

Caqui cv. 'Mikado': análise de compostos voláteis em frutos adstringentes e destanizados

Persimmon cv. 'Mikado': analysis of volatile compounds in astringent and astringency removal

Maristella Martineli^{I*} Andréa Aparecida Ribeiro Alves^I Gisele Machado de Figueiredo^I
Claudia Moraes de Rezende^I Marcos José de Oliveira Fonseca^{II}

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar os compostos voláteis em frutos de caqui Mikado adstringentes e destanizados, em dois períodos de armazenamento, utilizando microextração em fase sólida (MEFS, fibra DVB/CAR/PDMS) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A partir dos resultados foi possível observar diferenças na composição volátil em frutos adstringentes e destanizados de caqui Mikado, com perdas em ambas as amostras. A remoção da adstringência com exposição ao álcool promoveu aumento dos voláteis no 1º dia após a destanização. Os compostos voláteis de caqui Mikado são representados, majoritariamente, por hidrocarbonetos terpênicos, seguidos de ésteres de cadeia linear.

Palavras-chave: *Diospyros kaki*, adstringência, destanização, compostos voláteis.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the volatile compounds in persimmon (*Diospyros kaki*) Mikado variety, astringent and astringency removal in two periods of storage, using solid phase microextraction (SPME, fiber DVB/CAR/PDMS) by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). The results showed differences in the volatile composition of astringent and astringency removal, with losses in both analyses. The removal of astringency with alcohol exposure increased the volatiles on day 1 after astringency removal. The volatiles from persimmon Mikado are mainly represented by terpene hydrocarbons, followed by straight-chain esters.

Key words: *Diospyros kaki*, astringency, astringency removal, volatile compounds.

INTRODUÇÃO

O caquizeiro (*Diospyros kaki* L.) é uma frutífera originária da Ásia e tradicionalmente

cultivada na China e no Japão, de onde seu cultivo foi expandido para outras regiões do mundo de clima temperado ou subtropical (FILHO et al., 2003). No Brasil, a cultura do caquizeiro possui importância econômica, sendo as regiões Sul e Sudeste as maiores produtoras por possuírem condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento (BRACKMANN & SAQUET, 1995). Em 2010, o país produziu 164.495 toneladas de frutos, sendo o Estado de São Paulo o maior produtor, com 77.649 toneladas, cerca de 47% da produção total (IBGE, 2010).

CAMPO-DALL'ORTO et al. (1996) e EDAGI & KLUGE (2009), classificam os frutos em três grupos. O primeiro grupo é denominado *sibugaki*, compreende frutos de polpa amarelada e sempre taninosa, apresentando sementes ou não, cujas variedades são: Taubaté, Pomelo, Hachiya, Mikado e Coração de boi. O segundo grupo é o *amagaki* e apresenta frutos com polpa amarelada e sempre não taninosa, com sementes ou não, cujas variedades são: Fuyu, Jiro, Hanagoshô e Fuyuhana. O terceiro grupo, denominado "variável", caracterizado por abranger frutos tanto de cor amarelada, polpa taninosa e sem sementes, quanto frutos de polpa não taninosa, parcial ou totalmente, com uma ou mais sementes, de cor escura (chocolate), tendo como principais variedades o Rama Forte, o Giombo e o Kaoru.

Para remover a adstringência dos frutos taninosos (destanização) podem ser empregados a aplicação de etileno, a exposição dos frutos em ambiente anóxico (sem a presença de oxigênio, mas

^ILaboratório de Aromas, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), 21941-909, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. E-mail: maristella.martineli@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II}Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

na presença de nitrato) e a aplicação de vapor de álcool etílico, cabendo ao produtor escolher o método mais vantajoso, de menor custo e de boa qualidade (EDAGI & KLUGE, 2009).

Durante o processo de amadurecimento dos frutos ocorre a formação de compostos responsáveis pelo aroma, incluindo substâncias químicas diversas (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Os poucos trabalhos da literatura citam como compostos presentes em frutos de caqui, hidrocarbonetos: *n*-tridecano; alcoóis: isobutil álcool, *n*-butanol, 3-metil-butanol, (E)-2-hexenal; ácidos e os ácidos acético, cáprico e palmítico (TAIRA et al., 1996; HORVART, 1991).

O caqui Mikado é uma variedade de grande potencial econômico, mostrando-se bastante produtiva, com frutos grandes e saborosos (NEVES JUNIOR et al., 2007). No entanto, problemas com a destanização, como níveis de concentração e tempos de exposição às substâncias ativas inadequados, dificultam a comercialização desse fruto (NEVES JUNIOR, 2009; MUÑOZ, 2002), uma vez que, durante a destanização, a fruta apresenta textura mais mole, podendo ser prejudicial para esta variedade, que tem como característica desejável o consumo do fruto “duro” (SHIMIZU et al., 2002).

Os trabalhos sobre composição volátil em frutos de caqui disponíveis na literatura envolvem as variedades: Hiratanenashi, Yocono, Atago, Giombo, Azumi shizara, Sheng, Fuyu, Hanafuyu, Shogatsu. Assim sendo, devido a escassez de trabalhos sobre composição volátil em frutos de caqui, em especial, a cv. 'Mikado', o objetivo do presente trabalho foi determinar os compostos voláteis em frutos de caqui Mikado (*Diospyros kaki*) adstringentes e destanizados, em dois períodos de armazenamento, utilizando microextração em fase sólida (MEFS) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

MATERIAL E MÉTODOS

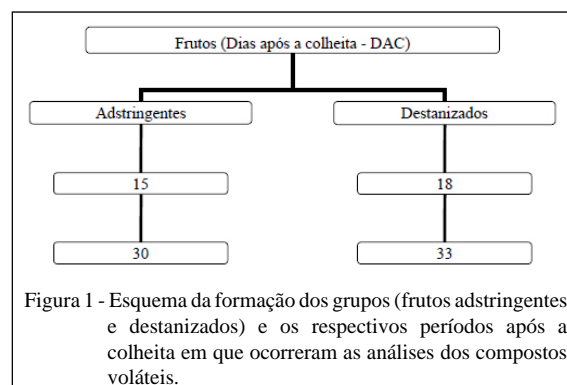
Os frutos provenientes de pomar comercial no município de Sumidouro-RJ, foram colhidos em estágio pré-climático (“de vez”) (com coloração verde-amarelada, porém fisiologicamente desenvolvidos) em junho de 2011. Em seguida, foram transportados para a Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Ao chegarem ao Laboratório de Fisiologia da Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, os frutos permaneceram em câmara de refrigeração em temperatura de 5°C e umidade

relativa de 80%. No 15º dia após a colheita, foram escolhidos aleatoriamente e separados 10 frutos adstringentes e 10 frutos que foram submetidos à remoção da adstringência (destanização). A destanização foi realizada utilizando-se álcool 70% na proporção de 7mL de álcool para cada Kg de fruto por 48 horas, adaptado de SHIMIZU et al. (2002) e de NEVES JÚNIOR (2009). No mesmo dia, realizou-se a primeira avaliação (dia 0) dos frutos adstringentes escolhendo, ao acaso, três frutos. O segundo dia de avaliação ocorreu 15 dias depois, da mesma forma. Após o período da retirada da adstringência, fez-se a primeira avaliação dos frutos destanizados, com a amostra sendo composta também por três frutos. A segunda avaliação ocorreu 15 dias depois do tratamento. Portanto, de acordo com a figura 1, os frutos foram divididos em adstringentes, com avaliações aos 15 e 30 dias após a colheita (DAC), e frutos destanizados, avaliados no 1º (18DAC) e 15º (33DAC) dias após a destanização (DAD).

A extração dos compostos voláteis, das duas amostras de três frutos adstringentes ou destanizados, ocorreu por microextração em fase sólida (SPME), sendo três frutos uniformes, sem casca, triturados em liquidificador com água destilada, na proporção de 1:1, obtendo-se uma polpa cremosa. Em vial de 40mL, foi adicionado 15mL da polpa e 2g de cloreto de sódio. A fibra utilizada foi a DVB/CAR/PDMS (divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano). As condições de extração se deram com agitação magnética, temperatura de 45°C, por 30 minutos, adaptado de BARROS (2011).

Para a análise dos voláteis, o equipamento utilizado foi cromatógrafo a gás (GC6850) acoplado a espectrômetro de massas (MS5975C) – CG-qMS da *Agilent Technologies* com ionização de elétrons a 70eV. Foi utilizada coluna capilar DB5 (*Agilent Technologies*), revestida por 5% fenil 95% dimetilsiloxano, de caráter apolar, de 30m, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura de



filme. O gás utilizado nos equipamentos foi hélio 5.0 analítico da *Air Products*[®], cujo fluxo inicial foi de 1,0mL min⁻¹ e sob pressão constante de 7PSI. A programação da temperatura foi iniciada com 35°C, mantendo-se esta temperatura por 5min e aumentando-se gradativamente a taxa de 5°C min⁻¹ até 180°C permanecendo em isoterma por 10min; 10°C min⁻¹ até 300°C, permanecendo em isoterma por 5min, perfazendo um total de 61 minutos de corrida cromatográfica. O modo utilizado foi de *splitless* (sem divisão de fluxo) com *delay* (não detecção pelo EM) de 5min. A temperatura do injetor foi de 200°C e a da linha de transferência foi de 280°C. A análise foi feita por varredura total de íons (SCAN) e os espectros de massas foram obtidos na faixa de 50-400Da.

As análises foram feitas em triplicadas, utilizando a espectroscopia WILEY 275 (6th edition, G1034C versão C0300-Hewlett-Packard 1984-1994) e a confirmação se deu por análise dos espectros de massas e por índice de retenção linear (IRL) dos compostos voláteis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados seis compostos aromáticos (Tabela 1) nos frutos adstringentes

15DAC, sendo eles: beta-pineno, mirceno, *p*-cimeno, limoneno, gama-terpineno e isoterpinoleno, com redução no decorrer do armazenamento, identificados apenas os compostos *p*-cimeno, limoneno e gama-terpineno. Nos frutos em que houve a remoção da adstringência 1DAD ou 18DAC foram encontrados 11 compostos voláteis (beta-pineno, mirceno, *p*-cimeno, limoneno, gama-terpineno, terpinoleno, isoterpinoleno, delta-3-careno, heptanoato de etila, octanoato de metila e 2-canfanona). No entanto, com o decorrer do amadurecimento, apenas três dos 11 compostos encontrados 1DAD foram identificados nos frutos destanizados (limoneno, gama-terpineno, delta-3-careno) e um composto inédito (*o*-cimeno). A perda de componentes voláteis durante o armazenamento no grupo dos frutos destanizados foi maior do que a perda ocorrida no grupo adstringente (73% e 50%, respectivamente), o que sugere que os frutos destanizados tiveram seu amadurecimento acelerado pelo álcool, corroborando com Itamura et al. (1997), apud ANTONIOLLI et al. (2000), em que a remoção da adstringência com vapor de álcool acelerou a síntese de etileno. De acordo com EDAGI & KLUGE (2009), durante o processo de amadurecimento dos frutos, o etileno induz à formação de compostos responsáveis pelo aroma

Tabela 1 - Valores de coeficiente de variação (%) e área relativa (%) dos compostos aromáticos em frutos de caqui cv. 'Mikado', submetidos ou não à remoção da adstringência após a colheita obtidos por CG-EM.

Compostos	-----Adstringentes-----				-----Destanizados-----			
	-----15DAC-----		-----30DAC-----		-----18DAC-----		-----33DAC-----	
Terpenos (hidrocarbonetos)	CV	AR	CV	AR	CV	AR	CV	AR
Beta-pineno	4,4	1,4	-	0	13,4	0,5	-	0
Mirceno	3,9	0,9	-	0	7,5	1,7	-	0
Alfa-terpineno	-	-	-	-	11,0	0,1	-	0
<i>p</i> -Cimeno	2,4	1,5	0,2	0,2	9,4	2,6	-	0
Limoneno	6,7	90,1	0,1	16,8	8,7	81,3	4,1	14,6
Gama-terpineno	6,3	5,8	2,4	0,8	5,5	11,1	2,0	0,3
Terpinoleno	-	-	-	-	9,3	0,9	-	0
<i>o</i> -Cimeno	-	-	-	-	-	-	5,5	0,6
Isoterpinoleno	5,5	0,1	-	0	-	-	-	-
Delta-3-careno	-	-	-	-	1,1	0,5	1,9	0,1
Ésteres								
Heptanoato de etila	-	-	-	-	7,8	0,3	-	0
Octanoato de metila	-	-	-	-	0,7	0,4	-	0
Cetona terpênica								
2-canfanona	-	-	-	-	0,03	0,1	-	0

DAC: Dias após colheita

AR: área relativa

CV: Coeficiente de variação

do fruto. Assim como no presente trabalho, TAIRA et al. (1996) também relataram maior detecção de voláteis totais em frutos de caquis após remoção da adstringência. Segundo CHITARRA & CHITARRA (2005), na fase pós-colheita o aroma é alterado, mais comumente, pelo grau de maturação, a estação de colheita, a nutrição, o manuseio, o armazenamento e o amadurecimento artificial.

Não foram encontrados compostos fenólicos em ambos os grupos de caquis. A técnica utilizada no presente trabalho - microextração em fase sólida (SPME), com fibra DVB/CAR/PDMS (divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano) - deu-se em condições de captura de compostos voláteis, não sendo capaz de detectar compostos pesados como os taninos.

Quanto aos valores de área relativa, cujo cálculo foi baseado nas áreas obtidas para cada composto nas diferentes extrações, o limoneno, com aroma cítrico, foi o composto majoritário presente nos dois grupos (adstringentes e destanizados) e nos dois períodos de armazenamento, seguido do gama-terpineno, com nota aromática de solvente. A abundância do pico pode ser observada na figura 2, mostrando a diferença do limoneno e demais compostos, antes e após a remoção da adstringência. TAIRA et al. (1996), após remoção da adstringência com CO₂ em frutos de caqui cv. 'Hiratanenashi', observaram maiores áreas de picos para os compostos decanal (aroma de casca de laranja e sabão) e 3-metil-butanol (aroma de uísque, malte, queimado). HORVART et al. (1991) encontraram, tanto em variedades de caquis adstringentes e não adstringentes, o acetato de bornila (aroma pinho, balsâmico) como composto majoritário.

Segundo CHITARRA & CHITARRA (2005), os compostos voláteis presentes em frutas incluem substâncias químicas diversas, como os ésteres, lactonas, alcoóis, ácidos, aldeídos, cetonas, cetais, hidrocarbonetos e alguns fenóis, éteres e compostos oxigenados heterocíclicos. Os frutos de caqui Mikado do presente trabalho apresentaram maior número de terpenos de aroma cítrico. Em três cultivares de manga originárias do Sirilanka, os terpenos também foram os principais voláteis encontrados (MacLEOD & PIERES, 1984). TAIRA et al. (1996) encontraram mais alcoóis, em três diferentes variedades de caquis.

Os valores de IRL experimentais (Tabela 2) encontram-se bem próximos dos valores observados na literatura, o que leva a maior confiabilidade dos tempos de retenção obtidos neste trabalho para os compostos voláteis. Os valores de coeficiente de variação (CV) encontrados no presente trabalho variaram de 0,03% a 13,40% (Tabela 1), estando abaixo do reportado na literatura em outras frutas, tais como em uva 'Baga', que variaram de 5% à 118% (COELHO et al., 2006) e em frutos de tomates cv. 'Delícia' (o tomate também é um fruto climatérico, assim como o caqui), em que os CV da altura dos picos variaram de 14% à 91% (BRAUSS et al., 1998).

CONCLUSÃO

Com base nas condições experimentais do presente trabalho, observou-se diferenças na composição volátil de frutos de caqui cv. 'Mikado' adstringentes e destanizados, com perdas de componentes em ambas as amostras durante o período de armazenamento. A remoção da adstringência com

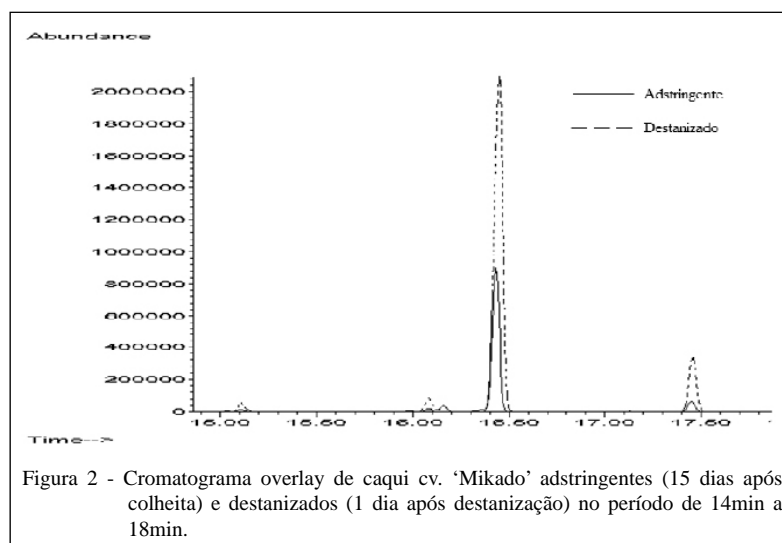


Figura 2 - Cromatograma overlay de caqui cv. 'Mikado' adstringentes (15 dias após colheita) e destanizados (1 dia após destanização) no período de 14min a 18min.

Tabela 2 - Índices de retenção linear e descrição do aroma dos compostos voláteis em frutos de caqui cv. 'Mikado', submetidos ou não à remoção da adstringência após a colheita.

Compostos	Descrição do aroma ^d	TR ^a	IRL ^b	IRL ^c
Beta-pineno	Resina pinheiro	14,5	959	980
Mirceno	Doce, plástico, balsâmico	15,1	972	991
Alfa-terpineno	Citrus	15,9	988	1018
<i>p</i> -Cimeno	Solvente, gasolina, citrus	16,1	990	1026
Limoneno	Limão, laranja	16,5	997	1031
Gama-terpineno	Citrus, herbáceo	17,5	1011	1062
Terpinoleno	Plástico, petróleo	18,5	1025	1088
<i>o</i> -Cimeno	-	16,8	1004	1022
Isoterpinoleno	-	15,8	988	1018
Delta-3-careno	-	18,7	1028	1011
Heptanoato de etila	Frutal, doce	18,6	1027	1095
Octanoato de metila	Verde, frutal	19,5	1039	1195
2-canfanona	-	19,8	1042	1093

^a Tempo de retenção do analito; ^b Índice de retenção experimental.

^c Índice de retenção exibido pelos compostos em coluna capilar DB5 (5%fenildimetilsiloxano) segundo ADAMS (2007)

^d <http://www.odour.org.uk/Iriindex.html>; <http://www.flavornet.org>

exposição ao álcool promoveu aumento dos voláteis no 1º dia após a destanização. Os compostos voláteis de caqui Mikado são representados, majoritariamente, por hidrocarbonetos terpênicos, seguidos de ésteres de cadeia linear.

REFERÊNCIAS

ACREE, T.; ARN, H. **Flavornet and human odor space**. Disponível em: <<http://www.flavornet.org/>>. Acesso em: 11 nov. 2011.

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

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**, v.35, n.10, p.2083-2091, 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2000001000021>>. Acesso em: 06 jun. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2000001000021>.

BARROS, E.B.P. **Estudo analítico de vinhos brancos e sua importância enológica**. 2011. 130p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.

BRACKMANN, A.; SAQUET, A.A. Efeito da temperatura e condições de atmosfera controlada sobre a conservação de caqui (*Diospyros kaki* L.). **Ciência Rural**, v.25, n.3, p.375-378, 1995. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84781995000300007>>. Acesso em: 27 set. 2011. doi: 10.1590/S0103-84781995000300007.

BRAUSS, M.S. et al. Effect of variety, time of eating, and fruit-to-fruit variation on volatile release during eating of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.46, n.6, p.2287-2292, 1998. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf971019x>>. Acesso em: 01 dez. 2011. doi: 10.1021/jf971019x.

<pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf971019x>. Acesso em: 01 dez. 2011. doi: 10.1021/jf971019x.

CAMPO-DALL'ORTO, F.A. et al. Novo processo de avaliação da adstringência dos frutos no melhoramento do caqui. **Bragantia**, v.55, n.2, p.237-243, 1996. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87051996000200005>. Acesso em: 01 dez. 2011. doi: 10.1590/S0006-87051996000200005.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p.

COELHO, E. et al. Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. **Analytica Chimica Acta**, v.563, 1-2, p.204-214, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267005018799>>. Acesso em: 01 dez. 2011. doi: 10.1016/j.aca.2005.11.018.

EDAGI, F.K.; KLUGE, R.A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p. 585 – 584, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000200046&script=sci_arttext>. Acesso em: 02 dez. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782009000200046.

FILHO, W.P.C. et al. Mercado de caqui: variedades, estacionalidade e preços. **Informações Econômicas**, v.33, n.10, p. 81–87, 2003. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/OUT/publicacoes/pdf/seto1-1003.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2011.

HORVAT, R.J. et al. Volatile compounds from the mesocarp of persimmons. **Journal of Food Science**, v.56, n.1, p.262–263, 1991. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1991.tb08027.x/abstract>>. Acesso em: 08 jul. 2011. doi: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb08027.x.

ITAMURA, H. et al. Characteristics of fruit softening in Japanese persimmon 'Saijo'. **Acta Horticulturae**, n.436, p.179-188, 1997.

- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=sp&tema=lavourapermanente2010>>. Acesso em: 29 maio 2012.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal**, v.37, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_comentarios.pdf>. Acesso em: 29 maio 2012.
- MacLEOD, A.J.; PIERIS, N.M. Comparison of the volatile components of some mango cultivars. **Phytochemistry**, v.23, p.361-366, 1984. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200803337>>. Acesso em: 13 dez. 2011. doi: 10.1016/S0031-9422(00)80333-7.
- MUÑOZ, V.R.S. **Destanização do caqui (*Diospyros kaki* L.) 'Rama Forte'**. 2001. 164f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Curso de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, SP.
- NEVES JUNIOR, A.C.V. **Aplicação de revestimentos comestíveis em caqui 'Mikado' (*Diospyros kaki*) minimamente processado**. 2009. 77f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ.
- NEVES JUNIOR, A.C.V. et al. Levantamento de dados de manipulação e comercialização do caqui produzido no Distrito de D. Mariana, município de Sumidouro – RJ. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEIRA – FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES, 2., 2007, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: UFV, 2007. p.265-265.
- SHIMIZU, M.K. et al. Avaliação do efeito de diferentes concentrações de álcool na destanização e amadurecimento de caqui. **Agronomia**, v.36, n.1-2, p.11-16, 2002. Disponível em: <<http://www.ia.ufrj.br/revista/volume361.htm>>. Acesso em: 20 dez. 2011.
- TAIRA, S. et al. Volatile compounds of astringent persimmon fruits. **Journal Japan Society Horticultural Science**, v. 65, n.1, p.177-183, 1996.