscoito de água e sal foram oferecidos entre as amostras.

Quinze provadores que apresentaram poder discriminativo, reprodutibilidade nos julgamentos e consenso com os demais membros da equipe foram selecionados.

Para a avaliação do perfil sensorial das amostras, foram realizadas duas repetições para cada período pós-destanização do caqui 'Rama Forte'. Considerando que as avaliações sensoriais foram conduzidas somente nos dias úteis, foi necessária a realização de diferentes colheitas a fim de que os frutos fossem avaliados nos 8 dias posteriores à destanização. Assim, os frutos da 1ª repetição foram provenientes da primeira, segunda e quarta colheitas, enquanto que os caquis da 2ª repetição foram provenientes da segunda, terceira e quinta colheitas (Tabela 1).

TABELA 1. Colheita de caquis 'Rama Forte' e distribuição da coleta de amostras de forma que os frutos fossem avaliados nos 8 dias posteriores à destanização.

	1ª colheita	2ª colheita	3ª colheita	4ª colheita	5ª colheita
	(04/04/2017)	(17/04/2017)	(02/05/2017)	(05/05/2017)	(11/05/2017)
Dias após destanização - Repetição 1					
0		x			
1		x			
2		x			
3				x	
4				x	
5	x				

continuação TABELA 1. Colheita de caquis 'Rama Forte' e distribuição da coleta de amostras de forma que os frutos fossem avaliados nos 8 dias posteriores à destanização.

6	x		
7	x		
8	x		
Dias após destanização - Repetição 2			
0			x
1		x	
2		x	
3			x
4			x
5		x	
6		x	
7			x
8		x	

5.2.4 Avaliações físicas e químicas de qualidade

Os mesmos frutos destinados à avaliação sensorial foram avaliados quanto aos atributos físicos e químicos de qualidade. Os frutos foram numerados e avaliados quanto à cor da casca e firmeza de polpa. Em seguida, foi retirada uma fatia da região central para determinação da concentração de taninos solúveis, destinando-se a porção distal aos testes sensoriais.

A determinação da coloração de casca foi realizada utilizando-se colorímetro Minolta modelo CR-400 (espaço de cor CIELAB), sendo os resultados expressos em: L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde), b^* (coordenada amarelo/azul), C^* (Croma – saturação da cor), h (Ângulo *Hue* – tonalidade). O índice de cor (IC), foi calculado aplicando-se os valores obtidos na fórmula: $IC = (2000 \times a^*) / L^* \times C^*$ (López Camelo & Gómez, 2004). A firmeza de polpa foi determinada com penetrômetro digital (Güss Fruit Texture Analyzer), equipado com ponteira de 8 mm, e os resultados expressos em Newton (N). Para esta determinação, foi retirada uma porção fina da casca em duas faces equidistantes na região equatorial do fruto. A análise do teor de taninos solúveis foi realizada conforme a metodologia proposta por Taira (1996), sendo a determinação feita por espectrofotometria (725 nm), e os resultados expressos em porcentagem de ácido gálico (%).

5.2.5 Delineamento e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, onde cada tratamento de destanização constituiu um experimento. Foram avaliados 15 frutos em 9 datas de armazenamento (T_0, T_2, \dots, T_8), e para cada data realizou-se duas replicatas.

Para a análise sensorial, cada um dos 15 provadores selecionados avaliou um fruto cada, quanto aos 10 atributos sensoriais descritos. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação de médias de Tukey 5%. O programa estatístico usado foi o XLSTAT (Addinsolft, 2017).

A fim de correlacionar os atributos físicos e químicos dos frutos com alguns atributos sensoriais avaliados pelos provadores, realizou-se o teste de correlação de Pearson. Para as análises dos dados foi utilizado o PROC REG (opção Stepwise) do SAS™ (SAS Institute Inc., 2009).

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Resultados

Os descritores tonalidade laranja-avermelhada da casca, tonalidade laranja da polpa e translucidez da polpa foram agrupados de forma a compor o perfil sensorial da aparência dos caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol ou CO₂. Da mesma forma, os atributos aroma e sabor característicos, doçura, amargor e adstringência compuseram o perfil sensorial de aroma e sabor, ao passo que a firmeza, a suculência e a crocância da polpa compuseram o perfil sensorial de textura dos frutos. As médias comparadas pelo teste de Tukey 5% estão apresentadas no apêndice 2.

5.3.1.1 Destanização com etanol

A tonalidade laranja-avermelhada da casca e a tonalidade laranja da polpa (Figura 1) apresentaram comportamento semelhante nos oito dias posteriores ao tratamento de destanização com etanol. Os maiores valores médios atribuídos foram 4,2 e 3,2 para a tonalidade da casca e da polpa, respectivamente, não atingindo, para ambos os descritores, o valor mediano da escala de 9 pontos. Os valores iniciais diferiram das médias observadas aos 4 e 7 dias, tanto para a tonalidade da casca quanto da polpa. Não houve diferença entre os valores atribuídos à tonalidade da casca após 7 e 8 dias da destanização.

Não houve diferença quanto à translucidez da polpa durante os oito dias pós-destanização (Figura 1). Os valores médios variaram entre 1,2 e 1,7, indicando que a polpa dos frutos permaneceu opaca.

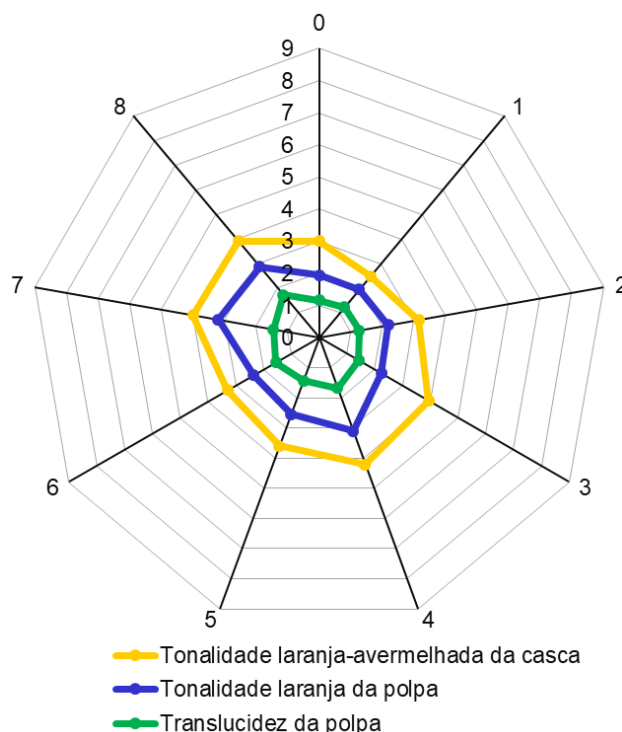


FIGURA 1. Perfil sensorial da aparência de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol ($1,7 \text{ mL kg}^{-1}$ 6 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente ($20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).

O aroma característico apresentou pequena variação, havendo diferença somente entre o tempo 0 (valor médio 3,2) e o oitavo dia (valor médio 4,7) pós-destanização (Figura 2).

Tanto o sabor característico quanto a doçura sofreram aumento significativo nos valores médios no quinto dia, quando comparados aos primeiros dias após a destanização (0 e 1 para o sabor e 0, 1 e 2 para a doçura) (Figura 2). O sabor característico oscilou entre 2,1, imediatamente após o término do tratamento e 4,9, o maior valor, observado ao oitavo dia após a destanização. A doçura variou entre 1,8 e 4,6, maior valor médio atribuído ao descritor no oitavo dia após o tratamento. Os valores médios de ambos os descritores indicam a intensificação do sabor e da doçura no decorrer dos oito dias após a destanização, muito embora, tais valores tenham atingido somente o valor mediano da escala.

Os descritores amargor e adstringência apresentaram o mesmo comportamento, embora com valores bastante distintos (Figura 2). Os valores médios atribuídos ao amargor variaram de 4,5 a 0,9. Não houve diferença entre os valores atribuídos a partir do quarto dia, entretanto esses diferiram dos observados até um dia após a destanização. Os valores atribuídos à adstringência ficaram entre 7,7 imediatamente após o tratamento, e 2,0 ao término do período de avaliação. Não houve diferença entre os valores até o terceiro dia, entretanto estes valores diferiram dos atribuídos a partir do quinto dia até o término do período de avaliação.

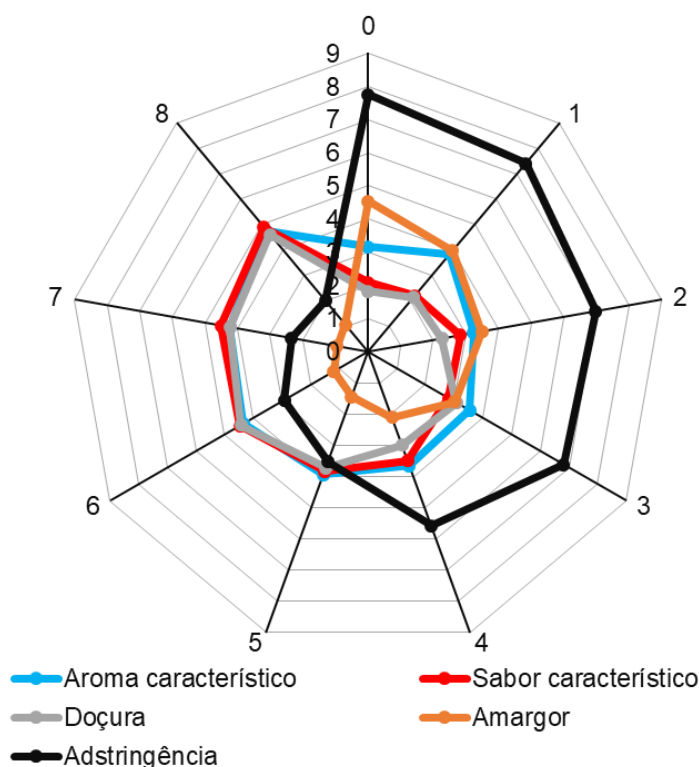


FIGURA 2. Perfil sensorial do aroma e sabor de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol ($1,7 \text{ mL Kg}^{-1}$ 6 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente ($20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).

Ambos os descritores, firmeza de polpa e crocância, permaneceram elevados durante os oito dias posteriores ao tratamento para remoção da adstringência (Figura 3). Apesar de serem observadas algumas variações na firmeza, principalmente no terceiro e quarto dias, os valores observados nos frutos avaliados imediatamente após o tratamento de destanização (7,8) não diferiram dos valores de firmeza determinados no oitavo dia (7,1). Os valores atribuídos à crocância apresentaram variação entre 6,4 e 7,6, não havendo diferença entre o

tempo 0 e o término do período de avaliação. Houve pequena variação na suculência da polpa. A diferença em relação ao tempo 0 foi observada somente a partir do sétimo dia, permanecendo, as médias, entre 1,3 e 2,9.

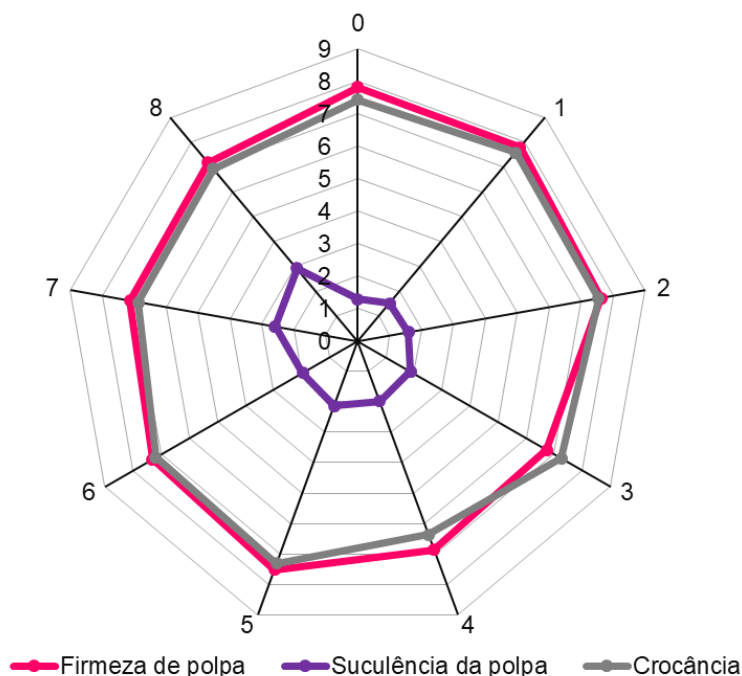


FIGURA 3. Perfil sensorial da textura de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol ($1,7 \text{ mL Kg}^{-1}$ 6 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente ($20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).

Na tabela 2 estão representados os coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais tonalidade de cor da casca, doçura, amargor, adstringência e firmeza, e os atributos físicos e químicos firmeza (N), índice de cor da casca e taninos solúveis (% ácido gálico) nos tempos 0, 5 e 8 dias após o tratamento. Logo após a destanização com etanol, observou-se correlação negativa entre a doçura e o amargor, e positiva entre a firmeza sensorial e a adstringência sensorial e entre os taninos solúveis e a doçura. Caquis avaliados cinco dias após a exposição ao vapor de etanol apresentaram correlação positiva entre os descritores adstringência sensorial e amargor e correlação negativa entre o IC e a firmeza sensorial e a firmeza medida com penetrômetro digital. Caquis avaliados após oito dias do tratamento demonstraram correlação positiva entre a doçura e a tonalidade de casca e entre o IC e a tonalidade da casca e negativa entre a adstringência sensorial e a doçura. De maneira geral, enquanto que a adstringência sensorial apresentou correlações positivas ou negativas com três

descritores (firmeza sensorial, amargor e doçura), os taninos solúveis apresentaram correlação apenas sobre a doçura.

TABELA 2. Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol (1,7 mL kg⁻¹) durante 6 horas, avaliados imediatamente após a destanização e aos cinco e oito dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). Tonalidade da casca (TC), doçura (DC), amargor (AM), adstringência sensorial (AS), firmeza sensorial (FS), firmeza em N (FN), índice de cor (IC) e taninos solúveis (TS).

	TC	DC	AM	AS	FS	FN	IC	TS
Tempo 0								
TC	<u>1</u>	0,38 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,36 ^{ns}	-0,24 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,23 ^{ns}
DC		1	-0,54 [*]	0,01 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,59 [*]
AM			1	-0,03 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,26 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,07 ^{ns}
AS				1	0,63 [*]	0,27 ^{ns}	-0,31 ^{ns}	-0,21 ^{ns}
FS					1	0,06 ^{ns}	-0,36 ^{ns}	-0,23 ^{ns}
FN						1	-0,40 ^{ns}	0,27 ^{ns}
IC							1	0,02 ^{ns}
TS								1
Tempo 5								
TC	<u>1</u>	0,47 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,29 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,34 ^{ns}
DC		1	-0,33 ^{ns}	-0,32 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,15 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
AM			1	0,58 [*]	-0,02 ^{ns}	-0,29 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,18 ^{ns}
AS				1	0,08 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,41 ^{ns}
FS					1	0,32 ^{ns}	-0,63 [*]	0,24 ^{ns}
FN						1	-0,68 ^{**}	-0,05 ^{ns}
IC							1	-0,08 ^{ns}
TS								1
Tempo 8								
TC	<u>1</u>	0,59 [*]	0,11 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,63 [*]	-0,22 ^{ns}
DC		1	-0,33 ^{ns}	-0,62 [*]	-0,20 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,12 ^{ns}
AM			1	-0,01 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,66 ^{ns}	0,21 ^{ns}	-0,21 ^{ns}
AS				1	0,17 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,54 ^{ns}	0,01 ^{ns}
FS					1	-0,26 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	-0,57 ^{ns}
FN						1	0,03 ^{ns}	0,00 ^{ns}
IC							1	0,08 ^{ns}
TS								1

* Significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% de probabilidade e ^{ns} não significativo

5.3.1.2 Destanização com dióxido de carbono

Inicialmente, os atributos do perfil sensorial da aparência, tonalidade laranja-avermelhada da casca, tonalidade laranja da polpa e translucidez da polpa (Figura 4) apresentaram médias de 2,96, 2,01 e 1,38, respectivamente. Houve aumento gradativo nos valores atribuídos aos três descritores até o quarto dia, muito embora

não tenha havido diferença significativa entre eles. Somente a partir do quinto dia os valores atribuídos tanto à tonalidade da casca e da polpa, quanto à translucidez diferiram daqueles atribuídos anteriormente, atingindo valores de 6,9, 6,1 e 6,1, respectivamente. Valores entre 7 e 8 foram observados para os três descritores ao sétimo dia. Os frutos avaliados no oitavo dia apresentaram valores médios dos três descritores inferiores aos dos dias imediatamente anteriores, entretanto essa diferença não foi significativa (Figura 4, Apêndice 2).

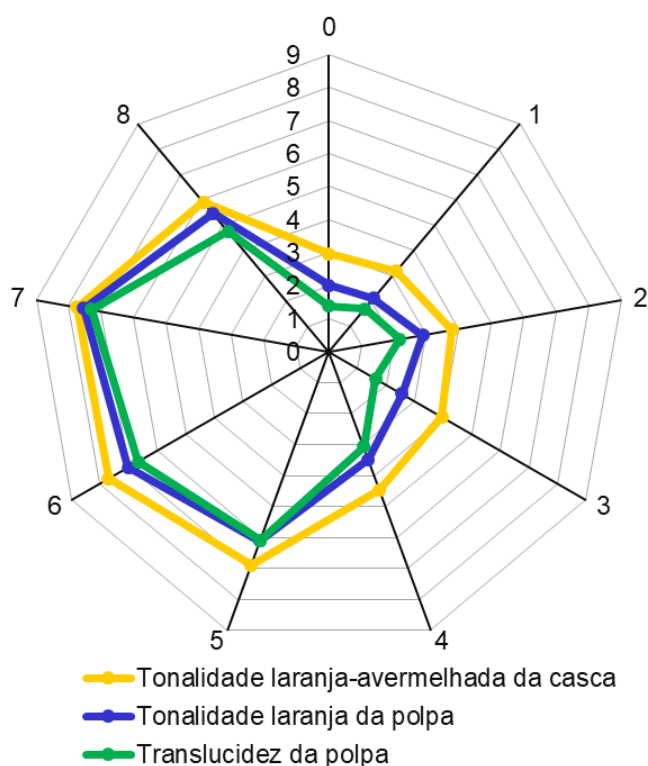


FIGURA 4. Perfil sensorial da aparência de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ (70% 18 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).

Os descritores aroma, sabor característicos e doçura apresentaram comportamento semelhante ao longo dos dias, com aumento significativo das médias no quinto dia. Os maiores valores ocorreram no sétimo dia (6,88, 7,22 e 6,89 para o aroma, sabor e doçura, respectivamente), sem diferirem, entretanto, daqueles apresentados a partir do quinto dia (Figura 5).

A presença de amargor foi percebida de forma indelével ao término do período de exposição ao CO₂ e no dia seguinte ao tratamento, tendo sido atribuídos valores médios entre 1,73 e 0,38 ao longo dos oito dias de manutenção dos frutos

em condição ambiente. O maior valor médio atribuído à adstringência foi observado logo após a destanização (5,87), sendo paulatinamente reduzido até valor de 0,79 no sétimo dia após o tratamento. A maior diferença entre os valores médios foi determinada entre o quarto e o quinto dia, quando houve redução de 3,17 para 1,31, não diferindo até o oitavo dia de manutenção em condição ambiente (Figura 5).

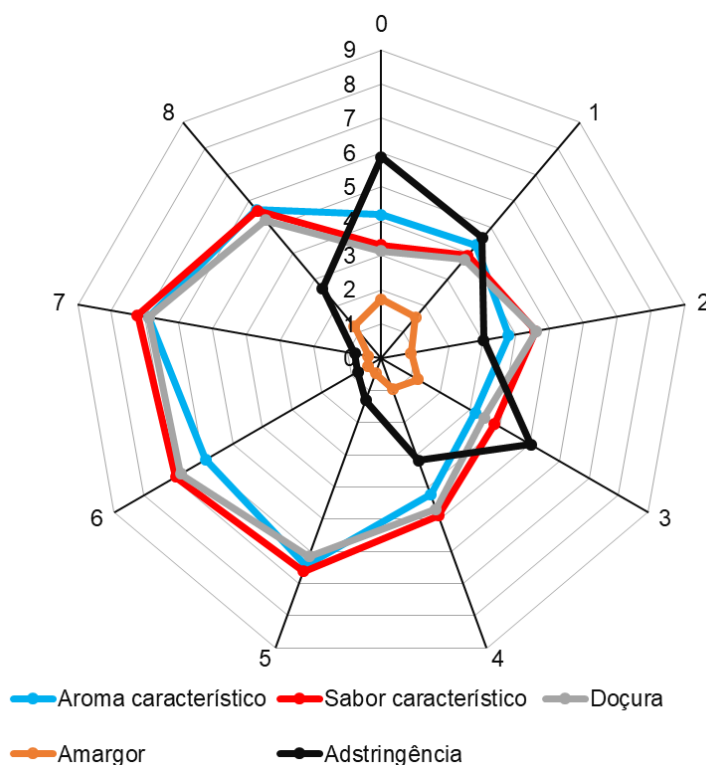


FIGURA 5. Perfil sensorial do aroma e sabor de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ (70% 18 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).

Tanto a firmeza, quanto a crocância apresentaram valores iniciais próximos a 7, com redução significativa somente no quinto dia, quando valores de 2,8 e 2,2, respectivamente, foram observados (Figura 6). Para ambos os descritores, os menores valores ocorreram no sétimo dia. Os frutos avaliados no oitavo dia após a destanização obtiveram notas maiores do que aquelas observadas no dia anterior, não diferindo das amostras avaliadas anteriormente (4° e 5° dias para a firmeza e entre o 2° e o 6° dia para a crocância). A suculência da polpa apresentou comportamento oposto à crocância, com valor médio inicial de 2,04 e aumento

significativo no quinto dia após o tratamento (Figura 6). O valor máximo atribuído (7,4) foi observado no sétimo dia após a destanização.

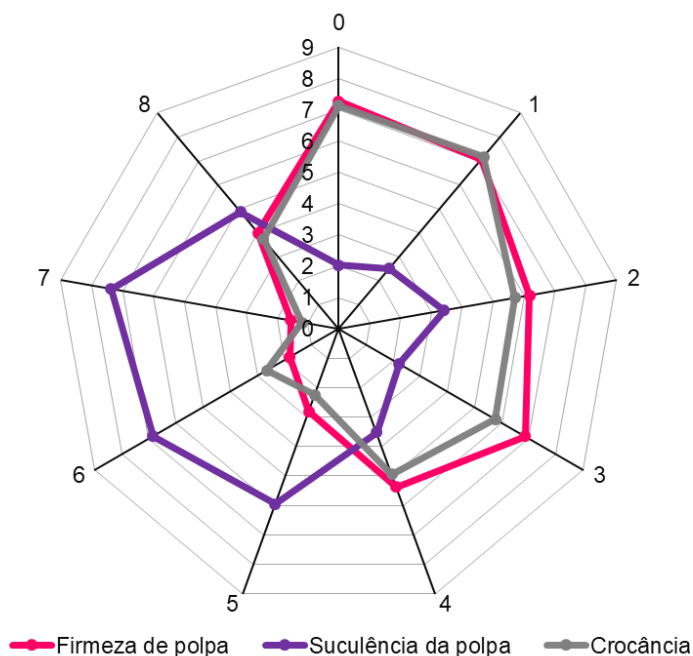


FIGURA 6. Perfil sensorial da textura de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ (70% 18 horas) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). O centro da figura representa o ponto zero da escala de avaliação, onde a intensidade aumenta do centro para as periferias, e os eixos representam os tempos de avaliação (dias).

Na tabela 3 estão representados os coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais tonalidade de cor da casca, doçura, amargor, adstringência, firmeza, e os atributos físicos e químicos firmeza (N), índice de cor e taninos solúveis (% ácido gálico) nos tempos 0, 5 e 8 dias após o tratamento. Caquis avaliados logo após a exposição à atmosfera rica em CO₂ apresentaram correlação positiva entre o IC e a tonalidade da casca e negativa entre a firmeza sensorial e a medida por instrumento. Cinco dias após o tratamento para destanização dos frutos foram observadas as seguintes correlações: a adstringência apresentou correlação positiva com a firmeza sensorial, a firmeza medida por instrumento e com o amargor e correlação negativa com os descritores sensoriais de tonalidade de casca e de doçura e com o atributo físico de IC; a firmeza sensorial apresentou correlação negativa com o descritores de tonalidade de casca e doçura e com os atributo físico de IC, e positiva com a firmeza medida por instrumento; a tonalidade de casca apresentou correlação significativa positiva

com a doçura e o IC e correlações negativas com o amargor e a firmeza medida por instrumento; a firmeza medida com penetrômetro apresentou correlação negativa com doçura e com o IC e correlação positiva com a firmeza sensorial; o IC apresentou correlação positiva com a doçura. No oitavo dia após a destanização dos caquis as correlações observadas foram: a adstringência apresentou correlação positiva com a firmeza sensorial e com o amargor, e negativa com a doçura; a firmeza sensorial apresentou correlação positiva com a firmeza medida por instrumento e com o amargor e correlação negativa com o IC e a doçura; o IC apresentou correlação positiva com a tonalidade de casca e com a doçura, e negativa com a firmeza medida por penetrômetro. Por fim, a doçura apresentou correlação positiva com a tonalidade de casca.

TABELA 3. Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% durante 18 horas, avaliados imediatamente após a destanização e aos cinco e oito dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). Tonalidade da casca (TC), doçura (DC), amargor (AM), adstringência sensorial (AS), firmeza sensorial (FS), firmeza em N (FN), índice de cor (IC) e taninos solúveis (TS).

	TC	DC	AM	AS	FS	FN	IC	TS
Tempo 0								
TC	1	0,30 ^{ns}	-0,42 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,55*	0,26 ^{ns}
DC		1	-0,35 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,49 ^{ns}
AM			1	0,36 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,35 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,19 ^{ns}
AS				1	0,20 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	-0,25 ^{ns}	0,19 ^{ns}
FS					1	-0,58*	0,08 ^{ns}	-0,23 ^{ns}
FN						1	-0,04 ^{ns}	0,19 ^{ns}
IC							1	-0,03 ^{ns}
TS								1
Tempo 5								
TC	1	0,91**	-0,72**	-0,85**	-0,54*	-0,84**	0,86**	0,08 ^{ns}
DC		1	-0,51 ^{ns}	-0,77**	-0,60*	-0,88**	0,89**	-0,01 ^{ns}
AM			1	0,55*	0,19 ^{ns}	0,45 ^{ns}	-0,50 ^{ns}	-0,28 ^{ns}
AS				1	0,64*	0,80**	-0,77**	0,10 ^{ns}
FS					1	0,87**	-0,83**	0,35 ^{ns}
FN						1	-0,96**	0,25 ^{ns}
IC							1	-0,19 ^{ns}
TS								1
Tempo 8								
TC	1	0,83**	-0,37 ^{ns}	-0,52 ^{ns}	-0,80**	-0,54 ^{ns}	0,64*	-0,40 ^{ns}
DC		1	-0,56 ^{ns}	-0,80**	-0,84**	-0,56 ^{ns}	0,70*	-0,17 ^{ns}
AM			1	0,73**	0,65*	0,28 ^{ns}	-0,38 ^{ns}	0,08 ^{ns}
AS				1	0,83**	0,45 ^{ns}	-0,48 ^{ns}	0,01 ^{ns}

continuação TABELA 3. Coeficientes de correlação simples de Pearson entre os atributos sensoriais, físicos e químicos de qualidade de caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% durante 18h, avaliados imediatamente após a destanização e aos cinco e oito dias de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C). Tonalidade da casca (TC), doçura (DC), amargor (AM), adstringência sensorial (AS), firmeza sensorial (FS), firmeza em N (FN), índice de cor (IC) e taninos solúveis (TS).

FS	1	0,75**	-0,78**	0,18 ^{ns}
FN		1	-0,90**	-0,15 ^{ns}
IC			1	0,09 ^{ns}
TS				1

5.3.2 Discussão dos Resultados

A qualidade de um produto é determinada por três aspectos fundamentais, as qualidades físico-química, a percepção sensorial e a qualidade microbiológica, sendo a qualidade sensorial a mais intimamente ligada à percepção do consumidor sobre o produto (Dutcosky, 2013). Dessa forma, segundo o mesmo autor, características como odor, sabor e textura precisam ser monitoradas sensorialmente. Há um déficit em pesquisas relacionadas à qualidade sensorial de caquis adstringentes submetidos aos tratamentos de destanização, estando disponíveis alguns poucos estudos relacionados ao produto minimamente processado (Lyon *et al.*, 1992; Pérez-Gago *et al.*, 2009; Sanchis *et al.*, 2015). Outros estudos apenas utilizam o atributo sensorial de adstringência como parâmetro para as avaliações (Alkydiz *et al.*, 2004; Arnal & Del-Río, 2004; Salvador *et al.*, 2008; Besada *et al.*, 2012).

Caquis destanizados com etanol apresentaram tonalidade de casca e de polpa alaranjada durante os oito dias após o tratamento, além de polpa opaca. Esses frutos apresentaram leve intensificação do aroma, ao passo que o sabor e a doçura evoluíram até valores próximos a 4,5 (mediana da escala). O amargor sofreu redução de 4,5 para 1,1. A adstringência variou entre 7,7 e 2,0, com maior redução ao quinto dia após o tratamento para destanização. Os frutos permaneceram firmes, crocantes e pouco suculentos.

A aplicação de etanol promove a destanização de frutos de caquizeiro por meio da biossíntese de acetaldeído; uma reação catalisada pela enzima álcool desidrogenase que converte o etanol em acetaldeído (Matsuo & Ito, 1977; Taira, 1996). O acetaldeído é responsável por polimerizar as moléculas de taninos solúveis presentes na polpa dos caquis, tornando-os insolúveis (Sugiura *et al.*, 1979, Ben-Arie & Sonogo, 1993; Taira, 1996) e, portanto, não sendo percebidos

como adstringentes (Ito, 1971) pelas papilas gustativas da língua. A destanização realizada com etanol tende a promover a completa perda da adstringência entre cinco e seis dias após o tratamento (Biasi e Gerhardt, 1992; Muñoz, 2002), podendo haver variações decorrentes da cultivar. A lenta destanização promovida por este agente é devida ao fato da enzima álcool desidrogenase possuir uma constante de equilíbrio extremamente baixa para a formação de acetaldeído (Sund & Theorell, 1963). Como trata-se de uma reação reversível (Taiz *et al.*, 2016), a formação de etanol é favorecida em detrimento da de acetaldeído.

Caquis 'Hiratanenashi' destanizados com etanol 0,4 e 2,9 mL.kg⁻¹ durante 24 horas mantiveram a coloração alaranjada da casca e a firmeza alta da polpa ao final de 13 dias (Kato, 1987). Monteiro *et al.* (2014), destanizando caquis 'Giombo' com etanol 1,75 mL.kg⁻¹ durante 12 horas, também relataram que o tratamento proporcionou a manutenção da firmeza dos frutos. Resultados contrários foram encontrados por outros autores durante a destanização de caquis 'Giombo' e 'Rama Forte', os quais relatam que o etanol favoreceu a perda de firmeza e o ganho de coloração avermelhada na casca (Antoniolli *et al.*, 2002; Muñoz, 2002; Vitti, 2009). Altas doses de etanol comprometem as estruturas celulares dos frutos, deixando-os mais suscetíveis à perda de firmeza (Monteiro *et al.*, 2014). Além do rompimento das estruturas celulares, a destanização com etanol induz o aumento da taxa respiratória e da produção de etileno dos frutos, favorecendo o amadurecimento dos mesmos. No entanto, essa resposta pode variar com a dose de etanol utilizada (Kato, 1987) e com o estágio fisiológico em que o fruto se encontra (Itamura, 1986). Shimizu *et al.* (2002) relatam que a alta concentração de etanol (7,0 mL kg⁻¹) favoreceu o amolecimento e o ganho da coloração vermelha em caquis 'Rama Forte' e 'Giombo'. A temperatura durante o período pós-colheita e a época da colheita durante a safra são outros fatores que interferem na perda da adstringência e no amadurecimento dos frutos (Antoniolli *et al.*, 2002; Vitti, 2009). À medida que a temperatura aumenta, a energia cinética e a velocidade das moléculas também aumenta, acelerando as reações químicas (Costa, 2018) e bioquímicas, como a atividade respiratória e a produção de etileno (Honório & Moretti, 2002).

A pouca evolução nos atributos de sabor e doçura em caquis destanizados com etanol provavelmente está relacionada ao lento amadurecimento observado nesses frutos. Os atributos de amargor e adstringência permaneceram altos até o quinto dia, podendo indicar um possível confundimento entre amargor e

adstringência na percepção dos provadores ou até mesmo uma relação entre esses descritores, já que houve correlação positiva entre eles aos cinco dias após o tratamento. Ben-Arie *et al.* (1991) relataram que o acúmulo de etanol na polpa de caquis cv. Triumph em níveis superiores a $75 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ pode causar a deterioração do sabor do fruto. No entanto, Arnal *et al.* (2008) demonstraram que o acúmulo de etanol até $120 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ na polpa de caquis 'Rojo Brillante' não causou efeito negativo sobre o sabor dos frutos, o que indica que o efeito do etanol sobre o sabor dos frutos pode variar com a cultivar testada.

Frutos destanizados com CO_2 apresentaram evolução mais acelerada nos atributos de qualidade avaliados, em comparação àqueles destanizados com etanol. Estes frutos tornaram-se avermelhados e translúcidos a partir do quinto dia sob condição ambiente ($20 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). Aroma, sabor e doçura apresentaram aumento acentuado, sobretudo a partir do quinto dia. O amargor permaneceu entre 1,73 e 0,38, enquanto que a adstringência apresentou a maior redução a partir do quarto dia, atingindo valores de 0,79 ao término das avaliações. Firmeza e crocância sofreram reduções acentuadas, atingido valores mínimos de 1,55 e 1,19, respectivamente, à medida que a suculência dos frutos aumentou.

A exposição às atmosferas com altas concentrações de CO_2 (superiores a 60%), tende a promover a perda da adstringência mais rapidamente em relação ao tratamento com etanol. Caquis cv. Rama Forte destanizados com CO_2 70% durante 12 horas perderam a adstringência três dias após a aplicação do tratamento (Muñoz, 2002). Caquis 'Hiratanenashi', após aplicação de CO_2 80% por 24 horas, tiveram os níveis de taninos solúveis reduzidos após três dias (Taira, 1996). Frutos 'Rojo Brillante' destanizados com 95-100% de CO_2 durante 24 horas foram caracterizados como "não adstringentes" após dois dias do tratamento (Novillo *et al.*, 2015). A destanização com CO_2 gera um ambiente anóxico que favorece a respiração anaeróbica, metabolizando o piruvato proveniente da glicólise pela ação da enzima piruvato descarboxilase, com formação de acetaldeído e etanol (Kitagawa & Glucina, 1984; Taiz *et al.*, 2016).

Foi observada perda de firmeza em caquis 'Rojo Brillante' destanizados com CO_2 98% durante 18 horas e 90% durante 27 horas (Arnal *et al.*, 2008; Arnal & Del-Río, 2004). Mudanças texturais durante o amadurecimento dos frutos, ocorrem em grande parte, devido à degradação da parede celular (Salvador *et al.*, 2007), que causa o amolecimento da polpa. Ao passo que os caquis perdem firmeza de polpa,

há intensificação da coloração avermelhada da epiderme. Durante o amadurecimento de caquis ocorre o acúmulo de licopenos e xantofilas, dois carotenoides que proporcionam a coloração vermelha da casca (Ito, 1971). Contrário aos autores citados anteriormente, Muñoz (2002) e Vitti (2009) concluíram que a destanização de caquis 'Rama Forte' com CO₂ 70% manteve a firmeza dos frutos.

Divergências quanto à evolução dos atributos relacionados ao amadurecimento, como coloração de casca e firmeza de polpa após a destanização com CO₂ são comuns. Segundo Ben-Arie & Guelfat-Reich (1976) o CO₂ atua por duas vias. Na primeira, ocorre a ativação da ação de enzimas envolvidas no amolecimento da polpa, antes inibidas pela presença dos taninos solúveis. Na segunda via, o CO₂ age inibindo a respiração e a produção de etileno, desacelerando o processo de amadurecimento. Ainda não está clara a causa da ativação dessas duas vias. Após a destanização com CO₂, assim como com o etanol, ocorre o aumento da produção de etileno pelo fruto (Yin *et al.*, 2012), uma vez que altas concentrações de CO₂ podem causar estresse aos frutos, induzindo à produção de etileno (Harima *et al.*, 2003). Muñoz (2002) sugeriu que, possivelmente, algum subproduto da anaerobiose pode ativar as enzimas relacionadas ao amolecimento da polpa citadas por Ben-Arie & Guelfat-Reich (1976), e que esta ativação pode estar relacionada à exposição dos frutos ao gás por curtos períodos. No entanto, experimentos preliminares sugerem que a ativação dessas enzimas durante a anaerobiose pode também estar relacionada ao estágio fisiológico dos frutos quando submetidos ao tratamento para remoção da adstringência. Cultivar, temperatura, época de colheita e estágio de maturação são citados como fatores que influenciam o processo de perda da adstringência e as mudanças quanto aos atributos relacionados ao amadurecimento (Antoniolli *et al.*, 2002; Salvador *et al.*, 2007; Del Bubba *et al.*, 2009; Vitti, 2009).

A maior evolução do aroma característico se deve ao rápido amadurecimento observado nesses frutos após a destanização. Durante o processo de destanização, o etileno produzido pelos frutos induz à formação de compostos voláteis responsáveis pelo aroma (Edagi & Kluge, 2009). O aroma, aliado às propriedades gustativas e aos estímulos trigeminais (nervo sensitivo presente na face) constituem a percepção do paladar (Dutcosky, 2013). Assim

como o aroma, o sabor característico do fruto também apresentou maior evolução nos caquis expostos ao CO₂ quando comparados aos destanzados com etanol.

Caquis destanzados com CO₂ apresentaram, substancialmente, mais correlações entre os seus atributos do que aqueles destanzados com etanol. A maior parte das correlações entre os atributos avaliados em frutos destanzados com CO₂ foi observada no quinto dia, a partir de quando os frutos apresentaram maior redução da adstringência e intensificação do amadurecimento.

Conforme esperado, foram observadas correlações positivas entre o atributo sensorial de tonalidade da casca e o atributo físico de IC e sensorial de doçura e correlações negativas com a firmeza, tanto sensorial quanto medida por instrumento. Tais correlações indicam a percepção dos provadores quanto as mudanças químicas e estruturais que ocorreram nos frutos durante o período de avaliação, onde à medida que a coloração vermelha da casca aumenta, a firmeza da polpa reduz. Com o avanço da maturação, à medida que ocorrem os processos de degradação da clorofila, responsável pela coloração esverdeada, ocorrem os processos de síntese de carotenoides, pigmentos responsáveis pela coloração amarela a avermelhada (Muñoz, 2002). A perda de firmeza ocorre em decorrência da degradação da parede celular, que acompanha o amadurecimento (Salvador *et al.*, 2007).

A adstringência apresentou correlação positiva com os descritores de amargor e firmeza, tanto física quanto sensorial, e negativa com os atributos sensoriais de doçura e de tonalidade da casca, bem como com o atributo físico de IC, indicando que à medida que a adstringência diminui, a doçura aumenta e a cor da casca se torna avermelhada, enquanto que o amargor e a firmeza diminuem. Os taninos solúveis apresentaram correlação apenas com a doçura observada nos frutos coletados imediatamente ao término do período de exposição ao vapor de etanol, entretanto, ao contrário do esperado, essa correlação foi positiva. Contrariamente, os taninos solúveis não apresentaram correlação com a adstringência sensorial, nem com os demais atributos. Alguns autores, ao avaliar o teor de taninos solúveis e a adstringência sensorial em caquis 'Rojo Brillante', concluíram que os provadores não perceberam as mesmas mudanças na adstringência indicadas pelo método de quantificação de taninos solúveis (Arnal & Del-Río, 2003; Salvador *et al.*, 2007; Salvador *et al.*, 2008).

O fato da adstringência atribuída sensorialmente ter apresentado correlação com a doçura e com o amargor, principalmente nos períodos onde se observou maior perda da adstringência e intensificação dos atributos relacionados ao amadurecimento (quinto e oitavo dias) dos frutos submetidos a ambos os tratamentos, pode indicar uma possível influência desses atributos sobre a percepção sensorial dos provadores quanto à adstringência. A partir dessas observações, supõe-se que a adstringência pode ser influenciada por outros fatores e compostos presentes na polpa dos caquis, e não somente pelos taninos solúveis, único atributo normalmente considerado nas análises químicas como indicativo da adstringência.

5.4 Conclusões

Caquis 'Rama Forte' colhidos no estágio de maturação comercial em que apresentam cor de casca amarela-alaranjada, e submetidos ao tratamento de destanização com etanol 1,7 mL kg¹ durante 6 horas apresentam perda da adstringência sensorial a partir do quinto dia após o tratamento e mantém a tonalidade alaranjada da casca, polpa opaca, firme e crocante por até oito dias em condição ambiente (20 ± 5 °C). Caquis expostos a 70% de CO₂ durante 18 horas apresentam perda da adstringência desde o primeiro dia após a aplicação do tratamento, com redução acentuada a partir do quarto dia, porém estes frutos se tornam avermelhados, translúcidos e suculentos à medida que ganham sabor, doçura e aroma.

As correlações entre atributos sensoriais e físicos são presentes em maior número nos caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% por 18 horas.

A adstringência apresenta correlação positiva com o amargor, tanto nos caquis destanizados com CO₂ quanto naqueles destanizados com etanol.

A percepção da adstringência possivelmente não está relacionada apenas ao teor de taninos solúveis presente na polpa dos caquis.

5.5 Referências Bibliográficas

ADDINSOLFT. **XLSTAT statistical analysis software**. Version 2017. New York, 2017. Disponível em: <<https://www.xlstat.com>>. Acesso em: 10 out. 2018.

AKYILDIZ, A. et al. Determination of changes in some characteristics of persimmon during dehydration at different temperatures. **Journal of Food Engineering**, London, v. 65, p. 95-99, 2004.

ANTONIOLLI, L. R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caqui 'Giombo' sob diferentes períodos de exposição ao vapor de álcool etílico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, out. 2000.

ANTONIOLLI, L. R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caqui 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 687-691, 2002.

ARNAL, L.; DEL RÍO, M. A. Effect and cold storage and removal astringency on quality of persimmon fruit (*Diospyros kaki*, L.) cv. Rojo Brillante. **Food Science and Technology International**, London, v. 10, n. 3, p. 179-185, 2004.

ARNAL, L.; DEL RÍO, M. A. Removing astringency by carbon dioxide and nitrogen-enriched atmospheres in persimmon fruit cv. "Rojo Brillante". **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 1516-1518, 2003.

ARNAL, L. et al. Effect of controlled atmospheres on maintaining quality of persimmon fruit cv. "Rojo Brillante". **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 1, p. 26-30, 2008.

BEN-ARIE, R. et al. Modified atmosphere packing for long-term storage of astringent persimmons. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 1, p. 169-179, 1991.

BEN-ARIE, R.; GUELFAT-REICH, S. Softening effects of CO₂ treatment for removal of adstringency from stored persimmon fruits. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 101, n. 2, p. 179-181, 1976.

BEN-ARIE, R. SONEGO, L. Temperature affects astringency removal and recurrence in persimmon. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 6, p. 1397-1400, 1993.

BESADA, C. et al. Volatile compound associated to the loss of astringency in persimmon fruit revealed by untargeted GC-MS analysis. **Metabolomics**, Boston, v. 9, p. 123-171, 2012.

BIASE, L. A.; GERHART, I. R. Efeito da aplicação de vinagre, álcool e ethephon na destanização de caquis cv. Okira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 2, p. 31-36, 1992.

BLUM, J. et al. Destanização do caqui "Giombo" com etanol e ethephon. **Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 1, p. 54-59, jan./fev. 2008.

COSTA, H. M. **Físico-química aplicada à farmácia**. Rio de Janeiro: SESES, 2018. 178 p.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4. ed. Curitiba: PUCPRESS, 2013. 531 p.

EDAGI, F. K. et al. Remoção da adstringência de caquis 'Giombo' com subdosagens de etanol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, out. 2009.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 585-594, mar./abr. 2009.

GUNNESS, P. et al. Sensory analysis of individual strawberry fruit and comparison with instrumental analysis. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 52, p. 164-172, 2009.

HARIMA, S. et al. Extending shelf-life of astringent persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit by 1-MCP. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 29, n. 3, p. 319-324, 2003.

HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. Fisiologia pós-colheita de frutas e hortaliças. In: CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L (Ed.). **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa, 2002. p. 59-81.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**. [2017]. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 14 maio 2017.

ITAMURA, H. Relationships between fruit softening, respiration and ethylene production after deastringent treatment by alcohol in japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. Var. Hiratanenashi) fruits harvest at various stages. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 55, n. 1, p. 89-98, 1986.

ITO, S. The persimmon. In: HULME, A. C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971. v. 2, p. 281-301.

KATO, K. Astringency removal and ripening as related to temperature during the de-astringency by ethanol in persimmon fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 55, n. 4, p. 498-509, 1987.

KATO, K. Astringency removal and ripening in persimmons treated whit ethanol and ethylene. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 205-207, 1990.

KITAGAWA, H.; GLUCINA, P. G. **Persimmon culture in New Zealand**. Wellington: Science Information Publishing Centre, 1984. 73 p.

LÓPEZ CAMELO, A. F.; GÓMEZ, P. A. Comparison of color ripening. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 534-537, jul./set. 2004.

LYON, B. G.; SENTER, S. D.; PAYNE, J. A. Quality characteristics of oriental persimmons (*Diospyros kaki* L. cv. Fuyu) grown in the Southeastern United States. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 3, p. 693-695, 1992.

MATSUO, T.; ITO, S. On mechanisms of removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide treatment I. Some proprieties of the two processes in the de-astringency. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v. 18, p. 17-25, 1977.

MATSUO, T.; SHINOHARA, J.; ITO, S. An improvement on removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide gas. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 215-217, maio 1976.

MONTEIRO, M. F. M. et al. Remoção da adstringência de caqui 'Giombo' com etanol em doses e tempos diferentes. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 15, n. 2, p. 160-167, 2014.

MUÑOZ, V. R. S. **Destanização do caqui (Diospyros caqui L.) 'Rama Forte'**. 2002. 164 f. Tese (Doutorado) - Engenharia Agrícola, Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

NOVILLO, P.; BESADA, R. G. C.; SALVADOR, A. Astringency removal of 'Rojo Brillante' persimmon by combining CO₂ and ethanol application. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 1079, p. 599-604, 2015.

NOVILLO, P. et al. Deadstringency treatment with CO₂ induces oxidative stress in persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 16-22, 2014.

PÉREZ-GAGO, M. B.; DEL RÍO, M. A.; ARGUDO, C. Reducing enzymatic browning of fresh-cut persimmon cv. 'Rojo Brillante' by antioxidant application. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 833, p. 245-250, 2009.

PROGRAMA BRASILEIRO PARA MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA. Normas de classificação: caqui. São Paulo: CEAGESP, 2009. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/classificacao/caqui/caqui.html>>. Acesso em: 03 set. 2017.

SAS INSTITUTE INC. Reg procedure (Proc REG). In: SAS INSTITUTE. **SAS/STAT® 9.2 user's guide**. 2nd ed. Cary, 2009. p. 1351-1478.

SALVADOR, A. et al. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. Rojo Brillante. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, p. 181-188, 2007.

SALVADOR, A. et al. Reduced effectiveness of the treatment for removing astringency in persimmon fruit when stored at 15 °C: physiological and microstructural study. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, p. 340-347, 2008.

SANCHÍS, E.; MATEOS, M.; PÉRES-GAGO, M. B. Effect of maturity stage at processing and antioxidant treatments on the physico-chemical, sensory and nutritional quality of fresh-cut 'Rojo Brillante' persimmon. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 105, p. 34-44, 2015.

- SHIMIZU, M. K. et al. Avaliação do efeito de diferentes concentrações de álcool na destanização e amadurecimento de caqui. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 36, n.1/2, p. 11-16, 2002.
- STAVANG, J. A. et al. Raspberry fruit quality changes during ripening and storage assessed by colour, sensory evaluation and chemical analyses. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 195, p. 216-225, 2015.
- STONE, H. et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, Chicago, v. 28, p. 24-34, 1974.
- SUGIURA, A. et al. Changes in the ethanol and acetaldehyde contents of Japanese persimmon fruits in relation to natural loss of astringency. **Studies from the Institute of Horticulture**, Kyoto, v. 9, p. 41-47, 1979.
- SUND, H.; THEORELL, H. Alcohol dehydrogenase. In: BOYER, P. D.; LARDY, H.; MYRBÄDK, K. (Ed.). **The enzymes**. New York: Academic Press, 1963. v. 7, p. 25-83.
- TAIRA, S. Astringency in persimmon. In: LINKSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Org.). **Modern methods of plant analysis**. Berlin: Springer, 1996. v. 18, p. 97-110.
- TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.
- TERRA, F. A. M. et al. Aplicação de 1-metilciclopropeno e sua influência no processo de remoção da adstringência com etanol em caqui 'Gionbo' refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 2, p. 210-216, fev. 2014.
- VALERO, D.; SERRANO, M. **Postharvest biology and technology for preserving fruit quality**. London: CRC Press, 2010. 264 p.
- VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui 'Rama Forte' em função da época d'e colheita**. 2009. 123 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- YAMADA, M. et al. Varietal differences in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among oriental astringent persimmons of Japanese and Chinese origin. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, p. 63-72, 2002.
- YIN, X. et al. Expression of ethylene response genes during persimmon fruit astringency removal. **Planta**, Berlin, n. 235, p. 895-906, 2012.

6 CAPÍTULO 4

Compostos voláteis associados à perda da adstringência em caquis 'Rama Forte'

RESUMO

A adstringência do caqui é devida aos taninos solúveis que se acumulam em células especializadas na polpa dos frutos e percebida como uma sensação desagradável de secura na boca. Outras características importantes em caquis, são o sabor e o aroma. O sabor é composto pela doçura, acidez e pelos compostos voláteis aromáticos. Este estudo descreve o perfil volátil de caquis 'Rama Forte', o efeito dos tratamentos de destanização por etanol e CO₂ e a associação de voláteis específicos à perda de adstringência dada pela avaliação sensorial e química. Caquis 'Rama Forte' foram colhidos com coloração de casca amarela-alaranjada e submetidos aos tratamentos de destanização por CO₂ 70% durante 18 horas ou etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas. Um ensaio onde os frutos não sofreram qualquer tratamento de destanização foi igualmente conduzido. Após o término da exposição aos tratamentos, os frutos foram matidos sob condição ambiente por até oito dias. Os caquis foram avaliados sensorialmente quanto à adstringência e quimicamente quanto ao teor de taninos solúveis e ao perfil volátil presente na polpa por cromatografia gasosa. Foram encontrados 42 compostos voláteis na polpa de caquis submetidos aos dois tratamentos. A análise multivariada indicou a destanização dos frutos tratados com CO₂ a partir do quinto dia, e daqueles destanizados com etanol ao sétimo dia. Os *loadings* do tratamento com CO₂ destacaram, principalmente, o aumento nas concentrações de 12 compostos com o decorrer do tempo após o tratamento de destanização. No entanto, os frutos do oitavo dia após o tratamento com CO₂ apresentaram diminuição destes compostos. Os *loadings* do tratamento com etanol apresentaram aumento nas quantidades de apenas cinco compostos, o que significa que os processos de destanização e amadurecimento foram mais lentos nestes frutos. Os compostos 2,4-di-terc-butilfenol e 1-pentadecanal foram apontados como potenciais compostos marcadores para redução da adstringência em decorrência dos tratamentos com CO₂ e etanol. Caquis não tratados mantidos em condição ambiente apresentaram oito compostos relacionados ao amadurecimento. A análise sensorial corroborou a forte relação entre os dois compostos acima mencionados e a destanização dos frutos.

ABSTRACT

Astringency of persimmon fruit is due to soluble tannins that accumulate in tannin cells in the flesh and is noticed as an unpalatable sensation of dryness in the mouth. Other important characteristics in persimmons are taste and aroma. Flavor is composed of sweetness, sourness, and aroma volatiles. This study describes the volatile profile of 'Rama Forte' persimmon fruit, the effect of deastringency treatments performed by high concentration of CO₂ and ethanol, and the association of particular volatiles to the loss of astringency given by sensory and chemical evaluation. 'Rama Forte' persimmons were harvested with orange-yellow skin color and treated with CO₂ 70% for 18 hours or ethanol 1.7 mL kg⁻¹ for 6 hours. An essay with non-treated persimmon fruit was also performed. Fruit were kept at room conditions for eight days after the treatments. Persimmon fruit were evaluated for astringency, soluble tannins content, and volatile profile in the flesh by gas chromatography. Forty-two volatile compounds were identified on 'Rama Forte' persimmons from both treatments. Multivariate analysis showed deastringency happened on CO₂ treated fruit from the fifth day, and on seventh day for persimmons treated with ethanol. The loadings from CO₂ treatment mainly highlighted the increase in the concentrations of 12 compounds with the time after the deastringency treatment. However, the fruit from the 8th day after the CO₂ treatment showed the decrease of these compounds. The loadings from ethanol treatment mainly presented the increase in amounts of only five compounds, which means deastringency and ripening processes were slower on these fruits. The compounds 2,4-di-tert-butylphenol and 1-pentadecanal were identified as potential marker compounds for astringency reduction caused by both CO₂ and ethanol treatments. Non-treated persimmon fruit kept in the lab conditions showed the presence of eight volatile compounds which are related to natural ripening. Sensory analysis corroborated the stronger relationship between the two compounds above mentioned and the deastringency of persimmon fruit.

6.1 Introdução

A adstringência do caqui é devida aos taninos solúveis que se acumulam em células especializadas na polpa dos frutos (Taira, 1996), e é percebida como uma sensação desagradável de secura na boca. As cultivares de caqui são classificadas em quatro grupos, dependendo da sua adstringência na colheita e do grau de escurecimento da polpa causado pela polinização e, conseqüentemente, pela formação de sementes (Ito, 1971; Ito, 1986). Cultivares não adstringentes quando as sementes estão presentes (Polinização Variável Não Adstringente - tipo PVNA); cultivares não adstringentes independentemente da presença de sementes (Polinização Constante Não Adstringente - tipo PCNA); cultivares adstringentes na ausência de sementes e quando com sementes, a polpa não está adstringente ao redor das mesmas (Polinização Variável Adstringente - tipo PVA); cultivares adstringentes independentemente da presença de sementes (Polinização Constante Adstringente - tipo PCA). Geralmente, os frutos PCNA e PVNA são chamados de caquis doces porque não são adstringentes quando colhidos no estágio de maturação comercial, e os frutos de PCA e PVA são chamados de caquis adstringentes (Taira, 1996).

Caquis adstringentes perdem a adstringência naturalmente na planta apenas quando se tornam excessivamente maduros e com polpa extremamente macia. Tal fruto não pode ser consumidos quando firme, a menos que a adstringência seja removida artificialmente. Os tratamentos pós-colheita com dióxido de carbono e vapor de etanol são métodos bem conhecidos para este fim (Taira, 1996). A respiração anaeróbica causada pela atmosfera enriquecida com CO_2 ($\geq 70\% \text{CO}_2$) ativa a enzima piruvato descarboxilase que catalisa a descarboxilação do ácido pirúvico em acetaldeído e dióxido de carbono (Gazit & Adato, 1972). O processo de destanização realizado pelo vapor de etanol ativa a enzima álcool desidrogenase que converte o etanol em acetaldeído (Oshida *et al.*, 1996). Em ambos os processos, os taninos solúveis presentes nos vacúolos são polimerizados pelo acetaldeído e transformados através de reações físicas em sua forma insolúvel e não-adstringente (Matsuo & Ito, 1977).

A cultivar mais importante produzida no Brasil é a 'Rama Forte', seguida pela 'Giombo' (ambas do tipo PVA) e pela 'Fuyu' (tipo PCNA). A colheita dos caquis 'Rama Forte', dependendo da região, começa em fevereiro e continua até junho, com pico de produção em abril. Os frutos são consumidos quando a cor da casca

torna-se vermelha e a polpa macia e succulenta, depois de serem tratados com etileno ou etanol para remover a adstringência (Prohort, 2018). Caquis 'Rama Forte' firmes e não-adstringentes podem ser obtidos a partir do processo de destanização com altas concentrações de CO₂ (Muñoz, 2002).

Assim como a adstringência, o sabor e o aroma são características importantes em caquis. O sabor é um traço complexo, determinado pela genética, seguido por influências ambientais e culturais e afetado pelo estágio de maturação na colheita e pelo manejo pós-colheita. De forma simples, o sabor é composto pela doçura, acidez e pelos compostos voláteis aromáticos. Os compostos voláteis presentes em concentrações que possam ser percebidas pelo olfato humano são considerados como contribuintes para o sabor e o aroma (Baldwin, 2002). Caquis doces e adstringentes (antes e depois do tratamento de destanização) foram amplamente caracterizados, principalmente, com relação aos seus atributos físicos e químicos (Matsuo *et al.*, 1976; Ben-Arie & Sonogo, 1993; Castelló *et al.*, 2011; Novillo *et al.*, 2014; No *et al.*, 2014) e suas características anatômicas (Salvador *et al.*, 2007; Tessmer *et al.*, 2014). Pouca informação está disponível sobre compostos voláteis orgânicos em caquis e apenas um estudo mostrou a associação de voláteis ao processo de destanização (Besada *et al.*, 2013). Os compostos voláteis totais foram maiores nos caquis após o tratamento para remoção da adstringência do que antes deste (Taira, 1996, Martineli *et al.*, 2013). O perfil de aroma encontrado em caquis de diversos tipos e cultivares é variável, uma vez que o número de compostos voláteis relatado está entre 6 e 67 (Horvat *et al.*, 1991; Taira, 1996; Wang *et al.*, 2012; Martineli *et al.*, 2013; Besada *et al.*, 2013). Entre esses compostos detectados em caquis, benzenoacetaldeído, decanona, octanal, heptanal, diidrobenzofurano e 3 (2H)-benzofuranona foram identificados como potenciais metabólitos a desempenhar um papel no processo de perda de adstringência em caquis (Besada *et al.*, 2013).

A avaliação não supervisionada de dados a partir de cromatografia gasosa ou líquida acoplada à espectrometria de massas é desafiadora, devido à complexidade dos dados relacionados ao número elevado de variáveis associado à quantidade de amostras, componentes químicos e parâmetros-alvo para o delineamento experimental. Assim, o arranjo de análises multivariadas como Análise de Componentes Principais (PCA) e Regressão por mínimos quadrados parciais de (*Partial Least Squares*, PLS) é aplicado para entender a variabilidade

química relacionada à qualidade sensorial de frutos, vegetais e seus produtos comerciais (Kretzman *et al.*, 2008; De La Mata-Epinosa *et al.*, 2011; Alves Filho *et al.*, 2018). A identificação de componentes individuais (compostos marcadores) com maior impacto nos atributos sensoriais pode ser obtida pela combinação de modelagem quimiométrica exploratória e classificatória (Li *et al.*, 2009; Nicolai *et al.*, 2014).

Este estudo descreve o perfil volátil de caquis 'Rama Forte', o efeito do tratamento de destanização por etanol e altas concentrações de CO₂ e a associação de voláteis específicos à perda de adstringência dada pela avaliação sensorial e química.

6.2 Material e Métodos

6.2.1 Material

Caquis da cv. Rama Forte foram colhidos em pomar comercial localizado no município de Antônio Prado, RS em latitude 28 ° 51 'S, longitude 51 ° 16' W, altitude 658 m e clima Aw segundo a classificação de Köppen, durante a safra 2016/2017, num total de cinco colheitas ao longo da safra.

Os frutos foram colhidos no mesmo estágio de maturação, apresentando textura crocante e cor de casca no ponto de colheita comercial. Os caquis foram acondicionados em caixas plásticas de colheita (36,0 x 55,0 x 30,5 cm), revestidas internamente com plástico polibolha para proteger os caquis contra danos mecânicos durante o transporte. No laboratório, os frutos foram selecionados quanto à ausência de dano mecânico e sintomas de pragas e doenças, cor da casca (amarelo-alaranjado) e tamanho (entre 6 e 8 cm no maior diâmetro equatorial, valores 6 e 7) de acordo com as Normas de Classificação do Caqui do Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura (2009).

6.2.2 Tratamentos de remoção da adstringência

Um total de 285 caquis foram selecionados em cada colheita. Quinze caquis foram avaliados imediatamente após a colheita (frutos controle) e os remanescentes foram separados em dois blocos de 135 frutos, os quais foram expostos a diferentes tratamentos de remoção de adstringência. No tratamento 1 (T1) os frutos foram expostos a concentração de 70% de dióxido de carbono (CO₂)

por 18 horas. Os caquis foram acondicionados em caixas plásticas (36,0 × 55,0 × 30,5 cm), que foram colocados dentro de caixas plásticas herméticas (61 × 97 × 60 cm) com sistema de ventilação interna. A caixa foi fechada e o gás injetado a partir de um cilindro por um sistema de injeção automática. A concentração de CO₂ no interior da caixa foi monitorada continuamente por um analisador de gases (Gaspac Advance, GS3, Illinois Instruments) até que a concentração de CO₂ desejada fosse atingida.

Para o tratamento 2 (T2), os frutos foram expostos a 1,70 mL de etanol por kg de frutos durante 6 horas. Os frutos foram acondicionados da mesma maneira que no tratamento com CO₂. O etanol foi colocado no fundo da caixa sem que houvesse contato com o fruto, a caixa foi fechada e o sistema de ventilação foi imediatamente acionado.

Ambos os tratamentos foram aplicados à temperatura ambiente (20 ± 5 °C). Após o período de exposição, as caixas herméticas foram abertas e ventiladas. Os frutos foram mantidos à temperatura ambiente e avaliados imediatamente após o tratamento (dia 0) e nos oito dias subsequentes. Quinze frutos de cada tratamento foram avaliados quanto ao teor de taninos solúveis (%) e adstringência sensorial. Cinco caquis foram avaliados quanto ao perfil volátil. Embora os caquis das cinco colheitas tenham sido avaliados diariamente, apenas dados de dias específicos foram utilizados para taninos solúveis, adstringência e perfil volátil neste estudo. As amostras foram avaliadas em duas repetições para cada dia após os tratamentos de destanização. Como as avaliações sensoriais foram realizadas apenas nos dias úteis da semana, foram necessárias cinco colheitas durante a safra para a obtenção das amostras do dia 0 ao dia 8 após o tratamento de destanização. A primeira repetição para cada período pós-tratamento foi coletada da primeira (4 de abril), segunda (17 de abril) e quarta (5 de maio) colheitas, e a segunda repetição da segunda (17 de abril), terceira (2 de maio) e quinta (11 de maio) colheitas.

A fim de avaliar os compostos orgânicos voláteis (VOC) de caquis 'Rama Forte' não tratados, um ensaio foi realizado em abril de 2018. Os caquis foram colhidos no mesmo pomar no estágio de maturação caracterizado por textura crocante e cor de casca e tamanho comercial, e mantidos no laboratório em condição ambiente. As amostras foram avaliadas diariamente em três repetições durante oito dias.

6.2.3 Avaliação Sensorial de percepção da adstringência em caquis 'Rama Forte'

A aprovação para a realização deste trabalho foi concedida pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará, sob o número 147.279/2012. O painel consistiu de quinze avaliadores treinados, essencialmente funcionários da Embrapa Uva e Vinho, que foram selecionados com base em hábitos alimentares gerais, preferência por caquis de polpa macia, disponibilidade, acuidade sensorial normal (testes básicos e testes de detecção de odor) e capacidade de discriminar diferentes níveis de adstringência em caquis. A adstringência foi quantificada com uma escala linear não-estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos com termos que expressavam sua intensidade (ausente e muito intensa).

Os participantes do painel receberam caquis 'Rama Forte' em vários níveis de adstringência obtidos desde o dia 0, considerado como o fim do tratamento de remoção de adstringência, até o dia 8, quando a ausência de adstringência é esperada. O mesmo intervalo foi usado para treinamento e avaliação de amostras. Duas porções longitudinais da porção inferior do fruto foram colocadas em pratos plásticos codificados com números aleatórios de três dígitos. A fim de eliminar o sabor residual, água e biscoito de água e sal foram oferecidos entre as amostras. As amostras de caqui foram avaliadas em duas repetições para cada dia após os tratamentos de destanização.

6.2.4 Taninos Solúveis

Cada fruto previamente destanizado com CO₂ ou etanol teve uma fina fatia retirada de sua região equatorial. Amostras individualizadas foram congeladas e moídas em um moinho de bolas de câmara fechada pré-resfriada (MA 350, Marconi). Os taninos solúveis (TS) foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu (Taira, 1996) a 725 nm com espectrofotômetro (Carry 60UV-Vis, Agilent). Os resultados foram expressos em % de ácido gálico.

6.2.5 Preparo das amostras e análise HS-SPME/CG-MS

Uma fatia de 1 cm de espessura foi cortada da região equatorial de cada um dos cinco frutos destinados à determinação dos compostos orgânicos voláteis. Cada fatia foi, individualmente, triturada e homogeneizada em água ultrapura na

proporção de 1:1. Uma alíquota de 5 g de cada amostra foi acondicionada em frasco com rosca de 20 mL. Os frascos com as amostras permaneceram armazenados em ultrafreezer a -80 °C até momento da avaliação.

As amostras foram equilibradas a 80 °C durante 10 minutos com agitação constante a 500 rpm. Um suporte automático SPME (Supelco, Bellefonte, PA, EUA) com fibra DVB/CAR/PDMS (50/30 µm) de 1 cm de comprimento foi usado para capturar os compostos voláteis. A fibra SPME foi exposta no headspace da amostra à profundidade constante durante 40 minutos. A temperatura foi mantida em 80 °C durante a extração dos compostos voláteis. Após a extração, os voláteis foram desorvidos diretamente no *liner* e a fibra foi mantida a 250 °C por 3 minutos para acondicionamento. As análises foram realizadas em CG-MS Varian/Agilent 450GC-240MS ligado a um detector de quadrupolo operando no modo EI a 70 eV e 150 °C com intervalo de varrimento de massa de 35 a 400 m/z. O gás de arraste foi o hélio em vazão de 1,0 mL.min⁻¹. As temperaturas do injetor (*splitless mode*) e da interface foram de 250 °C e 280 °C, respectivamente. A temperatura da rampa foi: 35 °C por 5 minutos, aumentada para 180 °C a 5 °C.min⁻¹. A temperatura foi mantida a 180 °C durante 10 minutos e depois aumentada para 250 °C a 10 °C.min⁻¹. A temperatura final (250 °C) foi mantida durante 5 minutos. As separações cromatográficas foram realizadas utilizando coluna de fenil-metil 5% (HP5-MS - 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 mm). Os componentes individuais foram identificados comparando os seus índices de retenção linear (IRL) com uma série de n-alcenos C8-C30 (Van den Dool & Kratz, 1963). Os espectros de massa foram comparados com a biblioteca de espectros de massas NIST e com aqueles disponíveis na literatura.

6.2.6 Análise quimiométrica

A partir das cinco amostras coletadas para determinação de compostos orgânicos voláteis, somente três foram selecionadas para a análise quimiométrica, com base na homogeneidade dos dados. Para cada tratamento foi construída uma matriz numérica contendo 54 cromatogramas (2 repetições de 3 frutos durante nove períodos). A região dos cromatogramas entre 5 e 60 minutos foi convertida para ASCII (American Standard Code for Information Interchange) e exportada para posterior análise quimiométrica por Análise de Componentes Principais (PCA) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) usando o programa The

Unscrambler X™ 10.4 (Software CAMO, Woodbridge, NJ, EUA). Os cromatogramas foram pré-processados com correção da linha de base utilizando algoritmo de ajuste linear e normalização, o que resultou em duas matrizes numéricas com dimensão de 2520 dados (60 amostras x 42 compostos identificados). Após a aplicação do pré-processamento centrado na média, uma análise não supervisionada por PCA usando o algoritmo de decomposição do valor singular (SVD) foi aplicada para cada matriz, uma vez que esse pré-tratamento enfatizava as diferenças e similaridades entre as amostras. As extrações de informações relevantes dos dados químicos foram obtidas nos três primeiros componentes principais (PC).

Para melhorar a identificação das alterações químicas e dos compostos marcadores para remoção da adstringência e maximizar a tendência de separação entre os grupos de amostras, empregou-se a modelagem PLS supervisionada utilizando os taninos solúveis e adstringência previamente determinados (itens 2.3 e 2.4) como variáveis categóricas (Y coluna). O algoritmo NIPALS foi aplicado na construção dos modelos e as variáveis latentes foram selecionadas de acordo com parâmetros estatísticos: RMSEC (Root Mean Squared Error of Calibration); RMSECV (Raiz Quadrada Média do Erro de Calibração); coeficientes de correlação (r^2); e proximidade entre os valores RMSEC e RMSECV como critério de similaridade. O método de validação cruzada completa foi aplicado para avaliar o desempenho dos modelos.

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Identificação dos compostos orgânicos voláteis (VOC)

Dois diferentes tratamentos de destanização (CO₂ e etanol) foram realizados nos frutos de caquizeiro 'Rama Forte' e o efeito sobre a composição orgânica volátil foi avaliado todos os dias, desde o término do período de exposição até oito dias após os tratamentos. A tabela 1 apresenta o VOC identificado nos frutos tratados com os dois agentes destanizadores, com o respectivo tempo de retenção (TR), índice de retenção (IR), maior razão m/z (razão massa sobre carga) e percentual de correspondência. A análise dos frutos de caquizeiro 'Rama Forte' permitiu a identificação de 42 compostos voláteis em frutos provenientes dos dois tratamentos de destanização.

TABELA 1. VOC detectado em frutos controle (não tratados) de caqui 'Rama Forte' e naqueles tratados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹, com o respectivo tempo de retenção (TR em min.), índice de retenção (IR), pico m/z, e percentual (%) de correspondência.

n°	TR (min)	IR*	Composto	Razão m/z	Correspond. (%)	Referência
1	5,237	765	Tolueno	91	79,6	Maia <i>et al.</i> , 2000; Isidorov <i>et al.</i> , 2001
2	6,470	805	Hexanal	44	92,2	Adams, 2007
3	8,603	857	Hexenal <(2E)>	41	95,4	Adams, 2007
4	9,917	891	o-Xileno	91	89,3	Wang <i>et al.</i> , 1994; Pino <i>et al.</i> , 2005
5	10,491	911	Heptanal	44	75,7	Adams, 2007
6	11,211	926	α-Felandreno	93	88,4	
7	11,386	930	α-Pineno	93	95,1	Dickens, 1999; Dickens, 2000
8	11,913	945	Canfeno	93	92,5	Adams, 2007
9	12,970	973	β-Pineno	93	92,7	Adams, 2007
10	13,656	992	Mirceno	93	87,0	Adams, 2007
11	14,743	1024	ρ-Cimeno	119	88,3	Adams, 2007
12	14,867	1028	D-Limoneno	68	89,9	Adams, 2007
13	14,923	1032	Eucaliptol (1,8-cineole)	43	91,7	Adams, 2007
14	15,894	1059	γ-Terpineno	93	90,0	Adams, 2007
15	16,867	1088	Terpinoleno	93	88,9	Adams, 2007
16	17,467	1142	Nonanal	57	90,9	Adams, 2007
17	20,314	1200	n-Dodecano	57	83,9	Adams, 2007
18	20,961	1222	β-Ciclocitral	137	91,0	Nickavar <i>et al.</i> , 2002; Qiming, 2006
19	23,149	1300	Tridecano	57	91,3	Adams, 2007
20	25,782	1399	n-Tetradecano	57	95,0	Adams, 2007
21	26,592	1432	α-Ionona	121	85,7	Adams, 2007
22	27,191	1456	Geranil acetona	43	89,8	Adams, 2007
23	28,077	1491	β-Ionona	177	90,8	Adams, 2007
24	28,279	1500	n-Pentadecano	57	93,4	Adams, 2007
25	28,617	1509	2,4-Di-terc-butilfenol	191	93,9	Zhao <i>et al.</i> , 2006
26	30,634	1599	1-Isobutil 4-Isopropil 3-isopropil-2,2-dimetilsucinato	71	85,3	Wu <i>et al.</i> , 2005
27	32,878	1535	n-Heptadecano	57	93,3	Adams, 2007
28	33,199	3993	1-Pentadecanal	82	94,2	Andriamaharavo, 2014
29	34,972	1795	Tetradecanoato de etila	88	89,1	Adams, 2007
30	38,067	1904	Palmitoleato de metila	55	83,2	Hanai & Hong, 1989
31	38,817	1923	Hexadecanoato de metila	74	84,3	Palmeira <i>et al.</i> , 2004; Zeng <i>et al.</i> , 2007
32	39,532	1941	Ácido 9-hexadecenoico	55	83,8	Kim & Chang, 2009
33	40,345	1962	Ácido hexadecanoico	73	86,9	Zeng <i>et al.</i> , 2007; Assuming <i>et al.</i> , 2005

continuação TABELA 1. VOC detectado em frutos controle (não tratados) de caqui 'Rama Forte' e naqueles tratados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹, com o respectivo tempo de retenção (TR em min.), índice de retenção (IR), pico m/z, e percentual (%) de correspondência.

34	40,615	1969	9-Hexadecenoato de etila	55	93,6	Andriamaharavo, 2014
35	40,756	1972	Hexadecadienoato de etila	67	91,9	-
36	41,643	1995	Hexadecanoato de etila	88	90,3	Adams, 2007
37	43,099	2029	Palmitato de isopropila	43	88,6	Radulović <i>et al.</i> , 2010
38	47,702	2166	Linolato de etila	67	82,3	Andriamaharavo, 2014
39	47,839	2172	Linolenato de etila	79	86,8	Zao <i>et al.</i> , 2006
40	47,989	2170	Oleato de etila	55	90,3	Pino <i>et al.</i> , 2005
41	48,447	2199	Docosano	57	84,7	Adams, 2007
42	50,027	2299	Tricosano	57	80,5	Adams, 2007

*RI - Índice de retenção: tempos de retenção usando séries de alcanos (C8-C30) convertidos em constantes independentes; coluna cromatográfica 5 % de fenil-metila (HP5-MS-30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm).

6.3.2 Quimiometria exploratória dos dados CG-MS

Devido à complexidade do conjunto de dados resultante de GC-MS (60 cromatogramas x 42 compostos identificados = dimensão de 2.520 dados) para cada tratamento de destanização (CO₂ e etanol), uma análise multivariada não supervisionada por PCA foi desenvolvida para explorar a variabilidade do VOC de caquis 'Rama Forte' tratados por ambos os agentes destanizadores. As figuras 1a e 2a ilustram o gráfico de pontos 3D (PC1 x PC2 x PC3) dos tratamentos com CO₂ e etanol, respectivamente, e as figuras 1c e 2c representam os *loadings* relevantes plotados na forma de linha. As figuras 1b e 2b ilustram o gráfico de influência relacionado ao primeiro PC, com a distribuição dos frutos de acordo com os resíduos T² x F do Hotelling, que mostraram claramente a ausência de outliers (amostras no quadrante superior esquerdo) (Ballabio & Matlab, 2015). Os frutos ao final de ambos os tratamentos (CO₂ e etanol) apresentaram maior influência nos modelos exploratórios pelo maior T² de Hotelling e menor erro (F-residual).

Os resultados dos *scores* apresentaram tendências de separação das amostras relacionadas aos três primeiros componentes principais (PCs), com 41,4% e 59,4% da variância total para tratamentos com CO₂ e etanol, respectivamente. Os frutos controle (não tratados) estão indicados na cor preta; os frutos avaliados logo após o período de exposição (CO₂ e etanol) estão em ciano,

após o primeiro, segundo, terceiro, quarto, quinto, sexto, sétimo e oitavo dias, os frutos estão representados pelas cores azul escuro, verde, verde claro, amarelo escuro, laranja, vermelho, marrom e violeta, respectivamente.

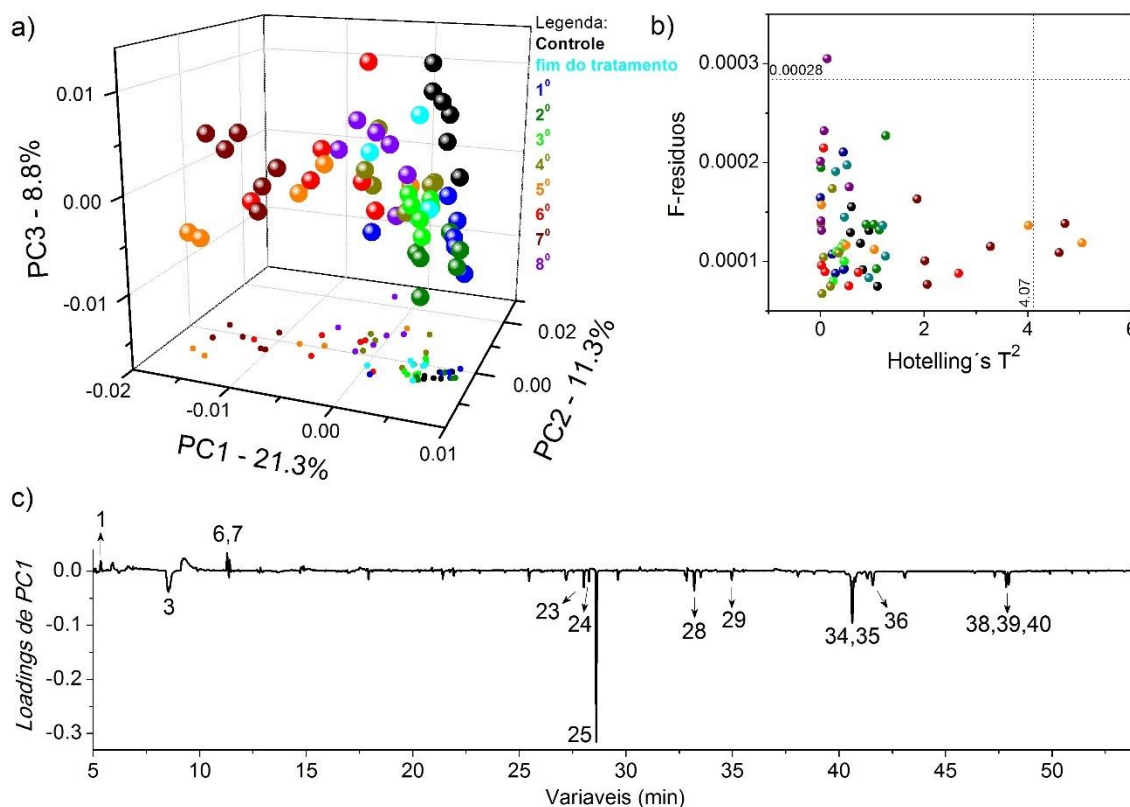


FIGURA 1. a) Sistema de coordenadas de pontuação 3D (PC1 x PC2 x PC3) dos frutos controle e avaliados imediatamente após o tratamento com CO₂ 70% durante 18 horas e nos oito dias subsequentes de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C), com projeção do plano PC1 x PC2; b) gráfico de influência dos resíduos T² x F de Hotelling relacionados ao PC1; c) *loadings* relevantes plotados na forma de linhas.

Em geral, ambos os resultados do PCA (CO₂ e etanol) mostraram clara separação dos frutos desde o início até o final do período pós-tratamento. O PC1 foi o principal eixo responsável pela separação dos frutos de acordo com o período de tempo após o tratamento de remoção da adstringência. Os eixos PC2 e PC3 destacaram a separação dos frutos e melhoraram a atribuição dos compostos aos *scores*. As amostras de caquis destanizados com CO₂ e coletadas imediatamente após as 18 horas de tratamento e aquelas provenientes dos primeiros quatro dias estão agrupadas com as amostras controle (caquis que não receberam tratamento e destanização) em *scores* positivos do PC1, e os caquis após períodos mais longos de pós-colheita (5 a 8 dias) apresentaram tendência ao agrupamento em *scores* negativos do mesmo PC. No tratamento com etanol, apenas os frutos

provenientes dos períodos mais longos em temperatura ambiente (7 e 8 dias) estão localizados em scores negativos de PC1.

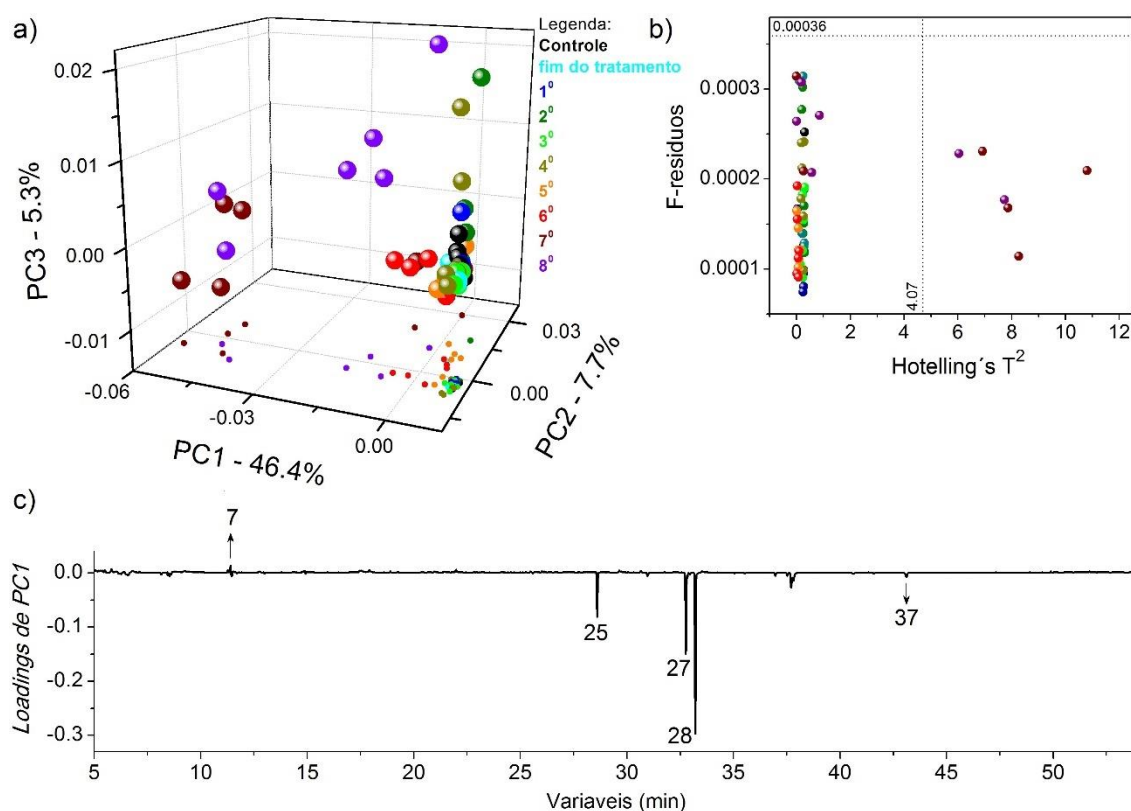


FIGURA 2. a) Sistema de coordenadas de pontuação 3D (PC1 x PC2 x PC3) dos frutos controle e avaliados imediatamente após o tratamento com etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas e nos oito dias subsequentes de manutenção em condição ambiente (20 ± 5 °C), com projeções no plano PC1 x PC2; b) gráfico de influência dos resíduos T² x F de Hotelling relacionados ao PC1; c) *loadings* relevantes plotados na forma de linhas.

Os *loadings* do tratamento com CO₂ (Figura 1c) destacaram, principalmente, o aumento nas concentrações de 2,4-di-terc-butilfenol (composto 25) com a avanço dos dias após o tratamento. Além disso, outros compostos como hexanal (3), β-ionona (23), n-pentadecano (24), 1-pentadecanal (28), e os ésteres tetradecanoato de etila (29), 9-hexadecanoato de etila (34), 9,12-hexadecadienoato de etila (35), hexadecanoato de etila (36), linolato de etila (38), linolenato de etila (39) e oleato de etila (40) aumentaram com o tempo após o tratamento de destanização. No entanto, os frutos provenientes do oitavo dia após o tratamento com CO₂ apresentaram tendência de agrupamento com os frutos dos períodos mais curtos (desde imediatamente após o tratamento até o quarto dia), o que mostrou a diminuição dos compostos acima mencionados.

Os *loadings* do tratamento com etanol (Figura 2c) apresentaram, principalmente, aumento nas quantidades de 2,4-di-terc-butilfenol (25), n-heptadecano (27) e 1-pentadecanal (28) nos frutos a partir do sétimo e oitavo dias após a destanização (períodos mais longos), bem como um pequeno aumento nas quantidades de α -pineno (7) e palmitato de isopropila (37), que diferiram dos frutos tratados com CO₂.

Adicionalmente, para reduzir ou eliminar a variabilidade dos compostos influenciada apenas pelo efeito do amadurecimento, foi consuzido um experimento paralelo com caquis mantidos em condições de laboratório, isto é, sem terem sido submetidos a qualquer tratamento de destanização. Os compostos destacados neste experimento foram o hexanal, hexenal, α -pineno, nonanal, β -ciclocitral, geranil acetona e β -ionona. A tabela 2 indica a presença/ausência dos compostos durante os oito dias após a colheita.

TABELA 2. VOC (marcados com x) em caquis 'Rama Forte' adstringentes (sem tratamento de destanização), mantidos em condição de laboratório durante oito dias após a colheita, com o respectivo tempo de retenção (TR em minutos).

Composto	TR (min.)	Avaliação na Colheita	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8
Hexanal	6,470	x	x	x	x					
2-Hexanal	8,603	x	x	x	x	x				
α -Pineno	11,386					x				
Nonanal	17,467	x				x			x	
β -Ciclocitral	20,961	x	x	x	x	x	x			
Geranil acetona	27,191	x	x		x	x				x
β -Ionona	28,077	x	x		x	x	x			x

6.3.3 Análise de regressão multivariada

A adstringência e a concentração de taninos solúveis apresentados na tabela 3 foram utilizadas como variáveis categóricas (coluna Y) para análise de regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS). Portanto, foram criadas duas modelagens de calibrações para cada tratamento (CO₂ e etanol) para melhorar a associação da variabilidade química da resposta de GC-MS (cromatogramas) de acordo com a adstringência e os taninos solúveis, de forma a corroborar os compostos marcadores. A adstringência em caquis tratados com CO₂ reduziu a

partir do quinto dia após o tratamento, quando os valores se aproximaram do extremo esquerdo da escala. A concentração de taninos solúveis na polpa dos caquis neste tempo foi de 0,06% (Tabela 3). A adstringência tendendo para o extremo esquerdo da escala foi observada a partir do sétimo dia após a exposição dos frutos ao vapor de etanol, sendo que concentrações de taninos solúveis próximas a 0,1% (0,11%) foram encontradas nesses frutos a partir do quinto dia após o tratamento (Tabela 3).

Em conjunto, os parâmetros estatísticos utilizados para avaliar a qualidade dos modelos de calibração (Tabela 4) indicaram que a predição da adstringência no tratamento com CO₂ foi melhor ajustada com 3 variáveis latentes (VL), com base em erros de calibração e validação baixos, proximidade entre eles (critério de similaridade) bem como os maiores coeficientes de correlação (Freitas *et al.*, 2018).

TABELA 3. Adstringência sensorial e teor de taninos solúveis (%) (TS) em caquis 'Rama Forte' tratados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas e mantidos por até oito dias em condição ambiente (20 ± 5 °C).

		CO ₂								
		Dia 0*	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8
Adstringência		6,31	4,90	3,03	5,35	3,20	1,25	0,45	0,34	2,56
TS		0,070	0,080	0,066	0,062	0,063	0,060	0,096	0,072	0,050
		Etanol								
Adstringência		8,43	8,12	7,68	7,16	5,75	3,43	2,84	1,80	1,04
TS		0,228	0,239	0,242	0,153	0,142	0,111	0,112	0,111	0,106

*Imediatamente após o tratamento de destanização

TABELA 4. Parâmetros estatísticos obtidos por modelagem de regressão multivariada utilizando a regressão PLS para caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% durante 18 horas e etanol 1,7 mL kg⁻¹ durante 6 horas e mantidos por até oito dias em condição ambiente (20 ± 5 °C).

		CO ₂					
		3VL ^a	r ² cal ^b	RMSEC ^c	r ² val ^d	RMSECV ^e	RMSEC / RMSECV ^f
Adstringência		84,96 %	0,85	0,793	0,69	1,156	0,69
TS		56,36 %	0,56	0,008	-	0,013	0,61
		Etanol					
Adstringência		82,05 %	0,82	1,154	0,58	1,798	0,64
TS		68,92 %	0,69	0,031	0,39	0,044	0,70

^a Percentual total de variância na matriz x refere-se a três variáveis latentes (VL);

^b Coeficiente de correlação entre o valor real e o valor previsto durante a calibração;

^c Raiz quadrada média do erro de calibração;

^d Coeficiente de correlação entre o valor real e o previsto durante a validação;

^e Raiz quadrada média do erro de validação cruzada;

^f Critério de Similaridade.

6.3.4 Discussão

A composição volátil dos frutos inclui uma variedade de produtos químicos de diversas classes (Valero & Serrano, 2010). Aldeídos, ésteres, cetonas, terpenóides e compostos contendo enxofre são os voláteis mais importantes presentes em frutos (Baldwin, 2002). A análise dos frutos de caqui 'Rama Forte' permitiu a identificação de 42 compostos voláteis, incluindo 10 terpenos, 10 ésteres, 7 alcanos, 5 aldeídos, 3 hidrocarbonetos aromáticos, 3 cetonas, 2 ácidos graxos, 1 ácido carboxílico e 1 fenol. Entre os compostos identificados, aldeídos e ésteres são conhecidos por serem importantes no sabor e aroma dos frutos (Vendramini & Trugo, 2000; Alves Filho *et al.*, 2018).

Somente alguns estudos estão disponíveis na literatura sobre compostos orgânicos voláteis em caquis e nenhum dos compostos foi comum a todos. Setenta e sete VOC foram relatados por Besada *et al.* (2013) em caquis pertencentes aos grupos PCA, PVA, PCNA e PVNA, e apenas três deles (hexanal, heptanal e geranyl acetona) também foram encontrados no presente estudo. Os compostos voláteis α -cimeno, β -pineno, mircenol, D-limoneno, γ -terpineno e terpinoleno identificados neste estudo também foram relatados em caquis adstringentes da cv. Mikado após serem tratados com etanol para remoção da adstringência. Quatorze compostos voláteis foram encontrados nessa variedade (Martineli *et al.*, 2013). Em caquis 'Triumph', outra variedade adstringente, cinquenta compostos foram identificados, dentre os quais os aldeídos destacaram-se como a classe mais importante de compostos voláteis (Wang *et al.*, 2011). Hexenal <(2E)>, hexanal, nonanal, heptanal, β -ionona e geranyl acetona encontrados em caquis 'Triumph' foram comuns a este trabalho com caquis 'Rama Forte'. Estudos da década de 1990 revelaram seis (Horvat *et al.*, 1991) e vinte e três (Taira, 1996) VOC em diversas cultivares de caquis adstringentes e doces. Hexenal <(2E)>, encontrado em caquis 'Rama Forte' avaliados neste estudo, também foi relatado por Horvat *et al.* (1991) e Taira *et al.* (1996). Outros compostos identificados e que foram comuns a outros estudos foram o ácido palmítico (ácido hexadecanóico) (Horvat *et al.*, 1991) e o tridecano, hexanal e nonanal (Taira *et al.*, 1996).

Os métodos de extração de aromas interferem no perfil e na concentração dos compostos voláteis extraídos (Valero & Serrano, 2010). Além disso, há uma

diferença muito clara no perfil volátil entre as diferentes cultivares, especialmente entre as adstringentes e as doces, e entre tratamentos de destanização (Pesis, 1996; Besada *et al.*, 2013), que explicam essa diferença entre os perfis voláteis relatados pelos autores. Os compostos observados, hexanal e hexenal <(2E)> são importantes compostos de impacto do sabor do caqui (Horvat *et al.*, 1991; Valero & Serrano, 2010; Wang *et al.*, 2011).

Tradicionalmente, análises multivariadas são aplicadas para explorar uma matriz complexa de dados, a fim de determinar variações e relações entre as amostras e sua composição (variáveis) (Beebe *et al.*, 1998). Apesar das baixas variâncias totais explicadas nos três PCs para os dois modelos, decorrente da heterogeneidade no amadurecimento dos frutos observada após os tratamentos, tendências importantes na variabilidade das amostras puderam ser observadas, principalmente após o tratamento com CO₂. As amostras de frutos destanizados com CO₂ apresentaram clara separação, em que nos primeiros quatro dias permaneceram agrupadas com as amostras controle em escores positivos. A partir do quinto dia pós-destanização, as amostras apresentaram tendência de agrupamento em *scores* negativos, indicando a maior ação do agente destanizador e do amadurecimento neste dias. Já no tratamento com etanol, a separação ocorreu entre os tempos 0 a 6, que permaneceram agrupados com as amostras controle, e 7 a 8 dias após o tratamento, o que mostra a ação mais lenta do tratamento com etanol para redução da adstringência. A ação mais lenta do etanol em comparação ao CO₂ em diversas cultivares de caquizeiro foi reportada anteriormente (Tamura *et al.*, 1999; Muñoz, 2002; Yamada *et al.*, 2002; Vitti, 2009; Yin *et al.*, 2012).

Os *loadings* do tratamento com CO₂ indicaram aumento nas concentrações de doze VOC com o avanço do tempo, no entanto, no oitavo dia após o tratamento o frutos apresentaram redução dos compostos liberados. Compostos aromáticos são provenientes de diferentes vias do metabolismo de ácidos graxos, aminoácidos, fenólicos e terpenóides. À medida que o fruto amadurece, compostos aromáticos característicos são produzidos, e isso é frequentemente associado à síntese de etileno em frutos climatéricos (Baldwin, 2002). Por outro lado, o perfil volátil sofre algumas mudanças durante os últimos estádios de maturação dos frutos. O decréscimo em vários compostos voláteis foi relatado durante o armazenamento de feijoas, com perda do aroma e sabor característicos (Shaw *et*

al., 1983). Dos onze VOC inicialmente identificados após o tratamento de destanização de caquis 'Mikado', apenas três foram novamente relatados e um novo composto foi encontrado após os frutos tornarem-se maduros (Martineli, et al., 2013). A maior parte dos caquis 'Rama Forte', a partir do oitavo dia após o tratamento com CO₂, estava sobremaduro, com polpa macia, casca vermelha e já apresentando algumas rachaduras, o que pode explicar a diminuição observada no VOC desses frutos.

Os *loadings* do tratamento com etanol indicaram aumento de apenas cinco compostos voláteis. Os únicos compostos em comum com o tratamento com CO₂, foram o 2,4-di-terc-butilfenol e o 1-pentadecanal. Particularmente, observou-se que os frutos tratados com etanol mantiveram a cor laranja da casca e a elevada firmeza da polpa, atributos de qualidade relacionados ao amadurecimento. Como esses frutos não atingiram os últimos estádios de maturação, a biossíntese de alguns compostos voláteis pode não ter sido induzida, o que pode explicar o menor número de VOC nos frutos tratados com este agente destanizador.

A adstringência dos frutos de caquizeiro pode ser removida por meio do tratamento com etanol ou dióxido de carbono. Ambos os tratamentos promovem a produção de acetaldeído na polpa do fruto, responsável pela polimerização dos taninos solúveis presentes nos frutos adstringentes em compostos insolúveis. Embora o acetaldeído seja formado durante o tratamento de destanização dos caquis, este é um componente natural do aroma que se acumula durante o amadurecimento em quase todas os frutos e, juntamente com o etanol, está relacionado à produção de aroma volátil em frutos (Pesis, 1996). Quanto maior a concentração de acetaldeído na polpa do caqui, mais rápido se dá o amadurecimento e a produção de voláteis. Tal condição pôde ser encontrada em caquis 'Rama Forte' expostos à alta concentração de CO₂, uma vez que alterações associadas ao amadurecimento e maior perfil volátil podem estar relacionadas à disponibilidade de acetaldeído proveniente da descarboxilação do ácido pirúvico. Por outro lado, a álcool desidrogenase, que catalisa a oxidação do álcool em acetaldeído, tem uma constante de equilíbrio extremamente pequena ($2,14 \times 10^{-11}$) e um valor de *K_m* relativamente pequeno para o acetaldeído ($4,4 \times 10^{-4}$), o que significa que a reação favorece fortemente a formação de etanol (Sund, & Theorell, 1963). Portanto, é improvável que uma grande quantidade de acetaldeído exista no

tecido, o que explica o amadurecimento mais lento e o menor perfil volátil em caquis tratados com etanol.

Os compostos 2,4-di-terc-butilfenol (25) e 1-pentadecanal (28) podem ser potenciais compostos marcadores da redução da adstringência de caquis 'Rama Forte' tratados com CO₂ ou etanol. Estes compostos não foram relatados anteriormente em nenhuma outra cultivar de caquizeiro. Outros compostos voláteis, benzenoacetaldéido, decanona, octanal, heptanal, di-hidrobenzofurano e 3(2H)-benzofuranona foram identificados por Besada *et al.* (2013) como candidatos a desempenhar um papel no processo natural e artificial de perda de adstringência em diversas cultivares de caquis adstringentes e doces.

O experimento conduzido com caquis 'Rama Forte' não destanizados e mantidos em condição ambiente por até oito dias reforçou a hipótese de que os compostos acima mencionados não estão relacionados ao efeito natural de maturação, mas sim ao tratamento de destanização, já que os compostos destacados neste experimento foram hexanal, hexenal, α -pineno, nonanal, β -ciclocitral, geranil acetona e β -ionona.

A adstringência e a concentração de taninos solúveis utilizados para análise de regressão PLS corroboraram a forte relação entre a remoção da adstringência e os compostos 2,4-di-terc-butilfenol e 1-pentadecanal. A adstringência em caquis tratados com CO₂ reduziu a partir do quinto dia após o tratamento de destanização, quando os valores se aproximaram do extremo esquerdo da escala (ausência de adstringência) e a concentração de taninos solúveis na polpa dos frutos foi de 0,06%. Frutos de caquizeiro com concentrações de taninos solúveis menores que 0,1% são considerados não-adstringentes (Taira, 1996). Valores menores que 0,1% foram observados nos caquis tratados com CO₂ desde o final do período de 18 horas de exposição ao gás e permanecem em níveis baixos durante os 8 dias após o tratamento. No entanto, comportamento semelhante não foi observado na percepção da adstringência, o que significa que a adstringência do caqui não pode ser representada apenas pela concentração de taninos solúveis na polpa. Da mesma forma, a adstringência tendendo para o extremo esquerdo da escala foi notada a partir do sétimo dia após a exposição do fruto ao vapor de etanol, embora concentrações de taninos próximas a 0,1% tenham sido encontradas nesses frutos a partir do quinto dia após o tratamento.

A destanização e o amadurecimento são processos biológicos independentes que podem ocorrer simultaneamente, ambos levando à biossíntese de compostos orgânicos voláteis. Adicionalmente, foi possível corroborar a forte relação entre a remoção da adstringência e os compostos 2,4-di-terc-butilfenol e 1-pentadecanal, reafirmando-os como compostos marcadores para a destanização artificial de caquis 'Rama Forte'.

6.4 Conclusões

Dentre os 42 compostos orgânicos voláteis identificados em caquis 'Rama Forte' expostos ao CO₂ ou ao etanol para remoção da adstringência, dois deles 2,4-di-terc-butilfenol e 1-pentadecanal, podem ser usados como compostos marcadores para remoção da adstringência promovida por ambos CO₂ e etanol.

6.5 Referências Bibliográficas

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4 ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.

ALVES FILHO, E. G. et al. Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC-MS coupled to chemometrics. **Food Chemistry**, Barking, v. 265, p. 23-31, 2018.

ANDRIAMAHARAVO, N. **Retention data**. Gaithersburg, MD, USA: NIST Mass Spectrometry Data Center, 2014.

ASUMING, W.A. et al. Essential oil composition of four *Lomatium* Raf. species and their chemotaxonomy. **Biochemical Systematics and Ecology**, Pennsylvania, v. 33, n. 1, p. 17-26, 2005.

BALLABIO, D.; MATLAB, A. Toolbox for principal component analysis and unsupervised exploration of data structure. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 149, p. 1-9, 2015.

BALDWIN, E. A. Fruit flavor, volatile metabolism and consumer perceptions. In: KNEE, M. (Ed.). **Fruit quality and its biological basis**. Ohio: CRC Press, 2002. p. 89-106.

BEEBE, K.R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: Wiley-Interscience, 1998. v.4.

BEN-ARIE, R. SONEGO, L. Temperature affects astringency removal and recurrence in persimmon. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 6, p. 1397-1400, 1993.

- BESADA, C. et al. Volatile compound associated to the loss of astringency in persimmon fruit revealed by untargeted GC-MS analysis. **Metabolomics**, Boston, v. 9, p. 123-171, 2012.
- CASTELLÓ, M. L. et al. Influence of thermal treatment and storage on astringency and quality of a spreadable product from persimmon fruit. **Food Chemistry**, Barking, v. 128, p. 323-329, 2011.
- DE LA MATA-ESPINOSA, P. et al. Olive oil quantification of edible vegetable oil blends using triacylglycerols chromatographic fingerprints and chemometric tools. **Talanta**, Oxford, v. 85, n. 1, p. 177-182, 2011.
- DICKENS, J. C. Predator–prey interactions: olfactory adaptations of generalist and specialist predators. **Agricultural and Forest Entomology**, Banchory, v. 1, n. 1, p. 47-54, 1999.
- EI HADI, M. A. M. et al. Advances in fruit aroma volatile research. **Molecules**, Basel, v. 18, n. 7, p. 8200-8229, 2013.
- FREITAS, J. V. B. et al. Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. **Talanta**, Oxford, v. 180, p. 329-336, 2018.
- GAZIT, S.; ADATO, I. Effect of carbon dioxide atmosphere on the course of astringency disappearance of persimmon (*Diospyros kaki* Linn.) fruits. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 36, n. 6, p. 815-817, 1972.
- HANAI, T.; HONG, C. Structure-retention correlation in CGC. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 12, n. 5, p. 327-332, 1989.
- HORVAT, R. J. et. al. Volatile compounds from the mesocarp of persimmons. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 1, p. 262-263, 1991.
- HOTELLING, H. Analysis of a complexo of statistical variables into principal componentes. **Journal of Educational Psychology**, Washington, DC, v. 24, n. 6, p. 417-441, 1933.
- ISIDOROV, V. et al. Partition coefficients of alkyl aromatic hydrocarbons and esters in a hexane–acetonitrile system. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 923, n. 1, p. 127-136, 2001.
- ITO, S. The persimmon. In: HULME, A. C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971. v. 2, p. 281-301.
- ITOO, S. Persimon. In: MOSELISE, S. P. (Ed.). **CRC handbook of fruit set and development**. Boca Raton: CRC Press, 1986. p. 355-370.
- KIM, J. S.; CHUNG, H.Y. GC-MS analysis of the volatile components in dried boxthorn (*Lycium chinensis*) fruit. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, Nonghwahakhoeji, v. 52, n. 5, p. 516-524, 2009.

- KREUTZMANN, S. et al. Prediction of sensory quality in raw carrots (*Daucus carota* L.) using multi-block LS-ParPLS. **Food Quality and Preference**, Amsterdam, v. 19, n. 7, p. 609-617, 2008.
- LI, Z. et al. Ripeness and rot evaluation of 'Tommy Atkins' mango fruit through volatiles detection. **Journal of Food Engineering**, London, v, 91, n. 2, p. 319-324, 2009.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H .A.; GRAÇAS, B. Z. M. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, London, v. 13, n. 3, p. 227-232, 2000.
- MARTINELLI, M. et al. Caqui cv. 'Mikado': análise de compostos voláteis em frutos adstringentes e destanizados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 8, p. 1516-1521, ago. 2013.
- MATSUO, T.; ITO, S. On mechanisms of removing astringency in persimmon fruits by carbon dioxide treatment I. Some proprieties of the two processes in the de-astringency. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v. 18, p. 17-25, 1977.
- MATSUO, T.; ITOO, S. A model experiment for de-astringency of persimmon fruit with high carbon dioxide treatment: in vitro gelation of kaki-tannin by reacting with acetaldehyde. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 46, n. 3, p. 683-689, 1982.
- MUÑOZ, V. R. S. **Destanização do caqui (*Diospyros caqui* L.) 'Rama Forte'**. 2002. 164 f. Tese (Doutorado) - Engenharia Agrícola, Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- NICKAVAR, B. et al. Steam volatiles of *Vaccinium arctostaphylos*. **Pharmaceutical Biology**, London, v. 40, n. 6, p. 448-449, 2002.
- NICOLAÏ, B.M. et al. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 5, p. 285-312, 2014.
- NO, J. et al. Effect of astringency removal conditions on the quality of Daebong persimmon. **The Korean Journal of Food and Cookery Science**, Seoul, v. 30, n. 3, p. 351-359, 2014.
- NOVILLO, P. et al. Deadstringency treatment with CO₂ induces oxidative stress in persimmon fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 16-22, 2014.
- OSHIDA, M.; YONEMORI, K.; SUGIURA, A. On the nature of coagulated tannins in astringent-type persimmon fruit after an artificial treatment of astringency removal. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 8, p. 317-327, 1996.
- PALMEIRA, S. F. et al. Neutral components from hexane extracts of *Croton sellowii*. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 19, n. 1, p. 69-71, 2004.

PESIS, E. Introduction of fruit aroma and quality by post-harvest application of natural metabolites or anaerobic conditions. In: LINKSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Org.). **Modern methods of plant analysis**. Berlin: Springer, 1996. v. 18, p. 19-36.

PINO, J. A. et al. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 53, n. 6, p. 2213-2223, 2005.

PROGRAMA BRASILEIRO PARA MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA. Normas de classificação: caqui. São Paulo: CEAGESP, 2009. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/classificacao/caqui/caqui.html>>. Acesso em: 03 set. 2017.

PROHORT. **Panorama do caqui comercializado no ETSP-Ceagesp, 2016**. 2018. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/2016-06-03-10-48/decidindo-o-futuro-do-caqui.html?showall=&start=05>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

QUIMING, X. et al. Chemical composition of essential oils of two submerged macrophytes, *Ceratophyllum demersum* L. and *Vallisneria spiralis* L. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 1, n. 3, p. 524-526, 2006.

RADULOVIĆ, N. S.; ĐORĐEVIĆ, N. D.; PALIĆ R. M. Volatiles of *Pleurospermum austriacum* (L.) Hoffm. (Apiaceae). **Journal of the Serbian Chemical Society**, Belgrade, v. 75, n. 12, p. 1653-1660, 2010.

SHAW, G. J.; ELLINGHAM, P. J.; BIRCH, E. Volatile constituents of feijoa: headspace analysis of intact fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 34, p. 743-747, 1983.

SUND, H.; THEORELL, H. Alcohol dehydrogenase. In: BOYER, P. D.; LARDY, H.; MYRBÄDK, K. (Ed.). **The enzymes**. New York: Academic Press, 1963. v. 7, p. 25-83.

SALVADOR, A. et al. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. Rojo Brillante. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, p. 181-188, 2007.

TAIRA, S. Astringency in persimmon. In: LINKSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Org.). **Modern methods of plant analysis**. Berlin: Springer, 1996. v. 18, p. 97-110.

TAIRA, S.; OOI, M.; WATANABE, S. Volatile compounds of astringent persimmon fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 65, n. 1, p. 177-183, 1996.

TAMURA, F. et al. Characteristics of acetaldehyde accumulation and removal of astringency with ethanol and carbon dioxide treatment in 'saijo' persimmon fruit. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 68, n. 6, p. 1178-1183, 1999.

TESSMER, M. A. **Estudos anatômicos e fisiológicos de frutos de caqui (Diospyros kaki L.) quanto ao acúmulo de taninos e ao processo de destanização**. 2014. 115 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

VALERO, D.; SERRANO, M. **Postharvest biology and technology for preserving fruit quality**. London: CRC Press, 2010. 264 p.

VAN DE DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L.C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, Washington, DC, v. 71, n. 2, p. 195-198, 2000.

VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui 'Rama Forte' em função da época d'e colheita**. 2009. 123 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

WANG, I. et al. Characterization of volatile and aroma-impact compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L., var. Triumph) fruit by GC-MS and GC-O analyses. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 27, p. 141-148, 2012.

WANG, Z.; FINGAS, M.; LI, K. Fractionation of a light crude oil and identification and quantitation of aliphatic, aromatic, and biomarker compounds by GC-FID and GC-MS, part II. **Journal of Chromatographic Science**, Oxford, v. 32, n. 9, p. 367-382, 1994.

WU, S. et al. Characteristic volatiles from young and aged fruiting bodies of wild *Polyporus sulfureus* (Bull.: Fr.) Fr. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 53, n. 11, p. 4524-4528, 2005.

YAMADA, M. et al. Varietal differences in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among oriental astringent persimmons of Japanese and Chinese origin. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 94, p. 63-72, 2002.

YIN, X. et al. Expression of ethylene response genes during persimmon fruit astringency removal. **Planta**, Berlin, n. 235, p. 895-906, 2012.

ZENG, Y. X. et al. Comparative analysis of volatile components from clematis species growing in China. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 595, n. 1, p. 328-339, 2007.

ZHAO, C. et al. Comparative analysis of chemical components of essential oils from different samples of *Rhododendron* with the help of chemometrics methods. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 82, n. 1, p. 218-228, 2006.

7 CONCLUSÕES GERAIS

Os tratamentos de destanização com etanol 1,7 mL kg¹ durante 6 horas e CO₂ 70% durante 18 horas são eficazes em destanizar os caquis 'Rama Forte' cultivados na região dos Campos de Cima da Serra, RS, e colhidos com coloração de casca amarelo-alaranjada.

A perda da adstringência ocorre mais lentamente em caquis colhidos no final da safra, à medida que perdem firmeza de polpa e ganham coloração de casca mais rapidamente após o tratamento de destanização.

Caquis destanizados com etanol 1,7 mL kg¹ durante 6 horas perdem a adstringência entre o quarto e o sexto dia após o tratamento e mantêm a firmeza e a cor alaranjada da casca por até 8 dias em condição ambiente. Caquis destanizados com CO₂ 70% durante 18 horas apresentam-se não adstringentes entre o final das 18 horas de tratamento e os quatro dias subsequentes, porém com amolecimento de polpa e avermelhamento da casca. A partir de meados da safra, caquis destanizados com CO₂ apresentam desuniformidade no amadurecimento.

As correlações entre os atributos sensoriais e físicos são presentes em maior número nos caquis 'Rama Forte' destanizados com CO₂ 70% por 18 horas.

A adstringência apresenta correlação positiva com o amargor, tanto nos caquis destanizados com CO₂ quanto naqueles destanizados com etanol.

A percepção sensorial da adstringência possivelmente não está relacionada apenas ao teor de taninos solúveis presente na polpa dos caquis e, possivelmente, sofre influência da doçura e do amargor.

Dentre os 42 compostos orgânicos voláteis identificados nos caquis 'Rama Forte' submetidos aos tratamentos de remoção da adstringência por meio da utilização de CO₂ ou etanol, o 2,4-di-terc-butilfenol e o 1-pentadecanal foram apontados como potenciais marcadores para a redução da adstringência nos frutos.

8 APÊNDICES

APÊNDICE 1. Definição dos termos descritivos e respectivas referências de intensidade desenvolvidas pela equipe sensorial treinada para avaliação de caquis 'Rama Forte'.

APARÊNCIA		
TONALIDADE LARANJA-AVERMELHADA DA CASCA	Intensidade da tonalidade laranja-avermelhada da casca.	
Referências	Pouco intensa	Carta de cores Royal Horticultural Society N25A
	Muito intensa	Carta de cores Royal Horticultural Society 34B
TONALIDADE LARANJA DA POLPA	Intensidade da tonalidade laranja da polpa.	
Referências	Pouco intensa	Carta de cores Royal Horticultural Society 24B
	Muito intensa	Carta de cores Royal Horticultural Society N25A
TRANSLUCIDEZ DA POLPA	Propriedade de alguns objetos de permitirem a passagem difusa da luz.	
Referências	Pouco intensa	Caqui 'Rama Forte' não destanizado.
	Muito intensa	Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.
AROMA		
AROMA CARACTERÍSTICO	Aroma característico de caqui.	
Referências	Pouco intenso	Caqui 'Rama Forte' não destanizado.
	Muito intenso	Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.
SABOR		
SABOR CARACTERÍSTICO	Sabor característico de caqui.	
Referências	Pouco intenso	Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 1 dia.
	Muito intenso	Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.

continuação APÊNDICE 1. Definição dos termos descritivos e respectivas referências de intensidade desenvolvidas pela equipe sensorial treinada para avaliação de caquis 'Rama Forte'.

DOÇURA	Presença de gosto "doce" associado aos açúcares (frutose, glicose e sacarose) presentes na polpa do caqui.
Referências	<p>Pouco intensa Solução aquosa de sacarose a 0,8 %.</p> <p>Muito intensa Solução aquosa de sacarose a 10 %.</p>
AMARGOR	Gosto "amargo" associado à solução de cafeína.
Referências	<p>Ausente Água destilada</p> <p>Muito intenso Solução aquosa de cafeína a 0,06%</p>
ADSTRINGÊNCIA DA POLPA	Sensação bucal de "secura" e "amarração".
Referências	<p>Ausente Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.</p> <p>Muito intensa Caqui 'Rama Forte' não destanizado.</p>
TEXTURA	
FIRMEZA DE POLPA	Atributo de qualidade do caqui que sofre mudanças durante o amadurecimento.
Referências	<p>Pouco intensa Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.</p> <p>Muito intensa Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 1 dia.</p>
SUCULÊNCIA DA POLPA	Sensação de umidade, ou liberação de suco na boca, nos primeiros movimentos mastigatórios.
Referências	<p>Pouco intensa Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 1 dia.</p> <p>Muito intensa Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.</p>
CROCÂNCIA DA POLPA	Propriedade de certos alimentos que emitem um ruído seco ao serem mordidos ou mastigados.
Referências	<p>Ausente Caqui 'Rama Forte' destanizado e mantido em temperatura ambiente por 7 dias.</p> <p>Muito intensa Caqui Fuyu no estágio de maturação alaranjado.</p>

APÊNDICE 2. Perfil sensorial de caquis 'Rama Forte' destanizados com etanol (1,7 mL Kg⁻¹) e CO₂ (70%) durante 8 dias de manutenção em condição ambiente (17 °C). Safra 2016-2017, Bento Gonçalves, RS.

Dias após a destanização	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Descritor	Etanol								
Tonalidade laranja-avermelhada da casca	3,0 bc	2,5 c	3,1 abc	3,9 ab	4,2 a	3,6 abc	3,3 abc	4,0 ab	3,9 ab
Tonalidade laranja da polpa	1,9 b	1,9 b	2,2 ab	2,2 ab	3,1 a	2,5 ab	2,3 ab	3,2 a	2,9 ab
Translucidez da polpa	1,2 a	1,2 a	1,3 a	1,4 a	1,7 a	1,4 a	1,5 a	1,4 a	1,7 a
Aroma característico	3,2 b	3,8 ab	3,2 ab	3,5 ab	3,6 ab	3,9 ab	4,3 ab	4,2 ab	4,7 a
Sabor característico	2,1 e	2,2 de	2,8 cde	2,8 cde	3,5 bcd	3,8 abc	4,5 ab	4,5 ab	4,9 a
Doçura	1,8 e	2,1 de	2,3 de	3,9 bcd	3,0 cde	3,7 abc	4,4 a	4,2 ab	4,6 a
Amargor	4,5 a	4,0 ab	3,5 abc	3,0 bc	2,1 cd	1,4 d	1,2 d	0,9 d	1,1 d
Adstringência da polpa	7,7 a	7,4 a	7,0 ab	6,8 ab	5,6 b	3,5 c	2,9 c	2,3 c	2,0 c
Firmeza de polpa	7,8 a	7,8 a	7,6 a	6,7 c	6,9 bc	7,5 ab	7,3 abc	7,1 abc	7,2 abc
Suculência de polpa	1,3 c	1,5 c	1,6 c	1,9 bc	1,9 bc	2,1 abc	2,0 bc	2,6 ab	2,9 a
Crocância de polpa	7,4 a	7,6 a	7,5 a	7,2 a	6,4 b	7,3 a	7,2 ab	6,9 ab	6,9 ab
	Dióxido de Carbono								
Tonalidade laranja-avermelhada da casca	2,9 e	3,2 de	3,8 de	4,0 de	4,5 cd	6,9 ab	7,7 a	7,7 a	5,9 bc
Tonalidade laranja da polpa	2,0 c	2,1 c	2,9 c	2,5 c	3,5 c	6,1 ab	7,0 ab	7,5 a	5,5 b
Translucidez da polpa	1,4 e	1,7 de	2,2 de	1,6 de	3,1 cd	6,1 ab	6,7 ab	7,3 a	4,7 bc
Aroma característico	4,2 bc	4,3 bc	3,8 c	3,2 c	4,2 bc	6,4 a	5,9 a	6,9 a	5,6 ab
Sabor característico	3,6 e	3,9 de	4,6 cd	3,8 de	4,9 cd	6,6 ab	6,9 ab	7,2 a	5,6 bc
Doçura	3,1 e	3,8 cde	4,6 cd	3,5 de	4,7 cd	6,2 ab	6,8 ab	6,9 a	5,3 bc
Amargor	1,7 a	1,57 ab	0,9 bcd	1,2 abc	1,0 abcd	0,5 cd	0,4 cd	0,4 d	1,2 abcd
Adstringência da polpa	5,9 a	4,6 ab	3,0 bc	5,0 a	3,2 b	1,3 cd	0,8 d	0,8 d	2,6 bcd
Firmeza de polpa	7,3 a	7,1 a	6,2 ab	6,8 a	5,4 bc	2,8 de	1,8 e	1,5 e	4,0 cd
Suculência de polpa	2,0 d	2,5 d	3,4 cd	2,2 d	3,5 cd	5,9 ab	6,8 a	7,4 a	4,9 bc
Crocância de polpa	7,1 a	7,2 a	5,7 ab	5,8 ab	4,9 b	2,2 cd	2,6 cd	1,2 d	3,7 bc

*Letras minúsculas indicam diferença entre os tempos pelo teste de Tukey 5%.