

Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico

Removal of astringency in persimmon fruits: a biochemical, physiological and technological view

Fernando Kazuhiro Edagi¹ Ricardo Alfredo Kluge²

– REVISÃO BIBLIOGRÁFICA –

RESUMO

Apenas na Ásia, centro de origem do caqui (*Diospyros kaki* L.), existem mais de 2000 cultivares diferentes, das quais, a maioria é adstringente. Diante de tamanha variabilidade, existem diferentes métodos de remoção de adstringência, de tal forma que cada um deve ser adaptado a cada cultivar e local de produção. Tais métodos de destanização objetivam promover um acúmulo de acetaldeído na polpa dos frutos, o qual provoca a polimerização das moléculas de taninos solúveis, responsáveis pela adstringência, transformando-os num composto com consistência de gel, insolúvel e, assim, não adstringente. Entre os métodos mais utilizados estão: aplicação de vapor de álcool etílico, que ativa a enzima álcool desidrogenase com subsequente acúmulo de acetaldeído, e a promoção da anaerobiose, que induz a transformação do piruvato em acetaldeído em uma reação catalisada pela enzima piruvato descarboxilase. Neste trabalho de revisão, visa à discussão dos principais fatores a serem observados no processo de remoção da adstringência de caquis, como o método a ser utilizado, a temperatura de destanização, o tempo de exposição ao tratamento e o ponto de maturação dos frutos, entre outros.

Palavras-chave: destanização, tanino, acetaldeído, álcool etílico, dióxido de carbono.

ABSTRACT

In Asia, the center of origin of persimmon (*Diospyros kaki* L.), more than 2000 different varieties are present, most of them being astringent. Beyond such variability, there are a lot of different methods to remove the astringency of fruit and each treatment is more approachable for each cultivar

and local of production. The different methods to remove the astringency are based, mostly, at the accumulation of acetaldehyde at the flesh fruit that induce the polymerization of the soluble tannin molecules, responsible for the astringency formation, turning them into an insoluble and non astringent substance. The most used methods are: ethanol vapor application which activates alcohol dehydrogenase and increases the acetaldehyde accumulation; and application of anaerobic atmosphere, that induces the transformation of piruvate into acetaldehyde in a reaction catalyzed by the piruvate descarboxilase. This review aims to argue the main factors to be observed in the astringency removal process of persimmon fruit, such as method to be used, temperature to remove astringency, time of exposure to the treatment, fruit ripening at time of astringency removal, among others.

Key words: tannin, acetaldehyde, ethanol, carbon dioxide.

INTRODUÇÃO

Apesar de ser um dos maiores produtores mundiais (YONEMORI et al., 2000), grande parte do volume de frutos de caqui comercializado no Brasil é de variedades que necessitam da remoção da adstringência, como é o caso das cultivares 'Rama Forte' e 'Giombo'. Para promover tal remoção (por meio da destanização dos frutos), existem diversos métodos, incluindo a aplicação de etileno, a exposição dos frutos em ambiente anóxico e a aplicação de vapor de álcool

¹Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: fkedagi@esalq.usp.br. Autor para correspondência.

²Departamento de Ciências Biológicas, ESALQ, USP, São Paulo, SP, Brasil.

etílico. Cada método apresenta vantagens e desvantagens, cabendo ao produtor incluir, em seu sistema de produção, o método que se adapte melhor às suas condições, visando à obtenção de um fruto não adstringente, de boa qualidade e com um custo acessível.

O processo de remoção da adstringência consiste em polimerizar as moléculas de tanino, tornando-as insolúveis e, conseqüentemente, incapazes de reagir com as enzimas presentes na saliva. Tal polimerização das moléculas de tanino pode ser causada por ligações covalentes com moléculas de acetaldeído ou por interações não covalentes com outros componentes presentes no citosol (MATSUO & ITOO, 1982).

Os taninos são classificados como galotaninos, elagitaninos (taninos hidrolisáveis) e os taninos condensados (não hidrolisáveis), formados por polímeros de proantocianidinas. Existem também os “não-classificados” que são conhecidos como taninos complexos ou flavoelagitanino (KHANBABAEE & VAN REE, 2001). A diferenciação das classes de taninos hidrolisáveis se dá pelo monômero responsável pela sua formação. Os taninos galotaninos, encontrados na maioria dos frutos como caqui e banana, são polímeros do ácido gálico. Já os taninos elagitaninos são formados por ácido elágico, composto utilizado no tratamento preventivo de câncer e amplamente encontrado em frutas vermelhas, tais como morango, framboesa e amora. Por sua vez, os taninos condensados são encontrados em cascas de árvores como as acácias e também em folhas (KHANBABAEE & VAN REE, 2001).

Netse trabalho de revisão bibliográfica o objetivo é reunirem-se as informações presentes na literatura atual, a fim de esclarecer o processo de remoção da adstringência, além de formar uma base teórica para facilitar a escolha do método que melhor se adapte às condições e fatores.

Aspectos botânicos do caqui

O caqui (*Diospyros kaki* L.) é originário do continente asiático, mais precisamente, da China, onde, há séculos, foi levado para o Japão, sendo hoje cultivado em todo o mundo (SALUNKHE & DESAI, 1984; RAGAZZINI, 1985; MARTINS & PEREIRA, 1989). Introduzido no Brasil, no final do século passado, rapidamente se expandiu, considerando a excelente adaptação às condições brasileiras (PENTEADO, 1986). Os frutos apresentam ótima aceitação no mercado, devido ao excelente sabor, boa aparência e elevada qualidade nutricional (MARTINS & PEREIRA, 1989).

As cultivares de caqui podem ser divididas em dois grupos distintos: aquelas cujos frutos não apresentam mudanças na coloração de polpa em função da polinização (constantes em relação à polinização – PC) e aquelas cujos frutos apresentam polpa clara, quando não polinizados (sem sementes), e escura, quando polinizados (com sementes) (variáveis em relação à polinização – PV). Cada um desses grupos pode ainda ser subdividido em adstringentes (A) e não-adstringentes (NA). Dessa forma, as cultivares de caqui podem ser classificadas entre os tipos básicos: constantes com relação à polinização e adstringentes (PCA): ‘Taubaté’, ‘Hachiya’, ‘Pomelo’ e ‘Rubi’; constantes com relação à polinização e não adstringentes (PCNA): ‘Fuyu’, ‘Jiro’ e ‘Fuyuhana’; e variáveis em relação à polinização (PV), sendo que os frutos das cultivares de polinização variável podem ser adstringentes (Aizumishirazu, Rama Forte e Giombo) ou não-adstringentes (Zenjimar, Shogatsu e Mizushima) (ITO, 1971).

No Brasil, os frutos são classificados em três grupos, conforme CAMPO-DALL’ORTO et al. (1996). O primeiro é denominado “sibugaki”, que compreende frutos de polpa sempre taninosa e de cor amarelada, quer apresentem ou não sementes. As principais cultivares são: ‘Taubaté’, ‘Pomelo’, ‘Hachiya’ e ‘Coração de boi’. O segundo grupo, denominado “amagaki”, abrange frutos de polpa sempre não taninosa e de cor amarelada, apresentando ou não sementes. São chamados caquis doces ou duros. As principais cultivares são: ‘Fuyu’, ‘Jiro’, ‘Hanagosho’ e ‘Fuyuhana’. O terceiro grupo é denominado “variável” e inclui frutos de polpa taninosa e de cor amarelada, quando sem sementes e não taninosa, parcial ou totalmente, quando com uma ou mais sementes. Quando as sementes são numerosas, a polpa é de cor escura, sendo popularmente chamado caqui “chocolate”. As principais cultivares deste grupo são: ‘Rama Forte’, ‘Giombo’ e ‘Kaoru’ (MARTINS & PEREIRA, 1989).

Adstringência

As cultivares adstringentes de caqui apresentam, como principal característica, altos teores de taninos solúveis, responsáveis pela adstringência do fruto. Na boca, os taninos precipitam as proteínas presentes na saliva, principalmente a amilase, a qual uma vez ligada aos receptores de sabor causa uma sensação de secura no palato, característica de alimentos adstringentes (ITTAH, 1993).

Caquis do tipo PCA podem conter mais de 5% de taninos no período de três semanas, após a antese, quando então os taninos solúveis começam a

diminuir, atingindo o valor de 2% na colheita. KATO (1984) constatou alta correlação entre o grau de adstringência e a concentração de taninos, sendo que os frutos contendo, aproximadamente, 0,25% de tanino mostraram-se ligeiramente adstringentes, enquanto aqueles contendo menos de 0,1% eram, praticamente sem adstringência.

Segundo constatações de SUGIURA et al. (1979), possivelmente, há o envolvimento de dois diferentes mecanismos na perda natural da adstringência, sendo que um deles é dependente da produção de etanol e, presumivelmente, de acetaldeído pelas sementes durante o desenvolvimento dos frutos, estando associado aos tipos PVNA, PVA e PCA. Por outro lado, supõe-se que o segundo mecanismo, constatado em frutos de cultivares do tipo PCNA, esteja mais relacionado ao menor tamanho das células de tanino, de baixo peso molecular e menor reatividade, do que ao grau de coagulação (TAYLOR, 1993). SUGIURA et al. (1979) verificaram que os frutos de cultivares adstringentes acumulam baixos níveis de etanol e acetaldeído durante todo o período de crescimento e desenvolvimento.

Acúmulo de acetaldeído

O acetaldeído é o composto responsável pela polimerização das moléculas de tanino. Tal fato foi comprovado em uma reação *in vitro* onde taninos de caqui reagiram ao acetaldeído, formando um composto com consistência de gel e não adstringente (MATSUO & ITOO, 1982). Vários autores observaram o acúmulo de acetaldeído na polpa de frutos de caqui dias antes destes se apresentarem não adstringentes (PESIS et al., 1986; BEN-ARIE et al., 1991; OSHIDA et al., 1996). O acetaldeído é formado, em condições normais, durante o amadurecimento dos frutos (PESIS, 2005), sendo um dos compostos responsáveis pela formação do aroma. Outra forma de ocorrer um aumento na produção de acetaldeído é submeter o fruto a uma condição de anaerobiose.

A glicólise é uma fase do metabolismo primário, responsável pela quebra da molécula de glicose em duas moléculas de piruvato. Na presença de oxigênio, o piruvato é destinado à mitocôndria, na qual ocorre o ciclo de Krebs e a cadeia transportadora de elétrons. Entretanto, em condições de anaerobiose, o piruvato é mantido no citosol, onde, através de uma reação catalisada pela piruvato descarboxilase, é quebrado em dióxido de carbono e acetaldeído (TAIZ & ZEIGER, 2003; ALBERTS et al., 2004; LEHNINGER et al., 2007). Por outro lado, altas concentrações de acetaldeído são tóxicas para as células vegetais e, por meio de processo adaptativo, ele é rapidamente

transformado em um composto menos tóxico, o etanol, através de uma reação catalisada pela enzima álcool desidrogenase (HRIBAR et al., 2000). Essa enzima também é responsável pela reação inversa, transformando o etanol em acetaldeído (Figura 1).

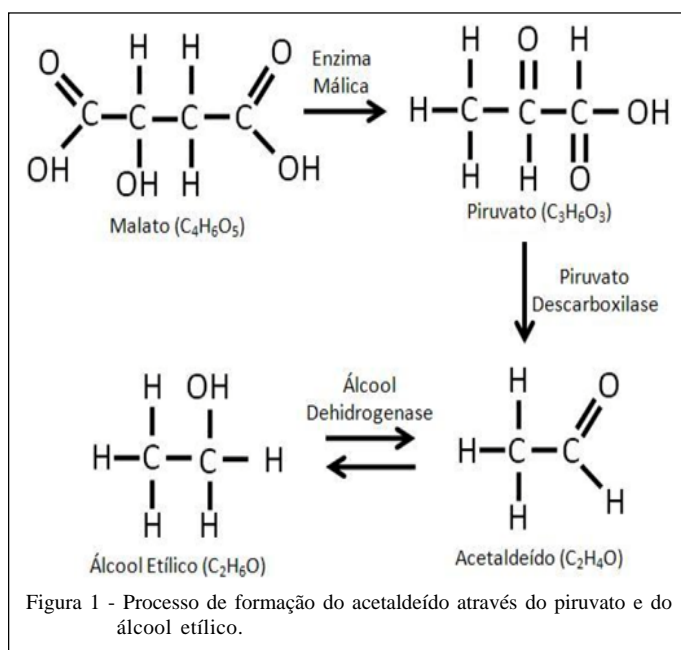
Desse modo, as três formas de induzir o acúmulo de acetaldeído na polpa de frutos de caqui e promover a remoção da adstringência são: acelerar o amadurecimento dos frutos, armazená-los em ambiente anóxico ou submetê-los a aplicações de etanol.

Aceleração do amadurecimento

Para acelerar o processo de amadurecimento dos frutos, é necessário induzir a sua produção de etileno. O etileno está relacionado aos processos de amadurecimento dos frutos, principalmente, em frutos climatéricos, como é o caso do caqui (WILLS et al., 1998). Um método usual realizado pelos consumidores de caqui é a aplicação de vinagre no cálice do fruto. O ácido acético induz a produção de etileno, acelerando, assim, o processo de amadurecimento e consequentemente a destanização dos frutos. Tal aplicação, porém, é inviável em nível comercial. Inicialmente, os produtores utilizavam o carbureto de cálcio que, ao reagir à água, libera hidróxido de cálcio e etileno. Porém, tal processo tem o inconveniente de ser extremamente perigoso, considerando os riscos de explosão. Uma opção é a aplicação de azetil, uma mistura de etileno e nitrogênio, produto comumente aplicado no processo de climatização de bananas. O nitrogênio é um gás inerte, ao contrário do etileno que é explosivo. Dessa forma, essa mistura gasosa torna-se não explosiva e assim de fácil manuseio e de maior segurança.

O maior inconveniente de se acelerar o processo de amadurecimento, para promover a destanização dos frutos, é a diminuição da vida de prateleira do produto. O caqui é um fruto sensível ao etileno, apresentando amadurecimento rápido, acompanhado por uma redução significativa na firmeza da polpa, tornando-se um fruto frágil e extremamente suscetível a danos mecânicos, o que dificulta seu transporte e comercialização. O amolecimento ocorre devido ao aumento da atividade de enzimas de degradação de paredes celulares, tais como a celulase, a pectinametilesterase (PME) e a poligalacturonase (PG) (TAIRA et al., 1997).

Durante o processo de amadurecimento dos frutos, o etileno induz a formação de compostos, responsáveis pelo aroma do fruto como o acetaldeído e o etanol. O acetaldeído pode ser utilizado na polimerização das moléculas de tanino, enquanto o etanol pode ser transformado em acetaldeído pela



enzima álcool desidrogenase, auxiliando no processo de destanização.

Aplicação de etanol

A destanização com álcool etílico consiste no armazenamento dos frutos em câmaras sob condições que propiciem a evaporação do álcool. A penetração do etanol no fruto ocorre, principalmente, através da superfície da casca e aumenta, proporcionalmente, em função de sua concentração na atmosfera circundante (KATO, 1984; 1987). Uma vez absorvido, o etanol é transformado em acetaldeído pela ação da enzima álcool desidrogenase (OSHIDA et al., 1996). O acetaldeído formado pode reagir com os taninos solúveis, causando sua polimerização e torná-los assim insolúveis (ITO, 1971).

A aplicação de etanol mostrou-se mais eficiente que a aplicação de acetaldeído em frutos de caqui 'Hiratanenashi'. Esse fato pode ser explicado pela maior eficiência dos frutos em absorver etanol em comparação ao acetaldeído (FUKUSHIMA et al., 1991).

Um dos fatores que tornam o etanol um agente destanizador de grande potencial é o fato de que o tratamento com etanol resultou em frutos contendo, aproximadamente, 13 vezes mais substâncias insolúveis que os frutos não tratados (TAYLOR, 1993). Entretanto, o tratamento apresenta como desvantagem o amolecimento da polpa do fruto (ITTAH, 1993).

Os caquis imaturos apresentaram maior rapidez na diminuição do teor de taninos solúveis, quando acondicionados em contentores plásticos, sob

temperatura de 20°C e submetidos ao tratamento com solução de etanol. Os autores observaram maior acúmulo de acetaldeído na polpa dos frutos jovens do que nos frutos maduros (TAIRA et al., 1990). TAYLOR (1993) também relatou que a remoção da adstringência ocorre mais rapidamente em frutos jovens do que em frutos maduros, possivelmente, em função da maior conversão do etanol a acetaldeído.

A aplicação de 3,85ml etanol L câmara¹ em caquis 'Giombo', durante de 24h, sob temperatura de 20°C e 95% de umidade relativa (UR), foi eficientemente destanizada, sendo que o melhor período para consumo dos frutos situou-se entre o 4º e o 8º dia após o tratamento, considerando que, a partir do 4º dia, a concentração de taninos solúveis ficou abaixo de 0,1%, imperceptível ao paladar (ANTONIOLLI et al., 2000). Neste trabalho, os autores verificaram ainda que a firmeza da polpa dos frutos se manteve aceitável durante o período de oito dias, posteriores ao tratamento. Utilizando concentrações de 1,75 e 3,5 mL de álcool etílico por kg de caqui 'Giombo', expostos durante 12 e 24h, foi possível remover a adstringência dos frutos após 6 dias, a 22°C e 90% de UR (TERRA et al., 2006; CHIOU et al., 2007). Concentrações superiores a 3,5 mL de álcool por kg de fruto, expostos num período de 6 e 12h, mostraram-se eficientes na remoção da adstringência, porém, após 6 dias a 22°C e 90% de UR, danos de queimadura na casca foram observados (CHIOU et al., 2006). De acordo com PODD & VAN STADEN (1998), altas concentrações de etanol podem aumentar a permeabilidade de membranas, pois afetam a bicamada lipídica e causam danos às células.

A exposição de caquis 'Rama Forte' à concentração de 1,70mL de álcool etílico por kilograma de fruto, durante 6 e 12h, resultou na perda da adstringência e na manutenção da firmeza dos frutos por um período de 8 dias, sob condições de 25°C e 90% UR. Frutos expostos durante 18-24h, tornaram-se não adstringentes, mas houve uma significativa perda de firmeza no 4º dia de armazenamento (MUÑOZ, 2002). Utilizando a mesma concentração de etanol, durante 6 e 12h, outros autores observaram remoção da adstringência de caqui 'Rama Forte', após 4 dias, a 22°C, sendo que os frutos mantiveram-se aptos ao consumo durante 16 dias (MAIA et al., 2006; PUPIN et al., 2006; VITTI et al., 2007).

A remoção da adstringência, utilizando o vapor de álcool etílico, mostra-se bastante eficiente, além de manter a firmeza dos frutos. No entanto, foi relatado o escurecimento de pequenas estrias presentes na casca dos frutos (VITTI et al., 2006). O aparecimento dessas estrias parece não ser provocado pelo tratamento com álcool etílico, e sim pode estar relacionado à aceleração do crescimento dos frutos, causado por um excesso de irrigação ou adubação nitrogenada.

Armazenamento em ambiente com baixo teor de oxigênio

Outra forma de induzir a produção de acetaldeído em frutos é colocá-los em condições de baixos níveis de oxigênio. Sob esta condição, o piruvato proveniente da glicólise é descarboxilado, gerando grandes quantidades de acetaldeído e etanol.

Em atmosferas com concentrações inferiores a 5% de oxigênio, a taxa de respiração aeróbica do fruto diminui significativamente, devido à menor oferta de oxigênio no ambiente. Quando, porém, o nível de oxigênio atinge concentrações muito baixas, inferiores a 1%, a taxa de produção de dióxido de carbono aumenta abruptamente. Nesse caso, a produção de gás carbônico é proveniente da descarboxilação do piruvato em acetaldeído pela ação da piruvato descarboxilase. O nível de oxigênio crítico que inicia a fermentação e o acúmulo de acetaldeído e etanol é chamado de Ponto de Pasteur, atualmente, conhecido como LOL (*Low Oxygen Limit*) ou FIP (*Fermentation Induction Point*) (PESIS, 2005).

A concentração de oxigênio presente na atmosfera de armazenamento, capaz de promover respiração anaeróbica, varia entre os diferentes tipos de frutos. Tal efeito pode ser conseguido por meio da lavagem da atmosfera de armazenamento com nitrogênio, ou promovendo uma alta pressão parcial de dióxido de carbono nesse ambiente de

armazenamento. Aplicação de elevadas concentrações, tanto de nitrogênio quanto de gás carbônico, é capaz de remover a adstringência de caqui, porém o dióxido de carbono apresenta uma maior eficiência e um maior acúmulo de acetaldeído (PESIS & BEN-ARIE, 1986; ARNAL & DEL RÍO, 2003). Inicialmente, acreditava-se que o dióxido de carbono era capaz de inibir a ação da enzima álcool dehidrogenase, impossibilitando assim a transformação de acetaldeído em etanol. No entanto, tal hipótese foi descartada quando foi observado que os níveis de etanol em frutos tratados com nitrogênio e gás carbônico eram iguais, ao contrário dos níveis de acetaldeído que eram superiores em frutos tratados com dióxido de carbono. Utilizando carbono marcado radioativamente ($^{14}\text{CO}_2$), PESIS & BEN-ARIE (1986) observaram que os frutos apresentavam grande parte do carbono incorporado na forma de ácidos carboxílicos, mais precisamente, ácido málico (95%). Contudo, não foi observado acúmulo de acetaldeído marcado com ^{14}C . Algumas das explicações para isso referem-se ao fato de que, devido à condição de anaerobiose, o metabolismo do ciclo do ácido tricarboxílico mantém-se inativo; ou que, na transformação de piruvato em acetaldeído, o gás carbônico liberado seja exatamente o carbono que foi incorporado no ácido málico. Assim, a formação de ácido málico estaria relacionada à maior eficiência de destanização e à maior produção endógena de acetaldeído em caquis tratados com atmosfera enriquecida de dióxido de carbono.

Aplicando-se ácido málico e piruvato em discos de polpa de caqui, PESIS & BEN-ARIE (1986) observaram a atividade de enzima málica e piruvato descarboxilase. A aplicação de piruvato foi mais eficiente na produção de acetaldeído, e isso pode ser explicado pelo fato de o piruvato ser o precursor primário, enquanto o ácido málico necessita ser, primeiramente, transformado em piruvato.

Diversos autores indicam que concentrações entre 70 e 100% de dióxido de carbono são eficientes para a destanização de caqui (GAZIT & ADATO, 1972; BEN-ARIE & GUELFAT-REICH, 1976; PESIS & BEN-ARIE, 1986). Aplicando 98% de dióxido de carbono num período de 24h, é possível remover a adstringência de caquis 'Rojo Brillante', mantendo a firmeza dos frutos adequada (SALVADOR et al., 2006). Utilizando a cultivar 'Rama Forte', MUÑOZ (2002) observou uma grande eficiência na destanização e manutenção da qualidade dos frutos, quando esses foram tratados com 70% de dióxido de carbono durante 12h. Utilizando a mesma cultivar, VITTI et al. (2006) observaram grande eficiência na remoção da adstringência, quando os frutos eram tratados com 70

e 80% de gás carbônico durante 12h. Os frutos tratados durante um período mais longo (18h) apresentaram perda de firmeza maior, após 14 dias de armazenamento a 22°C e 90% UR.

Elevadas concentrações de dióxido de carbono aplicadas em caqui, por um período muito longo, podem acarretar na formação de manchas escuras tanto na casca quanto na polpa. O mecanismo da formação dessas manchas ainda não está claro, porém, sabe-se que, durante a exposição dos frutos à atmosfera rica em dióxido de carbono, a atividade de enzimas como polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD) aumenta gradativamente, atingindo o máximo com o aparecimento das manchas (KATO, 1987). Segundo SMAGULA & BRAMLAGE (1977), o acúmulo de acetaldeído decorrente da exposição dos frutos a uma atmosfera com elevada concentração de dióxido de carbono (70 a 100%), pode conduzir a uma desorganização celular e ao escurecimento dos tecidos. Os grupamentos fenóis são oxidados a grupamentos quinona e estes sofrem polimerização, gerando compostos de cor escura. Já, outros autores acreditam que as enzimas de oxidação de compostos fenólicos (PPO) podem não estar relacionadas à formação das manchas escuras, pois para que estas estejam ativas e oxidem os compostos fenólicos, como o tanino, é necessário oxigênio (SIRIPHANICH & KADER, 1985).

Um fato importante observado apenas em caquis destanzados com dióxido de carbono é a recorrência da adstringência, que consiste na ressolubilização dos taninos. O metabolismo de destanização é dividido em duas etapas, a primeira consiste no acúmulo de acetaldeído e a segunda, na polimerização das moléculas de tanino. Caso alguma das etapas não seja corretamente concluída, existe a possibilidade de os taninos insolubilizados tornarem-se novamente solúveis, inviabilizando o consumo do fruto (ITAMURA & FUKUSHIMA, 1989). Tal fato foi observado com as cultivares Triumph (BEN-ARIE & SONEGO, 1993) e Rama Forte (EDAGI et al., 2006), ambas tratadas com atmosfera enriquecida com dióxido de carbono.

Outro método para formação de atmosferas pobres em oxigênio é a utilização de embalagens plásticas que propiciam a modificação da atmosfera. Todas as embalagens plásticas apresentam taxas de permeabilidade aos gases, que são variáveis em função do material, da espessura e da diferença de concentração interna e externa da embalagem. No entanto, utilizando uma embalagem adequada, a permeabilidade é menor que a taxa de produção de dióxido de carbono pelos frutos e consumo de oxigênio devido à respiração aeróbica dos mesmos. Após um

período de armazenamento no interior dessas embalagens de atmosfera modificada, essa condição favorece a formação de uma atmosfera de equilíbrio, em qual a produção de dióxido de carbono e o consumo de gás oxigênio são o mesmo que a permeabilidade desses gases pela embalagem. Dessa forma, utilizando embalagens de atmosfera modificada, é possível formar um ambiente que possibilite a formação de acetaldeído a partir do piruvato. Utilizando embalagens plásticas de polietileno, BEN-ARIE et al. (1991) e PESIS et al. (1986) conseguiram remover a adstringência de caquis 'Triumph'. Foi observado o acúmulo de acetaldeído e de etanol dentro das embalagens.

No entanto, a utilização de embalagens plásticas deve ser realizada com cuidado, pois caso o período de armazenamento no interior das embalagens seja muito grande, pode ocorrer a fermentação dos frutos, fazendo com que estes percam o sabor e o aroma. Em períodos superiores a três dias no interior de embalagens plásticas de polietileno de baixa densidade, os frutos de caqui 'Triumph' apresentaram ausência de aroma e sabor (PESIS et al., 1986). Para a cultivar 'Giombo', o uso de embalagens plásticas de polietileno de baixa densidade foi eficiente na remoção de adstringência, porém essas embalagens comprometeram a firmeza de polpa dos frutos (ANTONIOLLI et al., 2001).

Polimerização das moléculas de tanino

O acetaldeído é uma molécula muito reativa, podendo também reagir a proteínas que apresentam resíduos de aminoácidos com grupos funcionais como NH_2 e SH (PESIS, 2005). Também tem a capacidade de reagir aos grupamentos fenóis, que são hidroxilas ligadas a anéis aromáticos, presentes, em grande número, em compostos fenólicos, como é o caso dos taninos. Outra possibilidade é ocorrer a liberação do átomo de oxigênio, que apresenta uma dupla ligação covalente com o carbono do acetaldeído, assim possibilitando a essa molécula se ligar a duas moléculas de taninos, liberar uma molécula de água.

Existe também a possibilidade de ocorrer polimerização de moléculas de tanino na ausência de acetaldeído. Esse fato é comum durante o amadurecimento dos frutos, quando ocorre o amolecimento desses. Devido à atividade das celulasas, a parede celular é degradada, formando pectinas solúveis que vão ao citosol. As pectinas solúveis podem sofrer interações não covalentes com as moléculas de tanino, realizando uma função similar ao acetaldeído, polimerizando-as e, assim, removendo a adstringência dos frutos (TAIRA et al., 1997). As moléculas de pectinas solúveis também podem competir

com as moléculas de glicoproteínas presentes na saliva da boca, pela reação às moléculas de tanino, diminuindo assim a sensação de adstringência (OZAWA et al., 1987). Também foi observado que durante o amadurecimento dos frutos ocorre a despolimerização de polissacarídeos presentes na parede celular (CUTILLAS-ITURRALDE et al., 1993).

Durante o processo de amadurecimento, devido à degradação das paredes celulares e à descompartmentalização das células, outros compostos como proteínas e açúcares também podem reagir de forma não covalente com as moléculas de tanino. Esse fato foi observado por meio do congelamento de frutos de caqui. Utilizando o nitrogênio líquido para congelar os frutos, após o descongelamento não foi observada a remoção da adstringência, pois como o congelamento é rápido, ocorre formação de cristais de gelo pequenos, não danificando o tecido dos frutos. No entanto, ao utilizar temperaturas não tão baixas (-20°C), ocorre a formação de cristais de gelo maiores, promove-se assim o rompimento do sistema de endomembranas e a descompartmentalização da célula, liberam-se compostos com carga, que polimerizam as moléculas de tanino, diminuindo a adstringência dos frutos (TAIRA et al., 1998). Tais fatos justificam o processo de destanização com a aceleração da maturação e mostram também que não é necessário o acúmulo de acetaldeído para a remoção da adstringência, apesar de serem ineficazes e inviáveis em nível comercial.

Fatores que afetam o processo de destanização cultivares

Tanto dosagens quanto tempo de exposição dos frutos aos tratamentos de destanização são variáveis quanto à eficiência de uma cultivar para outra. Para a cultivar 'Rojo Brillante', na Espanha, dosagens superiores a 80% de dióxido de carbono são necessárias para que ocorra uma destanização eficiente e para que a qualidade dos frutos seja mantida, possibilitando sua comercialização (ARNAL et al., 2003; SALVADOR et al., 2006). Contudo, concentrações de 70% de gás carbônico por um período de 12h são suficientes para destanizar os frutos da cultivar 'Rama Forte' no Brasil. Em concentrações e tempos de exposição superiores a esses, a remoção da adstringência é eficiente, porém pode haver comprometimento da qualidade dos frutos (MAIA et al., 2006; PUPIN et al., 2006; VITTI et al., 2006; 2007). Utilizando embalagens plásticas de atmosfera modificada para destanização de caquis 'Triumph', PESIS et al. (1986) necessitaram de uma atmosfera com 33% de gás carbônico durante dois dias para remover a adstringência dos frutos.

A diferença entre as cultivares não está apenas na concentração de dióxido de carbono e o tempo de exposição, mas também no método de destanização a ser utilizado. Existem cultivares que apresentam maior eficiência no processo de destanização com atmosfera anaeróbica, como a 'Denkro' (TAIRA et al., 1994), outras apresentam maior facilidade de remoção da adstringência com aplicação de vapor de álcool etílico, enquanto outras cultivares não apresentam diferenças, como é o caso da Rama Forte (VITTI et al., 2006). Acredita-se que o motivo dessa diferença esteja na atividade das enzimas piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase. Cultivares que são destanizadas mais facilmente com atmosfera anaeróbica apresentam maior atividade da piruvato descarboxilase, enquanto as cultivares que acumulam maior quantidade de acetaldeído com a aplicação de etanol têm uma maior atividade da álcool desidrogenase (YAMADA et al., 2002).

Estádio de maturação na colheita

TAIRA et al. (1990) constataram que os caquis mais imaturos, submetidos ao tratamento com solução de etanol 30% a 20°C, apresentaram maior rapidez na redução do teor de taninos solúveis, com maior acúmulo de acetaldeído na polpa, quando comparados aos frutos maduros. Esses resultados estão de acordo com as observações de TAYLOR (1993), que relatou que a remoção da adstringência ocorre mais rapidamente em frutos jovens, quando comparada aos frutos mais maduros, possivelmente, em função de uma conversão mais eficiente do etanol em acetaldeído.

Aplicando uma concentração de 70% de gás carbônico, durante 12 e 18h, NUNES et al. (2006) observaram que caquis 'Rama Forte', de coloração verde, apresentaram maior facilidade de destanização com relação a caquis de coloração laranja e vermelha. Além de apresentarem uma menor eficiência de destanização, caquis de coloração avermelhada apresentam uma queda de firmeza muito mais rápida, inviabilizando sua comercialização em poucos dias após a aplicação dos tratamentos.

Temperatura

A temperatura utilizada no processo de destanização também é um fator muito importante. Em temperaturas elevadas, a taxa de respiração dos frutos é maior, seu metabolismo é acelerado, aumentando a velocidade de amadurecimento e senescência dos frutos. ANTONIOLLI et al. (2002) observaram que caquis 'Giombo', expostos durante 48h ao álcool etílico a 30°C, perderam a adstringência após 3 dias a 25°C,

enquanto os frutos expostos a 10 e 20°C foram destanizados apenas após 6 dias. Portanto, o aumento da temperatura auxilia na remoção da adstringência. Acredita-se que esse fato seja decorrente da maior velocidade de evaporação do etanol, antecipando, assim, o acúmulo de etanol e acetaldeído na polpa dos frutos. Embora tenha sido verificada maior eficiência na destanização, a temperatura de 30°C acelerou o amolecimento dos frutos, diminuindo consideravelmente sua qualidade (ANTONIOLLI et al., 2002).

Além de a temperatura influenciar no processo de acúmulo de acetaldeído, também pode promover alterações no processo de polimerização das moléculas de tanino. De acordo com MATSUO & ITOO (1982), é necessário manter os frutos a uma temperatura superior a 22°C, durante 48h após a aplicação do tratamento de destanização, para promover o acúmulo de acetaldeído e início da polimerização das moléculas de tanino. No entanto, BENETTI-PINTO et al. (2007) observaram que, submetendo caquis 'Giombo' ao armazenamento refrigerado (1°C), logo após a aplicação de vapor de etanol, o processo de destanização não foi comprometido. Após 20 dias em armazenamento refrigerado, os frutos apresentavam-se não adstringentes e sua qualidade se manteve durante 16 dias a 22°C.

CONCLUSÕES

O processo de remoção da adstringência é bastante complexo, envolvendo diversos compostos e enzimas responsáveis por catalisar as reações. A principal reação, que é a polimerização das moléculas de tanino pelo acetaldeído, é bastante clara, porém outros métodos de polimerização dos taninos ainda geram muitas dúvidas. As diferentes maneiras de se acumular o acetaldeído também são rotas metabólicas que necessitam de maior aprofundamento e atenção para que seja possível o entendimento de forma conjunta do processo de destanização de caquis.

AGRADECIMENTOS

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP pelo auxílio no desenvolvimento de diversos projetos de pesquisa relacionados à destanização de caqui, à Associação Frutícola do Alto Tietê (AFRUT) pela doação dos frutos de caquizeiro e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor e financiamento de projetos de Auxílio à Pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 1584p.
- 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.
- ANTONIOLLI, L.R. et al. Influência da embalagem de polietileno na remoção da adstringência e na qualidade de caquis (*Diospyros kaki* L.), cv. 'Giombo', armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.293-297, 2001.
- ANTONIOLLI, L.R. et al. Remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 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**, 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**, 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**, v.58, n.6, p.1397-1400, 1993.
- BEN-ARIE, R. et al. Modified atmosphere packaging for long-term storage of astringent persimmons. **Postharvest Biology and Technology**, v.1, p.169-179, 1991.
- BENETTI-PINTO, J. et al. Armazenamento refrigerado de caqui 'Giombo' após remoção de adstringência com diferentes concentrações de etanol. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS, 7., 2007, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP, 2007.
- CAMPO-DALL'ORTO, et al. Novo processo de avaliação da adstringência dos frutos no melhoramento do caquizeiro. **Bragantia**, v.55, n.2, p.237-243, 1996.
- CHIOU, D.G. et al. Destanização de caquis cv. Giombo em diferentes concentrações de etanol e tempos de exposição. In: SIICUSP – SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 14., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP, 2006.
- CHIOU, D.G. et al. Remoção da adstringência de caqui 'Giombo' em função da concentração de etanol, tempo de exposição e temperaturas de destanização. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, 2., 2007, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP, 2007.
- CUTILLAS-ITURRALDE, A. et al. Metabolism of cell wall polysaccharides from persimmon fruit: pectin solubilization during fruit ripening occurs in apparent absence of polygalacturonase activity. **Physiologia Plantarum**, v.89, p.369-375, 1993.

- EDAGI, F.K. et al. Recorrência de adstringência em frutos de caqui cv. Rama-Forte destanizados com dióxido de carbono. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 14., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP, 2006.
- FUKUSHIMA, T. et al. Mechanisms of astringency removal by ethanol treatment in 'Hiratanenashi' kaki fruits. **Japanese Society for Horticultural Science Journal**, v.60, n.3, p.685-694, 1991.
- GAZIT, S.; ADATO, I. Effect of carbón dioxide atmosphere on the course of astringency disappearance of persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruits. **Journal of Food Science**, v.37, n.6, p.815-817, 1972.
- HRIBAR, J. et al. Changes during storing and astringency removal of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). **Acta Alimentaria**, v.29, n.2, p.123-136, 2000.
- ITAMURA, H.; FUKUSHIMA, T. Effects of several treatments on the behavior of tannin in Japanese persimmon fruits. **Bulletin of the Yamagata University Agriculture Science**, v.10, p.917-922, 1989.
- ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO₂: a possible connection to deastringency mechanisms. **Food Chemistry**, v.48, n.1, p.25-29, 1993.
- ITO, S. The persimmon. In: HULME, A.C. **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic, 1971. V.2, cap.8, p.281-301.
- KATO, K. Astringency removal and ripening as related to etanol concentration in persimmon fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.53, n.3, p.278-289, 1984.
- KATO, K. Astringency removal and ripening related to temperatura during the astringency removal etanol in persimmon fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.55, n.4, p.498-509, 1987.
- KHANBABAEE, K., VAN REE, T. Tannins: classification and definition. **Natural Product Reports Articles**, v.18, p.641-649, 2001.
- LEHNINGER, A.L. et al. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Salvier, 2007. 1232p.
- MAIA, F.A. et al. Análise da firmeza e índice de podridão em caquis cv. 'Rama-Forte' em diferentes épocas de colheita destanizados com dióxido de carbono. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 14., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP, 2006.
- MARTINS, F.P.; PEREIRA, F.M. **Cultura do caquizeiro**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 71p.
- 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 Biology Chemistry**, v.46, n.3, p.683-689, 1982.
- MUÑOZ, V.R.S. **Destanização do caqui (*Diospyros kaki* L.) 'Rama Forte'**. 2002. 164f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- NUNES, S.D.V. et al. Influência do estágio de maturação na destanização e armazenamento de caquis cv. 'Rama-Forte'. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 14., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP, 2006.
- OSHIDA, M. et al. On the nature of coagulated tannins in astringent-type persimmon fruit after na artificial treatment of astringency removal. **Postharvest Biology and Technology**, v.8, p.317-327, 1996.
- OZAWA, T. et al. Polyphenol interactions: astringency and the loss of astringency in ripening fruit. **Phytochemistry**, v.26, p.2937-2942, 1987.
- PENTEADO, S.R. Cultura do caquizeiro. In: **Fruticultura de clima temperado em São Paulo**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. Cap.8, p.157-173.
- PESIS, E.; BEN-ARIE, R. Carbon dioxide assimilation during postharvest removal of astringency from persimmon fruit. **Physiologia Plantarum**, v.67, p.644-648, 1986.
- PESIS, E. et al. Deastringency of persimmon Fruits by creating a modified atmosphere in polyethylene bags. **Journal of Food Science**, v.51, n.4, p.1014-1017, 1986.
- PESIS, E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. **Postharvest Biology and Technology**, v.37, p.1-19, 2005.
- PODD, L.A.; VAN STADEN, J. The role of ethanol and acetaldehyde in flower senescence and fruit ripening – A review. **Plant Growth Regulation**, v.26, p.183-189, 1998.
- PUPIN, F. et al. Análise da perda de massa e índice de adstringência em caquis 'Rama-Forte' em diferentes épocas de colheita destanizados com dióxido de carbono. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 14., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP, 2006.
- RAGAZZINI, D. **El kaki**. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1985. 176p.
- SALUNKHE, D.K.; DESAI, B.B. Persimmon. In: _____. **Postharvest biotechnology of fruits**. Boca Raton, Florida: CRC, 1984. V.II, cap.15, p.105-109.
- SALVADOR, A. et al. Effect of ozone on postharvest quality of persimmon. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, p.443-446, 2006.
- SIRIPHANICH, J.; KADER, A. Effects of CO₂ on total phenolics, phenylalanine ammonia lyase and polyphenol oxidase in lettuce. **Journal American Society Horticultural Science**, v.110, n.2, p.249-253, 1985.
- SMAGULA, J.M.; BRAMLAGE, W.J. Acetaldehyde accumulation: is it a cause of physiological deterioration fruits? **HortScience**, v.12, n.3, p.200-203, 1977.
- SUGIURA, A. et al. Changes in the ethanol acetaldehyde contents of Japanese persimmon fruits in relation to natural

- loss of astringency. **Studies from the Institute of Horticulture**, v.9, p.41-47, 1979.
- TAIRA, S. et al. Effects of harvest maturity on removal of astringency in Japanese persimmon (*Diospyros kaki*), 'Hiratanenashi' fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.58, n.4, p.813-818, 1990.
- TAIRA, S. et al. Difference between the japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) 'Denkro' and 'Hiratanenashi' on acetaldehyde production by their flesh discs. **Journal Japan Society Horticultural Science**, v.62, p.897-902, 1994.
- TAIRA, S. et al. Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins. **Postharvest Biology and Technology**, v.12, p.265-271, 1997.
- TAIRA, S. et al. Effects of freezing rate on astringency reduction in persimmon during and after thawing. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.317-324, 1998.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2003. 720p.
- TAYLOR, J.E. Exotics. In: SEYMOUR, G.B. et al. **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. Cap.5, p.151-186.
- TERRA, F.A.M. et al. Destanização de caquis cv. Giombo em diferentes temperaturas e tempos de exposição. In: SIICUSP – SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 14., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP, 2006.
- VITTI, D.C. et al. Efeito da época de colheita sobre a destanização de caquis 'Rama-Forte'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio, RJ. **Anais...** Cabo Frio, RJ, 2006.
- VITTI, D.C.C. et al. Efeito da época de colheita e de agentes destanizadores sobre a quantidade de acetaldeído e etanol em caquis 'Rama-Forte'. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, 2., 2007, Campinas, SP. **Anais...** Campinas, SP, 2007.
- 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**, n.94, p.63-72, 2002.
- YONEMORI, K. et al. Persimmon genetics and breeding. **Plant Breeding Reviews**, n.19, 2000.
- WILLS, R. et al. **Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruits, vegetables and ornamentals**. University of New South Wales, 1998.