

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

**Métodos de redução da adstringência de pedúnculos de caju *in natura* e seus efeitos sobre a qualidade físico-química, nutricional e aromática**

**Jaqueline Visioni Tezotto-Ulian**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba  
2017



Jaqueleine Visioni Tezotto-Uliana  
Engenheira Agrônoma

**Métodos de redução da adstringência de pedúnculos de caju *in natura* e seus efeitos sobre  
a qualidade físico-química, nutricional e aromática**

Orientador:  
Prof. Dr. **RICARDO ALFREDO KLUGE**

Tese apresentada para obtenção do Título de Doutora  
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba  
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Tezotto-Uliana, Jaqueline Visioni

Métodos de remoção da adstringência de pedúnculos de caju *in natura* e seus efeitos sobre a qualidade físico-química, nutricional e aromática / Jaqueline Visioni Tezotto-Uliana. -- Piracicaba, 2017.  
129 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Anacardium occidentale* L.
2. Vapor de etanol
3. Dióxido de carbono
4. Filme plástico I.
- Título

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Valter e Cleusa Tezotto,  
pelo amor e carinho que sempre senti, por todo ensinamento e incentivo que me transmitiram e  
pela compreensão de sempre. Espero ser como vocês para o meu filho!

Aos meus irmãos, Thomas e Victória Tezotto,  
pelo amor, torcida, amizade e incentivo, sempre se fazendo presente em minha vida. Amo-os  
eternamente!

Ao meu marido, Arnaldo Uliana,  
por seu meu melhor amigo, meu companheiro e a pessoa que sempre sonhei para estar ao meu  
lado. Amo você!

Ao meu filho, Giovani,  
que mesmo tão pequeno já me faz tão feliz. Você é um presente para uma nova fase da minha  
vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em minha vida, sempre me protegendo, guiando, oferecendo coisas boas e por ter possibilitado a realização e conquista desse trabalho.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização de mais esse curso. Tenho imenso carinho e prazer em fazer parte dessa comunidade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge, por todo ensinamento, oportunidade concedida, dedicação, amizade, paciência e confiança durante todos esses anos. O senhor tem minha admiração e o tenho como exemplo.

Ao PPG em Fitotecnia, pela possibilidade de realização do curso de doutorado e por toda ajuda, sempre que possível. Também agradeço à secretária desse Programa, Luciane Aparecida Lopes Toledo, e a secretária do Programa de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Maria Solizete Granziol Silva, pela eficiência, prontidão e bom-humor em me ajudar.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da bolsa de doutorado e financiamento do projeto, respectivamente.

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, também da ESALQ, pelos primeiros ensinamentos da pós-colheita. Agradeço o incentivo, amizade, conselhos e disponibilidade de uso do seu laboratório. Suas correções e dicas durante a execução dos experimentos e no exame de qualificação foram essenciais para realização dos ensaios quanto ao uso da atmosfera controlada.

Ao Prof. Dr. Eduardo Purgatto, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelas preciosas sugestões e correções do trabalho, por disponibilizar seu laboratório, me ensinar e ajudar nas análises dos compostos voláteis aromáticos. Seu conhecimento, simplicidade e paciência em ensinar servem de exemplo para mim. Também agradeço ao seu orientado, Eric de Castro Tobaruela, por toda ajuda na adaptação da metodologia e condução das análises dos voláteis. Foi um prazer trabalhar com vocês.

A pesquisadora do Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, Claire I. G. L. Sarantópolous, por todo esclarecimento, sugestões e correções relacionados ao uso da atmosfera modificada passiva. Também agradeço a parceria na realização das análises dos filmes plásticos usados no trabalho. Sua participação também foi fundamental para o resultado final.

Aos professores de fruticultura da ESALQ, Simone Rodrigues da Silva, Francisco de A. A. Mourão Filho e Marcel Bellato Sposito. Agradeço todo ensinamento técnico e relacionado ao ensino e pesquisa, além da amizade e parceria. O convívio com vocês foi de grande importância para minha formação.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ, pelos ensinamentos em estatística e prontidão em me ajudar sempre que precisei.

Ao técnico do Laboratório do Prof. Angelo, Dr. Marcos José Trevisan, pelos ensinamentos, paciência, amizade e boa vontade em me ajudar durante todos esses anos.

A prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Giuseppina Pace Pereira Lima, da UNESP – Campus Botucatu, pelos ensinamentos, parcerias e disponibilidade do seu laboratório, principalmente, para adequação e ajuste das metodologias de capacidade antioxidante.

Aos meus amigos da pós-graduação, que durante esses quatro anos participaram do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita de Produtos Hortícolas (Pcolheit), em especial a Magda Tessmer, Paula Porrelli, Luciane Mendes, Cleucionne Pessoa, Juliana de Paula, Natalia Berno, Cristiane Calaboni, Ana Paula Preszenhak, Diego Reartes e Carlos Soares. Jamais esquecerei do convívio com cada um de vocês. Foi muito bom compartilhar as experiências científicas, técnicas, as relacionadas a administração, supervisão, orientação e também aquelas de descontração. Foram ótimos momentos de alegria e alguns de tristeza que contribuíram muito para o meu aprendizado.

A Juliana de Paula, Ju, a outra parte do caju, com quem compartilhei todo o meu doutorado. Incrível como em pouco tempo surge uma bela amizade e companheirismo, que durará para o resto de nossas vidas, inclusive com nossos filhos, que estão a caminho! Obrigada por tudo Ju.

A todos os ex-estagiários do Pcolheit, que em algum momento estiveram comigo durante esses anos, em especial a Sophia (pH), Ana Paula (Alazão), Laleska (Nono), Bruna (Java), Allan (Hallan), Marcela (Di), Érica (Marpou), Lorena (Choiu), Ana Carolina (MMA), Letícia (Jará), Carla (Cu-k), Juliana (Grizalia), Sérgio (To-Fraco), Carolina (Stil) e Bruna (Tim). Muito obrigada pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei, incluindo fins de semana e feriado. Obrigada pelo bom-humor de sempre, pelas dicas e sugestões, paciência, compreensão dentro e fora do laboratório. Apreendi muito com vocês.

A todos os amigos de pós-graduação com quem convive durante esses, em especial a Meire Bassan e o Galiña. De uma forma ou de outra, todos têm sua participação nesse curso.

Ao produtor de caju Seu Antônio e, especialmente, ao seu meieiro, Seu Donizete, e sua esposa, D<sup>a</sup> Imaculada, por permitir nossa entrada na propriedade e disponibilizar toda ajuda possível.

As bibliotecárias da ESALQ, em especial a Eliana, que se dispuseram a corrigir a formatação dessa tese.

Aos meus pais, irmãos e marido, por tudo que sou e consegui. Pelo amor, carinho, amizade, compreensão e estímulo que sempre me passam. Vocês foram essenciais para conclusão desse trabalho.

E todos que de alguma forma me ajudaram na realização desse trabalho, incluindo meu sogro e sogra.

**Muito obrigada!**

## EPÍGRAFE

*“E isto afirmo: aquele que semeia pouco, pouco também seifará;  
e o que semeia com fatura, com abundância também ceifará.  
Cada um contribua segundo tiver proposto no coração,  
não com tristeza ou por necessidade;  
porque Deus ama quem dá com alegria”.*

*2 Coríntios 9, 6 - 7*

## SUMÁRIO

RESUMO .....	9
ABSTRACT .....	10
1. INTRODUÇÃO .....	11
Referências .....	14
2. O VAPOR DE ETANOL É EFICIENTE PARA A REDUÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA DE PEDUNCÚLOS DE CAJU .....	17
Resumo .....	17
Abstract .....	17
2.1. INTRODUÇÃO.....	18
2.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
2.3. RESULTADOS.....	22
2.4. DISCUSSÃO .....	32
Referências .....	34
Anexos.....	37
3. TEMPERATURA BAIXA PARA A APLICAÇÃO DE ETANOL REDUZ A ADSTRINGÊNCIA E CONTRIBUI PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE PEDÚNCULOS DE CAJU .....	41
Resumo .....	41
Abstract .....	41
3.1. INTRODUÇÃO.....	42
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.3. RESULTADOS.....	47
3.4. DISCUSSÃO .....	56
Referências .....	59
Anexos.....	61
4. PERFIL DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE PEDÚNCULOS DE CAJU DESTANIZADOS COM ETANOL E REFRIGERADOS .....	63
RESUMO .....	63
ABSTRACT .....	63
4.1. INTRODUÇÃO.....	64
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	65

4.3. RESULTADOS.....	68
4.1. DISCUSSÃO.....	78
Referências .....	81
Anexo .....	83
5. ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA REDUZ A ADSTRINGÊNCIA E MANTEM A QUALIDADE DE PEDÚNCULOS DE CAJU.....	85
Resumo .....	85
Abstract .....	85
5.1. INTRODUÇÃO.....	86
5.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	88
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	91
5.4. CONCLUSÃO.....	102
Referências .....	103
Anexos.....	106
6. REDUÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA DE CAJU COM ALTA DOSE DE CO <sub>2</sub> E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA .....	109
Resumo .....	109
Abstract .....	109
6.1. INTRODUÇÃO.....	110
6.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	111
6.3. RESULTADOS.....	115
6.4. DISCUSSÃO.....	122
Referências .....	125
Anexos.....	128

## RESUMO

### **Métodos de redução da adstringência de pedúnculos de caju *in natura* e seus efeitos sobre a qualidade físico-química, nutricional e aromática**

O pedúnculo de caju é carnoso, suculento, nutritivo, de aroma agradável e perecível. Sua baixa aceitação para o consumo *in natura* se deve aos taninos, que são os fenólicos causadores da adstringência. Para reduzir essa sensação, deve-se polimerizar os taninos com o acetaldeído, tornando-os insolúveis e incapazes de reagir com as enzimas da boca. O objetivo do trabalho foi estudar métodos de redução da adstringência de pedúnculos de caju e seus efeitos sobre qualidade físico-química, nutricional e aromática. Os experimentos conduzidos testaram dose, tempo e temperatura de exposição dos cajus ao etanol ou dióxido de carbono e o melhor filme plástico para obtenção da atmosfera modificada passiva. O teor de etanol, acetaldeído, proantocianidinas (taninos) e polifenóis dos cajus foram influenciados pela dose, mas não pelo de tempo de exposição ao etanol, sendo 3,50 mL kg<sup>-1</sup> por 12 h o mais indicado. A destanização não sofreu influência da temperatura, mas quando feita a 25°C, resultou em cajus com maior podridão e menor firmeza. O DPPH foi correlacionado com as proantocianidinas e fenóis, tendo maior perda na destanização a 25°C. O FRAP na fração lipossolúvel foi correlacionado com as quercetinas, sofrendo maior perda na destanização a 5°C. A análise de perfil dos compostos aromáticos identificou 26 ésteres, 12 álcoois, 8 aldeídos, 8 terpenos, 2 ácidos carboxílicos, 2 cetonas, 2 fenóis e 2 hidrocarbonetos. Os dias de armazenamento tiveram maior relevância do que a destanização para a presença e intensidade dos aromas, independentemente da temperatura. Portanto, a aplicação de 3,5 mL etanol por kg de caju, por 12 h e 5°C remove a adstringência e pouco afeta a qualidade nutricional e o perfil dos compostos aromáticos. A aplicação do CO<sub>2</sub> induziu a respiração anaeróbica, reduziu as proantocianidinas e adstringência e não fermentou os cajus. O uso de 100% de CO<sub>2</sub> por 12 e 24 h e 80% por 48 h reduziram o teor ácido ascórbico, antocianinas, DPPH e FRAP hidrossolúvel nos primeiros dias do armazenamento. Cajus submetidos a 80% de CO<sub>2</sub> por 48 h tiveram as maiores perdas de massa. A destanização a 24 e 48 h reduziu a incidência de podridão. A dose de 100% de CO<sub>2</sub> por 24 h é a mais indicada por reduzir a adstringência de forma imediata, não prejudicar a qualidade físico-química e resultar nas menores perdas nutricionais dos pedúnculos de caju. O uso dos filmes poliamida/polietileno (PA/PE) 100 µm e polipropileno de camada biorientada (BOPP) 50 µm reduziu a adstringência, ampliou a vida útil dos cajus em 12 dias e conservou a coloração da epiderme, o teor de antocianinas e quercetinas e a atividade antioxidante. A comparação entre eles mostrou diferença apenas no teor de ácido ascórbico e no DPPH no 24º dia de armazenamento, quando pedúnculos embalados em PA/PE apresentaram os melhores resultados. Entretanto, esses pedúnculos apresentaram odor característico de fermentado desde o dia 3. Dessa forma, o BOPP 50 µm é o filme mais indicado para redução da adstringência e conservação dos pedúnculos de caju.

**Palavras-chave:** *Anacardium occidentale* L.; Vapor de etanol; Dióxido de carbono; Filme plástico

## ABSTRACT

### **Methods of reducing astringency of fresh cashew apples and their effects on physicochemical, nutritional and aromatic quality**

The cashew apple is fruity, juicy, nutritive, with a pleasant aroma and perishable. The low acceptance for it fresh consumption is due to the tannins, that are the phenolics compounds responsible for astringency. To reduce this sensation, the tannins should be polymerized with acetaldehyde, rendering them to an insoluble form, unable to react with the mouth enzymes. The objective of this work was to study methods to reduce the astringency of cashew apple and their effects on physicochemical, nutritional and aromatic quality. The conducted experiments tested dose, time and temperature of exposure of cashew apples to ethanol or carbon dioxide and the best packing film to achieve the passive modified atmosphere. The ethanol, acetaldehyde, proanthocyanidins (tannins) and polyphenols content of the cashew apples were influenced by the dose, but not by the time of exposure to ethanol, which has the 3.50 mL kg<sup>-1</sup> for 12 h the most indicated. The detanization was not influenced by temperature, but the cashews showed higher decay and lower firmness when it was done at 25°C. The DPPH was correlated with proanthocyanidins and phenols, undergoing higher loss in detanization at 25°C. The FRAP in the liposoluble fraction was correlated with the quercetins, showing higher loss in destanization at 5°C. The profile analysis of the aromatics compounds identified 26 esters, 12 alcohols, 8 aldehydes, 8 terpenes, 2 carboxylic acids, 2 ketones, 2 phenols and 2 hydrocarbons. The storage days had greater relevance than the detanization for the presence and intensity of the aromatics, regardless of temperature. Therefore, the application of 3.5 mL ethanol per kg of cashew apple, for 12 h and 5°C removes the astringency and slightly affects the nutritional quality and profile of the aromatic compounds. The CO<sub>2</sub> application induced anaerobic respiration, reduced the proanthocyanidins content and astringency and it didn't ferment the cashew apples. The application of 100% CO<sub>2</sub> for 12 and 24 h and 80% for 48 h reduced ascorbic acid ant anthocyanin content, DPPH and FRAP water-soluble on early days of storage. Cashew apples treated with 80% of CO<sub>2</sub> for 48 h had the highest weight loss. Detanization at 24 and 48 h reduced the decay incidence. The dose of 100% of CO<sub>2</sub> for 24 hours is the most indicated because it reduces the astringency of immediate form, it doesn't impair the physicalchemical quality and results in the lower nutritional losses of the cashew apples. Packing the fruit with polyamide/polyethylene (PA/PE) 100 µm and bioriented layer polypropylene (BOPP) 50 µm films reduced astringency, extended the shelf-life of the fruit in 12 days and maintained the color of the peel, the anthocyanins and quercetins content and the antioxidant activity. The comparison between the films showed difference only in ascorbic acid content and DPPH in the 24<sup>th</sup> day of storage, when peduncles packaged in PA/PE presented the best results. However, these fruit presented fermented odor since day 3. Thus, BOPP 50 µm is the most suitable film for reducing the astringency and conservation of the cashew apples.

Keywords: *Anacardium occidentale* L.; Ethanol vapor; Carbon dioxide; Packing film

## 1. INTRODUÇÃO

O caju (*Anacardium occidentale* L.) é uma fruta nativa da região Amazônica e do Planalto Central Brasileiro (RAMOS et al., 1996). Seu cultivo ocorre em diversos países de região tropical, como a Índia, Nigéria, Tanzânia, Costa do Marfim, Moçambique e, principalmente, o Brasil, que além de ser um grande consumidor da fruta, é o maior produtor mundial de pedúnculos (falso fruto) (1.805.000 t), o quinto maior produtor de castanha (fruto verdadeiro) (109.679 t) e o terceiro maior exportador de castanha beneficiada (25.334 t) (FAO, 2017).

Evidencia-se também o grande número de pessoas empregadas na cajucultura brasileira. Há mais de 10 anos, são 35 mil trabalhadores no campo, 15 mil na indústria e mais 250 mil trabalhadores indiretos em ambos os segmentos, apenas na principal região produtora país, o nordeste (OLIVEIRA et al., 2003). Atualmente, os estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte são os de maior importância (DAMASCENO JUNIOR; BEZERRA, 2002) contudo, Maranhão, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso vêm ganhando cada vez mais destaque. Nesses estados, a intenção de cultivo do caju ocorre em função da região geográfica, sendo a extração da castanha o principal objetivo do nordeste e a comercialização da fruta ‘in natura’, ou seja, do pedúnculo, a do sudeste e centro-oeste do Brasil.

O pedúnculo de caju é uma fruta carnosa, suculenta, de aroma extremamente agradável, variável no tamanho, forma, peso e cor e, independentemente da variedade, representa cerca de 90% do peso total do caju (SANTOS; COELHO, 2000). Entretanto, sua pós-colheita é bastante dificultada pelo fato dos pedúnculos preservarem condições de comercialização por apenas 48 horas depois de colhido (MENEZES; ALVES, 1995). Esse curto período de vida útil é decorrente da sua delicada estrutura, que associada à rápida perda de firmeza e a susceptibilidade ao ataque de microrganismos fitopatogênicos, são os responsáveis pelo estabelecimento de um rápido processo fermentativo (MOURA et al., 2010). O armazenamento refrigerado a 5°C e 85-90% de UR é prática recorrente e pode estender sua vida útil para 10 dias (RAMOS et al., 1996).

Outro fator limitante do período de comercialização é o comportamento respiratório não-climatérico. Os pedúnculos devem permanecer na planta até atingirem a maturidade, pois somente nesse ponto do desenvolvimento ocorre a condensação de grande parte das moléculas de taninos condensados, reduzindo a sensação de adstringência e permitindo o seu consumo. Algumas pesquisas têm revelado que a baixa aceitação de pedúnculos de caju no Brasil e, principalmente, no exterior se deve à presença dos taninos (AGOSTINI-COSTA et al., 2002; MICHODJEHOUN-MESTRES et al., 2009).

Taninos são compostos fenólicos solúveis em água, com massa molecular variando de 500 a 3000 Daltons. Apresentam capacidade de formar complexos razoavelmente fortes com alcalóides, gelatinas e proteínas ou de combinar com celulose e pectina para formar complexos insolúveis (AGOSTINI-COSTA et al., 2000; BATTESTIN et al., 2004; ZHANG et al., 2011). São os taninos que reagem com as enzimas da saliva, principalmente a amilase, precipitando-as e se unido aos receptores de sabor, causando a sensação de adstringência. Tal sensação decorre da diminuição da secreção da mucosa bucal, contraindo ou secando o palato (ITTAH, 1993).

Existem diversos fatores que podem intervir nas propriedades sensoriais dos taninos, sendo os principais: a configuração dos compostos fenólicos (flavonoides) que o constituem, por exemplo, epicatequina ou seu isômero quiral, a catequina; a localização das ligações e a identidade dos monômeros que formam o polímero do tanino (THORNGATE; NOBLE, 1995; ARON, 2008; ZHANG et al., 2011). Em função dessas propriedades, os taninos estão divididos em dois grupos químicos: os hidrolisáveis e os condensados (AGOSTINI-COSTA et al., 1999). Os taninos hidrolisáveis são constituídos por um esqueleto de glicose, ou um álcool polihídrico, esterificado com ácido gálico (formando os galotaninos) ou hexadihidroxifênico (formando os elagitaninos). Esses taninos são prontamente hidrolisados por ácidos, bases e certas enzimas (DESHPANDE et al., 1986; BATTESTIN et al., 2004).

Os taninos condensados ou as proantocianidinas são formados pela condensação de polímeros de catequina (flavan-3-ol) e leucoantocianidinas (flavan-3,4-diol), podendo conter de duas a 50 unidades ligadas entre si. Esses taninos são considerados compostos fenólicos oligoméricos, não suscetíveis à hidrólise e são as principais moléculas adstringentes. Nos pedúnculos de caju, estão presentes em maior concentração quando comparados aos taninos hidrolisáveis (AGOSTINI-COSTA et al., 2003; DESHPAND et al., 1986; ZHANG et al., 2011).

Estudos pioneiros sobre a estrutura química dos taninos condensados demonstraram, através de separação por sílica de gel TLC e identificação por H-NMR, que existem 4 monômeros compondo os polímeros de tanino do caju anão-precoce clone CCP-76, sendo eles a epigallocatequina, epicatequina, epigallocatequina-3-O-galato e epicatequina-3-O-galato. As proporções variam na polpa e casca, sendo 73:6:18:2 e 50:6:39:5, respectivamente (MICHODJEHOUN-MESTRES et al., 2009).

A remoção ou diminuição natural da adstringência ocorre através da condensação ou polimerização das moléculas de tanino, tornando-as insolúveis, e, consequentemente, incapazes de reagir com as enzimas presentes na saliva bucal. A polimerização do tanino pode ser ocasionada por ligações covalentes entre diferentes polímeros, como taninos e moléculas de acetaldeído ( $C_2H_4O$ ), por interações não covalentes com outros componentes presentes no

citosol, como por exemplo taninos e pectinas (MATSUO; ITOO, 1982; TAIRA et al., 1997) ou ainda pela condensação aditivas de muitas moléculas de catequinas e epicatequinas (AKAGI et al., 2009; LIU et al., 2013). Dessa forma, o grau de polimerização está diretamente relacionado com a capacidade de causar adstringência. No entanto, os detalhes do processo da polimerização não estão claros e ainda não se sabe se esta é uma reação espontânea ou uma reação catalisada por enzimas (LIU et al., 2013; ZHANG et al., 2011).

Os métodos de remoção artificial da adstringência desenvolvidos até o momento para frutas frescas baseiam-se na polimerização feita pelo acetaldeído, o qual pode ser induzido na fruta por duas vias: através da desidrogenase do etanol ou pela descaboxilase do piruvato (MATSUO; ITOO, 1982; PESIS; BENARIE, 1986; PESIS, 2005). Na primeira, a reação é catalisada pela enzima álcool desidrogenase e, na segunda, há necessidade de baixa concentração de oxigênio no meio em que as frutas se encontram, para que o piruvato proveniente da glicólise seja mantido no citosol e sofra descarboxilação, gerando dióxido de carbono e acetaldeído (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Dessa forma, os métodos para induzir o acúmulo de acetaldeído na polpa das frutas são: submetê-las a aplicações de etanol ou armazená-las em ambiente anóxico, através de filmes plásticos ou aplicação de CO<sub>2</sub> (ANTONIOLLI et al., 2001; EDAGI; KLUGE, 2009). A aplicação de etanol consiste no armazenamento das frutas em câmaras sob condições que propiciem a evaporação do álcool, bem como sua penetração nas frutas. Vale ressaltar que o aumento da concentração de etanol no interior das frutas ocorre em função de sua concentração na atmosfera circundante e que o motivo da aplicação de etanol ao invés de acetaldeído é o fato de o primeiro ser absorvido mais eficientemente do que o segundo (KATO, 1987; FUKUSHIMA et al., 1991; ANTONIOLLI et al., 2000). A destanização a partir de filmes plásticos consiste no condicionamento das frutas em embalagens herméticas ou a vácuo, o que torna possível a formação de uma atmosfera com baixa concentração de O<sub>2</sub> e alta de CO<sub>2</sub>. A concentração de gases depende da massa de frutas e do tipo, área e taxa de permeabilidade das embalagens aos gases (PESIS; BENARIE, 1986; ANTONIOLLI et al., 2001). A destanização a partir da aplicação de CO<sub>2</sub> consiste no acondicionamento das frutas em câmaras sob atmosfera controlada ou com fluxo contínuo desse gás, sendo que a concentração e o tempo de exposição ao gás são os principais fatores a serem controlados (PESIS; BENARIE, 1986; EDAGI et al., 2009).

Métodos de remoção artificial da adstringência vêm sendo amplamente estudados em outras frutas adstringentes, como caqui e jambolão, possibilitando melhoria na qualidade e prolongando o seu período de comercialização (ANTONIOLLI et al., 2001; 2002; EDAGI et al., 2009; VITTI, 2009; SEVERO et al., 2010; MONTEIRO, 2011). Até o momento não há relatos

de estudos da eficácia desses agentes destanizadores em pedúnculos de caju. Tendo-se em vista que essa é uma das frutas mais produzidas e consumidas pelo Brasil e que os principais entraves à sua comercialização e consumo estão relacionados à presença de taninos e a curta vida útil, estudos aprofundados quanto à forma de destanização e conservação pós-colheita dessa fruta foram os objetivos desse trabalho.

Assim, esse estudo resultou em seis capítulos. O primeiro é esta introdução e contextualização do tema abordado. O segundo, terceiro e quarto abordam o uso do etanol como agente destanizador, sendo que no segundo foi feita uma triagem de doses e tempos de aplicação do produto, focando a redução da adstringência, e no terceiro e quarto avaliou-se a temperatura de aplicação do etanol para a destanização, objetivando o estudo da conservação dos atributos nutricionais e do aroma dos pedúnculos de caju, respectivamente. O quinto capítulo aborda o uso da atmosfera modificada de forma passiva na redução da adstringência, bem como a ampliação da vida útil dos pedúnculos de caju. E o sexto aborda a aplicação o uso da atmosfera controlada, através de um fluxo contínuo de dióxido de carbono, novamente visando a redução da adstringência e a manutenção dos atributos físico e nutricionais.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. D. S. et al. Avaliação de metodologias para determinação de taninos no suco de caju. **Boletim CEPPA**, Curitiba, 17, 167-176, 1999.
- AGOSTINI-COSTA, T. D. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método dobutanol ácido. **Química Nova**, São Paulo, 26, 763-765, 2003.
- AGOSTINI-COSTA, T. D. S. et al. Tanino em pedúnculos de caju: efeito de algumas variações genéticas e climáticas. **Boletim CEPPA**, v. 20, n. 2, p. 265-278, 2002.
- \_\_\_\_\_. Caracterização, por cromatografia em camada delgada, dos compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.) **Boletim CEPPA**, Curitiba, 18, 129-137, 2000.
- AKAGI, T. et al. DkMyb4 is a Myb transcription factor involved in proanthocyanidin biosynthesis in persimmon fruit. **Plant Physiology**, Rockville, 151, 2028-2045, 2009.
- ANTONIOLLI, L. R. et al. Astringency removal of 'Giombo' persimmon fruit in different exposure periods to ethyl alcohol vapor. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, 2000.
- \_\_\_\_\_. Influência da embalagem de polietileno na remoção da adstringência e na qualidade de caquis (*Diospyrus kaki* L.), cv. giombo, armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 293-297, 2001.
- \_\_\_\_\_. A remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 687-691, 2002.
- ARON, P. M.; KENNEDY, J. A. Flava-3-ols: nature, occurrence and biological activity. **Molecular, Nutrion and Food Research**, Weinheim, 52, 1, 79-104, 2008.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, 15, 63-72, 2004.

DAMASCENO JUNIOR, J. A.; BEZERRA, F. C. Qualidade de pedúnculo de cajueiro-anão precoce cultivado sob irrigação e submetido a diferentes sistemas de condução e espaçamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 24, 258-262, 2002.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D. K. TANNIN ANALYSIS OF FOOD-PRODUCTS. **Crc Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

EDAGI, F. K. et al. Astringency removal of 'Giombo' persimmon with ethanol sub-doses. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, Oct 2009.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Removal of astringency in persimmon fruits: a biochemical, physiological and technological view. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 2, p. 585-594, 2009.

FAO. **FAOSTAT Database on Agriculture**. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations 2017.

FUKUSHIMA, T. et al. Mechanisms of astringency removal by ethanol treatment in hiratanenashi kaki fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 60, n. 3, p. 685-694, 1991.

ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros-kaki* L.) during artificial ripening with CO<sub>2</sub> - a possible connection to deastringency mechanisms. **Food Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 25-29, 1993.

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**, v. 55, n. 4, p. 498-509, 1987.

LIU, Y. et al. Proanthocyanidin synthesis in *Theobroma cacao* : genes encoding anthocyanidin synthase, anthocyanidin reductase, and leucoanthocyanidin reductase. **BMC Plant Biology**, London, 13, 1-19, 2013.

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

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita dopedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT., 1995. 20 ISBN 0103-5797. Disponível em: <[http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo\\_1450.pdf](http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1450.pdf)>.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

MONTEIRO, M. F. **Técnicas de remoção da adstringência e refrigeração de caqui 'Giombo'**. Técnicas de remoção da adstringência e refrigeração de caqui 'Giombo'. 2011. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.

OLIVEIRA, V. H. D. et al. **Sistema de produção: Cultivo do Cajueiro**. Brasília, EMBRAPA-CNPAT, 2003. ISSN 1678-8702. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Caju/CultivodoCajueiro/autores.htm>>.

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, n. 1, p. 1-19, Jul 2005.

PESIS, E.; BENARIE, R. Carbon-dioxide assimilation during postharvest removal of astringency from persimmon fruit. **Physiologia Plantarum**, v. 67, n. 4, p. 644-648, 1986..

RAMOS, A. D. et al. **A cultura do caju**. Brasília: EMBRAPA - CNPAT: 96 p. 1996.

SANTOS, A. M. D.; COELHO, L. C. **Recomendações técnicas para a cultura do cajueiro-anão-precoce no Estado de Mato Grosso**. Cuiabá: EMPAER-MT: 33 p. 2000.

SEVERO, J. et al. Detannization and conservation of Jambolan fruit. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 4, p. 976-982, 2010 2010.

TAIRA, S.; ONO, M.; MATSUMOTO, N. Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins. **Postharvest Biology and Technology**, v. 12, n. 3, p. 265-271, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. Porto Alegre: Artmed 2009. 848.

THORNGATE, J. H.; NOBLE, A. C. Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3r(-)-epicatechin and 3s(+)-catechin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 67, n. 4, p. 531-535, 1995.

VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui ‘Rama Forte’ em função da época de colheita**. 2009. 123 p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

ZHANG, T. et al. Persimmon tannin composition and function. **International Conference on Agricultural and Biosystems Engineering**, Hong Kong, v. 1, p. 389-392, 2011.

## 2. O VAPOR DE ETANOL É EFICIENTE PARA A REDUÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA DE PEDUNCÚLOS DE CAJU

### Resumo

A castanha do caju é conhecida e apreciada em todo o mundo, mas o pedúnculo *in natura* tem baixo consumo, o que está relacionado à sua elevada adstringência. Os taninos condensados ou proantocianidinas são os polifenois responsáveis por essa sensação. O uso do etanol como agente destanizador não é a técnica mais utilizada para destanização, mas tem baixo custo, aplicação simplificada e alta eficiência. Esse estudo teve como objetivo verificar se o vapor de etanol consegue penetrar nos pedúnculos de caju e reduzir sua adstringência sem causar fermentação, bem como determinar qual a melhor dose e tempo de exposição dos pedúnculos ao etanol. Foram montados dois experimentos, no primeiro o tempo de exposição dos cajus ao etanol foi de 12 h e no segundo, de 24 h. Em ambos, foram utilizados cajus anão-precoce clone CCP-76, as doses testadas foram 0,0 (controle); 1,75; 3,50; 7,00 e 14,00 mL kg<sup>-1</sup> de pedúnculo e o período de armazenamento foi de 16 dias, em câmara refrigerada a 5°C e 90% de UR. As análises anatômicas mostram a existência de canais secretórios distribuídos no parênquima e estômatos na epiderme, indicando que o vapor de etanol tem como penetrar nos pedúnculos. As análises cromatográficas, feitas durante a aplicação dos tratamentos, indicaram que o vapor de etanol foi absorvido pelos pedúnculos e que as doses requeridas estavam corretas. O teor de etanol, acetaldeído, proantocianidinas e polifenois da polpa dos cajus foram influenciados pela dose, mas não pelo de tempo de exposição ao etanol, sendo 3,50 mL kg<sup>-1</sup> suficiente para reduzir os taninos aos menores níveis. As duas maiores doses de etanol resultaram em fermentação, despigmentação da casca, o que alterou sua coloração, e também aumentaram a perda de massa. A firmeza e a incidência de podridão não foram alteradas. Dessa forma, a aplicação de etanol na dose 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de pedúnculo, no tempo de exposição de 12 h, reduz a adstringência dos pedúnculos de caju sem causar prejuízos a sua qualidade.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale* L.; Destanização; Proantocianidinas; Pós-colheita; Pseudofruto

### Abstract

Cashew nuts are known and appreciated all over the world, but the cashew apple *in natura* has low consumption, which is related to its high astringency. The condensed tannins or proanthocyanidins are the polyphenols responsible for this gustatory sensation. The use of ethanol as a detanizer agent is not the most used technique for the destanization, but it has low cost, simplified application and high efficiency. This study aimed to verify if the ethanol vapor is able to penetrate into the cashew apples and reduce their astringency without cause fermentation as well as to determine the best dose and exposure time of the cashews to ethanol. Two experiments were assembled: in the first, the exposure time of the cashews to the ethanol was 12 h and in the second, it was 24 h. In both experiments, cashews apple early dwarf clone CCP-76 were used, the tested doses were 0.0 (control), 1.75, 3.50, 7.00 and 14.00 mL kg<sup>-1</sup> of fruit and the storage period was of 16 days, in a refrigerated chamber at 5°C and 90% RH. The anatomical analyzes showed the presence of secretory channels distributed in the parenchyma and stomata in the epidermis, indicating that the ethanol vapor was able to penetrate into the cashews. Chromatographic analyzes took during the treatments application showed that the ethanol vapor was absorbed by the pseudofruit and that the required doses were corrected. The content of

ethanol, acetaldehyde, proanthocyanidins and polyphenols of the cashew apple pulp were influenced by the dose, but not by the exposure time to ethanol, being  $3.50 \text{ mL kg}^{-1}$  enough to reduce the tannins at the lower levels. The two higher doses of ethanol resulted in the cashew apple fermentation, peel depigmentation, which altered its color, and increased the weight loss. Firmness and decay incidence were not altered. Thus, the ethanol application at the dose of  $3.5 \text{ mL kg}^{-1}$  of fruit for 12 h of exposure time reduced the astringency of the cashew apples without impairing their postharvest quality.

**Keywords:** *Anacardium occidentale* L. ; Detanization; Proantocyanidins; Postharvest; Pseudofruit

## 2.1. Introdução

O caju (*Anacardium occidentale* L.) pertence à família Anacardiaceae, é nativo da região Amazônica e tem o Brasil como principal produtor e consumidor, tanto da castanha, que é o fruto verdadeiro, quanto do pedúnculo, que é um falso fruto aderido à castanha (FAO, 2016; Ramos et al., 1996). O pedúnculo do caju é considerado um pseudofruto tropical, não-climáterico, suculento, aromático e extremamente perecível. Ademais é uma rica fonte de carboidratos, minerais, vitaminas, aminoácidos, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e antioxidantes (Assunção e Mercadante, 2003; Menezes e Alves, 1995; Talasila et al., 2012).

Embora a castanha de caju seja conhecida e apreciada em todo o mundo, o pedúnculo in natura tem baixo consumo, o que está relacionado à sua elevada adstringência (Assunção e Mercadante, 2003). Adstringência é a sensação tátil em que a lubrificação normal da superfície bucal é prejudicada em função da precipitação das proteínas salivares (Lyman e Green, 1990). Em frutos adstringentes, tal precipitação ocorre devido à formação de complexos insolúveis entre as proteínas e os taninos condensados, presentes no vacúolo de células especializadas na polpa.

Taninos condensados ou proantocianidinas são polifenóis resultantes da polimerização de unidades de flavon-3-ols (catequinas) e flavon-2,4-diol (leucoantocianidinas) (Dixon e Paiva, 1995). Tais compostos foram identificados na polpa e na casca dos pedúnculos de caju, inclusive quando os pedúnculos foram colhidos completamente maduros (Michodjehoun-Mestres et al., 2009; Queiroz et al., 2011), apontando, assim, para necessidade de estudos quanto à remoção artificial da adstringência dos pedúnculos in natura.

A destanização artificial é feita na pós-colheita, forçando a condensação ou polimerização dos taninos com moléculas de acetaldeído, uma vez que taninos polimerizados são insolúveis e incapazes de reagir com as proteínas da saliva bucal (Matsuo e Itoo, 1982). Uma das formas de destanização consiste da aplicação de vapor de etanol, o qual deve ser absorvido pela superfície do fruto e, no interior celular, transformado em acetaldeído pela enzima álcool desidrogenase (Edagi e Kluge, 2009; Oshida et al., 1996). Embora o uso do etanol como agente

destanizador não seja a técnica mais utilizada a nível mundial, no Brasil, é a mais comum, dado o seu baixo custo, simplicidade de aplicação e alta eficiência (Antoniolli et al., 2000; Biasi e Gerhardt, 1992).

Diversos fatores podem interferir na destanização a partir do etanol, como o estádio de maturação, época da safra, dose, tempo e temperatura de exposição a esse agente destanizador (Taira et al., 1990; Vitti, 2009). Estudos com outros frutos adstringentes, principalmente o caqui, apontam que quando esses fatores não são empregados corretamente, surgem consequências indesejáveis, como a perda de firmeza, aparecimento de manchas na casca e alterações de sabor e odor (Ittah, 1993; Pesis, 2005; Edagi et al., 2009; Edagi e Kluge, 2009). Não há relatos sobre o uso da destanização a partir da aplicação de etanol em pedúnculos de caju, no entanto, estudos preliminares indicaram dificuldade de absorção de etanol, ocorrência de fermentação e descoloração da casca dos pedúnculos, que não perderam a adstringência (dados não publicados).

Como para a redução da adstringência é necessário a exploração de técnicas eficientes, de baixo custo e que ainda possam melhorar a vida útil dos pedúnculos, esse estudo teve dois objetivos: (a) verificar se o vapor de etanol consegue penetrar nos pedúnculos de caju e reduzir sua adstringência sem causar fermentação e (b) determinar qual a melhor dose e tempo de exposição dos pseudofrutos ao etanol.

## **2.2. Material e métodos**

### **2.2.1. Material vegetal**

Os pedúnculos de caju foram adquiridos de uma propriedade comercial localizada em Arthur Nogueira, SP ( $22^{\circ}34'23''$  Sul,  $47^{\circ}10'21''$  Oeste e 588 m de altitude). Caju anão-precoce do clone CCP-76 foram colhidos quando as castanhas estavam completamente maduras e os pedúnculos apresentavam de 70-75% da casca com coloração laranja-avermelhada e a extremidade apical ainda tinha tamanho inferior à basal. A colheita seletiva foi realizada manualmente e no período da manhã, sendo os cajus colocados em caixas de papelão, sem sobreposição, e transportadas em veículo refrigerado até Piracicaba, SP. No laboratório, os pedúnculos passaram por seleção e homogeneização quanto à coloração, formato, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis. Os cajus selecionados foram sanitizados com hipoclorito de sódio (50 g de StartClor® em 10 L de água, por 10 min), colocados para secar sobre papel absorvente, a temperatura ambiente, por 2 horas e, então, divididos em grupos de 60 cajus cada (aproximadamente 4,2 kg).

### **2.2.2. Tratamentos**

Para aplicação do etanol, cada grupo de caju foi acondicionado em uma caixa plástica escura e hermética de 54,5 L, ocupando aproximadamente um terço do seu volume. Duas placas Petri abertas, contendo quantidades específicas de etanol P.A., foram colocadas no fundo de cada caixa plástica. Nas tampas das caixas foi fixado um ventilador, a fim de forçar a evaporação do etanol, a ventilação e a homogeneização do ar. Foram montados dois experimentos: no primeiro o tempo de exposição dos cajus ao etanol foi de 12 horas e no segundo, de 24 horas. Em ambos, as doses testadas foram 0,0 (controle); 1,75; 3,50; 7,00 e 14,00 mL kg<sup>-1</sup> de pedúnculo. Durante a aplicação dos tratamentos, as caixas ficaram à condição ambiente (25°C e 60% UR) e imediatamente após sua abertura, os cajus foram armazenadas a 5°C e 90% UR, por 16 dias. Uma hora após o fechamento e uma hora antes da abertura das caixas, amostras de gás foram retiradas e injetadas em cromatógrafo a gas, a fim de verificar a concentração de etanol no seu interior. As análises dos cajus ocorreram no dia da colheita, antes da aplicação dos tratamentos, e após, a cada 4 dias, com 12 horas de comercialização simulada a 15°C e 70% UR. O delineamento experimental de cada experimento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x5 (doses x dias de análise). Em ambos os experimentos foram utilizadas quatro repetições, compostas por três cajus cada. As análises espectrofotométricas foram feitas em duplicatas.

### **2.2.3. Determinações**

A análise anatômica ao microscópio de luz (ML) foi realizada em porções transversais do pedúnculo, fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), submetidas à bomba de vácuo para a retirada do ar dos espaços intercelulares, desidratadas em série etílica crescente até etanol 100% e infiltradas em hidroxi-etil-metacrilato (Leica Historesin®) para a confecção dos blocos, os quais foram seccionados em micrótomo rotativo a 5-8 µm de espessura. As secções montadas em lâminas histológicas foram coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato e ácido cítrico a pH 4,5 (Sakai, 1973) para as análises histológicas usuais. Também foram realizadas secções paradérmicas em material fresco e posterior teste com Sudan IV para identificação de lipídios (Pearse, 1968) da cutícula. As imagens foram capturadas em microscópio trinocular Leica DM LB acoplado na câmara de vídeo Leica DC 300 F e processadas em computador para confecção das ilustrações.

Perda de massa fresca (PM) foi determinada pela diferença, em %, entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. A incidência de podridão (IP) foi realizada

visualmente, por notas, em função da área da casca afetada por micélio aparente do patógeno, sendo nota 0= 0%, 1= 1-5%, 2= 5-25%, 3= 25-50% e 4= >50% da casca infectada. O índice de cor da casca (IC) foi determinado com auxílio do colorímetro (Konica Minolta, modelo CR-400), utilizando o sistema L\*a\*b\* e calibração em D65. Foram feitas oito leituras ao redor de cada pedúnculo e um índice foi calculado a partir da seguinte fórmula:  $IC = (100 \times a)/(L \times b)$ , com valores variando de 0,0 a 2,0 sendo que quanto menor o valor, mais verde o pedúnculo, e quanto maior, mais vermelho. A firmeza da polpa foi determinada com auxílio de um penetrômetro digital de bancada (Turoni Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após a remoção da casca. Os valores foram expressos em Newtons (N).

A produção de acetaldeído e etanol foi realizada de acordo com Davis e Chace Júnior (1969) com as seguintes modificações: 1 g de polpa triturada foi lacrada em frasco de vidro de 12 mL e congelada a -26°C. No momento da análise, os frascos foram colocados em banho-maria (Tecnal, TE-0541) a 50°C, por 30 minutos e após esse período, 0,5 mL de gás do headspace do frasco foi retirado e injetado em cromatógrafo a gás (Thermo, modelo Trace GC Ultra, com detector de ionização de chama - FID - e coluna Porapak N), sendo os resultados expressos em  $\mu\text{g}$  de acetaldeído ou etanol  $\text{g}^{-1}$  de polpa.

O teor de proantocianidinas da polpa e da casca (taninos condensados) foi determinado pelo método da Vanilina-HCl, de acordo com Nakamura *et al.* (2003). Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de amostra (extraída com metanol), 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9 N em metanol. A mistura foi incubada durante 20 min, a 30°C e a absorbância a 500 nm foi determinada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22). Como padrão foi utilizado catequina (0-300 mM) e o resultado foi expresso em mg  $\text{g}^{-1}$ . Os polifenois hidrolisáveis (FH) foram determinado de acordo com Vinson *et al.* (2001) e modificações propostas por Queiroz *et al.* (2011), em que 5 mL de HCl 1,2 M em metanol e água (1:1 v/v) foram adicionados a 1 g de polpa tritura e aquecidos a 90°C, durante 3 h. As amostras resfriadas foram acrescidas de 4 mL da mesma solução extratora e centrifugadas (Clinical Centrifuge, IEC) durante 8 minutos, a 1500 xg, sendo o sobrenadante usado como extrato. O método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) e ácido gálico como padrão (0-500 mM) foi usado para quantificação e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE)  $100\text{g}^{-1}$  de polpa.

O teor de antocianinas foi determinado de acordo com Lees e Francis (1972), em que 10 g de casca foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v). Após 12 horas em escuro a 4°C, utilizou-se alíquota de 10 mL para as leituras de

absorbância a 535 e 374 nm, respectivamente, no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mg 100 g<sup>-1</sup>.

#### **2.2.4. Análise estatística**

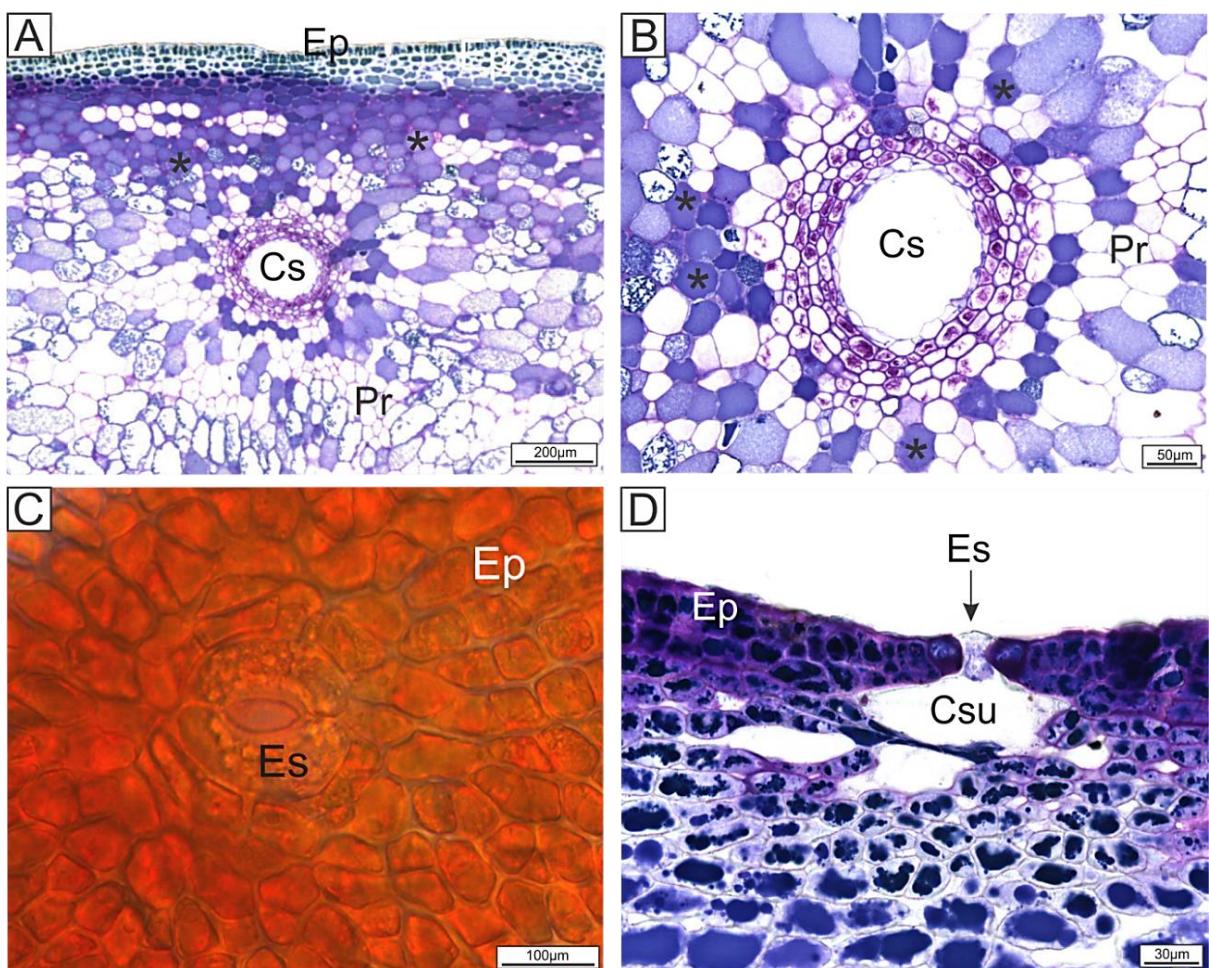
Os dados dos dois experimentos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ). O software estatístico utilizado para realização dos testes foi o SAS 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2010).

### **2.3. Resultados**

#### **2.3.1. Canais secretores e estômatos foram localizados nos pedúnculos de caju**

Nos estudos prévios, observamos grande quantidade de ceras cuticulares nos pedúnculos de caju. Esta camada de ceras foi interpretada como uma possível barreira que dificultaria a absorção do etanol, pois não conseguíamos reduzir a adstringência. Neste intuito, a análise anatômica ao ML foi feita buscando evidenciar a existência de aberturas para a penetração do vapor de etanol nos pedúnculos de caju. Outra intenção era verificar se algum tratamento prévio à aplicação do etanol seria necessário para retirar o excesso de ceras dos pedúnculos para possibilitar sua absorção.

As imagens revelaram a presença de canais secretores no parênquima da porção carnosa (Figura 1A, B), estômatos e câmaras subestomáticas na epiderme dos pedúnculos (Figura 1C, D), evidenciando que estas estruturas podem ser vias de penetração e distribuição do vapor de etanol na polpa, o qual pode ser aplicado, sem necessidade de tratamentos adicionais para facilitar sua absorção.



**Figura 1.** Secções transversais do pedúnculo de caju anão-precoce clone CCP-76 após a colheita. (A) Porção externa do pedúnculo com presença de canal secretor. (B) Canal secretor e células com diferentes formas de acúmulo de fenóis. (C) Presença de estômato na epiderme. (D) Secção transversal de estômato e câmara subestomática abaixo da epiderme. Células fenólicas (\*), Cs=Canal secretor, Cs<sub>u</sub>=Câmara subestomática, Ep=Epiderme, Es=estômato, Pr=Parênquima.

Crédito: Dr<sup>a</sup> Magda Andreia Tessmer

As imagens também mostraram a existência de grande quantidade de células fenólicas distribuídas na porção carnosa do pedúnculo e, principalmente, abaixo da epiderme (Figura 1A, B e D). As proantocianidinas são compostos fenólicos presentes no vacúolo das células, o que indica que há grande quantidade dessas moléculas nessa região do pedúnculo, fato confirmado pelas análises quantitativas de polifenóis e proantocianidinas (Figura 2). Tais observações permitiram a continuidade do presente estudo.

### 2.3.2. O vapor de etanol foi absorvido durante a aplicação dos tratamentos

A fim de verificar se a forma de aplicação dos tratamentos realmente proporcionou a evaporação do etanol, bem como permitiu sua penetração pelas estruturas encontradas, investigamos a concentração de etanol no interior das caixas. Uma hora após o fechamento das mesmas, a presença de etanol no interior das caixas dos tratamentos controle, dos dois tempos de exposição (12 e 24 h) não foi detectada (Tabela 1). Nas demais caixas, as concentrações estavam muito próximas às doses requeridas, sendo que quanto maior a dose aplicada, maior a concentração interna do álcool.

**Tabela 1.** Concentração de etanol e acetaldeído ( $\text{mL L}^{-1}$  de ar) do interior das caixas plásticas durante a destanização dos pedúnculos de caju.

Dose ( $\text{mL kg}^{-1}$ )	Aplicação etanol por 12 horas		Aplicação etanol por 24 horas	
	Etanol ( $\text{mL L}^{-1}$ )	Acetaldeído ( $\text{mL L}^{-1}$ )	Etanol ( $\text{mL L}^{-1}$ )	Acetaldeído ( $\text{mL L}^{-1}$ )
<i>1 hora após o fechamento das caixas</i>				
0,00	-	-	-	-
1,75	0,962	0,005	0,793	0,012
3,50	2,906	0,013	2,878	0,017
7,00	7,990	0,013	6,805	0,024
14,0	10,667	0,014	9,788	0,031
<i>1 hora antes da abertura das caixas</i>				
0,00	0,193	-	0,020	-
1,75	0,267	0,003	0,549	0,006
3,50	0,256	0,006	0,389	0,045
7,00	0,514	0,006	0,497	0,055
14,0	1,181	0,009	1,144	0,057

Uma hora antes da abertura das caixas, observamos acúmulo de etanol nas caixas dos tratamentos controle dos dois períodos de aplicação e uma drástica redução do seu teor nas caixas em que houve aplicação de etanol. Essas observações indicaram que o próprio caju apresentou biossíntese de etanol quando colocado em temperatura ambiente sem troca gasosa, considerando o comportamento dos dois controles, e que, de fato, os pedúnculos absorveram o etanol aplicado, uma vez que as caixas estavam herméticas e houve redução do seu conteúdo.

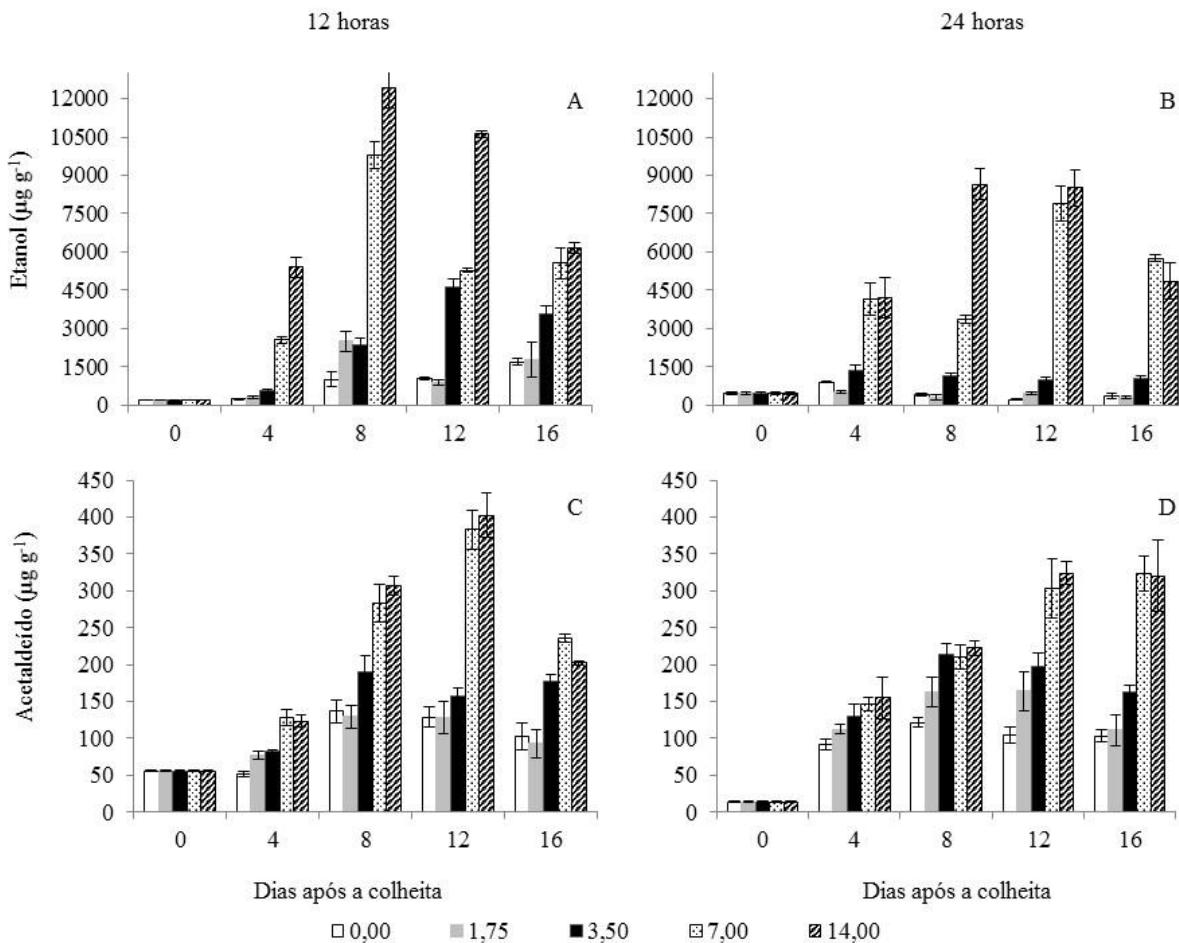
Outro gás relevante à destanização e detectado no interior das caixas durante a aplicação dos tratamentos foi o acetaldeído. De forma semelhante ao etanol, ele não foi detectado nas caixas dos tratamentos controle uma hora após seu fechamento. Entretanto, uma hora antes da abertura, observamos redução de sua concentração nas caixas em que o tempo de exposição foi de 12 h e aumento naquelas em que o tempo foi de 24 h. Em ambos os casos, quanto maior a

dose, maior foi a concentração desse gás. Como o acetaldeído é o composto que polimeriza os taninos, acreditamos que a exposição ao etanol realmente tem condições de destanizar os pedúnculos e que as doses planejadas realmente foram as aplicadas. Nos próximos itens foram detalhados os efeitos das doses e tempos de exposição ao etanol sobre os pedúnculos.

### **2.3.3. Etanol, acetaldeído, proantocianidinas e polifenois foram influenciados pela dose, mas não pelo e tempo de exposição ao etanol**

Em ambos os tempos de destanização, pedúnculos controle e expostos a menor dose não diferiram quanto ao teor de etanol na polpa e não ultrapassaram  $1.500 \mu\text{g g}^{-1}$  na maioria dos dias (Figuras 2A, B). Também não houve diferença entre pedúnculos que receberam as duas maiores doses,  $7,00$  e  $14,0 \text{ mL kg}^{-1}$ , na maioria dos dias. O teor de etanol destes pedúnculos ultrapassou  $4.000 \mu\text{g g}^{-1}$  logo no dia 4 e atingiu picos de  $11.000$  e  $8.000 \mu\text{g g}^{-1}$  quando tratados por 12 e 24 h, respectivamente. Estes últimos valores são muito altos e levaram ao odor característico de fermentação, conforme indicado por análise sensorial informal. Pedúnculos tratados com a dose de  $3,50 \text{ mL kg}^{-1}$  tiveram valores intermediários, diferindo dos demais tratamentos na maioria dos dias.

A análise desses dados ainda demonstrou que, independentemente da dose e dos tempos de exposição, apenas pedúnculos expostos ao etanol apresentaram aumento significativo do seu teor ao longo do armazenamento. Esse aumento ocorreu da colheita até o dia 8 ou 12, com redução no dia 16.



**Figura 2.** Teor de etanol (A, B) e acetaldeído (C, D) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 tratados com diferentes doses de etanol ( $\text{mL kg}^{-1}$ ) por 12 (A, C) ou 24 (B, D) horas e armazenados a  $5^{\circ}\text{C}$  e 90% UR por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=4$ ). Dados originais, transformação usadas para etanol 12 h e acetaldeído 24 h:  $x^{0,5}$  e para etanol 24 h e acetaldeído 12 h:  $\log(x)$

O aumento do teor de etanol nas polpas resultou em aumento do teor de acetaldeído, sendo que, de modo geral, o controle e as duas menores doses tiveram aumento até o dia 8 e as duas maiores até o dia 12 (Figuras 2C, D). Novamente, em ambos os tempos de exposição, pedúnculos controle não diferiram dos tratados com a menor dose; pedúnculos tratados com  $3,50 \text{ mL kg}^{-1}$  apresentaram valores intermediários e os tratados com as doses  $7,00$  e  $14,0 \text{ mL kg}^{-1}$  tiveram os maiores valores e não diferiram entre si.

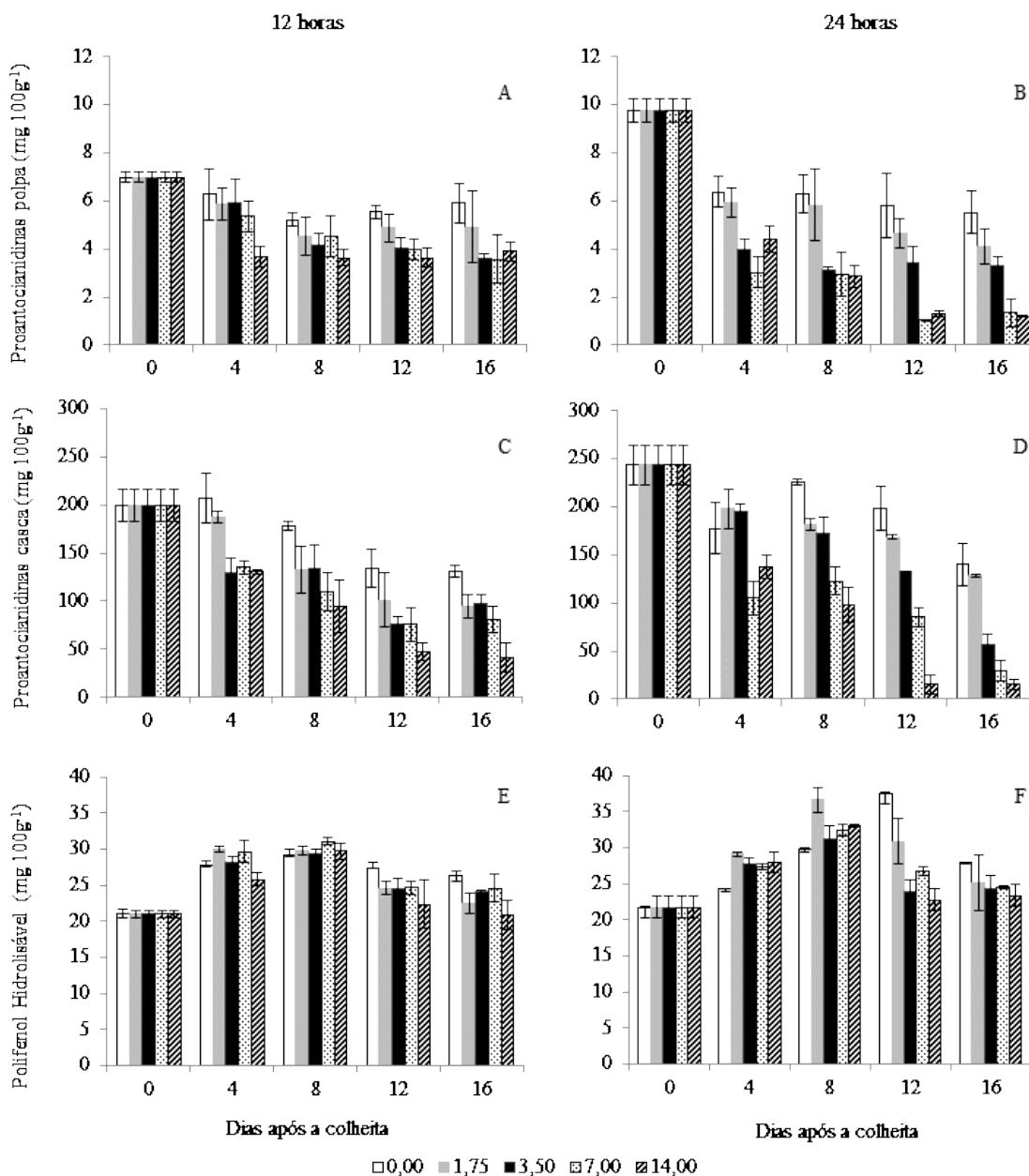
Todos os tratamentos apresentaram redução do teor de proantocianidinas da polpa da colheita para o dia 4 (Figuras 3A, B). Nesse dia, os pedúnculos tratados com  $14,0 \text{ mL kg}^{-1}$ , por 12 h, apresentaram teor de taninos 41% menor que os pedúnculos controle, enquanto que as doses  $1,75$ ,  $3,50$  e  $7,00 \text{ mL kg}^{-1}$  resultaram em valores intermediários. Quando os cajus foram destanizados por 24 h, pedúnculos tratados com  $3,50$ ,  $7,00$  e  $14,0 \text{ mL kg}^{-1}$  não diferiram entre si e apresentaram os menores teores de taninos da polpa.

A partir do dia 4, no experimento de 12 h de destanização, apenas pedúnculos das doses 3,50 e 7,00 mL kg<sup>-1</sup> apresentaram redução do teor de proantocianidinas da polpa, não mais diferindo dos tratados com a maior dose. No experimento de 24 h, apenas as duas maiores doses continuaram a reduzir o teor de proantocianidinas.

O teor de proantocianidinas da casca foi superior ao da polpa, sendo que no último dia de análise, a casca ainda apresentava, em média, 7,6 vezes mais taninos que a polpa no dia da colheita (Figuras 3C, D). Ao longo do armazenamento, pedúnculos controle tiveram redução de 50 mg do teor inicial, enquanto que pedúnculos tratados com etanol tiveram redução média de 100 e 150 mg do teor inicial, para os tempos de exposição de 12 e 24 h, respectivamente.

Quanto às doses, no experimento de exposição por 12 h, pedúnculos controle e tratados com 1,75 mL kg<sup>-1</sup> apresentaram os maiores teores de proantocianidinas na casca e os tratados com 3,50, 7,00 e 14,0 mL kg<sup>-1</sup> os menores, não diferindo entre si. Na destanização por 24h, pedúnculos tratados com a dose 3,50 mL kg<sup>-1</sup> ficaram com teor intermediário entre os tratamentos extremos.

Quanto aos FH, todos os tratamentos do experimento de 12 h tiveram aumento de 30% da colheita para o dia 4, mas apenas os pedúnculos expostos ao etanol apresentaram redução de 20% no dia 12 (Figura 3E). Pedúnculos tratados com 14,0 mL kg<sup>-1</sup> tiveram maior redução, diferindo apenas dos cajus controle. As demais doses resultaram em valores intermediárias de FH, assim como ocorreu com as proantocianidinas da polpa, confirmado observação feita por Michodjehoun-Mestres *et al.* (2009), que os taninos condensados são os principais fenóis da polpa do caju. Na destanização por 24 h, pedúnculos controle e tratados com a dose 1,75 mL kg<sup>-1</sup> tiveram aumento do teor de FH até o dia 12, e apresentaram os maiores valores quando comparado aos demais tratamentos, os quais tiveram redução desse teor a partir do dia 8 (Figura 3F).



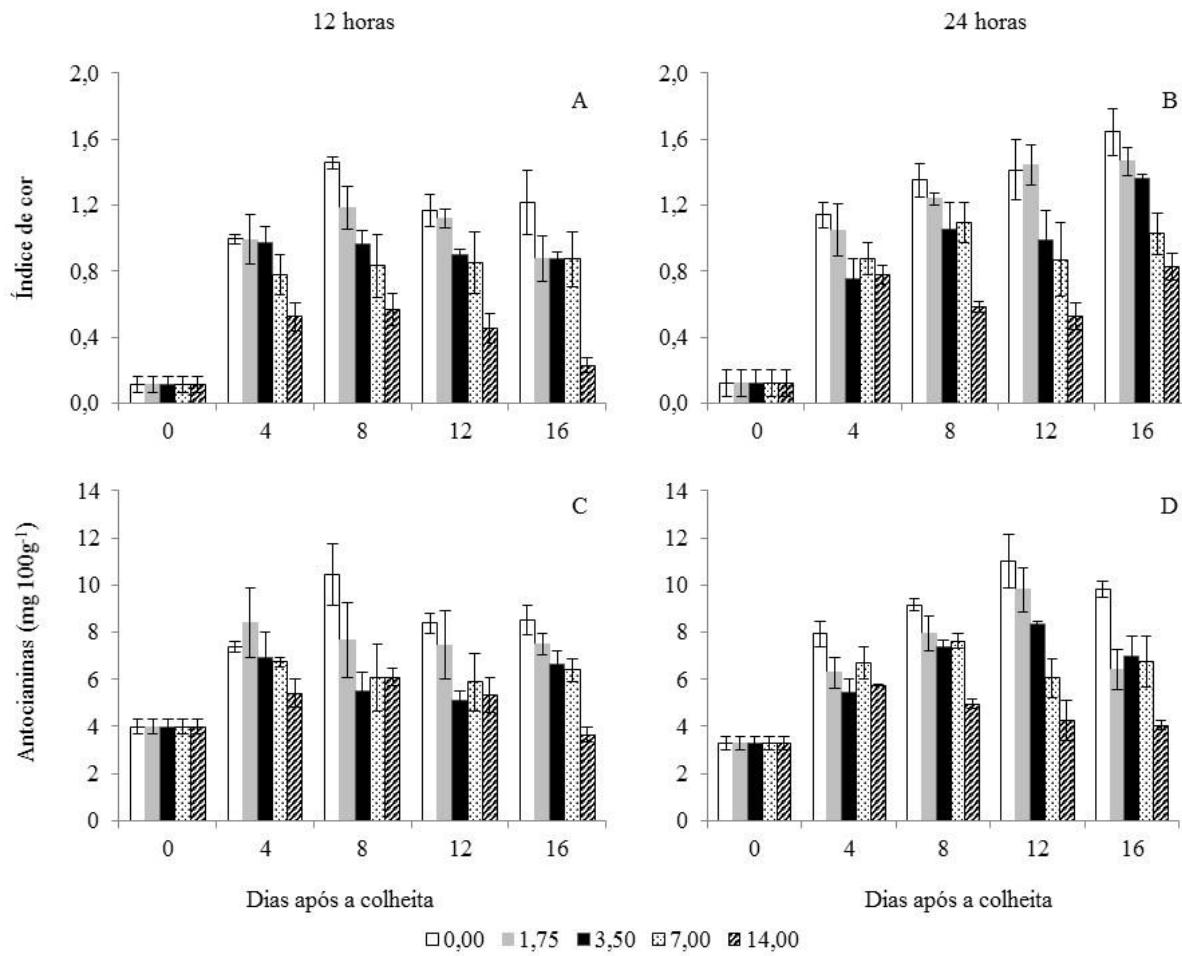
**Figura 3.** Teor de proantocianidinas da polpa (A, B) e da casca (C, D) e teor de polifenols hidrolisáveis (E, F) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 tratados com diferentes doses de etanol ( $\text{mL kg}^{-1}$ ) por 12 (A, C, E) ou 24 (B, D, F) horas e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=4$ ). Dados originais, transformação usadas para proantocianidinas polpa 12 h:  $\log(x)$

Assim, observamos que os teores de FH e, principalmente as proantocianidinas, dos pedúnculos de caju tratados com a menor dose não diferiram do controle e que a dose de 3,50  $\text{mL kg}^{-1}$  foi suficiente para reduzir tais teores aos menores níveis. Essa observação é válida para os dois tempos de exposição.

#### **2.3.4. A coloração da casca dos pedúnculos foi afetada pelas altas doses de etanol**

Uma das consequências indesejáveis da destanização dos pedúnculos de caju foi a alteração da coloração da casca, sendo que em ambos os tempos de exposição, os pedúnculos tiveram os mesmos resultados quanto ao IC e o teor de antocianinas. Assim, observamos diferença do IC entre os pedúnculos controle, que ficaram mais vermelhos ao longo do armazenamento, e os tratados com a dose 14,00 mL kg<sup>-1</sup>, os quais permaneceram mais verde-amarelados (Figuras 4A, B). Pedúnculos tratados com as doses 1,75, 3,50 e 7,00 mL kg<sup>-1</sup> não diferiram dos pedúnculos do controle, mas os tratados com 7,00 mL kg<sup>-1</sup> também não diferiram dos tratados com 14,00 mL kg<sup>-1</sup>, indicando que sua coloração era menos vermelha que os pedúnculos controle e menos verde que os pedúnculos tratados com a maior dose.

Pedúnculos controle e tratados com a dose 1,75 mL kg<sup>-1</sup> apresentaram teores de antocianinas muito próximos, aumentando até o dia 8 ou 12, dependendo do tratamento (Figuras 4C, D). Todas as demais doses tiveram teor de antocianinas 22% menor que os dois tratamentos anteriores, demonstrando que a destanização com altas doses de etanol resultou em menor pigmentação vermelha da casca dos pedúnculos, o que está de acordo com os resultados observados para o IC.



**Figura 4.** Índice de cor (A, B) e teor de antocianinas (C, D) da casca de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 tratados com diferentes doses de etanol ( $\text{mL kg}^{-1}$ ) por 12 (A, C) ou 24 (B, D) horas e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=4$ ). Dados originais, transformações usadas para IC 12 h:  $(x+0,375)^{0,5}$  e antocianinas 12 h:  $\log(x)$

### 2.3.5. Altas doses de etanol aumentaram a PM, mas a firmeza e a IP não foram alteradas

Pedúnculos tratados com a dose 14,0  $\text{mL kg}^{-1}$  tiveram as maiores PM em ambos os tempos de exposição ao etanol (Tabela 2). Pedúnculos do controle e os tratados com as demais doses não diferiram com relação a este atributo quando o tempo de tratamento foi de 12 h, mas no experimento de 24 h, pedúnculos tratados com 7,0  $\text{mL kg}^{-1}$  também apresentaram aumento da PM. Todos os tratamentos tiveram o mesmo comportamento ao longo do armazenamento, aumentando a PM até o dia 16, quando atingiram em média de 8,42 e 7,78% nos experimentos de 12 e 24 h, respectivamente. Dessa forma, observamos que altas doses de etanol aumentaram a PM dos pedúnculos de caju.

**Tabela 2.** Perda de massa fresca, firmeza e incidência de podridão de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 tratados com diferentes doses de etanol ( $\text{mL kg}^{-1}$ ) por 12 ou 24 horas e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias.

Trat.	Perda massa fresca (%)		Firmeza (N)		Incidênci a Podridão	
	12 h	24 h	12 h	24 h	12 h	24 h
<i>Dose (mL kg<sup>-1</sup>)</i>						
0,00	3,84 <sup>B</sup>	3,36 <sup>C</sup>	3,90 <sup>A</sup>	4,98 <sup>A</sup>	0,85 <sup>A</sup>	1,25 <sup>A</sup>
1,75	4,09 <sup>B</sup>	3,38 <sup>C</sup>	4,43 <sup>A</sup>	5,44 <sup>A</sup>	0,65 <sup>A</sup>	0,95 <sup>A</sup>
3,50	3,91 <sup>B</sup>	3,64 <sup>BC</sup>	4,60 <sup>A</sup>	5,54 <sup>A</sup>	0,40 <sup>A</sup>	0,85 <sup>A</sup>
7,00	4,12 <sup>B</sup>	3,99 <sup>B</sup>	5,10 <sup>A</sup>	5,02 <sup>A</sup>	0,20 <sup>A</sup>	0,65 <sup>A</sup>
14,0	4,98 <sup>A</sup>	4,64 <sup>A</sup>	6,03 <sup>A</sup>	5,38 <sup>A</sup>	0,15 <sup>A</sup>	0,60 <sup>A</sup>
<i>Dias após a colheita</i>						
0	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>e</sup>	6,91 <sup>a</sup>	8,37 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
4	2,58 <sup>d</sup>	2,05 <sup>d</sup>	5,35 <sup>b</sup>	5,03 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
8	4,11 <sup>c</sup>	3,69 <sup>c</sup>	4,47 <sup>bc</sup>	5,01 <sup>b</sup>	0,20 <sup>ab</sup>	0,70 <sup>b</sup>
12	5,83 <sup>b</sup>	5,59 <sup>b</sup>	3,11 <sup>d</sup>	2,88 <sup>c</sup>	0,70 <sup>bc</sup>	1,25 <sup>b</sup>
16	8,42 <sup>a</sup>	7,78 <sup>a</sup>	3,78 <sup>cd</sup>	5,07 <sup>b</sup>	1,35 <sup>c</sup>	2,35 <sup>c</sup>

Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si nas doses e minúscula não difere entre si nos dias pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). \*Transformação usada para PM 24 h:  $(x+0,375)^{0,5}$ , Firmeza 24 h:  $\log(x)$  e IP 24 h:  $(x+0,375)^{-0,5}$

A destanização com etanol não influenciou a firmeza dos pedúnculos durante o armazenamento, em nenhum dos tempos de exposição (Tabela 2). Independentemente do tratamento, os pedúnculos perderam firmeza até o dia 12, quando atingiram, em média, 3,00 N. Tais valores representam perdas superiores a 50%, o que é um indicativo de fruto mole de acordo com Moura *et al.* (2010). No dia 16 houve um pequeno aumento da firmeza, o que provavelmente está relacionado com alta PM atingida nesse dia, fato que aumentou a flexibilidade dos cajus, dificultando a penetração do penetrômetro.

A IP dos pedúnculos não diferiu em função da destanização com diferentes doses de etanol (Tabela 2). Na média dos 16 dias avaliados, nenhum tratamento atingiu nota 2, indicando que a IP estava entre 1 e 5%. De acordo com análise de identificação patológica, os principais patôgenos encontrados nos pedúnculos foram *Acremonium sp.*, *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.* e *Rhizopus sp.* Ainda quanto a IP, os dados obtidos demonstraram aumento do seu valor até o último dia de análise, quando a média das notas foi de 1,35 e 2,35 para os tempos de 12 e 24 h, respectivamente. Tais valores indicam que cajus expostos ao etanol por 12 e 24 h tinham entre 1 e 5% e 5 e 25% da superfície com podridão, respectivamente. Assim, a dose não alterou a IP, sendo, entretanto, afetada pelo tempo de exposição.

## 2.4. Discussão

Em função das estruturas encontradas na análise anatômica do pedúnculo, dos resultados observados nas leituras de etanol no interior das caixas no momento da aplicação dos tratamentos e dos resultados de redução do teor de proantocianidinas, não restaram dúvidas quanto à penetração do etanol nos pedúnculos de caju, mostrando eficiência na redução da adstringência. Quanto à dose e tempo de exposição mais indicados, vários fatores devem ser considerados, pois assim como relatado em trabalhos com outros frutos adstringentes, a destanização a partir do uso do etanol também provocou consequências indesejáveis nos cajus, como fermentação, redução da pigmentação da casca e maior perda de massa.

Como esperado, a aplicação exógena de etanol aumentou sua concentração intracelular. Esse álcool em excesso foi transformado em acetaldeído, que por sua vez polimerizou as moléculas de taninos, reduzindo o teor de proantocianidinas tanto na polpa quanto na casca dos pedúnculos. As reações e enzimas envolvidas nesse processo estão bem elucidadas e já foram descritas por diversos autores (Antoniolli *et al.*, 2000; Edagi e Kluge, 2009; Oshida *et al.*, 1996; Taiz e Zeiger, 2009).

Ainda quanto ao teor de etanol e acetaldeído das polpas dos cajus, observamos que eles foram mais afetados pelo uso de diferentes doses do que pelo tempo de exposição. Acreditamos que 12 h é período suficiente para a máxima absorção do etanol, tendo em vista os resultados obtidos durante a aplicação dos tratamentos (Tabela 1). Ademais, como relatado por Edagi *et al.* (2009), quanto menor o tempo fora da refrigeração, menor a produção e acúmulo de etileno, menor o risco de danos à casca causados pelo vapor de etanol e, consequentemente, maior poderá ser vida útil dos pedúnculos. As mesmas observações foram feitas por Monteiro (2011), ao estudar a destanização de caqui ‘Giombo’ por meio de diferentes doses de etanol.

Quanto às doses estudadas, 1,75 mL kg<sup>-1</sup> não mostrou diferença em relação ao controle, não sendo eficiente para reduzir o teor de proantocianidinas e, consequentemente, a adstringência dos cajus. Por outro lado, as doses 7,00 e 14,00 mL kg<sup>-1</sup> resultaram em valores extremamente altos de etanol e acetaldeído na polpa, provocando a fermentação. Informações quanto aos valores mínimos ou máximo para iniciar o processo fermentativo em pedúnculos de caju ainda não foram relatados na literatura, mas, de acordo com nossas observações, valores de etanol acima de 6.000 µg g<sup>-1</sup> é um indicativo de fermentação. Aplicação de altas doses de etanol em morangos (Pesis e Avissar, 1990) e lichias (Pesis e Avissar, 1990; Pesis *et al.*, 2002) resultaram em perdas de sabor e surgimento de odor desagradável, equivalente à fermentação. Dessa forma, a dose de 3,50 mL kg<sup>-1</sup> é a mais indica para redução do teor de proantocianidinas dos pedúnculos

de caju, tendo-se em vista que resultou em menores valores de taninos quando comparadas aos cajus controle, não diferiu daqueles tratados com as duas maiores doses e não gerou fermentação, nem sabores e odores desagradáveis. Dose próxima a essa ( $3,85 \text{ mL kg}^{-1}$ ) foi recomendada para destanização de caqui ‘Giombo’ (Antoniolli *et al.*, 2000; Antoniolli *et al.*, 2002).

Ressalta-se que os teores de proantocianidinas resultantes da aplicação de etanol na dose  $3,50 \text{ mL kg}^{-1}$  de caju são indicativos de pedúnculos pouco adstringentes. De acordo com constatações de Kato (1984), frutos contendo aproximadamente 0,25% de tanino revelam-se ligeiramente adstringentes, tornando-se comestíveis quando a concentração de taninos solúveis encontra-se abaixo de 0,1% (Antoniolli *et al.*, 2000; Vidrih *et al.*, 1994).

A coloração da casca do caju é devida a presença de clorofilas, carotenoides e antocianinas, sendo o primeiro pigmento degradadas e os demais sintetizados durante o desenvolvimento (De Figueiredo *et al.*, 2002; Filgueiras *et al.*, 1999), o que justifica o aumento do IC observado durante o período avaliado nesse trabalho. A coloração vermelha do clone CCP-76 se deve, principalmente, ao aumento do teor das antocianinas, que assim como as proantocianidinas, são polifenóis do grupo dos flavonoides, formadas por unidades de antocianidinas (Agostini-Costa *et al.*, 2000; Robards e Antolovich, 1997). Provavelmente, o menor IC e o menor teor de antocianinas dos pedúnculos tratados com as duas maiores doses de etanol, estejam relacionados ao fato desses tratamentos ter agido não apenas nas proantocianidinas, mas também nas antocianidinas glicosiladas (as antocianinas), de forma a degradar o pigmento. Vale lembrar que o etanol é o principal extrator das antocianinas (Lees e Francis, 1972), sendo o mais empregado na maioria das metodologias de quantificação desse pigmento nos produtos vegetais. Assim, acreditamos que de alguma forma ainda desconhecida, a aplicação de altas doses de etanol ( $7,00$  e  $14,00 \text{ mL kg}^{-1}$ ), além de reduzir o teor de taninos, reduziu o teor das antocianinas e, consequentemente, a coloração dos pedúnculos.

A PM dos pedúnculos de caju foi outro atributo qualitativo influenciado por altas doses de etanol. Estudos revelaram que produtos vegetais expostos à elevadas concentrações de etanol afetam a bicamada lipídica das células, comprometendo a permeabilidade das membranas (Podd e Van Staden, 1998). Possivelmente esse foi o motivo da dose de  $7,00 \text{ mL kg}^{-1}$ , por 24 h, e de  $14,00 \text{ mL kg}^{-1}$ , em ambos os tempos de exposição, terem resultado nas maiores PM. É um consenso que PM é uma das principais causas de deterioração, visto que resulta em outras perdas quantitativas, como a aparência, firmeza e qualidade nutricional (Kader, 1986). Desse modo, os tratamentos que resultaram nas maiores PM não devem ser recomendados para a destanização dos pedúnculos.

A firmeza é um dos principais atributos que delimita a qualidade e vida útil dos pedúnculos de caju para comercialização *in natura*, a tal ponto que sua manutenção vem sendo alvo de estudos para emprego de tecnologias de conservação pós-colheita (De Souza *et al.*, 2009; Moura *et al.*, 2010). Como nenhuma das doses nem os tempos de exposição ao etanol reduziram esse atributo qualitativo, a destanização a partir do vapor de etanol pode ser recomendada para pedúnculos de caju sem afetar sua firmeza. A destanização feita pela exposição ao álcool etílico também foi indicada por outros autores, entre outros motivos, por manter a firmeza de jambolão e diferentes variedades de caquis (Antonioli *et al.*, 2000; Biasi e Gerhardt, 1992; Severo *et al.*, 2010). Quanto à perda de firmeza ao longo dos dias, Figueiredo *et al.* (2001), utilizando o mesmo clone deste trabalho, concluíram que ela está relacionada com redução do teor de pectinas totais, como consequência da ação das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase. Provavelmente, esse também foi o motivo da perda observada durante o armazenamento.

O ataque de microrganismos fitopatogênicos é um dos principais fatores contribuintes a alta perecibilidade dos pedúnculos de caju (Figueiredo, 2000; Moura *et al.*, 2010), sendo a IP um dos atributos considerados na delimitação do tempo de armazenamento durante esse trabalho. O uso de diferentes doses do etanol como agente destanizador também não interferiu na IP dos pedúnculos; no entanto, o tempo de 24 h resultou em maior IP, o que pode estar relacionado ao fato desses cajus terem permanecido por mais tempo fora da refrigeração. Assim, esse é mais um indicativo que o tempo de 12 h é o mais indicado para destanização dos pedúnculos.

Em conclusão, observamos que a aplicação de etanol na dose 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de pedúnculo, no tempo de exposição de 12 h, reduz a adstringência dos pedúnculos de caju sem causar fermentação, perdas significativas de massa, redução de firmeza e descoloração. Estudos futuros devem focar nos demais atributos qualitativos, principalmente aqueles relacionados à capacidade nutricional e manutenção do gosto e odor, para que esse tratamento possa ser indicado para pós-colheita dos pedúnculos de caju.

## Referências

- AGOSTINI-COSTA, T. D. S. *et al.* Caracterização, por cromatografia em camada delgada, dos compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Boletim CEPPA**. Curitiba. 18: 129-137 p. 2000.
- ANTONIOLLI, L. R. *et al.* Astringency removal of 'Giombo' persimmon fruit in different exposure periods to ethyl alcohol vapor. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, Oct 2000.
- \_\_\_\_\_. A remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 687-691, 2002.
- ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 495-502, 2003.

- BIASI, L. A.; GERHARDT, I. R. Efeito da aplicação de vinagre, álcool e ethephon na destanização de caquis cv. Okira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas. 14: 31-36 p. 1992.
- DAVIS, P. L.; CHACE JÚNIOR, W. G. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. **HortScience**, v. 4, p. 117-119, 1969.
- DE FIGUEIREDO, R. W. et al. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 343-347, Jun 2002.
- DE SOUZA, A. R. M. et al. Effect of gamma radiation and storage on cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) quality. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 33, n. 3, p. 848-854, May-Jun 2009.
- DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 1085-1097, Jul 1995.
- EDAGI, F. K. et al. Astringency removal of 'Giombo' persimmon with ethanol sub-doses. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, Oct 2009.
- EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 585-594, 2009.
- FAO. **FAOSTAT Database on Agriculture**. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations 2016.
- FIGUEIREDO, R. W. **Desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculos de cajueiro anão precoce CCP-76 sob influência do cálcio**. 2000. 154 (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FIGUEIREDO, R. W. et al. Alterações de firmeza, pectinas e enzimas pectinolíticas durante o desenvolvimento e maturação de pedúnculos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L. Var. *Nanum*) CCP-76. **INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE**. Frutales. 43: 82-86 p. 2001.
- FILGUEIRAS, H. A. C. et al. Cashew apple for fresh consumption: Research on harvest and postharvest technology in Brazil. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). **International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit**, 1999. p.155-160. (Acta Horticulturae). ISBN 0567-757290-6605-851-X.
- ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO<sub>2</sub> - a possible connection to deastringency mechanisms. **Food Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 25-29, 1993.
- KADER, A. A. **Modified atmosphere packaging of fresh produce**. Outlook Second Quarter. Davis, CA. 13: 9-10 p. 1986.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, n. 2, p. 137-138, 1965.
- KATO, K. The condition of tannin and sugar extraction, the relation of tannin concentration to astringency and the behavior of ethanol during the de-astringency by ethanol in persimmon fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 53, n. 2, p. 127-134, 1984.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.
- LYMAN, B. J.; GREEN, B. G. Oral astringency - effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. **Chemical Senses**, v. 15, n. 2, p. 151-164, Apr 1990.

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

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita dopedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT. , 1995. 20 ISBN 0103-5797.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

MONTEIRO, M. F. **Técnicas de remoção da adstringência e refrigeração de caqui 'Giombo'**. 2011. 75 (Mestrado). Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo., Piracaba/SP.

MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.

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**, v. 8, n. 4, p. 317-327, 9// 1996.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry, theoretical and applied**. 3. London: Churchill, 1968. 998.

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, n. 1, p. 1-19, Jul 2005.

PESIS, E.; AVISSAR, I. Effect of postharvest application of acetaldehyde vapor on strawberry decay, taste and certain volatiles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 52, n. 3, p. 377-385, 1990.

PESIS, E. et al. Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, n. 2, p. 157-165, Sep 2002.

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, n. 3, p. 183-189, Dec 1998.

QUEIROZ, C. et al. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 128-132, 2011.

\_\_\_\_\_. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, 2011.

RAMOS, A. D. et al. **A cultura do caju**. Brasília: EMBRAPA - CNPAT: 96 p. 1996.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids - A review. **Analyst**, v. 122, n. 2, p. R11-R34, Feb 1997.

SAKAI, W. S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue. **Stain Technology**, v. 48, n. 5, p. 247-249, 1973.

SEVERO, J. et al. Detannization and conservation of Jambolan fruit. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 4, p. 976-982, 2010.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999.

TAIRA, S. et al. Effect of harvest maturity on removal of astringency in japanese persimmon (*Diospyros kaki* thunb) hiratanenashi fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 58, n. 4, p. 813-818, Mar 1990.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. Porto Alegre: Artmed 2009. 848.

TALASILA, U.; VECHALAPU, R. R.; SHAIK, K. B. Clarification, preservation, and shelf life evaluation of cashew apple juice. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 709-714, Jun 2012.

VIDRIH, R. et al. Astringency removal by high CO<sub>2</sub> treatment in persimmon fruit (*Diospyros kaki*). **International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops, Vols I and II**, n. 368, p. 652-656, 1994. ISSN 0567-7572.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

VITTI, D. C. C. **Destanização e armazenamento refrigerado de caqui ‘Rama Forte’ em função da época de colheita**. . 2009. 123 (Doutorado). Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo., Piracicaba/SP.

## Anexos

**Tabela 3.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (dia), dose de etanol aplicada por 12 h e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 16 dias.

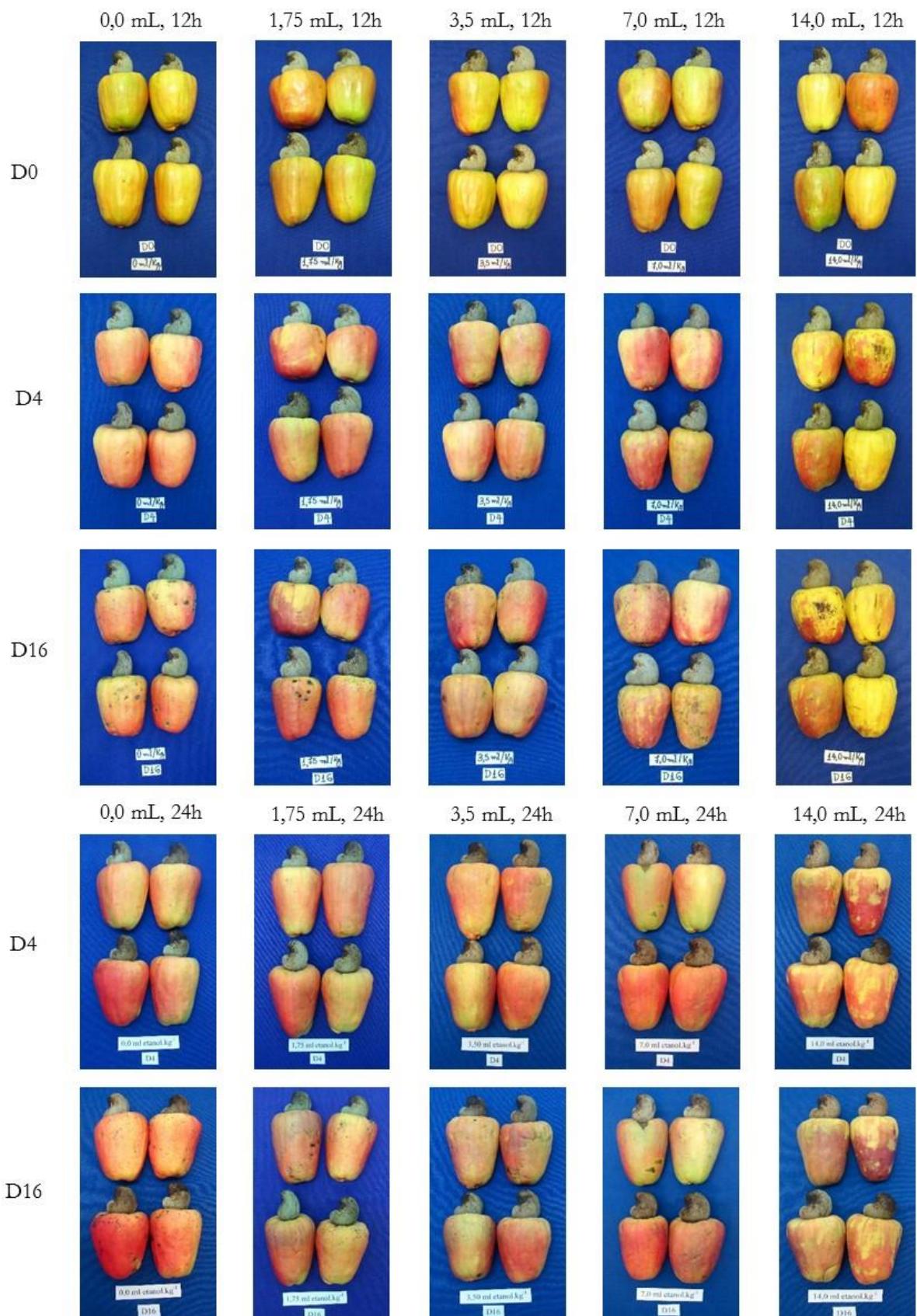
Variável	Dia	Dose	Dia x Dose	C.V. (%)
Perda de massa (%)	*	*	ns	5,81
Incidência podridão	*	ns	ns	42,62
Índice cor epiderme	*	*	*	28,67
Firmeza (N)	*	ns	ns	17,74
Teor sólidos solúveis (°Brix)	*	ns	ns	4,47
Etanol (μg g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	*	5,31
Acetaldeido (μg g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	*	3,22
Nota sabor	*	*	ns	18,59
Nota odor	*	*	ns	15,21
Polifenois solúveis (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	19,20
Polifenois hidrolisável (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	7,78
Antocianinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	12,03
Quercetinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	ns	ns	ns	13,13
Proantocianidina polpa (mg g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	21,09
Proantocianidina epiderme (mg g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	22,03

Os resultados foram obtidos da média de quatro repetições. \*: P ≤ 0,05; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.

**Tabela 3.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (dia), dose de etanol aplicada por 24 h e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 16 dias.

Variável	Dia	Dose	Dia x Dose	C.V. (%)
Perda de massa (%)	*	*	ns	7,39
Incidência podridão	*	ns	ns	26,20
Índice cor epiderme	*	*	*	25,65
Firmeza (N)	*	ns	ns	15,73
Teor sólidos solúveis (°Brix)	*	ns	ns	1,74
Etanol ( $\mu\text{g g}^{-1}$ polpa)	*	*	*	3,58
Acetaldeído ( $\mu\text{g g}^{-1}$ polpa)	*	*	*	9,92
Nota sabor	*	*	ns	16,37
Nota odor	*	*	ns	15,51
Polifenois solúveis ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ )	*	*	ns	27,94
Polifenois hidrolisável ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ )	*	*	ns	9,71
Antocianinas ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ )	*	*	*	16,30
Quercetinas ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ )	*	ns	ns	15,54
Proantocianidina polpa ( $\text{mg g}^{-1}$ )	*	*	*	20,16
Proantocianidina epiderme ( $\text{mg g}^{-1}$ )	*	*	*	20,29

Os resultados foram obtidos da média de quatro repetições. \*:  $P \leq 0,05$ ; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.



**Figura 5.** Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 tratados com diferentes doses de etanol ( $\text{mL kg}^{-1}$ ) por 12 (A, C) ou 24 (B, D) horas e armazenados a  $5^{\circ}\text{C}$  e 90% UR por 16 dias.



### **3. TEMPERATURA BAIXA PARA A APLICAÇÃO DE ETANOL REDUZ A ADSTRINGÊNCIA E CONTRIBUI PARA A CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE PEDÚNCULOS DE CAJU**

#### **Resumo**

O pedúnculo de caju é um pseudofruto rico em compostos bioativos, mas de rápida deterioração microbiana e elevada adstringência. O objetivo do estudo foi avaliar se a temperatura de aplicação do etanol interfere na destanização e conservação pós-colheita dos pedúnculos, além de investigar se a destanização prejudica a conservação dos compostos bioativos e a sua capacidade antioxidante. Caju anão-precoce do clone CCP-76 foram colhidos ao apresentar 70-75% da casca com coloração laranja-avermelhada e divididos em quatro tratamentos: aplicação de etanol por 12 h (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de pedúnculo) em diferentes temperaturas (5 ou 25°C). Após o tratamento, todos os cajus foram armazenados a 5°C e 90% UR, por 16 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x6, utilizando três repetições, compostas por três cajus cada. Foram realizadas a análise de variância, com as médias comparadas pelo teste de Tukey, e a análise multivariada por meio de componentes principais e agrupamento. O teor de etanol, acetaldeído e proantocianidinas da casca e polpa não sofreram influência da temperatura de aplicação do etanol, reduzindo a adstringência dos cajus. A destanização a 25°C resultou em maior incidência de podridão e pseudofrutos mais moles. A perda de massa fresca não foi afetada. O índice de cor, teor de antocianinas, queracetinas e polifenois reduziram com a destanização nas duas temperaturas. A atividade antioxidante, medida pelo DPPH foi altamente correlacionada com o teor de proantocianidinas e fenóis, e sofreu maior perda na destanização a 25°C, enquanto a atividade medida pelo FRAP na fração lipossolúvel foi correlacionada com os teores de queracetinas e sofreu maior perda na destanização a 5°C. O teor de ácido ascórbico e FRAP na fração hidrossolúvel, também altamente correlacionados, não sofreram influência da destanização. Concluímos que para reduzir a adstringência dos pedúnculos de caju, o uso da baixa temperatura para aplicação do etanol é o mais indicado, uma vez que reduz o teor dos taninos condensados causadores da adstringência e contribui para manutenção dos seus atributos qualitativos, incluindo alguns dos compostos bioativos e uma fração da sua capacidade antioxidante.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale* L.; Taninos; Capacidade antioxidante.; Refrigeração; Compostos bioativos

#### **Abstract**

The cashew apple is a pseudofruit rich in bioactive compounds, but it has a fast microbial deterioration and high astringency. The goal of this study was to evaluate if the temperature of ethanol application interferes in the detanization and postharvest conservation of the cashew apples, besides investigating if the detanization impair the bioactive compounds conservation and the antioxidant capacity of the fruit. CCP-76 clone of early-dwarf cashews were harvested when presented 70-75% of the peel with orange-reddish coloration and were divided into four treatments: ethanol application for 12 h (0.0 or 3.5 mL kg<sup>-1</sup> of fruit) at different temperatures (5 or 25°C). After treatment, cashews of the four treatments were stored at 5°C and 90% of RH for 16 days. The experimental design was completely randomized, in factorial 4x6, including three replicates, composed of three cashews each. The variance analysis was performed comparing the averages by Tukey's test and the multivariate analysis was done through the principal components and clustering. The ethanol, acetaldehyde and proanthocyanidins contents

of the peel and pulp were not influenced by the ethanol application at different temperature and the astringency of the cashews was reduced. Detanization at 25°C resulted in a higher incidence of rot and softer pseudofruit. The weight loss was not affected. The color index, anthocyanins, quercetins and polyphenols contents reduced with the detanization at both temperatures. The antioxidant activity measured by DPPH was highly correlated with the proanthocyanidins and phenols content and underwent greater loss with detanization at 25°C, whereas the FRAP activity in the liposoluble fraction was correlated with quercetin contents and suffered greater loss when the detanization was at 5°C. The ascorbic acid and FRAP content in the water-soluble fraction, also highly correlated, were not influenced by the detanization. We concluded that to reduce the astringency of the cashew apple the use of the low temperature for the ethanol application is the most indicated, since it reduces the content of condensed tannins that cause the astringency and contributes to the maintenance of its qualitative attributes, including the bioactive compounds and a fraction of its antioxidant capacity.

**Keywords:** *Anacardium occidentale* L.; Tannins; Antioxidant capacity; Cold storage; Bioactive compounds

### **3.1. Introdução**

Diversos estudos têm mostrado que o consumo regular de frutos e hortaliças exerce papel vital na prevenção de diversas doenças, sendo esse benefício associado à presença de compostos bioativos nos alimentos, principalmente as vitaminas, flavonoides, antocianinas e outros polifenois (Andarwulan et al., 2012; Dauchet et al., 2006; Moo-Huchin et al., 2015; Nugroho et al., 2013). Um pseudofruto que vêm despertando atenção dos pesquisadores, justamente por possuir grande quantidade desses compostos, é o pedúnculo de caju. A ingestão dessa fruta resulta em várias propriedades benéficas à saúde humana, com destaque para atividade antioxidante, antimutagênica (Cavalcante et al., 2003), anticancerígena (Trevisan et al., 2006), antimicrobiana (Cavalcante et al., 2003), além da inibição da urease (Kubo et al., 1999) e da lipoxygenase (Ha e Kubo, 2005).

Apesar de todas essas vantagens, o consumo *in natura* dos pedúnculos de caju ainda está restrito as poucas regiões produtoras, tendo-se em vista sua rápida deterioração microbiana e, principalmente, à elevada adstringência (Assunção e Mercadante, 2003; Schulze-Kaysers et al., 2015). Tal sensação gustativa é atribuída à presença de polifenois da classe das proantocianidinas, os chamados taninos condensados. Esses polifenois são resistentes à hidrólise, solúveis em água, causam precipitação de proteínas e estão presentes em maior quantidade quando comparado aos taninos hidrolisáveis (não adstringentes) (Battestin et al., 2004). Na casca e na polpa do pedúnculo de caju foram encontradas quantidades elevadas das seguintes proantocianidinas: *o*-epigalocatequina, *o*-epigalocatequina-*o*-gallato, *o*-epicatequina e *o*-epicatequina-3-*o*-gallato, sendo os últimos dois em quantidades menores (Michodjehoun-Mestres et al., 2009).

Uma forma já estudada para reduzir a adstringência dos pedúnculos e permitir seu consumo *in natura* é a aplicação do etanol. De acordo com pesquisas anteriores, o uso de 3,5 mL de etanol kg<sup>-1</sup> de pedúnculos por 12 horas, à temperatura ambiente, permitiu a evaporação e penetração do etanol, resultando no aumento do teor de acetaldeído e consequente polimerização das proantocianidinas. Essa dose e tempo de exposição não resultaram em consequências físico-químicas indesejáveis, entretanto, a manutenção dos compostos bioativos após a destanização ainda não foi avaliada.

Outro fator que carece de estudos, e que pode intervir no processo de destanização artificial dos pedúnculos de caju, é a temperatura de aplicação do etanol. Estudos indicam que o uso de temperatura elevada acelera o metabolismo dos frutos, aumentando a velocidade de redução da adstringência, mas também o amolecimento, a perda de massa fresca e a senescência (Antoniolli *et al.*, 2002; Edagi *et al.*, 2009). Para a destanização de caqui, o uso da baixa temperatura de aplicação do etanol foi estudado. Verificou-se que a destanização feita a 10°C atrasou a perda da adstringência de caquis ‘Giombo’ em 3 dias, mas conservou sua qualidade (Antoniolli *et al.*, 2002), entretanto, a temperatura de 5°C não permitiu a remoção da adstringência dos frutos da mesma variedade (Monteiro *et al.*, 2012).

Considerando que a temperatura de armazenados dos pedúnculos de caju está estabelecida a 5°C (Figueiredo, 2000; Moura *et al.*, 2003; Moura *et al.*, 2010), aplicar o etanol diretamente nas câmaras de armazenamento facilitaria o processo de destanização, resultaria em menor manipulação das frutas e, consequentemente, menos danos aos pedúnculos. Esse trabalho teve como objetivo avaliar se a temperatura de aplicação do etanol interfere na destanização e conservação pós-colheita dos pedúnculos de caju, além de investigar se a destanização prejudica a conservação dos compostos bioativos e a capacidade antioxidante dos pedúnculos.

### **3.2. Materiais e métodos**

#### **3.2.1. Material vegetal**

Cajus anão-precoce do clone CCP-76 foram colhidos em Arthur Nogueira, SP (22°34'23" Sul, 47°10'21" Oeste e 588 m de altitude), quando as castanhas estavam completamente maduras e os pedúnculos apresentavam de 70-75% da casca com coloração laranja-vermelhada e a extremidade apical ainda tinha tamanho inferior a basal. A colheita seletiva foi realizada manualmente e no período da manhã, os cajus colocados em caixas de papelão, sem sobreposição, e transportados em veículo refrigerado até Piracicaba, SP. No

laboratório, os pedúnculos passaram por seleção e homogeneização quanto à coloração, formato, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis. Os cajus selecionados foram sanitizados com hipoclorito de sódio (50 g de StartClor® em 10 L de água, por 10 min), colocados para secar sobre papel absorvente, a temperatura ambiente, por 2 horas e, então, divididos em quatro grupos de 70 cajus cada (aproximadamente 7,0 kg).

### **3.2.2. Tratamentos**

Cada um dos quatro grupos de caju foi acondicionado em uma caixa plástica escura e hermética de 54,5 L, de modo a ocupar cerca de um terço do seu volume total. Em duas das caixas foram colocadas duas placas Petri abertas, contendo etanol P.A. Na tampa de todas as caixas havia um ventilador, a fim de forçar a ventilação, a homogeneização interna do ar e a evaporação do etanol, quando presente. Duas caixas, uma contendo etanol, e outra não, foram fechadas e mantidas em condição ambiente (25°C e 60% UR). Outras duas caixas, uma contendo etanol e outra não, foram fechadas e armazenadas a 5°C e 90% de UR. Todas as caixas permaneceram fechadas por 12 horas e a dose de etanol usadas foi de 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de pedúnculo. Após a abertura das caixas, todos os pedúnculos foram armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. As análises ocorreram no dia da colheita, antes da aplicação dos tratamentos, no dia seguinte à colheita (após a abertura das caixas), e então, a cada 4 dias, com 12 horas de comercialização simulada a 15°C e 70% de UR. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x6 (presença/ausência de etanol em duas diferentes temperaturas x dias de análise). Foram utilizadas três repetições, compostas por três cajus cada. As análises espectrofotométricas foram feitas em duplicatas.

### **3.2.3. Variáveis analisadas**

A produção de etanol e acetaldeído foi realizada de acordo com a metodologia de Davis e Chace Júnior (1969), com modificações: 1 g de polpa triturada foi lacrada em frasco de vidro de 12 mL e congelada a -26°C. No momento da análise, os frascos foram colocados em banho-maria (Tecnal, TE-0541) a 50°C por 30 minutos e, após esse período, 0,5 mL de gás do espaço livre do frasco foi retirado e injetado em cromatógrafo a gás (Thermo, modelo Trace GC Ultra, com detector de ionização de chama FID e coluna Porapak N). Os resultados foram expressos em µg de acetaldeído ou etanol g<sup>-1</sup> de polpa.

O teor de proantocianidinas ou taninos da polpa (TAN\_P) e da casca (TAN\_C) foi determinado pelo método da Vanilina-HCl e descrito por Nakamura *et al.* (2003). Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de amostra (extraída com metanol), 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9,0 N em metanol. A mistura foi incubada durante 20 min a 30°C e a absorbância a 500 nm foi determinada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22). Catequina (0-300 mM) foi usada como padrão e o resultado foi expresso em mg g<sup>-1</sup>.

A incidência de podridão (IP) foi realizada visualmente, por notas, em função da área da casca afetada por micélio aparente do patógeno, sendo nota 0= 0%, 1= 1-5%, 2= 5-25%, 3= 25-50% e 4= >50% da casca infectada. A perda de massa fresca (PM) foi determinada pela diferença em %, entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. A firmeza da polpa foi determinada com auxílio de um penetrômetro digital de bancada (Turoni Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após a remoção da casca. Os valores foram expressos em Newtons (N).

O índice de cor da casca (IC) foi determinado com auxílio de colorímetro (Konica Minolta, modelo CR-400), utilizando o sistema L\*a\*b\* e calibração em D65. Foram feitas oito leituras ao redor de cada pedúnculo e o índice foi calculado a partir da seguinte fórmula: IC= (100 x a)/(L x b), com valores variando de 0,0 a 2,0 sendo que quanto menor o valor, mais verde o pedúnculo, e quanto maior, mais vermelho.

O teores de antocianinas (ANT) e quercetinas (QUERC) totais foram determinados de acordo com Lees e Francis (1972), em que 10 g de casca foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v). Após 12 horas em escuro a 4°C, utilizou-se alíquota de 10 mL para as leituras de absorbância a 535 e 374 nm (ANT e QUERC, respectivamente). Os resultados foram expressos em mg 100 g<sup>-1</sup>. O teor de ácido ascórbico (AA) foi determinado por titulometria, de acordo com Carvalho *et al.* (1990), em que 10 g de polpa triturada foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi feita com solução de 2,6-diclorofenolindofenol e os resultados expressos em mg 100 g<sup>-1</sup>. Os fenóis hidrolisáveis (FH) foram determinados de acordo com Vinson *et al.* (2001) e modificações propostas por Queiroz *et al.* (2011), em que 5 mL de HCl 1,2 M em metanol e água (1:1 v/v) foram adicionados a 1 g de polpa tritura e aquecidos a 90°C, durante 3 h. As amostras resfriadas foram acrescidas de 4 mL da mesma solução extratora e centrifugadas (Clinical Centrifuge, IEC) durante 8 minutos, a 1500 xg, sendo o sobrenadante usado como extrato. O método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteau (1:10 v/v) e ácido gálico como padrão (0-500 mM), foi usado para quantificação. Os resultados foram

expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) 100 g<sup>-1</sup> de polpa. Para o pH, 10 g da polpa triturada foram colocadas em 90 mL de água destilada e, após agitação, foi detectado com pHmetro (Tecnal, modelo TEC-03 MP).

A capacidade antioxidante (CA) foi determinada pelo método do FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential), de acordo com Benzie e Strain (1996) e pela captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com Brand-Williams et al. (1995). Para determinação do FRAP fração lipossolúvel (Frap\_lipo), adicionou-se 10 mL de etanol:hexano (v/v) e da fração hidrossolúvel (Frap\_hid) 10 mL de metanol a 0,10 g de polpa triturada, as quais foram submetidas a 10 min de banho ultrassônico (Unique, USC-1400A) e 10 min de centrifugação a 6.000 rpm. O ensaio foi realizado em cubetas adicionando 90 µL de água, 30 µL da amostra e 900 µL do reagente FRAP. As leituras de absorbância foram efetuadas a 594 nm, após 90 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se metanol como “branco” e para a construção da curva padrão, FeSO<sub>4</sub> 7.H<sub>2</sub>O (solução estoque 0,2 mM), sendo os resultados expressos em µmoL FeSO<sub>4</sub> 100 g<sup>-1</sup> de polpa. Na determinação do DPPH, adicionou-se 10 mL de etanol a 0,10 g de polpa triturada, a qual foi submetida a 10 min de banho ultrassônico e 10 min de centrifugação a 6.000 rpm. Nas cubetas adicionou-se 500 µL de amostra, 3.000 µL de etanol e 300 µL do reagente DPPH. As leituras de absorbância foram efetuadas a 517 nm, após 30 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se etanol como “branco” e a atividade antioxidante foi expressa em % de DPPH reduzido: % de DPPH reduzido = [(Absorbância branco – Absorbância amostra)/(Absorbância branco)]\*100.

### **3.2.4. Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ). Adicionalmente foi realizada análise multivariada por meio da Análise de Componentes Principais (ACP) (gráfico biplot) e Análise de Agrupamento (AG), com corte dado por intermédio do meio da média com distância euclidiana em 0,50. O software estatístico utilizado para realização de todos os testes foi o SAS 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2010).

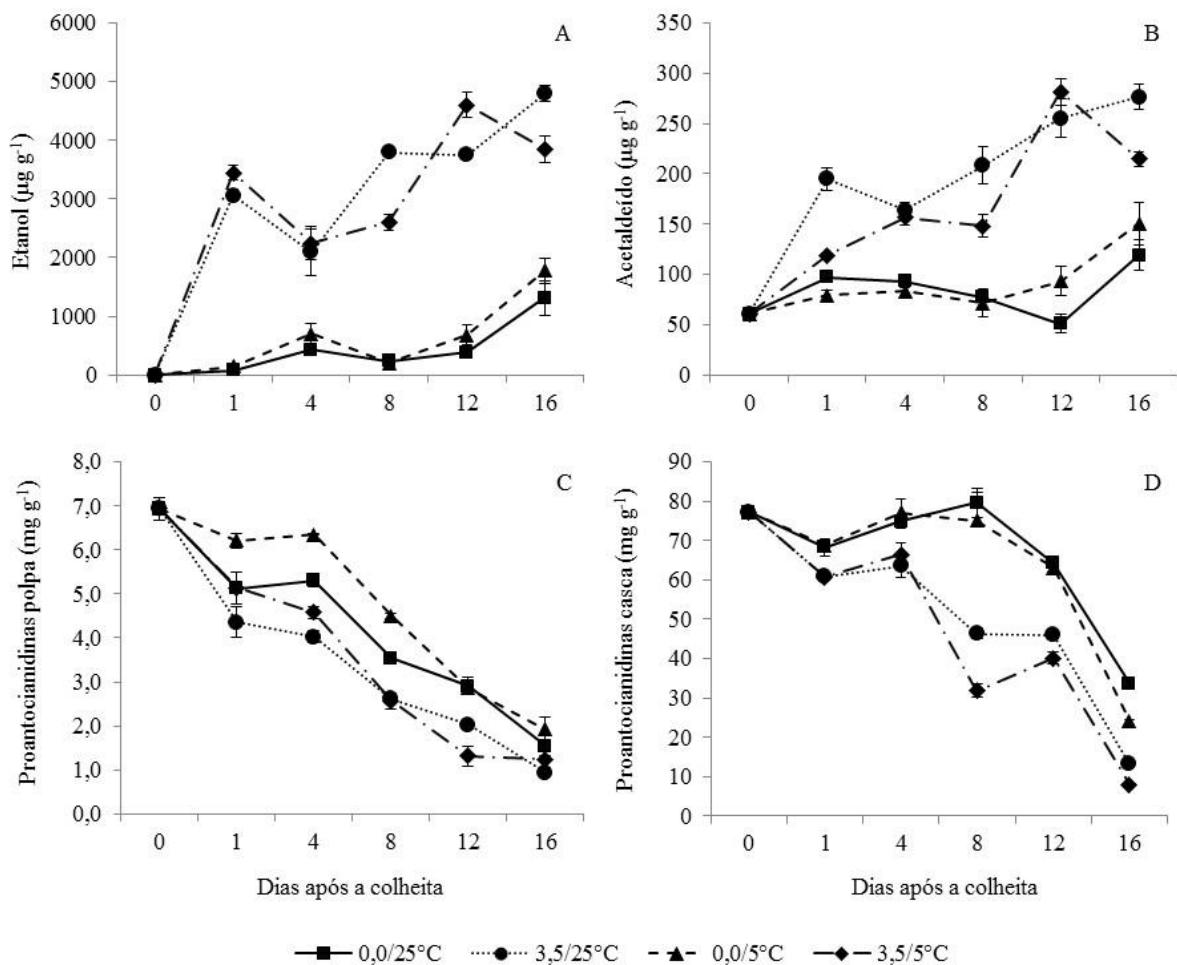
### **3.3. Resultados**

#### **3.3.1. O teor de etanol, acetaldeído e proantocianidinas não sofreram influência da temperatura de aplicação do etanol**

As diferentes temperaturas testadas para destanização a partir da aplicação de etanol não afetou a evaporação nem a absorção do álcool, considerando que os teores de etanol na polpa dos pedúnculos de caju destanizados foram muito próximos durante todo o período avaliado, independente da temperatura (Figura 1A). Pedúnculos destanizados a 25 ou a 5°C atingiram teor de etanol acima de  $3000 \mu\text{g g}^{-1}$  no dia da destanização, não existindo diferença entre eles. Esses tratamentos mantiveram o mesmo comportamento e valores a cima de  $2500 \mu\text{g g}^{-1}$  ao longo dos 16 dias de armazenamento, em quanto que os pedúnculos controle (sem aplicação de etanol), independentemente da temperatura, só atingiram  $1000 \mu\text{g g}^{-1}$  no último dia de análise, quando apresentavam alta IP.

O teor de acetaldeído na polpa dos cajus sofreu interferência da temperatura de destanização apenas no dia da aplicação dos tratamentos (dia 1) (Figura 1B). Nesse dia, pedúnculos destanizados a 25°C tiveram os maiores teores de acetaldeído, seguidos pelos destanizados a 5°C e os do controle a 25°C, os quais não diferiram entre si, apresentando média de  $108,09 \mu\text{g g}^{-1}$ . Também no dia 1, pedúnculos do controle a 5°C diferiram dos destanizados, mas não do controle de 25°C. A partir de então, não houve mais diferença em função da temperatura de tratamento, sendo que pedúnculos destanizados nas duas temperaturas permaneceram com teor de acetaldeído superior a  $150 \mu\text{g g}^{-1}$  até o último dia de análise, enquanto que os pedúnculos controle apresentaram aumento significativo desse teor apenas no 16º dia.

Segundo a mesma tendência dos gases avaliados, a temperatura de destanização não influenciou o teor de TAN\_P nem o teor de TAN\_C (Figuras 1C, D). Observações interessantes ocorreram no 1º e 4º dia, quando pedúnculos destanizados a 5°C apresentaram valores de TAN\_P intermediários aos valores daqueles que permaneceram a 25°C (destanizados ou não), mas sem diferir estatisticamente de nenhum deles, indicando que a permanência a temperatura ambiente acelera o metabolismo da polpa dos cajus. Outra observação interessante foi que pedúnculos do controle a 5°C apresentaram redução do TAN\_P apenas do dia 8 em diante, enquanto que os demais apresentam redução logo no 1º dia, mostrando, mais uma vez, que a refrigeração imediata dos cajus resultou em melhor conservação dos seus atributos. Assim, refrigerar os pedúnculos no mesmo dia da colheita e aplicar etanol a temperatura de 5°C melhorou sua conservação e resultou em redução do TAN\_P aos mesmos níveis da destanização à temperatura ambiente.



**Figura 1.** Teor de etanol (A), acetaldeído (B), proantocianidinas da polpa (C) e casca (D) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C), seguido de armazenamento a 5°C e 90% UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3). Dados originais, transformação usadas para etanol:  $x^{0,5}$ , acetaldeído: log(x) e proantocianidinas casca:  $x^2$

Quanto aos TAN\_C, pedúnculos tratados com etanol tiveram redução significativa desse teor no início do armazenamento, enquanto que nos controles a redução foi apenas a partir do 12º dia, independentemente da temperatura de tratamento. Como observado no capítulo anterior, houve maior redução do teor de TAN\_C comparado à redução do teor de TAN\_P, sendo que mesmo com essa maior redução, a casca estava muito mais adstringente que a polpa, do começo ao fim do período avaliado.

### **3.3.2. IP e firmeza foram afetadas pela temperatura de aplicação do etanol, mas a PM não**

A IP foi afetada pela temperatura e pela aplicação de etanol (Tabela 1). Pedúnculos imediatamente colocados a 5°C, destanizados ou não, apresentaram micélios aparentes de patógenos apenas no 8º dia, embora a diferença com relação ao dia da colheita só tenha sido significativa no 12º dia. A destanização resultou em menor IP dos pedúnculos em ambas as temperaturas, mas pedúnculos destanizados a 5°C chegaram ao fim do período avaliado com 5-25% da superfície afetada, enquanto que os destanizados a 25°C tinham de 25-50% da superfície infectada.

**Tabela 1.** Incidência de podridão, perda de massa fresca, firmeza e capacidade antioxidante de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 tratados com etanol (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C) e armazenados a 5°C e 90% de UR, por 16 dias.

Tratamento	Dias após a colheita					
	0	1	4	8	12	16
<b>Incidência de podridão</b>						
0,0 mL/25°C	0,00 <sup>Ad</sup>	0,00 <sup>Ad</sup>	1,11 <sup>Ad</sup>	2,56 <sup>Ac</sup>	3,78 <sup>Ab</sup>	4,67 <sup>Aa</sup>
3,5 mL/25°C	0,00 <sup>Ac</sup>	0,00 <sup>Ac</sup>	0,22 <sup>Bbc</sup>	1,00 <sup>Bb</sup>	1,89 <sup>Bb</sup>	3,11 <sup>Ca</sup>
0,0 mL/5°C	0,00 <sup>Ac</sup>	0,00 <sup>Ac</sup>	0,00 <sup>Bc</sup>	0,67 <sup>Be</sup>	2,33 <sup>Bb</sup>	4,11 <sup>Ba</sup>
3,5 mL/5°C	0,00 <sup>Ab</sup>	0,00 <sup>Ab</sup>	0,00 <sup>Bb</sup>	0,67 <sup>Bab</sup>	1,11 <sup>Ca</sup>	1,56 <sup>Da</sup>
<b>Perda de massa (%)</b>						
0,0 mL/25°C	0,00 <sup>Ae</sup>	1,58 <sup>Ad</sup>	2,48 <sup>Ac</sup>	3,35 <sup>Ac</sup>	4,98 <sup>Ab</sup>	6,65 <sup>Aa</sup>
3,5 mL/25°C	0,00 <sup>Ae</sup>	0,74 <sup>BCd</sup>	1,82 <sup>ABc</sup>	2,73 <sup>Ac</sup>	4,30 <sup>Ab</sup>	5,74 <sup>Aa</sup>
0,0 mL/5°C	0,00 <sup>Ae</sup>	1,10 <sup>ABd</sup>	2,09 <sup>ABc</sup>	2,99 <sup>Ac</sup>	4,74 <sup>Ab</sup>	6,57 <sup>Aa</sup>
3,5 mL/5°C	0,00 <sup>Af</sup>	0,55 <sup>Ce</sup>	1,64 <sup>Bd</sup>	2,65 <sup>Ac</sup>	4,37 <sup>Ab</sup>	5,77 <sup>Aa</sup>
<b>Firmeza (N)</b>						
0,0 mL/25°C	9,21 <sup>Aa</sup>	7,73 <sup>ABab</sup>	6,88 <sup>Abc</sup>	7,18 <sup>Aabc</sup>	5,12 <sup>Ac</sup>	6,71 <sup>Abc</sup>
3,5 mL/25°C	9,21 <sup>Aa</sup>	6,66 <sup>Bb</sup>	6,47 <sup>Ab</sup>	6,52 <sup>Ab</sup>	6,16 <sup>Ab</sup>	4,77 <sup>Bb</sup>
0,0 mL/5°C	9,21 <sup>Aa</sup>	9,49 <sup>Aa</sup>	5,95 <sup>Ab</sup>	6,89 <sup>Ab</sup>	5,97 <sup>Ab</sup>	5,57 <sup>ABb</sup>
3,5 mL/5°C	9,21 <sup>Aab</sup>	9,59 <sup>Aa</sup>	7,25 <sup>Abc</sup>	6,73 <sup>Ac</sup>	5,58 <sup>Ac</sup>	5,44 <sup>ABc</sup>
<b>DPPH (% redução)</b>						
0,0 mL/25°C	90,18 <sup>Aa</sup>	89,93 <sup>AA</sup>	90,87 <sup>AA</sup>	92,26 <sup>Aa</sup>	72,28 <sup>Ab</sup>	63,14 <sup>Ac</sup>
3,5 mL/25°C	90,18 <sup>Aa</sup>	84,35 <sup>Bb</sup>	90,54 <sup>AA</sup>	83,69 <sup>Bb</sup>	63,25 <sup>Bc</sup>	56,11 <sup>Bd</sup>
0,0 mL/5°C	90,18 <sup>Aa</sup>	92,63 <sup>AA</sup>	90,41 <sup>AA</sup>	88,53 <sup>Aa</sup>	62,11 <sup>Bb</sup>	58,27 <sup>ABb</sup>
3,5 mL/5°C	90,18 <sup>Aa</sup>	91,90 <sup>AA</sup>	90,26 <sup>AA</sup>	90,49 <sup>Aa</sup>	63,47 <sup>Bb</sup>	60,36 <sup>ABb</sup>
<b>FRAP fração lipossolúvel (<math>\mu\text{mol FeSO}_4 \text{ 100 g}^{-1}</math>)</b>						
0,0 mL/25°C	45,81 <sup>Ac</sup>	49,40 <sup>Abc</sup>	41,79 <sup>Ac</sup>	58,83 <sup>Aab</sup>	64,08 <sup>Aa</sup>	40,79 <sup>BCc</sup>
3,5 mL/25°C	45,81 <sup>Aab</sup>	45,14 <sup>ABb</sup>	42,42 <sup>Aab</sup>	53,15 <sup>ABA</sup>	53,94 <sup>Ba</sup>	51,28 <sup>Aab</sup>
0,0 mL/5°C	45,81 <sup>Aab</sup>	39,06 <sup>Bb</sup>	44,40 <sup>Aab</sup>	44,92 <sup>Bab</sup>	45,45 <sup>BCab</sup>	49,70 <sup>ABA</sup>
3,5 mL/5°C	45,81 <sup>Aa</sup>	27,29 <sup>Cb</sup>	45,94 <sup>AA</sup>	45,17 <sup>Ba</sup>	42,49 <sup>Ca</sup>	38,25 <sup>Ca</sup>
<b>FRAP fração hidrossolúvel (<math>\mu\text{mol FeSO}_4 \text{ 100 g}^{-1}</math>)</b>						
0,0 mL/25°C	43,26 <sup>Aa</sup>	38,85 <sup>AA</sup>	41,20 <sup>AA</sup>	45,29 <sup>Aa</sup>	40,93 <sup>ABa</sup>	26,91 <sup>Ab</sup>
3,5 mL/25°C	43,26 <sup>Aab</sup>	38,45 <sup>Aab</sup>	40,08 <sup>Aab</sup>	45,42 <sup>AA</sup>	48,31 <sup>Aa</sup>	33,36 <sup>Ab</sup>
0,0 mL/5°C	43,26 <sup>Aab</sup>	38,15 <sup>Abc</sup>	44,44 <sup>AA</sup>	43,70 <sup>AA</sup>	33,25 <sup>Bbc</sup>	24,58 <sup>Ac</sup>
3,5 mL/5°C	43,26 <sup>Aa</sup>	41,31 <sup>AA</sup>	38,43 <sup>Aab</sup>	37,79 <sup>Aab</sup>	38,30 <sup>Bab</sup>	30,34 <sup>Ab</sup>

Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si nos tratamentos e minúscula não difere entre si nos dias pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). Transformação usada para DPPH:  $x^2$ , incidência podridão:  $(\log(x+0,5))^2$  e perda massa:  $(x+0,375)^{0,5}$

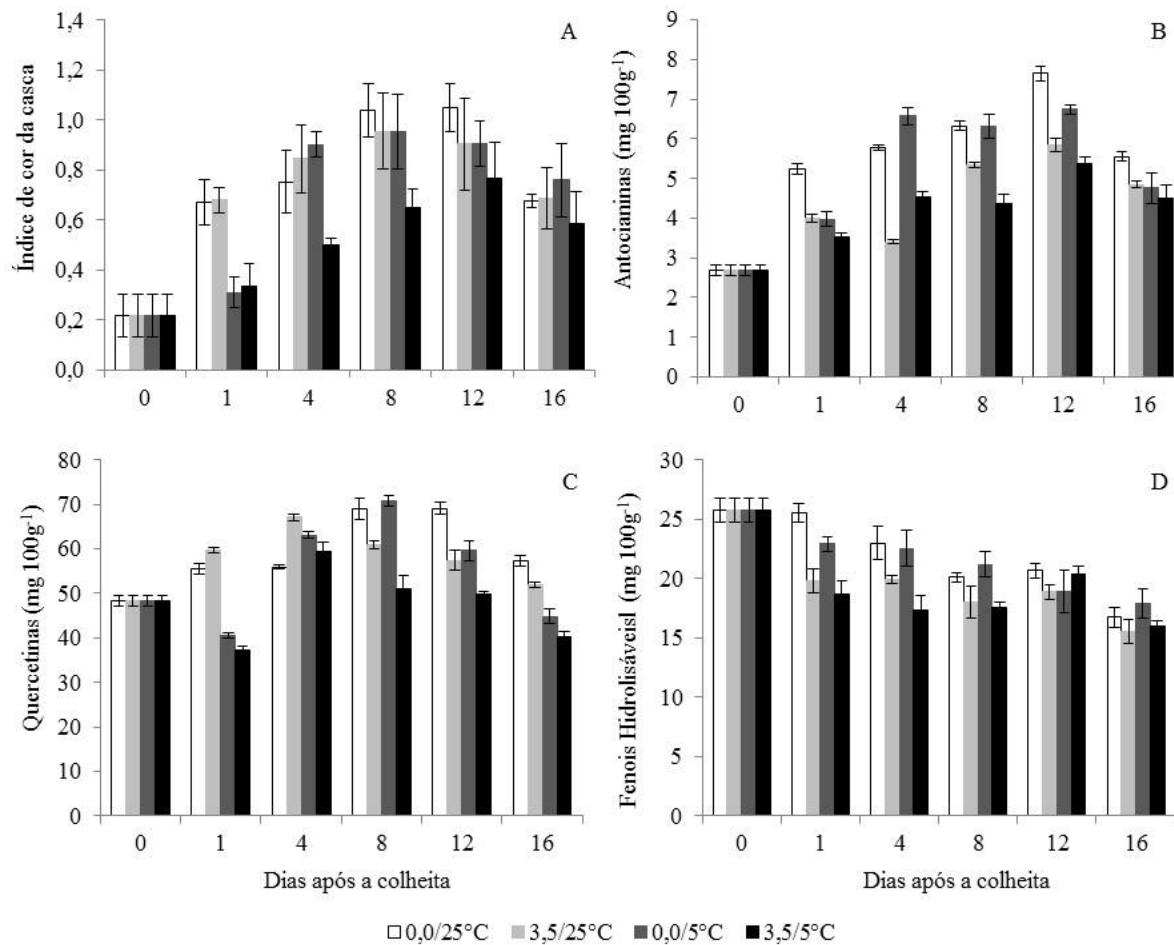
No dia da aplicação dos tratamentos, a PM foi maior nos cajus controle de ambas as temperaturas (Tabela 1). No entanto, ao longo do armazenamento, não houve mais diferença entre os tratamentos, sendo que a temperatura e a destanização não influenciaram esse atributo de qualidade. Todos os tratamentos tiveram aumento da PM até o 16º dia, quando atingiram porcentagem de perda média de 6,16, valor aceitável para esse período de avaliação.

Diferenças relevantes quanto à firmeza dos pedúnculos ocorreram no dia da aplicação dos tratamentos, quando pedúnculos destanizados a 25°C estavam mais moles que aqueles

imediatamente colocados a 5°C (destanizados ou não), e no último dia de análise, quando pedúnculos destanizados a 25°C estavam mais moles que o controle da mesma temperatura (Tabela 1). Todos os tratamentos apresentaram perda de firmeza no máximo até o dia 8, com valores indicativos de pedúnculos moles, mas em condições de comercialização. Desse modo, a destanização a 25°C resultou em maior IP e pseudofrutos mais moles, indicando que o uso da baixa temperatura foi mais vantajoso para destanização dos cajus.

### **3.3.3. A coloração, os fenóis e uma fração da capacidade antioxidante foram influenciados pela redução da adstringência em diferentes temperaturas**

A coloração da casca dos pedúnculos de caju sofreu influência tanto da temperatura quanto do uso do etanol (Figuras 2A, B). No dia da aplicação dos tratamentos, os pedúnculos que permaneceram em temperatura ambiente tiveram aumento significativo do IC, tornando-se mais avermelhados, enquanto os refrigerados permaneceram com faixas verdes (valores de IC próximos a 0,3). No entanto, logo no início do armazenamento (4º dia), os pedúnculos do controle a 5°C também tiveram aumento do IC, não mais diferindo daqueles que ficaram a temperatura de 25°C no primeiro dia após a colheita. Embora os pedúnculos destanizados a 5° também tenham tido aumento do IC, só deixou de existir diferença entre eles e os demais tratamentos no último dia de análise, quando todos os demais apresentaram redução do IC, o que já foi relatado como injúria de frio em função da refrigeração por longo período (Figueiredo *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2010). Quanto ao teor de antocianinas, principais pigmentos de coloração vermelha da casca dos cajus, observamos novamente que a aplicação do etanol degradou os pigmentos da casca, considerando o menor teor obtido nos pedúnculos destanizados, independentemente da temperatura.



**Figura 2.** Índice de cor (A), teor de antocianinas (B), teor de quercetinas (C) e teor de fenóis hidrolisáveis (D) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=3).

Os principais compostos com capacidade antioxidante nos pedúnculos de caju são o ácido ascórbico, os polifenois, principalmente quercetinas, e os pigmentos antocianinas e carotenoides (Assunção e Mercadante, 2003; De Brito *et al.*, 2007). Quanto ao teor de AA, a destanização não afetou o conteúdo dessa vitamina em nenhuma das temperaturas de aplicação (dados não apresentados). Para todos os tratamentos, observamos aumento do teor de AA até o 4º dia, quando os pedúnculos apresentaram média de 181,78 mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa. Também observamos redução desse teor a partir do 12º dia, chegando ao último dia de análise com média de 131,56 mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa, o que corresponde aos valores do dia da colheita.

O teor inicial de quercetinas da casca dos pedúnculos imediatamente armazenados a 5°C apresentou pequena redução, enquanto que os mantidos a 25°C apresentaram pequeno aumento, de modo que no 1º dia, houve diferença em função da temperatura e não da destanização (Figura 2. C). No entanto, do dia 8 em diante, passou a existir diferença significativa apenas entre

pedúnculos do controle a 25°C e os destanizados a 5°C, sendo que os pedúnculos do controle a 25°C mantiveram o maior teor, sempre acima de 55 mg 100 g<sup>-1</sup>. Assim como observado para o teor de AA, o das quercetinas aumentou até o 4º e teve redução no último dia de análise, para todos os tratamentos.

O teor dos FH da polpa foi influenciado pela destanização, de modo a reduzir seu conteúdo no dia da aplicação dos tratamentos e no 4º dia, independentemente da temperatura (Figura 2D). Essa redução era esperada, considerando que a maior parte dos polifenois dos pedúnculos é representada pelas proantocianidinas (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009). Do 8º dia em diante, os pedúnculos controle também apresentaram redução significativa no teor de FH, não mais existindo diferença entre os tratamentos.

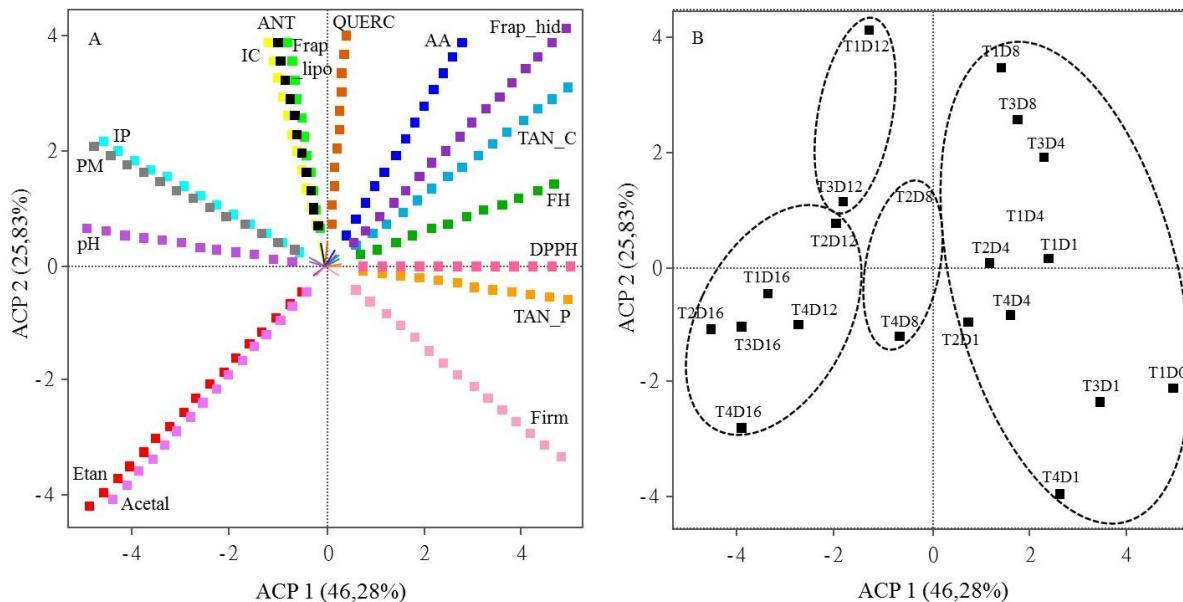
A CA dos pedúnculos de caju foi avaliada por três métodos, DPPH, FRAP\_hid e FRAP\_lipo, e teve resultados diferentes em cada um deles (Tabela 1). Observamos que a 25°C a destanização resultou em perda do DPPH, o que não ocorreu a 5°C. Além disso, a refrigeração reduziu a perda do DPPH. Quanto ao comportamento ao longo do armazenamento, os tratamentos apresentaram redução da porcentagem de DPPH a partir do dia 8 ou 12, indicando uma possível conexão com o teor de AA e quercetinas.

O teor de FRAP\_hid não mostrou interferência da destanização em nenhuma das temperaturas estudadas e assim como o DPPH, indicou redução da CA no fim do armazenamento. Por outro lado, o teor de FRAP\_lipo indicou interferência tanto da destanização quanto da temperatura, pois no dia da aplicação dos tratamentos e na maioria dos dias após a colheita, o teor de FRAP\_lipo dos pedúnculos armazenados a 5°C foi inferior ao dos pedúnculos mantidos a 25°C. Além disso, o teor de FRAP\_lipo dos pedúnculos destanizados também foi inferior aos do controle em vários dias de análise. Assim, a CA dos pedúnculos sofreu interferência da destanização e da temperatura na qual foi feita, como resposta desses tratamentos sob os compostos com atividade antioxidante, de modo que, quando os tratamentos não reduziram os compostos bioativos, não houve redução da CA dos cajus.

### **3.3.4. Análise multivariada**

A ACP do conjunto total dos dados foi representada pela projeção das variáveis (Figura 3A) e das observações (Figura 3B). Essa análise mostrou que duas componentes foram capazes de explicar 72,11% da variância total, sendo que a primeira componente (ACP1) explicou 46,28% da variância e foi caracterizada positivamente pelos TAN\_P, TAN\_C, FH, DPPH e firmeza, e negativamente pela PM. A segunda componente (ACP2 2) explicou 25,83% da variância e foi

correlacionada positivamente pela coloração dos pedúnculos (IC e antocianinas), teor de quercetinas e FRAP<sub>lipo</sub>. Outra análise multivariada realizada foi a AG, a qual separou as observações em 4 grupos por meio do corte realizado em 0,50, visualizado na linha azul (Figura 4). Esse corte foi utilizado para a separação dos grupos (círculos pontilhados) mostrados na projeção das observações (Figura 3B).

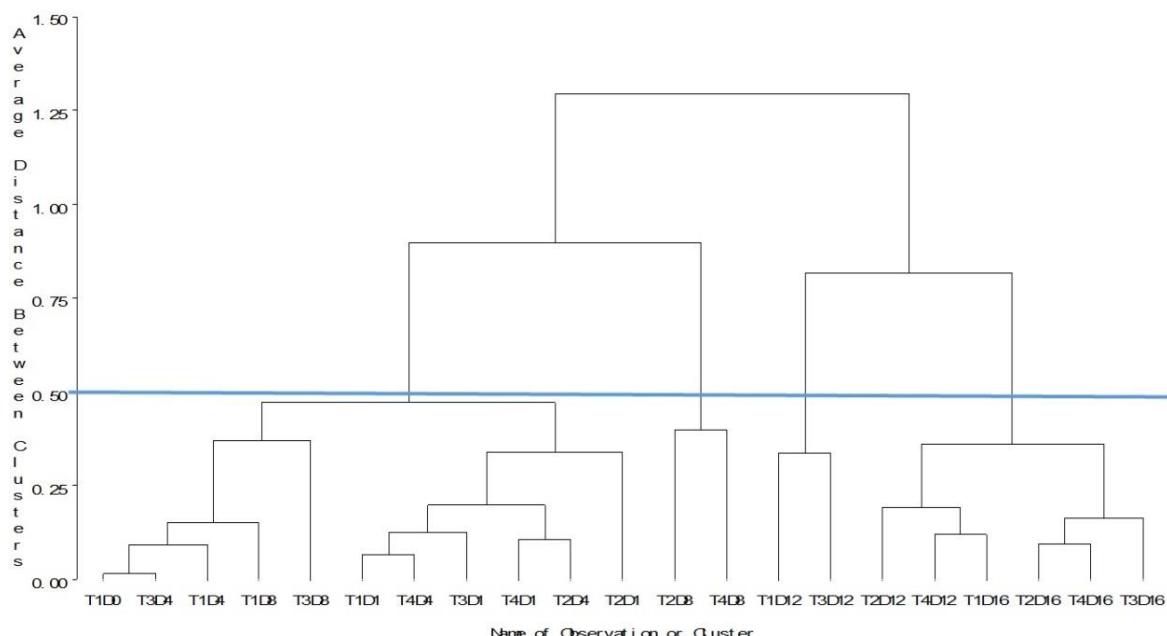


**Figura 3.** Análise de Componentes Principais utilizando as variáveis pós-colheita (A) e as observações (B) realizadas nos pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados a diferentes temperaturas, durante os 16 dias de armazenamento. (A) Variáveis: Querc: quercetinas, AA: ácido ascórbico, Frap\_hid: potencial antioxidante de redução do ferro fração hidrolúvel, TAN\_C: proantocianidinas da casca, FH: fenois hidrolisáveis, DPPH: capitura do radical livre DPPH, TAN\_P: proantocianidinas da polpa, Firm: firmeza, Acetal: acetaldeído, Etan: etanol, PM: perda de massa fresca, IP: incidência de podridão, IC: índice de cor, ANT: antocianinas e Frap\_lipo: potencial antioxidante de redução do ferro fração lipossolúvel. (B) Observações: T1: 0,0 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 25°C, T2: 3,5 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 25°C, T3: 0,0 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 5°C, T4: 3,5 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 5°C, D: dia da análise.

De acordo com essas análises foi possível observar que a ACP1 dividiu as observações em função dos dias de análise, de modo que a colheita (D0), todos os tratamentos dos dias 1 e 4 (D1 e D4) e os controles do dia 8 (T1 e T3D8) ficaram alocados a direita do gráfico e quanto mais avançado os dias após a colheita, mais alocadas à esquerda ficaram as observações. Isso indica que as observações da direita, as quais pertencem a um único grupo, apresentaram maiores teores de proantocianidinas (TAN\_C e TAN\_P), FH e DPPH e menor PM que os grupos da esquerda. A separação dos três grupos da esquerda em função da ACP2 segue o mesmo comportamento, sendo que quanto mais afastado do centro, mais avançado o dia após a colheita

e menor a qualidade dos cajus, corroborando novamente com a análise univariada descrita anteriormente.

A ACP 2 representou melhor o efeito da aplicação do etanol, pois a maioria das observações referentes aos tratamentos controle (T1 e T3) ficaram alocadas acima do eixo, indicando que apresentavam maiores IC, teor de antocianinas, quercetinas e FRAP<sub>lipo</sub>, o que também corrobora com a análise univariada. Além disso, houve indicação de que a temperatura de aplicação do etanol não foi relevante, pois T2 e T4 ficaram nos mesmo grupos.



**Figura 4.** Dendrograma obtido a partir das análises realizadas nos pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados a diferentes temperaturas, durante os 16 dias de armazenamento. T1: 0,0 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 25°C, T2: 3,5 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 25°C, T3: 0,0 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 5°C, T4: 3,5 mL etanol kg<sup>-1</sup> de caju a 5°C, D: dia da análise.

Outra observação interessante da ACP foi a correlação das variáveis entre si. Podemos observar que o teor de etanol e acetaldeído foram altamente dependentes e correlacionados, assim como TAN\_C, FRAP<sub>hid</sub> e AA, sendo estas três variáveis inversamente proporcionais as duas anteriores, visto que a aplicação do etanol (aumento do seu teor), aumentou o teor de acetaldeído e reduziu o de TAN\_C. Embora a análise univariada não tenha mostrado que a destanização reduziu o teor AA, pudemos observar que a redução do FRAP<sub>hid</sub> correspondeu à redução do AA.

A PM e IP também foram altamente correlacionados e inversamente proporcionais à firmeza, indicando que quando as duas variáveis aumentam, a firmeza diminui. Além disso, alta

correlação e dependência foi observada entre IC, antocianinas, quercetinas e FRAP\_lipo, assim como entre os TAN\_P, FH e DPPH. Essas correlações comprovam a interferência dessas variáveis umas nas outras, auxiliam a explicação das respostas obtidas nesse trabalho e mostram que de fato a destanização, independentemente da temperatura de aplicação, reduziu a adstringência, interferiu apenas em poucos compostos bioativos avaliados e não teve interferência significativa nos demais atributos qualitativos dos pedúnculos de caju.

### **3.4. Discussão**

Nesse estudo pudemos verificar que a temperatura de aplicação do etanol não interferiu no processo de destanização dos pedúnculos de caju. O uso da baixa temperatura durante a destanização, além de propiciar redução da adstringência também propiciou melhor conservação de alguns atributos qualitativos do pedúnculo, sendo eles a CA na fração do DPPH, a IP e a firmeza dos pedúnculos. Vale ressaltar que a IP e a firmeza são importantes para determinação do período de vida útil dos pedúnculos, sendo que qualquer melhoria nesses aspectos traz vantagem para a pós-colheita do caju destanizado.

Outra resposta obtida nesse trabalho foi que a redução da adstringência dos pedúnculos interferiu apenas em três dos compostos bioativos avaliados: o teor de antocianinas, quercetinas e de FH. Esses compostos sofreram redução do conteúdo nas duas temperaturas de aplicação de etanol, trazendo, como consequência, redução do DPPH e do FRAP\_lipo. Isso indica que a destanização reduz a CA dos pedúnculos, independentemente da temperatura em que é realizada.

Estudos anteriores indicaram que para o sucesso da remoção da adstringência por meio do etanol, os frutos precisam permanecer por período de 24 h em a temperatura próxima ou superior a 20°C (Benarie e Sonego, 1993; Monteiro *et al.*, 2012). Isso porque esse método de destanização envolve a necessidade de temperatura suficiente para promover a evaporação do etanol e para o fruto apresentar metabolismo enzimático, para transformar etanol em acetaldeído e, assim, polimerizar os taninos (Benarie e Sonego, 1993; Itamura e Fukushima, 1989; Monteiro *et al.*, 2012). Entretanto, Antoniolli *et al.* (2002) demonstraram que para caqui ‘Giombo’ não há necessidade da permanência em altas temperaturas para destanização, mas que esse processo ocorre mais lentamente, demorando três dias a mais do que quando realizado na temperatura de 30°C. No caso dos pedúnculos de caju, os teores de etanol, acetaldeído, TAN\_C e TAN\_P mostraram alta correlação entre si, atingiram os mesmos níveis em ambas temperaturas de destanização e diferiram dos controles. Isso indica que manter os cajus em baixa temperatura, mas em ambiente fechado e com circulação forçada de ar, não impede a evaporação do etanol e

que, provavelmente, a temperatura de 5°C não tenha sido baixa o suficiente para inibir a ação da enzima álcool desidrogenase dos cajus, que, como relatado por outros autores, são pseudofrutos com elevada taxa metabólica (Menezes e Alves, 1995; Moura *et al.*, 2003). Edagi *et al.* (2009) também não observaram a necessidade de manutenção de frutos de caqui ‘Giombo’ a 20°C e por 24 h para redução da sua adstringência. Quanto aos valores de etanol e proantocianidinas obtidos nesse trabalho, verificamos que eles corresponderam aos já observados nos experimentos anteriores, os quais determinaram a melhor dose para destanização, não resultaram em fermentação dos pedúnculos e realmente reduziram a adstringência, uma vez que atingiram valores de taninos abaixo de 0,1% (Vidrih *et al.*, 1994).

Até o momento, não há relatos na literatura mostrando que a destanização possa reduzir a IP de frutos, como o ocorrido nesse trabalho. Acreditamos que o ambiente das caixas herméticas de aplicação do etanol tenha favorecido a morte dos possíveis esporos presentes na casca dos cajus, considerando que o etanol é amplamente usado como eliminador de microrganismos. No entanto, o uso do etanol junto com a refrigeração, provavelmente, foi o que resultou na menor IP dos pedúnculos destanizados a 5°C, uma vez que a baixa temperatura reduziu o metabolismo dos microrganismos remanescentes após o tratamento com etanol, retardando seu desenvolvimento (Chitarra e Chitarra, 2005). Quanto à PM, o resultado obtido era o esperado, uma vez que a dose de etanol utilizada não deveria resultar em problemas na camada lipídica da casca, e que o tempo de exposição ao etanol, ou seja, as 12 h, não seria suficiente para comprometer a transpiração dos 16 dias de armazenamento. Com relação à firmeza, observamos, novamente, que a temperatura de 5°C é a mais indicada para aplicação do etanol. De acordo com a correlação dos dados na análise multivariada, e com as observações de Chitarra e Chitarra (2005) e Figueiredo *et al.* (2001), existem dois fatores que podem ter levado a esse resultado: a menor IP e a menor atividade das enzimas pectinolíticas desses pedúnculos, o que evitou a degradação da parede celular e, consequentemente, a perda da firmeza.

Um atributo qualitativo negativamente afetado tanto pela destanização quanto pelo uso da baixa temperatura foi a coloração da casca dos pedúnculos. Como relatado no estudo da melhor dose de etanol para destanização, a aplicação de etanol em dose suficiente para reduzir as proantocianidinas também reduz as antocianinas, uma vez que ambos pertencem à mesma classe de fenóis (Robards e Antolovich, 1997). Além disso, o uso da temperatura de 5°C reduz o metabolismo dos pedúnculos, o que reduz a biossíntese das antocianinas (Figueiredo *et al.*, 2007), corroborando com o resultado da ACP, a qual indicou que aumento o teor de antocianinas também aumenta o IC. Entretanto, é valido ressaltar que a destanização a partir do etanol, nas duas temperaturas estudadas, não reduziu o IC nem o teor de antocianinas. Também, não

provocou manchas na casca ou outras alterações depreciativas visuais nos pedúnculos. Esse tratamento faz com que os cajus destanizados apenas apresentem coloração de vermelho menos intenso que os pedúnculos do controle a 25°C durante a maior parte do armazenamento.

Uma observação interessante quanto aos compostos bioativos é que cada um dos compostos analisados agiu em uma fração diferente da CA dos cajus. As análises que sofreram as mesmas influências da destanização e/ou da baixa temperatura de aplicação do etanol e apresentaram alta correlação e dependência na ACP foram: AA com FRAP\_hid, quercetinas com FRAP\_lipo e FH com DPPH. Outros autores já haviam correlacionado a CA dos pedúnculos com o AA e os polifenois (Gordon *et al.*, 2012; Queiroz *et al.*, 2011), no entanto, está é a primeira vez que as frações da CA são ligadas aos respectivos compostos bioativos, contribuindo para indicação do consumo dos pedúnculos de caju como uma fonte de diversas propriedades benéficas a saúde humana.

Quanto ao efeito da destanização sobre essas variáveis nutricionais, não houve interferência no teor de AA e, consequentemente do FRAP\_hid, mas houve redução do teor de FH e do DPPH apenas quando a destanização foi realizada a 25°C, e das quercetinas e FRAP\_lipo quando a destanização foi a 5°C. Como relatado em outros estudos, o consumo do AA está relacionado à atuação da ascorbato oxigenase (Moura *et al.*, 2010), à mudança do pH intracelular e à presença de oxigênio (De Lima *et al.*, 2014). Provavelmente, a aplicação de etanol não altera esses fatores e por isso, independentemente da temperatura usada durante a aplicação do álcool, o teor de AA é conservado. Por outro lado, a aplicação de etanol, independentemente da temperatura, reduz o teor de FH e quercetinas, pois, as proantocianidinas são os principais fenóis dos cajus e as quercetinas, juntamente com as antocianinas, pertencem à mesma classe dos polifenois das proantocianidinas. Assim, a redução de um destes compostos reduz o teor dos demais, o que pode ser demonstrado pela alta correção e dependência entre TAN\_P, FH e DPPH verificadas neste trabalho.

Dessa forma, concluímos que para reduzir a stringência dos pedúnculos de caju, o uso da baixa temperatura para aplicação do etanol é o mais indicado, uma vez que reduz o teor dos taninos aos mesmos níveis da destanização feita em temperatura ambiente, além de contribuir para melhor manutenção dos atributos qualitativos dos pedúnculos de caju, incluindo alguns dos seus compostos bioativos, e consequentemente, uma fração da sua capacidade antioxidante.

## Referências

- ANDARWULAN, N. et al. Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 339-347, Jan 2012.
- ANTONIOLLI, L. R. et al. A remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 687-691, 2002.
- ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 495-502, 2003.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara. 15: 63-72 p. 2004.
- BENARIE, R.; SONEGO, L. Temperature affects astringency removal and recurrence in persimmon. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 6, p. 1397-1400, Nov-Dec 1993.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, Jul 15 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises químicas de alimentos**. Campinas 1990.
- CAVALCANTE, A. A. M. et al. Mutagenicity, antioxidant potential, and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 41, n. 5, p. 360-369, 2003.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785.
- DAUCHET, L. et al. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: A meta-analysis of cohort studies. **Journal of Nutrition**, v. 136, n. 10, p. 2588-2593, Oct 2006.
- DAVIS, P. L.; CHACE JÚNIOR, W. G. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. **HortScience**, v. 4, p. 117-119, 1969.
- DE BRITO, E. S. et al. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1112-1118, 2007.
- DE LIMA, A. C. S. et al. In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 161, p. 142-147, 10/15/ 2014.
- EDAGI, F. K. et al. Astringency removal of 'Giombo' persimmon with ethanol sub-doses. **Ciencia Rural**, v. 39, n. 7, p. 2022-2028, Oct 2009.
- FIGUEIREDO, R. W. **Desenvolvimento, maturação e armazenamento de pedúnculos de cajueiro anão precoce CCP-76 sob influência do cálcio**. 2000. 154 (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FIGUEIREDO, R. W. et al. Alterações de firmeza, pectinas e enzimas pectinolíticas durante o desenvolvimento e maturação de pedúnculos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L. var. *nanum* ) CCP-76. **Interamerican Society For Tropical Horticulture**. Frutales. 43: 82-86 p. 2001.

FIGUEIREDO, R. W. et al. Quality of cashew pseudofruits treated with calcium at postharvest and stored under refrigeration. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 475-482, Apr 2007.

GORDON, A. et al. Changes in phenolic composition, ascorbic acid and antioxidant capacity in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) during ripening. **Fruits**, v. 67, n. 4, p. 267-276, Jul-Aug 2012.

HA, T. J.; KUBO, I. Lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4350-4354, Jun 2005.

ITAMURA, H.; FUKUSHIMA, T. Effects of several treatments on the behavior of tannin in Japanese persimmon fruits. **Bulletin of the Yamagata University Agriculture Science**. 10: 917-922 p. 1989.

KUBO, J.; LEE, J. R.; KUBO, I. Anti-Helicobacter pylori agents from the cashew apple. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 533-537, Feb 1999.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita dopedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT, 1995. 20.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

MONTEIRO, M. F. et al. Temperaturas para remoção da adstringência com etanol em caqui 'giombo'. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**. 13: 9-13 p. 2012.

MOO-HUCHIN, V. M. et al. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 166, p. 17-22, Jan 2015.

MOURA, C. F. H. et al. Avaliação Respiratória de Clones de Cajueiro Anão Precoce (*Anacardium occidentale* L.) Armazenados Sob Diferentes Camadas de PVC. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**. Miami. 47 2003.

\_\_\_\_\_. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGLI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.

NUGROHO, A. E.; MALIK, A.; PRAMONO, S. Total phenolic and flavonoid contents, and *in vitro* antihypertension activity of purified extract of Indonesian cashew leaves (*Anacardium occidentale* L.). **International Food Research Journal**, v. 20, n. 1, p. 299-305, 2013.

QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, 6// 2011.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids - A review. **Analyst**, v. 122, n. 2, p. R11-R34, Feb 1997.

SCHULZE-KAYSERS, N.; FEUEREISEN, M. M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family - a review. **Rsc Advances**, v. 5, n. 89, p. 73301-73314, 2015.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999.

TREVISAN, M. T. S. et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p. 188-197, Feb 2006.

VIDRIH, R. et al. Astringency removal by high CO<sub>2</sub> treatment in persimmon fruit (*Diospyros kaki*). **International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops, Vols I and II**, n. 368, p. 652-656, 1994.

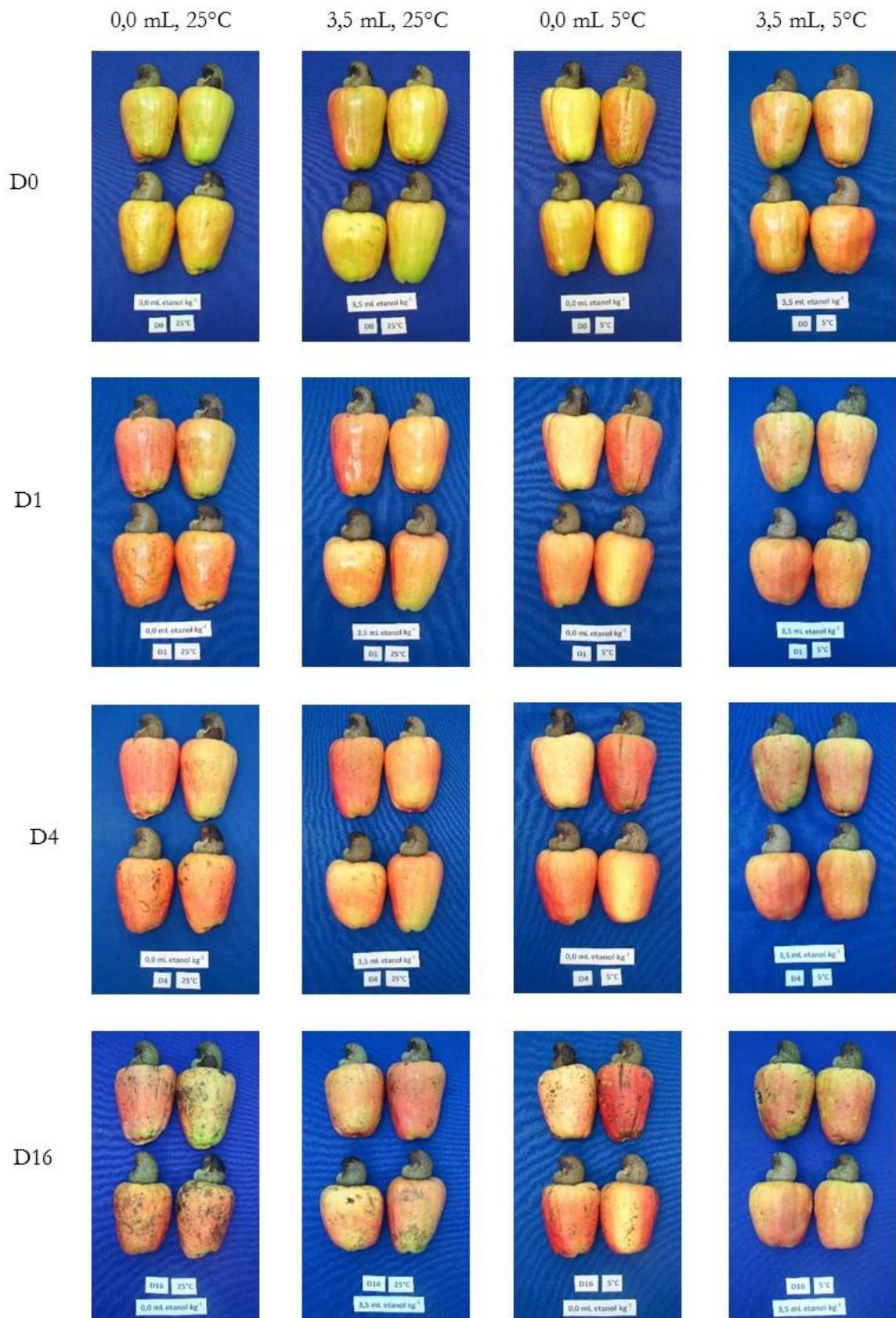
VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

## Anexos

**Tabela 2.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (Dia), aplicação de etanol em diferentes temperaturas (Trat) e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 16 dias.

Variável	Dia	Trat	Dia x trat	C.V. (%)
Etanol (μg g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	*	10,35
Acetaldeido (μg g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	*	3,66
Proantocianidina polpa (mg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	9,13
Proantocianidina epiderme (mg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	14,57
Polifenois solúveis (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	ns	ns	8,76
Polifenois hidrolisável (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	8,43
Antocianinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	6,47
Quercetinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	4,71
Ácido ascórbico (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	ns	ns	9,55
DPPH (% redução)	*	*	*	5,18
FRAP hidrossolúvel (μmol FeSO <sub>4</sub> 100 g <sup>-1</sup> )	*	ns	*	10,62
FRAP lipossolúvel (μmol FeSO <sub>4</sub> 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	9,43
Índice cor epiderme	*	*	ns	28,48
pH	*	ns	*	1,89
Incidência podridão	*	*	*	22,50
Perda de massa (%)	*	*	ns	7,09
Firmeza (N)	*	ns	*	12,35

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. \*:  $P \leq 0,05$ ; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.



**Figura 5.** Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol (0,0 ou 3,5  $\text{mL kg}^{-1}$  de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 16 dias.

## 4. PERFIL DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE PEDÚNCULOS DE CAJU DESTANIZADOS COM ETANOL E REFRIGERADOS

### Resumo

O *flavor* é um dos principais atributos qualitativos relacionados ao consumo dos pedúnculos de caju, que necessita ser destanizado devido à sua alta adstringência. O objetivo dessa pesquisa foi investigar se a destanização a partir da aplicação de etanol, associada ao armazenamento refrigerado, afeta o perfil dos compostos voláteis de pedúnculos de caju *in natura* durante sua vida útil. Foram utilizados cajus anão-precoce do clone CCP-76, com coloração da casca de 70-75% laranja-avermelhada. Para destanização, o etanol foi aplicado da seguinte forma: T1 - 0,0 mL kg<sup>-1</sup> a 25°C, T2 - 3,5 mL kg<sup>-1</sup> a 25°C, T3 - 0,0 mL kg<sup>-1</sup> a 5°C e T4 - 3,5 mL kg<sup>-1</sup> a 5°C. Todos os tratamentos tiveram duração de 12 h e, após, foram armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. A aplicação de etanol, independentemente da temperatura, manteve a menor atividade respiratória nos últimos dias de armazenamento. Não houve influência dos tratamentos sobre a produção de etileno, sólidos solúveis e acidez titulável. A relação sólidos solúveis/acidez aumentou durante o armazenamento. O tempo de armazenamento foi mais representativo para manutenção do odor agradável dos cajus e a destanização, para a melhoria do seu sabor (adstringência). A análise de perfil dos compostos voláteis da polpa identificou 62 compostos, sendo 26 ésteres, 12 álcoois, 8 aldeídos, 8 terpenos, 2 ácidos carboxílicos, 2 cetonas, 2 fenóis e 2 hidrocarbonetos. O tempo de armazenamento foi o que mais influenciou a presença e a intensidade dos voláteis, seguido pela ocorrência da destanização, a qual gerou nova separação desses compostos dentro de um mesmo dia de análise, independentemente da temperatura em que o etanol foi aplicado. Portanto, a destanização a partir da aplicação de 3,5 mL etanol por kg de caju, por 12 h e a 5°C, pouco afeta a atividade metabólica, as variáveis químicas relacionadas ao *flavor* e, consequentemente, o perfil dos compostos voláteis aromáticos dos pedúnculos de caju.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale* L.; Aroma; Sabor; Ésteres; Atividade metabólica

### Abstract

Flavor is one of the main qualitative attributes related to the consumption of cashew apple, which needs to have the high astringency level reduced. The objective of this research was to investigate whether the detanization by ethanol, associated with cold storage, affects the profile of the volatile compounds of fresh cashew apple during its shelf life. Early dwarf cashews of the CCP-76 clone were used when they had 70-75% orange-reddish peel coloration. The ethanol was applied as follows: T1 - 0.0 mL kg<sup>-1</sup> at 25°C, T2 - 3.5 mL kg<sup>-1</sup> at 25°C, T3 - 0.0 mL kg<sup>-1</sup> at 5°C and T4 - 3.5 mL kg<sup>-1</sup> at 5°C. All treatments lasted for 12 h and after that were stored at 5°C and 90% RH for 16 days. Regardless of the temperature, the application of ethanol maintained the lowest respiratory activity in the last days of storage. There was no influence of the treatments on ethylene production, soluble solids and titratable acidity. The soluble solids/acidity ratio increased during storage. The storage time was more representative for maintaining the pleasant smell of the cashews and the detanization, for the improvement of its flavor (astringency). The profile analysis of the volatile compounds of the pulp identified 62 compounds, being 26 esters, 12 alcohols, 8 aldehydes, 8 terpenes, 2 carboxylic acids, 2 ketones, 2 phenols and 2 hydrocarbons. The storage time was the one that most influenced the presence and the intensity of the volatiles, followed by the occurrence of the detanization, which generated a new separation of these

compounds within the same day of analysis, regardless of the temperature that the ethanol was applied. Therefore, the detanization by 3.5 mL ethanol per kg of cashew, at 12 and 5°C, does not affect the metabolic activity, the chemical variables related to the flavor and, consequently, the profile of the aromatic volatile compounds of the cashew apple.

**Keywords:** *Anacardium occidentale* L; Aroma; Flavor; Esters; Metabolism rate

#### 4.1. Introdução

Nas últimas décadas, o número de pesquisas e estudos relativos à composição dos voláteis aromáticos de diversas espécies frutíferas vem crescendo (Lasekan e Abbas, 2012). Os compostos voláteis aromáticos são metabólitos secundários biossintetizados a partir de ácidos graxos, aminoácidos, carboidratos e carotenoides (Bonato, 2015). Eles apresentam diversas funções, como comunicação entre plantas e agentes dispersores, proteção e defesa contra microrganismos e herbívoros e, o de maior importância para os humanos, a emissão e caracterização de odores e sabores das frutas (Brückner, 2008; Gomes, 2012; Marín-Loaiza e Céspedes, 2007).

A combinação do odor (aroma), paladar (gosto) e tato (textura) resulta no *flavor* ou “sabor” (Smith, 2012), o qual é um dos principais atributos qualitativos relacionados à atratividade e consumo das frutas tropicais e subtropicais. Na América do Sul, especialmente no norte e nordeste do Brasil, o pedúnculo de caju é uma fruta popular, com *flavor* muito característico, exótico e extremamente agradável (Maia *et al.*, 2000). Além disso, o pedúnculo do caju é uma fruta de casca macia, com polpa suculenta e sem sementes, com alto conteúdo de açúcares e ácidos e diversas propriedades nutricionais (Carasek e Pawliszyn, 2006; Cavalcante *et al.*, 2003), características que vêm contribuindo para o interesse em expandir seu consumo ao nível mundial, principalmente na forma *in natura*.

Um dos entraves à essa expansão está relacionado à alta adstringência dos pedúnculos de caju, tornando necessária a aplicação de técnicas de remoção do teor das proantocianidinas ou taninos condensados, que são as moléculas responsáveis por essa desagradável sensação gustativa (Dixon e Paiva, 1995; Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009). Em estudos recentes demonstramos que a aplicação de etanol na dose de 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju por 12 horas é uma forma eficiente de reduzir os taninos do caju e que quando feita a 5°C, seus atributos qualitativos, incluindo alguns compostos bioativos, são melhor conservados. Entretanto, não há relatos quanto ao efeito da destanização sobre os compostos relacionados ao aroma do caju.

Em alguns trabalhos tem sido demonstrando a importância dos voláteis para os pedúnculos de caju *in natura* e, principalmente, para os produtos derivados, como suco, geleia,

xarope e doces (De Assis *et al.*, 2007; Maia *et al.*, 2000; Nobre *et al.*, 2015; Sousa e De Brito, 2013). Esses autores identificaram o perfil de voláteis que caracterizam o aroma dos pedúnculos, indicando como principais compostos o 3-metil-butanoato de etila, 2-butenoato de etila, butanoato de etila, hexanoato de etila, hexanal e ácido 3-metil-butanóico. No entanto, também faltam estudos quanto ao comportamento dos voláteis durante a comercialização e vida útil dos pedúnculos *in natura*.

Como o uso de qualquer tecnologia pós-colheita pode intervir na composição dos voláteis das frutas, esse trabalho teve como objetivo investigar se a destanização a partir da aplicação de etanol, aliada ao armazenamento refrigerado, afeta o perfil dos compostos voláteis de pedúnculos de caju *in natura* durante sua vida útil.

## 4.2. Materiais e métodos

### 4.2.1. Material vegetal e tratamentos

Cajus anão-precoce do clone CCP-76, com coloração da casca de 70-75% laranja-vermelhada e a extremidade apical ainda com tamanho inferior a basal, foram colhidos em Arthur Nogueira, SP ( $22^{\circ}34'23''$  Sul,  $47^{\circ}10'21''$  Oeste e 588 m de altitude). Os pseudofrutos foram colhidos manualmente e transportados em veículo refrigerado até o laboratório em Piracicaba, SP, onde passaram por seleção, homogeneização quanto à coloração, formato, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis, e sanitização com hipoclorito de sódio (50 g de StartClor® em 10 L de água, por 10 min). Depois de secos, em condição ambiente ( $25^{\circ}\text{C}$  e 60%UR), os cajus foram divididos em quatro grupos de 70 pedúnculos cada (aproximadamente 7,0 kg) e acondicionados em quatro caixa plástica escura e hermética de 54,5 L para a aplicação do etanol. Na tampa de todas as caixas havia um ventilador, para forçar a ventilação e homogeneização interna do ar e, a evaporação do etanol, quando presente. Para destanização, o etanol foi aplicado da seguinte forma: T1 – 0,0 mL kg<sup>-1</sup> a  $25^{\circ}\text{C}$ , T2 – 3,5 mL kg<sup>-1</sup> a  $25^{\circ}\text{C}$ , T3 – 0,0 mL kg<sup>-1</sup> a  $5^{\circ}\text{C}$  e T4 – 3,5 mL kg<sup>-1</sup> a  $5^{\circ}\text{C}$ . Todos os tratamentos tiveram duração de 12 h e, após, foram armazenados a  $5^{\circ}\text{C}$  e 90% UR por 16 dias.

### 4.2.2. Atividade respiratória e produção de etileno

Cinco pedúnculos de caju de cada tratamento foram colocados individualmente em frascos de vidro herméticos de 600 mL. Após fechados por uma hora para análise do CO<sub>2</sub> e duas

horas para análise de etileno, 0,5 mL de gás do espaço livre dos frascos foram retirados, através de um septo de silicone, e injetados em um cromatógrafo a gás (Thermo, modelo Trace GC Ultra, com detector de ionização de chama - FID - e coluna Porapak N), com as seguintes configurações: forno 110°C durante 120 e 60 segundos para CO<sub>2</sub> e etileno, respectivamente, injetor 150°C, detector 180°C, pressão 25 KPa (constante) e fluxo de N<sub>2</sub> de 70 mL min<sup>-1</sup> (calibração com padrões de CO<sub>2</sub> e etileno). Hidrogênio foi usado como gás de arraste e os resultados foram expressos em mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> e µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. Essas análises foram feitas no dia da colheita (antes da aplicação dos tratamentos), no dia seguinte a colheita (logo após a abertura das caixas), e então, a cada 4 dias. Assim, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x6 (presença/ausência de etanol em duas diferentes temperaturas x dias de análise).

#### **4.2.3. Acidez titulável, sólidos solúveis e relação SS/AT**

Acidez titulável (AT) foi realizada por titulometria potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,1, usando 10 g da polpa triturada em 90 mL de água destilada. O pH foi detectado por pHmetro (Tecnal, modelo TEC-03 MP) e o resultado expresso em % de ácido málico. Os sólidos solúveis (SS) foram determinados em refratômetro digital (Atago, modelo Paleta 101), com duas leituras por amostras trituras e resultados expressos em °Brix. A relação entre SS e At foi determinada por meio da divisão dos SS pela AT. Essas análises foram feitas na mesma frequência das anteriores, obtendo assim o mesmo delineamento experimental, mas utilizando três repetições, compostas por três cajus cada.

#### **4.2.4. Análise sensorial**

Foi realizada a análise sensorial hedônica de forma informal, avaliando o odor (quanto à fermentação) e o sabor (quanto à adstringência) dos pedúnculos. Para ambos os parâmetros, amostras de pedúnculos cortadas em cubos, dos quatro tratamentos, foram fornecidas para 3-5 avaliadores treinados, os quais classificavam os pedúnculos de acordo com uma escala variando de 0 a 5, sendo 0= completamente fermentado e 5= odor mais próximo do natural, para as notas de odor e 0= completamente destanizado e 5= completamente adstringente, para notas do gosto. A frequência de análise e o delineamento foram os mesmos do item anterior.

#### **4.2.5. Compostos voláteis**

As análises de compostos voláteis foram realizadas pelo método de microextração (SPME, do inglês *Solid Phase Micro-Extraction*). As condições da SPME foram otimizadas de acordo com modificações previamente estudadas (Pino *et al.*, 2014), avaliando o tempo de exposição da fibra, o tempo necessário para equilíbrio do *headspace* e a temperatura de aquecimento. As condições ótimas para isolamento dos voláteis foram selecionadas pelo maior número de picos e de área total dos cromatogramas. Amostras de 3 g de polpa triturada, provenientes da mistura de 9 pedúnculos, foram acrescidas de 7 mL de solução de NaCl a 30% (p/v) em *vials* de 20 mL, com tampa de septo de silicone e congeladas a -20°C. O material foi descongelado a 40°C em banho-maria com agitação a 20 g. O tempo de equilíbrio e adsorção foi de 30 e 60 min, respectivamente. A fibra SPME (DVB/CAR/PDMS 200 µm de espessura, Supelco®) foi injetada diretamente no cromatógrafo a gás Hewlett-Packard 6890 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA), acoplado a um detector seletivo de massas da mesma empresa, modelo 5973, e deixada por 3 min para dessorção dos compostos voláteis. A temperatura do injetor foi de 200°C. Os componentes foram separados usando uma coluna capilar Supelcowax (30 m x 0,25 µm) e a temperatura do forno foi programada para uma rampa de 50 a 150 °C a 2°C/min e manutenção por 5 min. Os compostos voláteis foram identificados por comparação com a biblioteca NIST (NIST98, version 2.0, Gaithersburg, USA) considerando 70% de similaridade como corte, além de confirmar os resultados com o índice de Kovats. Essas análises foram feitas no início e fim do experimento (dias 4 e 16), todas em triplicata.

#### **4.2.6. Análise estatística**

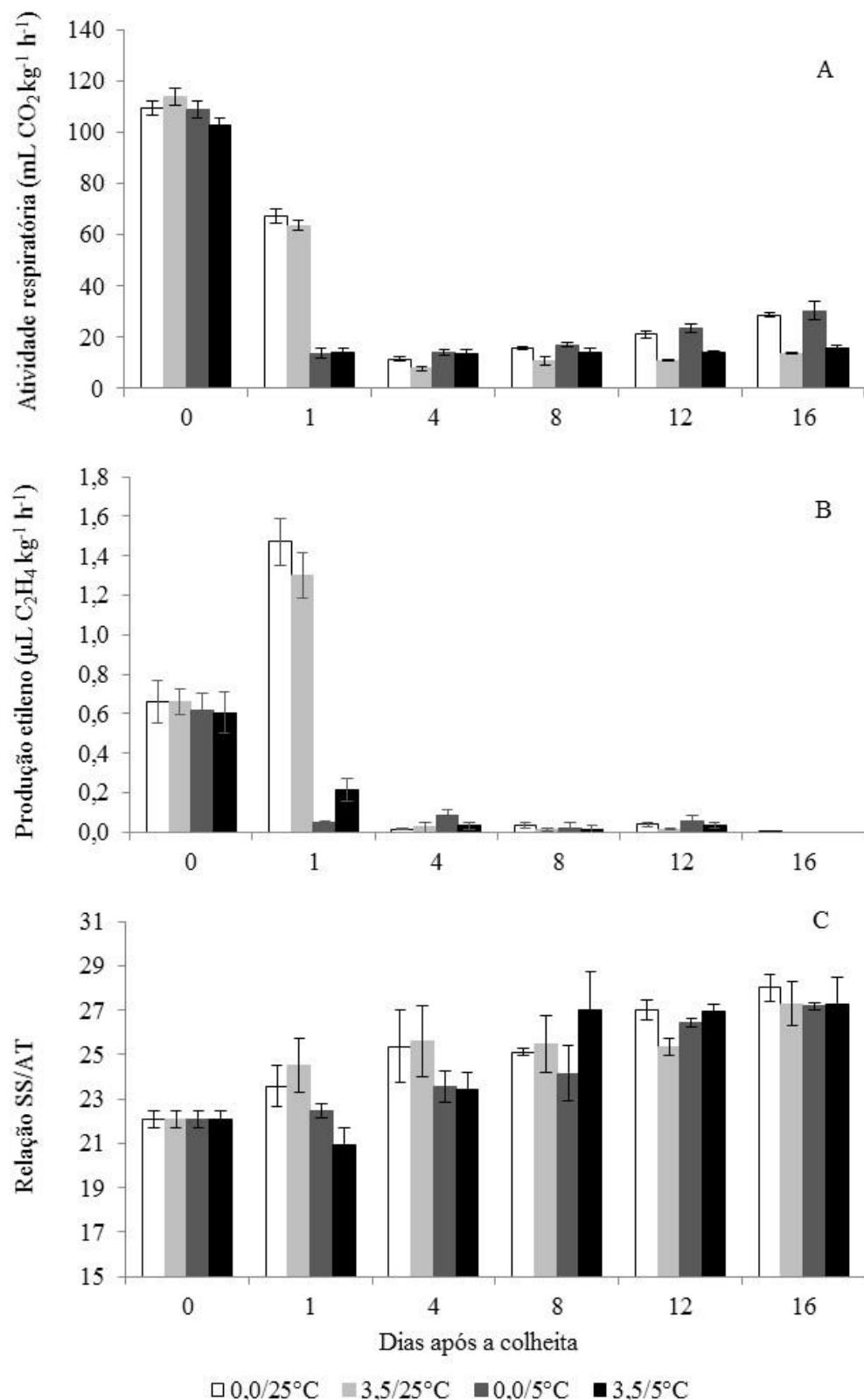
Os dados de respiração, etileno, AT, SS, relação SS/AT e sensorial foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ), utilizando o software estatístico SAS 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2010). Os dados dos compostos voláteis foram normalizados pela média e submetidos à análise multivariada por meio da análise de componentes principais (ACP, *biplot*) e agrupamento hierárquico (AAH) visualizado por *heatmap*, utilizando a distância euclidiana e algoritmo aglomerativo de Ward, feitas pelo software estatístico XLSTAT e SPSS 22.0, respectivamente.

### 4.3. Resultados

#### 4.3.1. Respiração, produção de etileno, SS, AT e relação SS/AT

O uso de diferentes temperaturas para a destanização interferiu na atividade respiratória dos pedúnculos de caju apenas no dia da aplicação dos tratamentos e a destanização com etanol, somente a partir do dia 8 (Figura 1A). Em resposta a temperatura de 5°C, os pedúnculos reduziram sua atividade respiratória a valores inferiores a 15 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, independentemente de terem sido tratados com etanol. Ao longo do armazenamento, a atividade respiratória dos pedúnculos destanizados manteve esses valores, enquanto que os pedúnculos não destanizados apresentaram taxa respiratória superior a 30 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> no dia 16. A produção de etileno dos pedúnculos também foi reduzida com uso da refrigeração, mas não foi influenciada pela destanização (Figura 1B). Independentemente do uso do etanol, quando os pedúnculos foram colocados a 5°C, a produção de etileno foi inferior a 0,2 µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> e não aumentou durante o armazenamento. Desse modo, a aplicação de etanol, independentemente da temperatura em que foi realizada, manteve a menor atividade respiratória nos últimos dias de armazenamento e não influenciou a produção de etileno dos pedúnculos de caju.

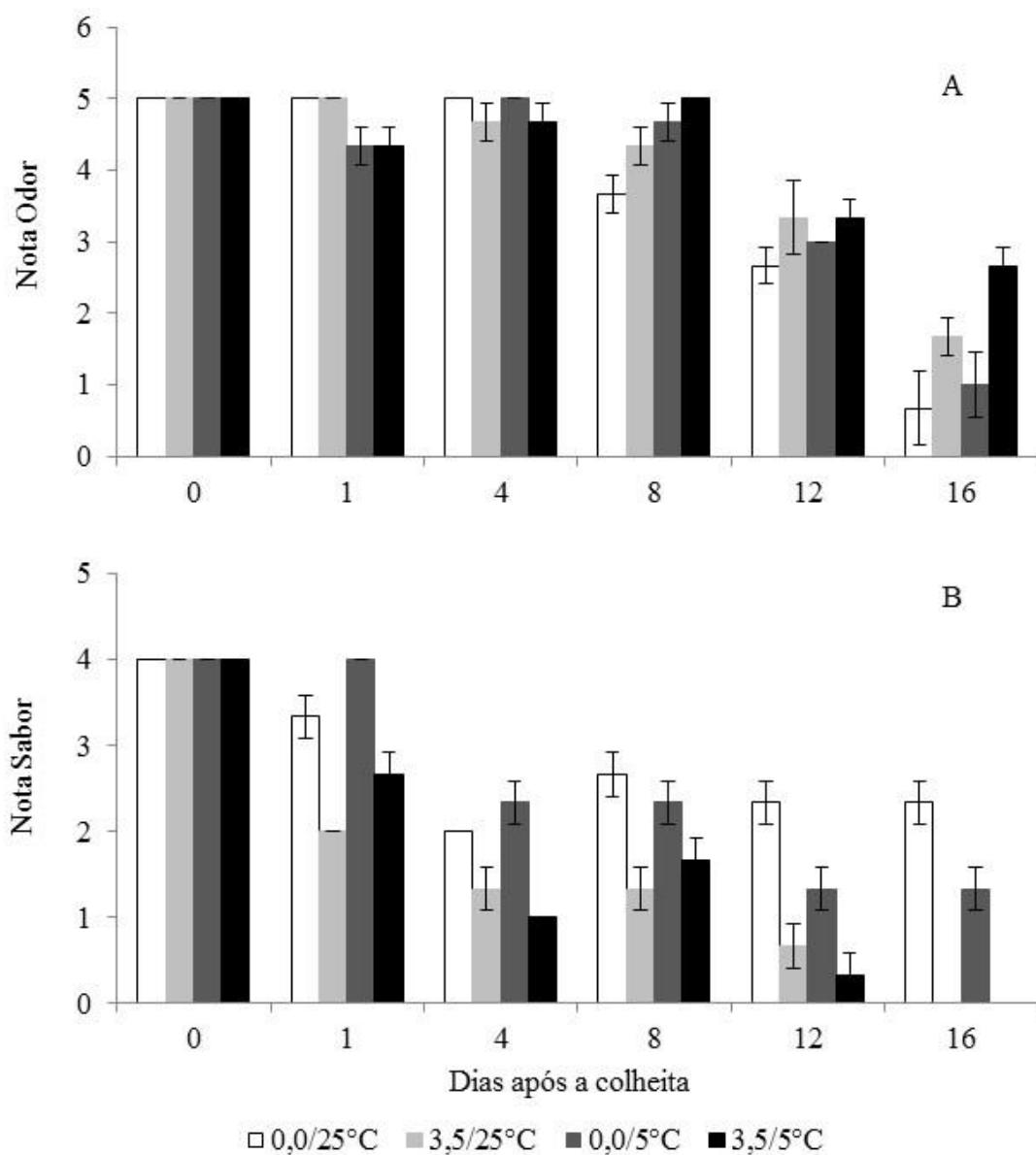
Os SS, a AT e, consequentemente, sua relação não sofreram influência da destanização. A temperatura usada durante a aplicação do etanol mostrou diferença estatística apenas para os SS, sendo que pedúnculos mantidos em temperatura ambiente apresentaram média de 10,26 °Brix e, os mantidos a 5°C, de 9,82 °Brix (dados não apresentados). No entanto, essa diferença é muito pequena para ser percebida durante a degustação dos cajus. Quanto aos dias após a colheita, os quatro tratamentos tiveram o mesmo comportamento, reduzindo os SS em 7,5% apenas até o 1º dia de armazenamento e a AT em 21,3% até o 12º dia, quando atingiu 0,37% de ácido málico. Essas mudanças resultaram em aumento de 24,33% da relação SS/AT (Figura 1C), o que foi importante para a pós-colheita dos pedúnculos, tendo-se em vista que esse valor é passível de percepção ao consumo humano. Assim, observamos que a aplicação de etanol em baixa temperatura não influenciou as variáveis químicas relacionadas ao sabor dos cajus, mas o tempo de armazenamento aumentou a relação, indicando melhoria no sabor.



**Figura 1.** Atividade respiratória (A), produção de etileno (B) e relação SS/AT (C) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=5$ ). Dados originais, transformação usadas para atividade resp.:  $x^{-0,5}$  e produção etileno:  $(x+0,375)^{0,5}$

#### **4.3.2. Atributos sensoriais**

Análises sensoriais informais foram realizadas a fim de avaliar o odor e sabor dos pedúnculos de caju destanizados em diferentes temperaturas. A aplicação de etanol resultou em diferença no odor apenas entre pedúnculos destanizados a 5°C e os não destanizados e mantidos a 25°C nos dias 8 e 16, sendo que os destanizados receberam as maiores notas, indicando que tinham odor mais agradável e não estavam fermentados (Figura 2A). Todos os tratamentos tiveram redução significativa na nota de odor a partir do dia 8, no entanto, os pedúnculos controle, independentemente da temperatura, tiveram as maiores reduções e chegaram ao dia 16 com odor de fermentação. Quanto ao sabor, a aplicação de etanol reduziu as notas e, portanto, a adstringência, independentemente da temperatura (Figura 2B). Embora todos os tratamentos tenham apresentado redução das notas ao longo do armazenamento, os pedúnculos não destanizados permaneceram com nota igual ou superior a 2 durante todo o período avaliado. Dessa forma, o fator tempo de armazenamento foi mais representativo para manutenção do odor agradável dos cajus e o fator destanização, para a melhoria do seu sabor.



**Figura 2.** Notas de sabor (A) e odor (B) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C) e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=5$ ). Dados originais, transformação usadas para nota sabor:  $(x+0,5)^{0,5}$  e nota de odor:  $(x+0,5)^2$

#### 4.3.3. Perfil dos compostos voláteis

A análise de perfil dos compostos voláteis da polpa de pedúnculos de caju identificou 62 compostos, sendo 26 ésteres, 12 álcoois, 8 aldeídos, 8 terpenos, 2 ácidos carboxílicos, 2 cetonas, 2 fenóis e 2 hidrocarbonetos (Tabela 1). Independentemente da destanização e do tempo de armazenamento, observamos que os ésteres se mostraram como a classe de voláteis mais

importante para o aroma do caju em termos de odor. De acordo com a descrição do odor/sabor dos voláteis encontrados no site “Goods Centes Compant” e pelos autores De Assis *et al.* (2007) e Garruti *et al.* (2003), os ésteres 5, 6, 7, 13, 15 e 44 foram os responsáveis pelo “aroma forte de caju”; os compostos 19 e 20 pelo “aroma fraco de caju” e o 3 pelo aroma desagradável e fétido. Compostos de outras classes, como 8, 23, 36, 47 e 53 também contribuíram para o aroma agradável e característico desse pseudofruto, enquanto que os compostos 15, 17, 25, 34 e 49 indicaram que os pedúnculos estavam fermentados ou em senescência.

A AAH visualizada por *heatmaps* permitiu o conhecimento de intensidade com que cada composto foi detectado nas amostras, de modo que as cores vermelha e azul indicaram altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente (Figura 3). O estudo dos *heatmaps* indicou que o fator dias após a colheita (D4 e D16) foi o que mais influenciou a presença e a intensidade dos voláteis nos pedúnculos de caju e que dentro de cada dia, a destanização (T2 e T4) gerou nova separação dos voláteis, independentemente da temperatura em que o etanol foi aplicado. Essa segunda separação foi mais acentuada no D4 do que no D16. Dessa forma, os compostos 2 ao 41, da ordem de aparecimento no *heatmap*, ocorreram em maior intensidade nas amostras do dia 4, sendo que dentro deste dia, do composto 2 ao 32 e 19 ao 41 foram mais intensos nos pedúnculos destanizados (T2 e T4) do que naqueles não destanizados (T1 e T3). Uma observação interessante foi que os voláteis que caracterizam o odor agradável do caju foram encontrados no dia 4, indicando que a destanização em ambas temperaturas não afetou seu odor, mas que a senescência ou passar dos dias durante o armazenamento mudou.

**Tabela 1.** Compostos voláteis detectados por SPME em pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol (0,0 ou 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju) por 12 h, a diferentes temperaturas (25 ou 5°C) e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias.

Pico	Composto	IR		Descrição odorífera
		Calculado <sup>1</sup>	Teórico <sup>2</sup>	
<b>Ácido carboxílico</b>				
56	Ácido 2-metil-butanóico	1655	1655	NI
61	Ácido octanóico	2068	2068	Gordura, ranço, cera <sup>3</sup>
<b>Álcool</b>				
14	1-penten-3-ol	1135	1136	Picante, verde, vegetal, tropical, frutado <sup>3</sup>
17	3-metil-1-butanol	1176	1176	Oleoso, defumado, alcoólico, frutado, banana, caju <sup>3,4</sup>
26	Acetoína	1240	1248	Doce, amanteigado, leitoso, gorduroso <sup>3</sup>
34	1-hexanol	1297	1261	Verde, pungente, etéreo, frutado, alcoólica, doce <sup>3</sup>
35	(Z)-3-hexenol	1306	1308	Verde, grama, frescor, melão <sup>3</sup>
37	(E)-2-hexenol	1358	1360	Verde, frutado com herbal <sup>3</sup>
42	1-octen-3-ol	1409	1407	Terroso, verde, oleoso, fungico <sup>3</sup>
43	2-heptanol	1414	1419	Mofo, pungente, verde, frutado, maçã, banana <sup>3,4</sup>
45	2-etyl-1-hexanol	1451	1450	Cítrico, fresco, floral, doce <sup>3</sup>
49	2,6-dimetil-4-heptanol	1500	1509	Fermentado, etéreo <sup>3</sup>
55	1-nonanol	1623	1624	Fresco, floral, cítrico <sup>3</sup>
60	benzil ácool	1837	1837	Doce, floral, frutado <sup>3</sup>
<b>Aldeído</b>				
01	Acetaldeído	<1000	655	Frutado, etéreo, picante <sup>3</sup>
08	Hexanal	1065	1065	Folha verde <sup>3,4</sup>
18	(E)-2-hexenal	1189	1189	Frutado <sup>3</sup>
27	Octanal	1248	1248	Cítrico, ceroso <sup>3</sup>
36	Nonanal	1345	1348	Cítrico, floral, efervescente <sup>3</sup>
38	4-etyl-2-hexynal	1368	-	NI
47	Benzaldeído	1477	1477	Frutado, caju, plástico, verde <sup>3,4</sup>
48	(E)-2-nonenal	1497	1497	Verde, pepino <sup>3</sup>
<b>Cetona</b>				

04	3-pantanona	<1000	996	Acetona, etéreo <sup>3</sup>
32	6-metil-5-hepten-2-oná	1287	1296	Cítrico, verde <sup>3</sup>
<b>Éster</b>				
02	Acetato de metila	<1000	782	Etéreo, frutado, doce <sup>3</sup>
03	Acetato de etila	<1000	850	Etéreo, frutado, doce, verde <sup>3</sup>
05	Butanoato de etila	1021	1021	Doce, caju fresco, frutado <sup>3,4</sup>
06	2-metil-butanoato de etila	1034	1034	Doce, caju fresco, frutado <sup>3,4</sup>
07	3-metil-butanoato de etila	1047	1047	Caju, doce, plástico, fruta madura <sup>3,4</sup>
09	Pentanoato de etila	1108	1113	Floral, folha verde <sup>3,4</sup>
11	Acetato de 3-metil-1-butanol	1096	1096	NI
12	3-metil-butanoato de propila	1128	1144	NI
13	(E)-2-butenoato de etila	1145	1151	Doce, frutado, fruta madura, caju <sup>3,4</sup>
15	3-metil-pentanoato de etila	1153	1164	Azedo, caju <sup>4</sup>
19	Hexanoato de etila	1199	1199	Frutado, doce, menta, caju <sup>4</sup>
20	(E)-2-metil-2-butenoata de etila	1201	1199	Doce, frutado, abacaxi, caju <sup>4</sup>
22	3-metil-butanoato de 2-metilpropila	1214	1223	Doce, frutado <sup>3</sup>
24	(E)-2-pentenoate de etila	1221	-	NI
28	3-metil-butanoato de 3-metilbutila	1255	1277	Frutado <sup>3</sup>
29	(Z)-4-hexenoato de etila	1257	-	Frutado, caju <sup>3</sup>
30	Acetato de (Z)-3-hexenol	1270	1275	Verde <sup>3</sup>
31	Heptanoato de etila	1282	1310	Frutado, vinho, conhaque <sup>3</sup>
33	2-hexenoato de etila	1292	1328	Frutado, verde, doce <sup>3</sup>
39	2-metil-2-butenoato de 2-metilpropila	1376	1364	Floral, frescor <sup>3</sup>
41	Octanoato de etila	1393	1392	Frutado, doce <sup>3</sup>
44	(Z)-4-octenoate de etila	1435	1440	Suco fresco <sup>3</sup>
46	3-hidroxibutanoato de etila	1473	1472	Frutado, uva verde <sup>3</sup>
54	Benzoato de etila	1622	1620	Frutado, doce <sup>3</sup>
59	2-fenilacetato de etila	1746	1754	Frutado, mel <sup>3</sup>
62	3-fenil-2-propenoato de etila	2098	2095	Bálsamo, ardido <sup>3</sup>
<b>Fenol</b>				
23	Estireno	1221	1250	Floral, doce <sup>3</sup>

25 o-cimeno 1230 1248 Fermentação alcóolica<sup>3</sup>

---

Hidrocarboneto

40	1-etil-1-metil-ciclopentano	1387	-	NI
51	Pentil-ciclopropano	1520	-	Cítrico <sup>3</sup>

---

Terpeno

10	β-felandreno	1075	1161	Menta <sup>3</sup>
16	D-limoneno	1167	1167	Cítrico, frescor, doce <sup>3</sup>
21	α-felandreno	1206	1205	Cítrico, flora, folha verde <sup>3</sup>
50	Linalool	1511	1511	Frutado, floral <sup>3</sup>
52	Bergamoteno	1539	1536	Chá, amadeirado <sup>3</sup>
53	Cariofileno	1545	1550	Doce, amadeirado, tempero, cravo seco, caju fresco <sup>3,4</sup>
57	β-bisaboleno	1689	1686	Balsâmico, amadeirado <sup>3</sup>
58	δ-amorfeno	1712	1710	NI

---

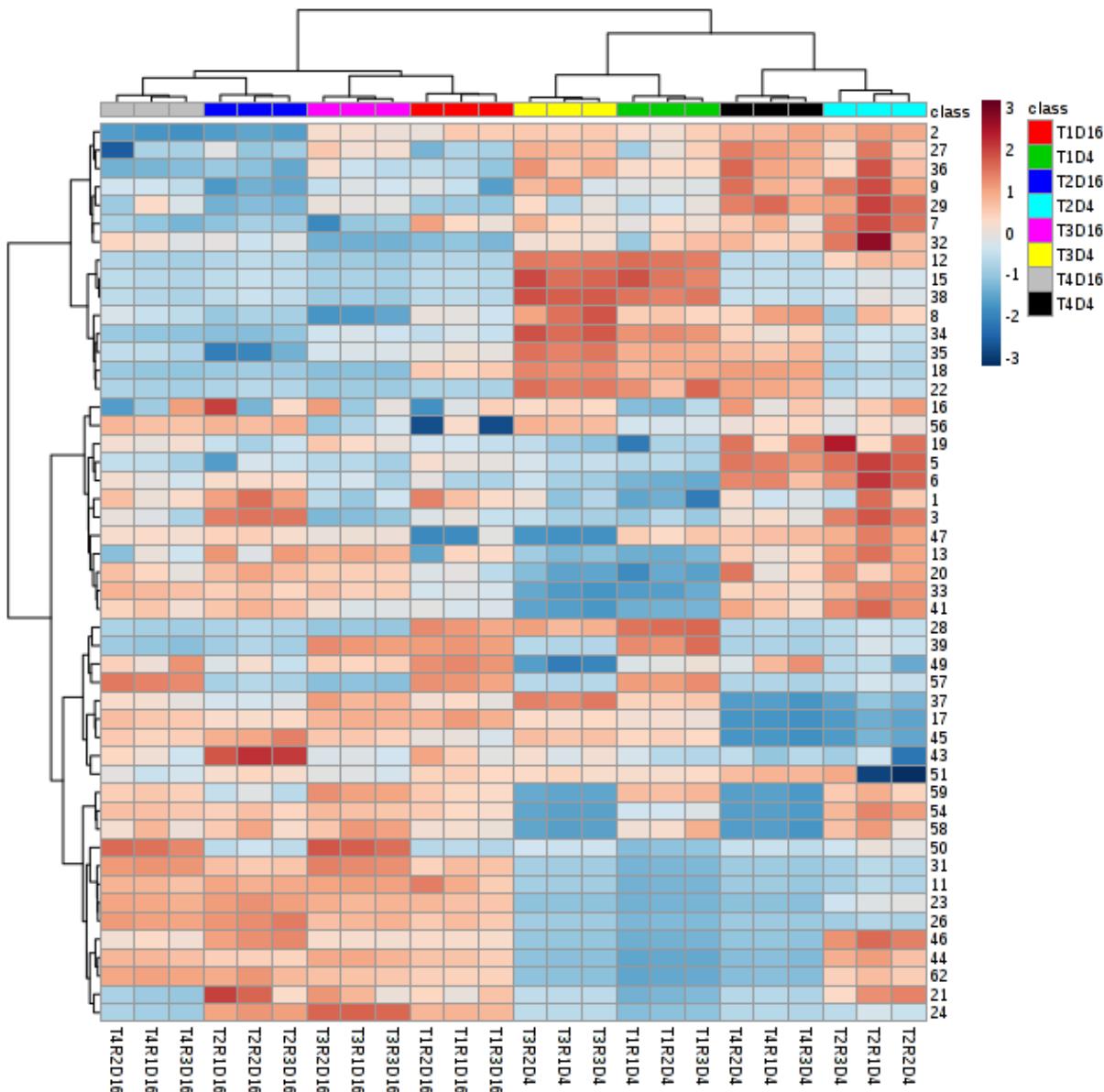
<sup>1</sup>Índices de retenção de Kovats dos respectivos compostos voláteis, calculados em relação a n-alcanos (C8 a C20) considerando coluna carbowax (30x0,25x0,25).

<sup>2</sup>Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

<sup>3</sup>Fonte: <http://www.thegoodscentescompant.com>.

<sup>4</sup>Fonte: Garruti *et al.* (2003).

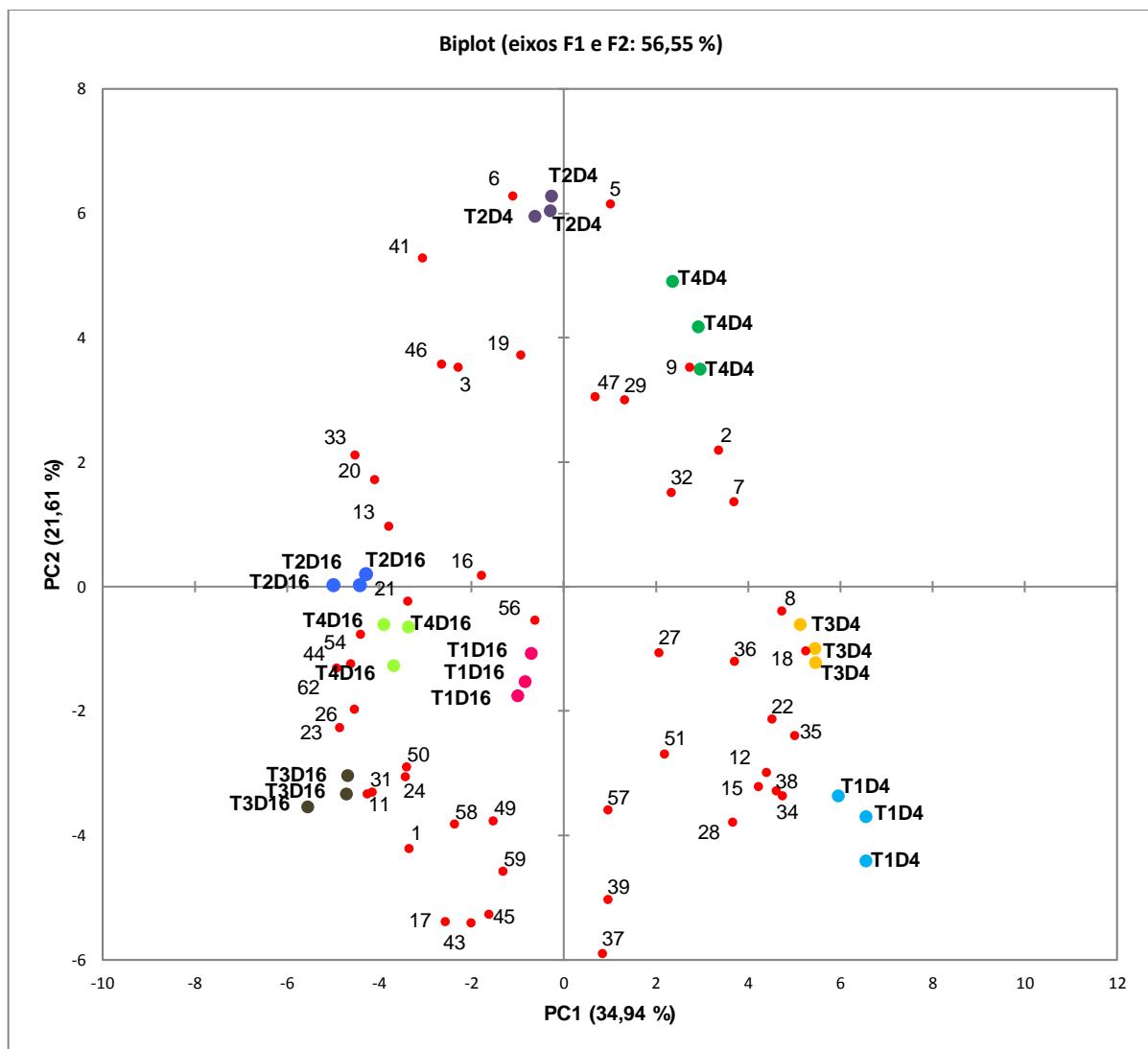
NI: não identificado.



**Figura 3.** Análise de agrupamento hierárquico, visualizada por *heatmap*, dos compostos voláteis de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol por 12 h, a diferentes temperaturas e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. T1 e T3, T2 e T4 indicam 0,0 e 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju, respectivamente e D4 e D16, dias 4 e 16 após a colheita. Class= código do composto, especificado na Tabela 1. As cores vermelha e azul indicam altos e baixos níveis dos compostos, respectivamente

A ACP foi realizada a fim de confirmar essas observações e destacar as diferenças entre as divisões (ou grupos) indicadas no *heatmap*. Como mostrado na Figura 4, dois componentes principais (PC1 e PC2) representaram cerca de 57% do total de variáveis das amostras, quando os compostos voláteis foram usados como variáveis. Novamente observamos que o tempo de armazenamento foi mais representativo para separação das amostras, considerando que todos os tratamentos, no dia 16, ficaram alocados no quadrante inferior do lado esquerdo, enquanto que as

amostras do dia 4 ficaram alocadas nos quadrantes do lado direito (com exceção do T2D4). Além disso, no dia 4, cajus não destanizados (T1 e T3) ficaram alocados no quadrante inferior e os destanizados (T2 e T4), no superior. Isso sugere que inicialmente, pedúnculos destanizados foram mais representados pelo voláteis 2, 5, 6, 9, 29, 41 e 47 (seis ésteres e um aldeído), os não destanizados por 8, 12, 15, 18, 27, 36, 34, 35 e 38 (2 ésteres, cinco aldeído e dois álcoois) e que com a senescência os voláteis 11, 16, 21, 23, 26, 31, 44, 54, 56 e 62 (cinco ésteres, dois terpenos, um aldeído, um ácido carboxílico e um fenol predominaram.



**Figura 4.** Análise de Componentes Principais (ACP) *biplot* de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com etanol por 12 h, a diferentes temperaturas e armazenados a 5°C e 90% UR por 16 dias. T1 e T3, T2 e T4 indicam 0,0 e 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju, respectivamente e D4 e D16, dias 4 e 16 após a colheita. Números= código do composto, especificado na Tabela 1.

#### **4.1. Discussão**

A fim de avaliar se a destanização a partir da aplicação de etanol influencia o perfil dos compostos voláteis de pedúnculos de caju, estudamos alguns atributos qualitativos que interferem no metabolismo dos voláteis aromáticos, além da sua composição propriamente dita.

Quanto à atividade metabólica dos pedúnculos, observamos que, inicialmente, o uso do etanol não afetou a respiração, mas ao longo do armazenamento propiciou menor atividade respiratória. Isso é uma vantagem comparada aos cajus não destanizados, uma vez que o controle da respiração é a principal forma de retardar a senescência e, consequentemente, a formação de compostos aromáticos indesejáveis, como o 3-metil-1-butanol e o acetato de etila, no caso do caju. Na literatura não há relatos da destanização a partir do etanol reduzir ou manter a baixa respiração aeróbica em frutos. Entretanto, esse efeito foi observado quando o etanol foi usado como tecnologia para retardar o amadurecimento de melão, abacate (Ritenour *et al.*, 1997) e lichia (Pesis *et al.*, 2002). De acordo com esses autores, o etanol provoca aumento da respiração anaeróbica e redução da aeróbica, atrasando o amadurecimento e a senescência dos frutos. Acreditamos que nos pedúnculos de caju, além do etanol ter retardado a senescência, outro acontecimento que pode ter desencadeado a menor atividade respiratória dos pedúnculos destanizados foi a baixa incidência de podridão. Como relatamos em outro trabalho, a temperatura de 5°C reduziu o metabolismo dos microrganismos remanescentes após o tratamento com etanol, diminuindo a incidência de podridão dos cajus destanizados e, por conseguinte, sua atividade respiratória.

Ainda quanto ao metabolismo dos pedúnculos de caju, outra variável analisada foi a produção de etileno, uma vez que esse hormônio vegetal está diretamente relacionado com a senescência (Colli e Purgatto, 2008). Essa variável não foi afetada pela destanização com etanol, mas sim pelo tempo de armazenamento a 5°C. Pedúnculos de caju têm modelo de respiração não-climatérico e, portanto, apresentam redução da produção de etileno após a colheita (Menezes e Alves, 1995). Nesse trabalho, a redução foi ainda mais acentuada em função do armazenamento refrigerado. Assim, essas observações indicam que o metabolismo dos pedúnculos de caju pode ser influenciado tanto pela destanização quanto pelo período de armazenamento.

As variáveis SS, AT e relação SS/AT também não foram afetadas pela destanização, mas sim pelo tempo de armazenamento. A destanização a partir da aplicação de etanol em diferentes temperaturas também não alterou os SS e a AT de caquis (Antoniolli *et al.*, 2002; Monteiro *et al.*, 2012) e jambolão (Severo *et al.*, 2010). Com relação ao tempo de armazenamento, acreditamos que a redução dos SS ocorrida no primeiro dia do armazenamento, e a diferença estatística obtida

em função das temperaturas de aplicação do etanol, estão relacionadas com a respiração, pois no dia da colheita e da aplicação dos tratamentos, a atividade respiratória estava alta. Como citado anteriormente, os pedúnculos de caju apresentam alto teor de açúcares, principalmente os redutores (Carasek e Pawliszyn, 2006; Menezes e Alves, 1995), que são os principais compostos dos sólidos solúveis e também os mais facilmente usados como substratos da glicólise (Taiz e Zeiger, 2009). Outro ponto que nos leva a acreditar nessa relação, é o fato de que quando a atividade respiratória ficou baixa e estável, não houve mais redução dos SS.

A AT teve maior porcentagem de redução e ocorreu em maior período do que a redução dos SS, o que é decorrência da conversão dos ácidos orgânicos em açúcares, seja para a respiração ou para o metabolismo secundário, incluindo nesse caso, a formação dos compostos voláteis (Chitarra e Chitarra, 2005). Os primeiros estudos com pedúnculos de caju mostraram que o ácido málico é o principal constituinte dos seus ácidos orgânicos, seguidos por quantidades inferiores de ácido cítrico e guínico (Price *et al.*, 1975), sendo todos eles substratos do metabolismo primário ou secundário dos cajus. Em função desses resultados, observamos aumento da relação SS/AT ao longo do armazenamento, fato indicado como melhoria do sabor e palatabilidade de frutas. Acreditamos, que esse também é o caso dos pedúnculos de caju. Os valores dessa relação nesse trabalho foram semelhantes aos encontrados por Morais *et al.* (2002) e Moura *et al.* (2000) para pedúnculos do mesmo clone.

Quanto à análise sensorial de odor, os resultados indicaram que o tempo de armazenamento foi mais influente para o aroma dos pedúnculos e que os controles, de ambas as temperaturas de aplicação, tiveram odor de fermentação no fim do armazenamento. Essas observações estão de acordo com as justificativas feitas acima, uma vez que pedúnculos controle do fim do armazenamento tiveram maior atividade respiratória, maior incidência de podridão e ainda apresentaram degradação dos ácidos orgânicos (AT). De acordo com Bonato (2015), os ácidos orgânicos são substratos para formação dos voláteis da classe dos álcoois, e a presença de álcool nas amostras é indicativo de fermentação (Sousa e De Brito, 2013). Ressalta-se que essa classe de voláteis esteve presente com maior intensidade nos controles do dia 16.

Como esperado, o fator destanização foi mais representativo para as notas de sabor, considerando que elas indicaram a sensação de adstringência. Com relação à essa variável, duas observações relevantes podem ser feitas: primeiro, que a aplicação do etanol nas condições desse experimento realmente reduziu a sensação de adstringência e, segundo, que esse tratamento pós-colheita não afeta de forma substancial o metabolismo nem os atributos químicos relacionados à qualidade sensorial, sendo esse um indicativo de que pode ser aplicado comercialmente.

Correspondendo a maioria das observações feitas nas análises anteriores, observamos que o perfil dos compostos voláteis aromáticos dos pedúnculos de caju foi mais afetado pelo tempo de armazenamento do que pela destanização a partir do etanol. Isso demonstra que a senescência dos pedúnculos tem maior efeito sobre sua qualidade sensorial do que a destanização, sendo esse um resultado favorável, uma vez que o uso da destanização é necessário para expansão do seu consumo na forma *in natura*. De acordo com Bonato (2015), a diferenciação dos plastídios celulares está envolvida na formação dos compostos voláteis de aroma, uma vez que fornece aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos e carotenoides para biossíntese dos ésteres, álcoois, aldeídos, ácidos, cetonas e terpenos (Schwab *et al.*, 2008), que são as principais classes de voláteis encontradas nos pedúnculos de caju. Acreditamos que a aplicação de etanol nas condições desse experimento não afetou a diferenciação plastidial naturalmente ocorrida nos pedúnculos e, que como demonstrado em trabalhos anteriores, a dose de 3,5 mL kg<sup>-1</sup> permite que o etanol seja convertido em acetaldeído, e esse polimerize as proantocianidinas (Edagi e Kluge, 2009; Oshida *et al.*, 1996), sem maiores danos às organelas celulares.

Ainda com relação ao perfil dos voláteis aromáticos dos pedúnculos de caju *in natura*, nossos resultados estão de acordo com De Assis *et al.* (2007), Maia *et al.* (2000), Nobre *et al.* (2015) e Sousa e De Brito (2013), os quais estudaram o suco, demais produtos derivados do caju ou outras partes do cajueiro, tendo apontado os ésteres como a classe de voláteis mais importante para o aroma do caju. Os ésteres de maior importância tanto nesse trabalho quanto nos estudos dos referidos autores são 3-metil-butanoato de etila, butanoato de etila, 2-metil-butanoato de etila, trans-2-butenoato de etila, 3-metil-pentanoato de etila e cis-4-hexenoato de etila. Ressalta-se que esses compostos estavam presentes em quantidades relevantes nos pedúnculos destanizados e nos controles, principalmente no início do armazenamento, provando mais uma vez que o etanol não alterou o perfil dos voláteis.

Dessa forma, observamos que a destanização a partir da aplicação de etanol, quando feita na dose de 3,5 mL kg<sup>-1</sup> de caju, por 12 h e a 5°C, não afeta significativamente a atividade metabólica, as variáveis químicas relacionadas ao aroma e ao flavor e, consequentemente, o perfil dos compostos voláteis aromáticos dos pedúnculos de caju. Esses resultados complementam as demais pesquisas sobre a redução da adstringência desse pseudofruto, as quais indicaram que os principais atributos qualitativos do caju não são alterados e que sua capacidade antioxidante é mantida. Portanto, esse tratamento pode ser indicado como uma tecnologia pós-colheita com o objetivo de aumentar a aceitação e consumo dos pedúnculos de caju por parte dos consumidores.

## Referências

- ANTONIOLLI, L. R. et al. A remoção da adstringência de frutos de caquizeiro 'Giombo' sob diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 687-691, 2002.
- BONATO, V. C. D. B. **Interação etileno-auxina e sua influência na produção de compostos voláteis do aroma durante o amadurecimento do tomate (*Solanum lycopersicum*)**. 2015. 93 (Mestrado). Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- BRÜCKNER, B. **Fruit and Vegetable Flavour: Recent Advances and Future Prospects**. 1. Abington Hall, Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 2008. 336.
- CARASEK, E.; PAWLISZYN, J. Screening of tropical fruit volatile compounds using solid-phase microextraction (SPME) fibers and internally cooled SPME fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 23, p. 8688-8696, Nov 2006.
- CAVALCANTE, A. A. M. et al. Mutagenicity, antioxidant potential, and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 41, n. 5, p. 360-369, 2003.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785.
- COLLI, S.; PURGATTO, E. Etileno. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). **Fisiologia Vegetal**. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1, 2008. p.271-293.
- DE ASSIS, A. V. R. et al. Recovery of aroma compounds of cashew apple fruit (*Anacardium accidentale* L.) by pervaporation. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 349-354, Apr-Jun 2007.
- DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. STRESS-INDUCED PHENYLPROPANOID METABOLISM. **Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 1085-1097, Jul 1995.
- EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 585-594, 2009.
- GARRUTI, D. S. et al. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **Journal of Science of Food and Agriculture**. 83: 1455-1462 p. 2003.
- GOMES, B. L. **Efeitos da conservação de frutos de mamão (*Carica papaya* cv Golden) à baixa temperatura sobre a biossíntese de compostos voláteis constituintes do aroma**. 2012. 67 (Mestrado). Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- LASEKAN, O.; ABBAS, K. A. Distinctive Exotic Flavor and Aroma Compounds of some Exotic Tropical Fruits and Berries: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 8, p. 726-735, 2012.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. D. G. B. Volatile Constituents of the Leaves, Fruits and Flowers of Cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 3, p. 227-232, 2000.

MARÍN-LOAIZA, J. C.; CÉSPEDES, C. L. Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. **Revista Fitotécnica Mexicana Revista Fitotécnica Mexicana**, 30: 327-351 p. 2007.

MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **FISIOLOGIA E TECNOLOGIA PÓS-COLHETA DOPEDÚNCULO DO CAJU**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT. , 1995.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

MONTEIRO, M. F. et al. Temperaturas para remoção da adstringência com etanol em caqui 'Giombo'. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**. 13: 9-13 p. 2012.

MORAIS , A. S. et al. Armazenamento refrigerado sob atmosfera modificada de pedúnculos de cajueiro-anão-precoce dos clones CCP-76, END-157, END-183 E END-189. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal. 24: 647-650 p. 2002.

MOURA, C. F. H. et al. Internal quality of new dwarf cashew apple (*Anacardium occidentale* L. var. *nanum*) clones cultivated under irrigation and destined to fresh consumption. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**. Homestead. 42: 119-123 p. 2000.

NOBRE, A. C. D. et al. Volatile Profile of Cashew Apple Juice Fibers from Different Production Steps. **Molecules**, v. 20, n. 6, p. 9803-9815, Jun 2015.

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**, v. 8, n. 4, p. 317-327, 1996.

PESIS, E. et al. Production of acetaldehyde and ethanol during maturation and modified atmosphere storage of litchi fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, n. 2, p. 157-165, Sep 2002.

PINO, J. A. Odour-active compounds in papaya fruit cv. Red Maradol. **Food Chemistry**. v. 146, p. 120 – 126, 2014.

PRICE, R. L. et al. Constituents of brazilian cashew apple juice. **Ciências Agrônomicas**. Fortaleza. 5: 61-65 p. 1975.

RITENOUR, M. A. et al. Ethanol effects on the ripening of climacteric fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 12, n. 1, p. 35-42, Aug 1997.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH - RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant - derived flavor compounds. **The Plant Journal**. 54: 712-732 p. 2008.

SEVERO, J. et al. Detannization and conservation of Jambolan fruit. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 4, p. 976-982, 2010 2010.

SMITH, B. Perspective: complexities of flavour. **Nature**. 486: S6-S6 p. 2012.

SOUSA, A. D.; DE BRITO, E. S. Effect of treatment with adsorbent resin on the volatile profile and physicochemical characteristics of clarified cashew apple juice. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 4, p. 619-623, Oct-Dec 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiología Vegetal**. 4. Porto Alegre: Artmed 2009. 848.

## Anexo

**Tabela 2.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (Dia), aplicação do etanol em diferentes temperaturas e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 16 dias.

Variável	Dia	Trat	Dia x trat	C.V. (%)
Taxa respiratória (mL CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	*	*	*	13,05
Produção etileno (mL C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	*	*	*	7,03
Nota sabor	*	*	*	19,47
Nota odor	*	ns	*	18,85
Acidez titulável (% ác. málico)	*	ns	ns	7,10
Teor sólidos solúveis (°Bix)	*	*	ns	5,16
<i>Ratio</i>	*	ns	ns	9,40

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. \*:  $P \leq 0,05$ ; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.



## 5. ATMOSFERA MODIFICADA PASSIVA REDUZ A ADSTRINGÊNCIA E MANTEM A QUALIDADE DE PEDÚNCULOS DE CAJU

### Resumo

O caju é um pseudofruto carnoso, suculento, de aroma agradável e com diversas propriedades nutritivas, no entanto, é taninoso. Esse trabalho teve como objetivo identificar qual o material e a espessura de filme plástico mais efetivo para reduzir a adstringência e manter a qualidade e alta atividade antioxidante de pedúnculos de caju. Dois experimentos foram realizados, ambos utilizando caju anão-precoce clone CCP-76, colhidos quando 70-75% da epiderme atingiu tons de laranja-avermelhado. No primeiro experimento foi feita uma triagem de diferentes filmes e espessuras testando policloreto de vinila (PVC) de 15 µm, poliamida polietileno (PA/PE) de 100 µm, polietileno de baixa densidade (PEBD) de 30 e 80 µm, polipropileno (PP) de 25 e 50 µm e polipropileno de camada biorientada (BOPP) de 20 e 50 µm. No segundo, as duas embalagens que melhor destanizaram os pedúnculos foram selecionadas, além do PVC, quer serviu como controle. Em ambos experimentos se realizou as análises referentes à destanização e apenas no segundo foram acrescentadas as análises qualitativas. Os filmes selecionados para o segundo experimento foram o BOPP 50, por reduzir a adstringência aos menores níveis e não resultar em fermentação, perda de massa fresca e mudança da coloração, e o PA/PE, que ocasionou odor de fermentado, mas reduziu a adstringência mais rapidamente e a manteve nos menores níveis. O uso da atmosfera modificada gerada pelos filmes PA/PE e BOPP 50 reduz a adstringência, amplia a vida útil dos pedúnculos por 12 dias e conserva a coloração da epiderme, o teor de antocianinas e quercetinas e a maior atividade antioxidante. A destanização com esses filmes não reduz o teor de ácido ascórbico nem a firmeza dos cajus. Na comparação entre PA/PE e BOPP, ocorre diferença no teor de ácido ascórbico e na atividade do DPPH apenas no último dia de armazenamento, quando pedúnculos embalados em PA/PE apresentam os melhores resultados. Entretanto, esses pedúnculos também apresentam maior teor de etanol na polpa desde o dia 3, indicando odor característico de fermentado. Dessa forma, os resultados indicam que o BOPP 50 µm é o filme mais indicado para redução da adstringência e conservação da qualidade de pedúnculos de caju.

**Palavras-chave:** *Anacardium occidentale* L.; Proantocianidinas; Embalagens plásticas; Pós-colheita

### Abstract

The cashew apple is a fleshy and juicy pseudofruit. It has a pleasant aroma and various nutritional properties, however, it is tannin. This study aimed to identify the most effective material and the thickness of plastic bags to reduce the astringency and to maintain the quality and the high antioxidant activity of cashew apples. Two experiments were performed, both using early dwarf cashew CCP-76 clone harvested when 70-75% of the epidermis colors reached orange-reddish tones. In the first experiment, different films and thicknesses were screened by testing polyvinyl chloride (PVC) of 15 µm, polyamide polyethylene (PA/PE) of 100 µm, low density polyethylene (LDPE) of 30 and 80 µm, polypropylene (PP) of 25 and 50 µm and bioriented layer polypropylene (BOPP) of 20 and 50 µm. In the second, the two plastic bags that better reduced the astringency were selected, besides the PVC, used as control. Destanization analyzes were carried out in both experiments and only in the second, qualitative analyzes were added. The plastic bags selected for the second experiment were the BOPP 50, for reducing astringency at lower levels and not resulting in fermentation, wieght loss and color change, and the PA/PE, which caused fermented odor, but it reduced the astringency most rapidly and kept it

at lower levels. The use of the modified atmosphere generated by the PA/PE and BOPP 50 films reduces astringency, extends the shelf life of the cashew apples for 12 days and preserves the epidermis color, the anthocyanins and quercetins contents and the high antioxidant activity. The detanization with these films does not reduce the ascorbic acid content or the firmness of the cashews. In the comparison between PA/PE and BOPP, difference in ascorbic acid content and DPPH activity occurs only on the last day of storage, when the pseudofruits packaged in PA/PE present the best results. However, these cashew apples also present higher ethanol content in the pulp since day 3, indicating a fermented odor. Thus, the results indicate that BOPP 50 µm is the most suitable film for reducing astringency and preserving the quality of cashew peduncles.

Keywords: *Anacardium occidentale* L.; Proanthocyanidins; Plastic bags; Postharvest

### **5.1. Introdução**

O cajueiro anão-precoce é uma planta da família Anacardiaceae, perene, com ramificação baixa e porte inferior ao cajueiro comum. Seu fruto verdadeiro, a castanha, é um aquênio reniforme, de coloração castanho-acinzentada, constituído por um tegumento rígido e acre e pela amêndoia. O pseudofruto, formado pelo pedúnculo floral, é carnoso, suculento e de bom aroma; tem coloração laranja-vermelhado, apresenta 6,4 cm de diâmetro basal, 8,2 cm de comprimento e em torno de 170 g de massa fresca, o que representa cerca de 90% do peso total do caju (Figueiredo *et al.*, 2002; Menezes, 1992; Ramos *et al.*, 1996; Santos e Coelho, 2000). O pedúnculo apresenta uma rica composição nutricional, contendo 387 mg de ácido ascórbico; 14,7 mg de cálcio; 32,5 mg de fósforo e 0,6 mg de ferro por 100 mL de suco (Menezes e Alves, 1995; Oliveira *et al.*, 2003). Outro atributo vantajoso do pedúnculo é elevada capacidade antioxidante, dada a grande quantidade de flavonoides (principalmente as quercetinas), ácidos fenólicos e anacardiáceos, carotenoides e taninos (Michodjehoun-Mestres, *et al.*, 2009; Queiroz *et al.*, 2011; Trevisan *et al.*, 2006).

Apesar de todas essas qualidades, a maioria dos produtores considera o pedúnculo um subproduto da castanha, sendo grande quantidade desperdiçada e deixada no próprio campo de cultivo (Akinwale e Aladesua, 1999; Akinwale, 2000; Michodjehoun-Mestres, *et al.*, 2009). A principal razão desse desperdício está relacionada ao fato de que no momento em que a castanha atinge a maturidade, o pedúnculo ainda apresenta alta quantidade de compostos fenólicos que dão sabor adstringente, limitando seu consumo *in natura* e a exportação (Agostini-Costa *et al.*, 2003; Akinwale e Aladesua, 1999).

Os taninos condensados ou proantocianidinas são os principais compostos fenólicos do pedúnculo e são formados pela condensação de diferentes polímeros de catequina e leucocianidinas (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009). Essas moléculas são solúveis em água,

apresentam resistência a hidrólise e têm baixo grau de polimerização, favorecendo a reação com as enzimas da saliva, de forma a precipitá-las e causar a secura e contração da mucosa bucal, que é a sensação de adstringência (Aron e Kennedy, 2008; Ittah, 1993). Algumas frutas, como a banana, morango, framboesa e amora perdem a adstringência com o amadurecimento (Khanbabaei e Van Ree, 2001), no entanto, os pedúnculos de caju, o jambolão e algumas variedades de caqui, precisam receber tratamento pós-colheita a fim de resolver esse problema.

Uma das formas artificiais de reduzir a adstringência é com o uso da atmosfera modificada passiva (AMP), que consiste do condicionamento das frutas em filmes plásticos herméticos ou a vácuo, o que torna possível a formação de uma atmosfera com baixa concentração de O<sub>2</sub> e alta de CO<sub>2</sub>. A concentração de gases depende da quantidade da fruta, do tipo e área da embalagem, além da permeabilidade aos gases (Pesis e Benarie, 1986). A AMP promove a redução da adstringência porque em condições de baixa concentração de O<sub>2</sub>, o piruvato proveniente da glicólise, ao invés de entrar na mitocôndria, permanece no citossol e sofre uma descarboxilase, liberando CO<sub>2</sub> e acetaldeído, o qual polimeriza os taninos condensados ali presentes (Hribar *et al.*, 2000; Taiz e Zeiger, 2009).

Além de reduzir a adstringência, as embalagens também podem atuar na conservação pós-colheita, que é um ponto fundamental para os pedúnculos de caju, dada sua alta perecibilidade (Menezes e Alves, 1995). Até o momento, os melhores resultados quanto à conservação e destanização por meio da AMP foram encontrados em caquis ‘Triumph’ e ‘Giombo’ quando embalados em polietileno de baixa densidade (PEBD) e poliamida polietileno (PA/PE), respectivamente (Monteiro, 2011; Pesis e Benarie, 1986). O filme PEBD não resultou na remoção adequada da adstringência em caqui ‘Giombo’ (Antoniolli *et al.*, 2003).

Como hoje em dia há uma grande busca por alimentos de alto valor nutritivo, funcional e que também tenham boas propriedades sensoriais (Zhang *et al.*, 2011), o objetivo desse estudo foi identificar qual o material e a espessura de filme plástico mais efetivo para redução da adstringência de pedúnculos de caju-anão-precoce, além de estudar o efeito da destanização sobre a atividade antioxidante e a qualidade dos pedúnculos, uma vez que o processo metabólico que eleva a polimerização das proantocianidinas pode acelerar a senescência das frutas.

## 5.2. Material e métodos

### 5.2.1. Material vegetal

Pedúnculos do cajueiro anão-precoce do clone CCP-76 foram adquiridos de cultivo convencional da cidade de Arthur Nogueira, SP ( $22^{\circ}34'23''$  Sul,  $47^{\circ}10'21''$  Oeste e 588 m de altitude). Os pedúnculos foram colhidos manualmente, no momento em que 70-75% da epiderme atingiu tons de laranja-avermelhado e a extremidade apical ainda tinha tamanho inferior a basal. Foram acondicionados em caixas de papelão, sem sobreposição, e transportados em veículo refrigerado até Piracicaba, SP. No laboratório, passaram por seleção e homogeneização quanto à cor, formato, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis. Os cajus selecionados foram sanitizados com hipoclorito de sódio (50 g de StartClor® em 10 L de água, por 10 min) e colocados para secar sobre papel absorvente, a temperatura ambiente por 2 horas.

### 5.2.2. Tratamentos

A fim de atender os objetivos propostos, dois experimentos foram montados. No primeiro, realizado em abril de 2014, foi feita uma triagem de diferentes filmes e espessuras, totalizando 8 tratamentos: policloreto de vinila (PVC) de 15 µm (tratamento controle por ser usado comercialmente), poliamida polietileno (PA/PE) de 100 µm, polietileno de baixa densidade (PEBD) de 30 e 80 µm, polipropileno (PP) de 25 e 50 µm e polipropileno de camada biorientada (BOPP) de 20 e 50 µm. Para criar a AMP, os pedúnculos foram colocados em bandejas de polietileno tereftalato (PET) e estas, em sacos plásticos de  $17 \times 25 \text{ cm}^2$ , formados pela selagem, em três lados, dos referidos filmes. Por não formar saco plástico, o filme de PVC foi passado ao redor das bandejas contendo os cajus e selado na parte inferior. Todas as embalagens foram armazenadas a  $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 90% de UR por 12 dias. As análises foram feitas no dia da montagem (dia 0) e aos 3, 6 e 12 dias após a colheita. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8x4 (filmes x dias de análise).

No segundo experimento, conduzido em janeiro de 2015, as duas embalagens que melhor destanizaram os pedúnculos no experimento anterior foram selecionadas, além do PVC, que novamente foi usado como controle. A criação da AMP e as condições de armazenamento foram as mesmas. As análises foram feitas no dia da montagem (dia 0) e aos 3, 6, 12 e 24 dias após a colheita, com 24 horas de comercialização simulada em temperatura de  $15^{\circ}\text{C}$  e 70% UR. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x6 (filmes x dias

de análise). Em ambos os experimentos foram utilizadas três repetições, compostas por três pedúnculos cada. As análises bioquímicas foram feitas em duplicatas.

### **5.2.3. Análises**

Todos os filmes tiveram a taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO) e taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) aferidas. A TPO foi determinada segundo procedimento descrito na norma ASTM D 3985-05 (ASTM INTERNATIONAL, 2005), em equipamento OXTRAN, da MOCON com sensor coulométrico. O lado externo da amostra foi colocado em contato com o gás permeante (100% O<sub>2</sub>). As leituras foram corrigidas para 1 atm de gradiente de pressão parcial de gás permeante e a área efetiva de permeação foi de 100 cm<sup>2</sup>. A TPVA do filme PVC foi determinada por método gravimétrico, segundo procedimento descrito na norma ASTM E 96/E 96 M-15 (ASTM INTERNATIONAL, 2015) e a dos demais filmes em um equipamento com sensor infravermelho PERMATRAN, modelo W 3/31, da MOCON, segundo procedimento descrito na norma ASTM F1249-13 (ASTM INTERNATIONAL, 2013), ambos em área efetiva de permeação de 50 cm<sup>2</sup>.

As seguintes análises dos pedúnculos de caju foram realizadas nos dois experimentos: composição gasosa das embalagens, realizada por um analisador de gases (Dansensor, modelo PBI-200700), que coletava amostra gasosa do interior das embalagens por meio de um septo de silicone. Os resultados foram expressos em % O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. Produção de acetaldeído e etanol foi feita de acordo com Davis e Chace Júnior (1969) e modificações: 1 g de polpa triturada foi lacrada em frasco de vidro de 12 mL e congelada a -26°C. No momento da análise, os frascos foram colocados em banho-maria (Tecnal, TE-0541) a 50°C, por 30 minutos e após esse período, 0,5 mL de gás do espaço livre do frasco foi retirado e injetado no cromatógrafo a gás (Thermo, modelo Trace GC Ultra, com detector de ionização de chama - FID - e coluna Porapak N), o qual tinha forno a 110°C durante 14 minutos com aumento de 60°C por minuto por dois minutos; injetor a 150°C; detector a 180°C; pressão 190 KPa (constante) e fluxo de N<sub>2</sub> de 70 mL min<sup>-1</sup> (calibração com padrões de acetaldeído e etanol). Os resultados foram expressos em µg g<sup>-1</sup>.

O teor de proantocianidinas (taninos condensados) foi determinado pelo método da Vanilina-HCl como descrito por Nakamura *et al.* (2003). Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de amostra (extraída com metanol), 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9 N em metanol. A mistura foi incubada durante 20 min, a 30°C e a absorbância a 500 nm foi determinada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22). Como padrão foi utilizado catequina (0-300 mM) e o resultado expresso em mg g<sup>-1</sup>.

A perda de massa fresca (PM) foi determinada pela diferença em %, entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. O índice de cor da epiderme (IC) foi determinado com auxílio do colorímetro (Konica Minolta, modelo CR-400), utilizando o sistema L\*a\*b\* e calibração em D65. Foram feitas oito medições ao redor de cada pedúnculo e calculado um índice a partir da seguinte fórmula,  $IC = (1000 \times a)/(L \times b)$ . Os valores variaram de 4,0 a 20,0 sendo que quanto menor o valor, mais verde o pedúnculo, e quanto maior, mais vermelho.

No segundo experimento, as seguintes análises foram adicionadas: concentração de etileno, retirando amostras de 0,5 mL de gás do interior dos filmes, através de um septo de silicone, e injetando-as no mesmo cromatógrafo a gás, agora com forno a 110°C durante 60 segundos, injetor 150°C, detector 180°C, pressão 25 KPa (constante) e fluxo de N<sub>2</sub> de 70 mL min<sup>-1</sup> (calibração com padrões de etileno). O resultado foi expresso em ppm. Firmeza da polpa, determinada com um penetrômetro digital de bancada (Turoni Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos da região equatorial dos pedúnculos, após remoção da epiderme. Os valores foram expressos em Newtons (N). Teor de ácido ascórbico (AA), determinado por titulometria, de acordo com metodologia descrita por Carvalho et al. (1990), em que 10g de polpa triturada foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi feita com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol e os resultados expressos em mg 100 g<sup>-1</sup>. Para o teor de sólidos solúveis (TSS), algumas gotas da polpa triturada foram colocadas em refratômetro digital (Atago, modelo Palete 101), com duas leituras por repetição e resultados expressos em °Brix. Acidez titulável (AT) e pH, usando 10 g da polpa triturada e 90 mL de água destilada. O pH foi medido por pHmetro (Tecnal, modelo TEC-03 MP) e a titulação potenciométrica usou NaOH 0,1 N até pH 8,1. A AT foi expressa em % de málico.

Teor de antocianinas e quercetinas, determinados de acordo com Lees e Francis (1972), em que 10g de epiderme foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v). Após 12 horas em escuro a 4°C, utilizou-se alíquota de 10 mL para as leituras de absorbância a 535 e 374 nm, respectivamente, no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mg 100 g<sup>-1</sup>. A atividade antioxidante foi determinada pelo método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential), de acordo com Benzie e Strain (1996) e pela captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com Brand-Williams et al. (1995). Para determinação do FRAP, adicionou-se 10 mL de hexano-metanol (1:1 v/v) a 0,10 g de polpa triturada, a qual foi submetida a 10 min de banho ultrassônico (Unique, USC-1400A) e 10 min de centrifugação a 13000 xg. O ensaio foi realizado em cubetas adicionando 90 µL de hexano-metanol, 30 µL da amostra e 900 µL do reagente FRAP. As leituras de absorbância foram

efetuadas a 594 nm, após 90 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se hexano-metanol como “branco” e para a construção da curva padrão, FeSO<sub>4</sub> 7.H<sub>2</sub>O (solução estoque 0,2 mM), sendo os resultados expressos em µmol FeSO<sub>4</sub> 100 g<sup>-1</sup> de polpa. Na determinação do DPPH, adicionou-se 10 mL de etanol a 0,10 g de polpa triturada, a qual foi submetida a 10 min de banho ultrassônico e 10 min de centrifugação a 13000 xg. Nas cubetas adicionou-se 500 µL de amostra, 3000 µL de etanol e 300 µL do reagente DPPH. As leituras de absorbância foram efetuadas a 517 nm, após 30 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se etanol como “branco” e a atividade antioxidante foi expressa em % de DPPH reduzido: % de DPPH reduzido = [(Absorbância branco – Absorbância amostra)/(Absorbância branco)]\*100.

#### **5.2.4. Análise estatística**

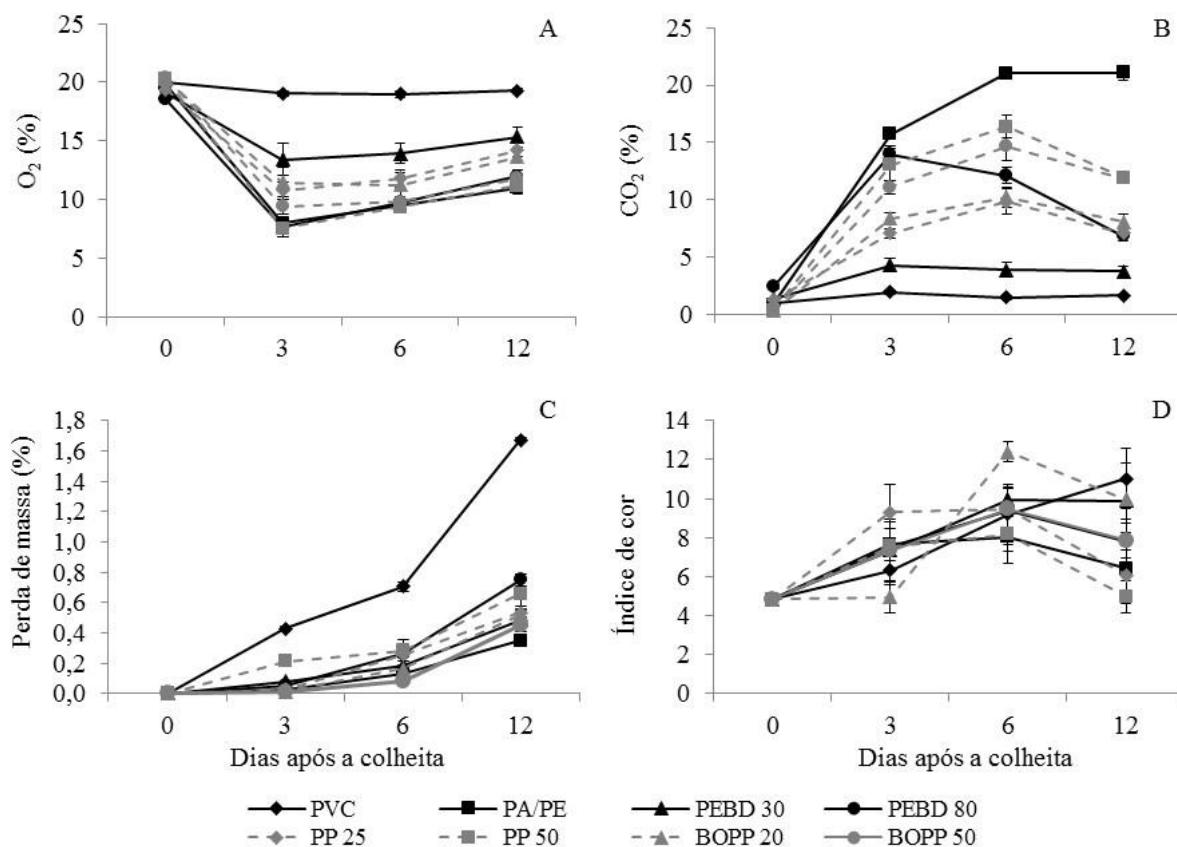
Os dados dos dois experimentos foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). O software estatístico utilizado para realização dos testes foi o SAS 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2010).

### **5.3. Resultados e discussão**

#### **5.3.1. Experimento 1: Triagem de filmes plásticos**

As primeiras leituras da composição gasosa das embalagens foram feitas no dia da colheita (0), duas horas após a selagem dos filmes. Nessas leituras, a concentração de O<sub>2</sub> não diferiu em função do material nem da espessura, apresentando média de 19,76% (Figura 1A). No entanto, a concentração de CO<sub>2</sub> diferiu, de modo que as duas espessuras do filme PEBD e o PP 50 iniciaram acúmulo do CO<sub>2</sub>, enquanto os filmes PVC e dois BOPPs tiveram as menores porcentagem (Figura 1B).

Ao longo do armazenamento refrigerado, as leituras de composição gasosa indicaram várias mudanças, sendo as principais relativas ao PVC, que manteve as concentrações iniciais de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, diferindo dos demais tratamentos, e aos filmes mais espessos como o PA/PE, PEBD 80, PP 50 e BOPP 50, os quais atuaram como barreira as trocas gasosas, resultando na redução do O<sub>2</sub> e acúmulo do CO<sub>2</sub>. O PA/PE foi o que levou às maiores mudanças, por ser o mais espesso (100 µm), seguido do PEBD 80, PP 50 e 25 e BOPP 50, os quais não diferiram entre si na maioria dos dias. Esse comportamento está de acordo com a TPO apresentada pelos filmes (Tabela 1).



**Figura 1.** Composição gasosa do interior das embalagens (A: % de O<sub>2</sub> e B: % de CO<sub>2</sub>), perda de massa (C) e índice de cor da epiderme (D) dos pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 12 dias. PVC= policloreto de vinila de 15 µm, PA/PE= poliamida/polietileno de 100 µm, PEBD= polietileno de baixa densidade, PP= polipropileno e BOPP= polipropileno de camada biorientada. As barras verticais representam o erro padrão da média. Dados originais, transformação usada para O<sub>2</sub> e índice de cor: log(x), CO<sub>2</sub>: x<sup>0,5</sup> e perda de massa: (x+0,375)<sup>-0,5</sup>

**Tabela 1.** Taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO<sub>2</sub>) a 23°C e seco e taxa de permeabilidade ao vapor d'água (TPVA) a 38°C e gradiente de pressão de vapor de 90% UR.

Filmes	TPO <sub>2</sub> (mL (CNTP) m <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> )	TPVA (g água m <sup>-2</sup> dia <sup>-1</sup> )*
PVC	7.000,00	361
PA/PE	128,42	3,34
PEBD 30	6.270,00	5,72
PEBD 80	2.775,00	4,64
PP 25	2.927,00	5,71
PP 50	1.548,00	5,23
BOPP 20	1.657,00	6,27
BOPP 50	697,00	2,36

\*Valores referentes a três determinações

Da colheita para o primeiro dia de análise, apenas os filmes PA/PE, PEBD 80 e PP 50 resultaram em aumento na produção de acetaldeído dos cajus, atingindo 42,13, 22,88 e 21,47 µg g<sup>-1</sup> de polpa, respectivamente (Tabela 2). Pedúnculos dos demais filmes reduziram o teor de

acetaldeído, o que deve estar relacionado à redução do metabolismo em função da refrigeração. Acreditamos que os cajus embalados nos três filmes acima citados, também tenham apresentado redução do metabolismo, no entanto, por serem filmes mais espessos, a troca gasosa foi menor, reduzindo a porcentagem de O<sub>2</sub> à níveis suficientes para induzir o aumento da produção de acetaldeído, como explicado por Hribar *et al.* (2000).

**Tabela 2.** Teor de acetaldeído, etanol e proantocianidinas de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos à atmosfera modificada passiva e armazenados a 5±1°C e 90% de UR durante 12 dias.

Filmes	Dias após a colheita			
	0	3	6	12
	Acetaldeído ( $\mu\text{g g}^{-1}$ polpa)*			
PVC	12,23 Ab	1,77 Ec	16,53 CDb	56,54 Ca
PA/PE	12,23 Ac	42,13 Ab	44,60 Ab	143,89 Aba
PEBD 30	12,23 Ab	1,62 Ec	13,39 Db	60,52 Ca
PEBD 80	12,23 Ac	22,88 Bb	30,84 ABb	115,08 Ba
PP 25	12,23 Ac	10,47 Cc	23,58 BCb	167,01 ABa
PP 50	12,23 Ac	21,49 Bc	38,79 ABb	162,06 ABa
BOPP 20	12,23 Ac	3,40 Dd	38,64 ABb	218,38 Aa
BOPP 50	12,23 Ac	3,39 Dd	43,20 Ab	206,91 Aa
Etanol ( $\mu\text{g g}^{-1}$ polpa)*				
PVC	221,08 Ab	1094,52 Ba	197,80 Fb	1606,30 CDa
PA/PE	221,08 Ac	5606,70 Aa	6299,98 Aa	3775,12 ABb
PEBD 30	221,08 Ab	1032,36 Ba	1359,30 DEa	1458,97 Da
PEBD 80	221,08 Ac	5205,43 Aa	3805,05 CDb	3545,93 ABb
PP 25	221,08 Ac	4883,93 Aa	630,05 EFc	2686,36 BCb
PP 50	221,08 Ac	5087,08 Aa	2944,76 BCb	4675,86 Aa
BOPP 20	221,08 Ac	1839,61 Bab	1174,75 DEb	2306,29 BCDa
BOPP 50	221,08 Ac	1169,07 Bb	3580,90 Ba	4273,32 Aa
Proantocianidinas ( $\text{mg g}^{-1}$ polpa)*				
PVC	4,44 Aa	3,44 Aab	2,78 Ab	3,63 Aab
PA/PE	4,44 Aa	1,32 Cb	1,08 Bb	1,22 Cb
PEBD 30	4,44 Aa	2,66 ABbc	1,77 ABC	2,73 ABb
PEBD 80	4,44 Aa	1,46 Cb	1,49 ABb	1,32 BCc
PP 25	4,44 Aa	1,96 Cc	1,37 ABC	2,86 ABb
PP 50	4,44 Aa	1,38 Cb	1,94 ABb	1,33 BCb
BOPP 20	4,44 Aa	1,89 BCb	1,88 ABb	1,48 BCb
BOPP 50	4,44 Aa	1,67 BCb	1,37 ABb	1,25 Cb

Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si nos filmes e minúscula não difere entre si nos dias pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). PVC= policloreto de vinila de 15 µm, PA/PE= poliamida/polietileno de 100 µm, PEBD= polietileno de baixa densidade, PP= polipropileno e BOPP= polipropileno de camada biorientada. \*Transformação usada para acetaldeído e proantocianidina: log(x) e etanol:  $x^{0,5}$

A partir do dia 3, todos os filmes resultaram em aumento do acetaldeído, com destaque para as duas espessuras do BOPP, que não mais diferiram do PA/PE e do PP 50. Outro destaque foi o filme PVC, seguido do PEBD 30, os quais resultaram nos menores valores desse composto. Acreditamos que tais resultados foram consequência da composição gasosa. Ainda não se sabe qual a porcentagem de O<sub>2</sub> necessária para induzir a respiração anaeróbica e produção de acetaldeído em pedúnculos de caju, no entanto, os resultados desse trabalho indicam que essa porcentagem, conhecida como Ponto de Pasteur, deve ser entre 5 e 10%. Para frutos verdadeiros, como o caqui, essa porcentagem é próxima de 5% (Edagi e Kluge, 2009; Pesis, 2005).

Todos os filmes levaram ao aumento do teor de etanol da colheita para o dia 3, entretanto, o PA/PE, PEBD 80 e os dois PPs resultaram em valores 5 vezes superiores aos demais (Tabela 2). Dentre esses filmes, o PA/PE, PEDB 80 e PP 50 mantiveram o teor de etanol mais elevado que os demais filmes até o fim do período avaliado, não diferindo entre si na maioria dos dias. Os pedúnculos de caju embalados em BOPP 50 tiveram maior aumento da produção de etanol a partir do dia 6, se igualando aos valores produzidos pelos cajus embalados em PP 50, PA/PE e PEBD 80 apenas no dia 12. Os demais filmes resultaram em produção de etanol próxima ou igual ao controle (PVC). Esses resultados evidenciaram que a modificação da atmosfera no interior da embalagem induziu a produção de acetaldeído, que quando acumulado, levou à produção de etanol. Alta concentração intracelular de acetaldeído é tóxica aos vegetais, sendo rapidamente transformado em um composto menos tóxico, o etanol, pela ação da enzima álcool desidrogenasse (Hribar *et al.*, 2000). Essa enzima também é responsável pela reação inversa, a qual transforma o etanol em acetaldeído quando necessário (Edagi e Kluge, 2009).

Ainda quanto ao teor de etanol, observamos que pedúnculos embalados nos filmes PA/PE, PEBD 80 e os dois PPs apresentaram odor característico de fermentação já no dia 3, quando atingiram um alto teor alcoólico. Esse odor permaneceu até o fim do período avaliado, depreciando os pedúnculos e sendo, portanto, um indicativo para o descarte desses filmes.

Com relação às proantocianidinas, pedúnculos embalados em PVC foram os únicos que não reduziram seu teor da colheita para o dia 3 (Tabela 2). Nesse dia, pedúnculos embalados em PEBD 30 não diferiram dos embalados em PVC, enquanto que os embalados em PA/PE, PEBD 80 e nas duas espessuras do PP apresentaram a menor quantidade de taninos condensados. Esses resultados estão de acordo com a composição gasosa e a produção de acetaldeído do dia 3, comprovando que o aumento intracelular dessa molécula resulta em maior polimerização das proantocianidinas (Hribar *et al.*, 2000; Pesis e Benarie, 1986). Ao longo do armazenamento, todos os pedúnculos sofreram redução das proantocianidinas, mas os pedúnculos embalados no BOPP

50 e PA/PE foram os menos adstringentes, diferindo daqueles embalados em PVC, PEBD 30 e PP 25.

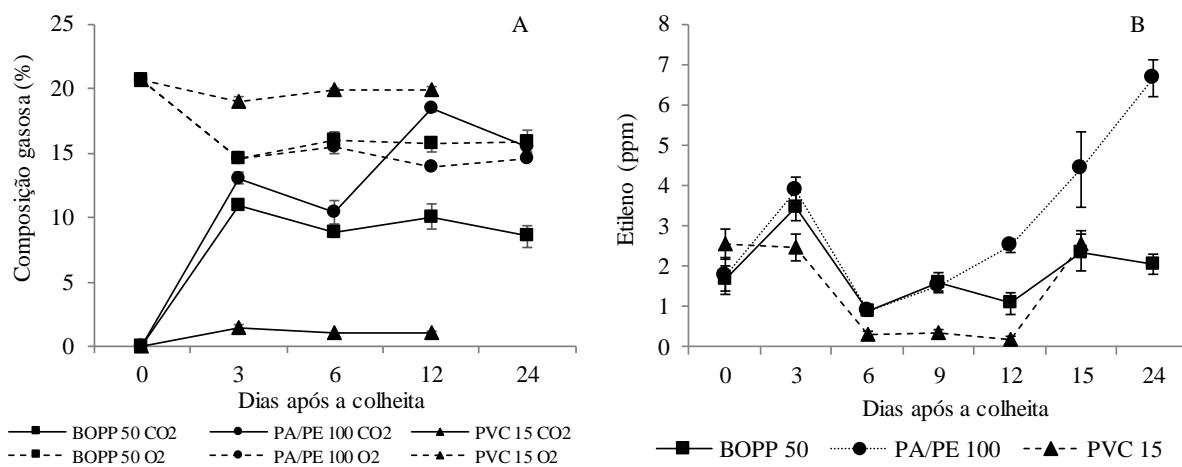
Para ajudar na escolha dos filmes mais efetivos para redução da adstringência, dois atributos físico foram considerados, a PM e o IC, uma vez que esses parâmetros interferem diretamente na aceitação visual e, consequentemente, no consumo dos pedúnculos de caju. Dentre os filmes estudados, o PVC foi o que permitiu a maior PM e o PA/PE, seguido do BOPP 50, foram que resultaram nas menores perdas (Figura 1C). Todos os demais filmes proporcionaram valores intermediários entre o PVC e BOPP 50, sendo, portanto, melhores do que o PVC para esse requisito. Essas observações estão de acordo com os dados da taxa de permeabilidade ao vapor d'água (Tabela 1).

Quanto ao IC, os diferentes filmes estudados não alteraram a coloração da epiderme, ocorrendo aumento do IC apenas em função dos dias após a colheita (Figura 1D). Para a maioria dos filmes, esse aumento ocorreu até o dia 6, indicando ganho de tons vermelhos, o que provavelmente está relacionado com o aumento da pigmentação de antocianinas.

Dessa forma, os filmes selecionados para melhor estudar o efeito da destanização sobre a qualidade e a atividade antioxidante dos pedúnculos foram o BOPP 50, como sendo o mais indicado, uma vez que reduziu a adstringência aos menores níveis, sem fermentar, perder massa fresca e mudar a coloração; o PCV, novamente como controle; e o PA/PE, que embora tenha resultado em odor fermentado, foi o que mais rapidamente reduziu a adstringência e a manteve nos menores níveis.

### **5.3.2. Experimento 2: Avaliação da qualidade dos pedúnculos destanizados**

Novamente, o filme PVC manteve as concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> estáveis e próximas às condições ambiente, durante os 12 dias em que apresentou condição de ser avaliado (Figura 2A). Os filmes BOPP 50 e PA/PE 100 reduziram a concentração de O<sub>2</sub> da colheita para o dia 3 e, a partir de então, a taxa deste gás permaneceu entre 13 e 16%, não havendo diferença entre os dois filmes. Em relação ao CO<sub>2</sub>, houve acúmulo da colheita para o dia 3, quando BOPP 50 e PA/PE apresentaram 11 e 13%, respectivamente. A partir do dia 6, a concentração de CO<sub>2</sub> aumentou nas embalagens de PA/PE, atingindo valor próximo a 20%, enquanto o BOPP 50 manteve a concentração próxima a 10% até o dia 24. Novamente, esses resultados estão de acordo com a permeabilidade desses filmes à troca gasosa.



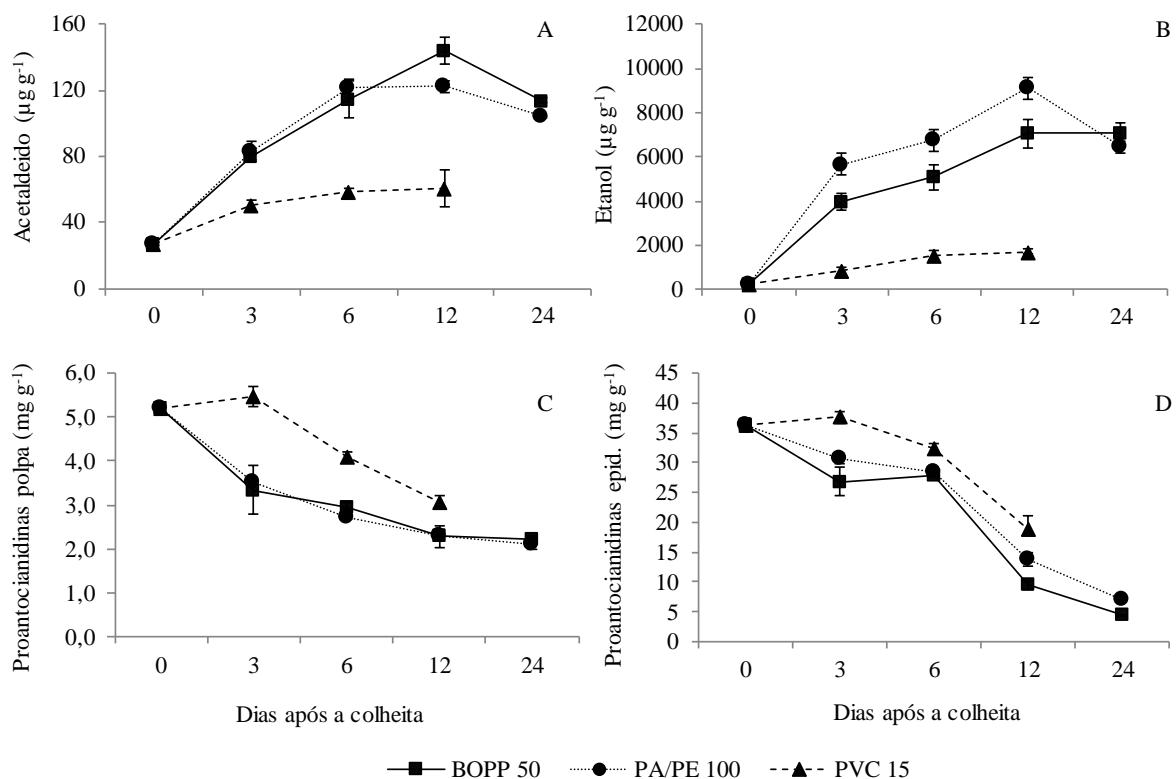
**Figura 2.** Concentração dos gases O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (A) e etileno (B) no interior das embalagens de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 12 dias. BOPP 50= polipropileno de camada biorientada de 50 µm, PA/PE= poliamida/polietileno de 100 µm e PVC= policloreto de vinila de 15 µm. As barras verticais representam o erro padrão da média. Dados originais, transformação usada para CO<sub>2</sub>: (1+x)<sup>0,5</sup> e etileno: x<sup>0,5</sup>

Quanto ao etileno, verificamos que da colheita ao dia 3, o filme PVC manteve valores estáveis e os outros dois resultaram em acúmulo, mas todos reduziram a quantidade de etileno no dia 6 (Figura 2B). A partir de então, o PVC manteve concentração inferior a 1 ppm e BOPP 50 e PA/PE acumularam atingindo 2,1 e 6,7 ppm, respectivamente. A redução desse hormônio do dia 6, provavelmente está relacionada com a redução do metabolismo provocado pela refrigeração e, no caso do PVC, também pelo avanço da senescência da fruta, dado seu comportamento não-climatérico. O acúmulo observado nos pedúnculos embalados no BOPP e no PA/PE pode ter ocorrido em função do longo período de vida útil que eles tiveram e da barreira que os filmes fizeram também a esse gás. Ressalta-se que o acúmulo de etileno pode ter influenciado na destanização dos pedúnculos, uma vez que sua presença acelera a produção natural de acetaldeído, sendo esse o motivo de alguns produtores de caqui aplicarem etileno nas frutas visando a destanização (Edagi e Kluge, 2009). Até o momento, não há relatos desse tipo de tratamento em pedúnculos de caju, o que provavelmente se deve a sua alta perecibilidade, a qual seria agravada com uso de etileno exógeno.

A produção de acetaldeído dos cajus embalados em BOPP 50 e PA/PE aumentou na mesma intensidade até o dia 12, quando ambos atingiram mais de 120 µg g<sup>-1</sup> de polpa (Figura 3A). Cajus embalados em PVC tiveram aumento menos progressivo, atingindo 60,51 µg g<sup>-1</sup> polpa no último dia em que foram avaliados. Comportamento semelhante foi observado na produção de etanol de modo que cajus embalados em BOPP 50, PA/PE e PVC atingiram os maiores teores no dia 12, com 7.062,81, 9.109,38 e 1720,94 µg de etanol g<sup>-1</sup> polpa, respectivamente (Figura

3B). No entanto, para a produção de etanol, novamente, o filme PA/PE resultou em maior teor do que o BOPP do dia 3 ao 12.

Esses resultados confirmaram as observações do experimento anterior quanto à influência dos filmes selecionados na criação da AMP, a qual resultou na maior produção do acetaldeído e no acúmulo de etanol. Ben-Arie *et al.* (1991) e Cia *et al.* (2006) também verificaram aumento desses dois compostos em caquis embalados em filmes que proporcionaram alta concentração de CO<sub>2</sub>. Esses autores observaram ainda que o aumento de acetaldeído e etanol no interior da embalagem prolongou a vida útil dos caquis devido às suas propriedades antimicrobianas. Provavelmente, esse também é o motivo dos pedúnculos embalados em BOPP e PA/PE terem apresentado condições de comercialização pelo dobro do período dos cajus embalados em PVC.



**Figura 3.** Produção de etanol (A), acetaldeído (B), proantocianidinas da polpa (C) e proantocianidinas da epiderme (D) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a atmosfera modificada passiva e armazenados a 5±1°C e 90% de UR, por 24 dias. BOPP 50= polipropileno de camada biorientada de 50 µm, PA/PE= poliamida/polietileno de 100 µm e PVC= policloreto de vinila de 15 µm. As barras verticais representam o erro padrão da média. Dados originais, transformação usada para etanol:  $x^{0,5}$  e proantocianidinas de polpa:  $\log(x)$

Semelhantemente aos resultados de acetaldeído e etanol, o teor de proantocianidinas da polpa dos cajus submetidos à AMP dos filmes BOPP 50 e PA/PE não diferiu entre si e reduziu

até o dia 12 (Figura 3C). Caju embalados em PVC diferiram dos dois anteriores até o dia 6, quando apresentaram  $4,09 \text{ mg g}^{-1}$  de polpa e ainda estavam adstringentes. No dia 12, pedúnculos dos três filmes apresentaram baixo teor de proantocianidinas na polpa ( $< 3,0 \text{ mg g}^{-1}$ ), a ponto de não mais causar adstringência. No entanto, pedúnculos embalados em PVC estavam em estado avançado de senescência, enquanto os demais tinham bom estado de conservação pós-colheita, a ponto de durar 12 dias a mais. Esse resultado é um indicativo de que a destanização feita pela AMP também contribui para o aumento da vida útil dos cajus, sendo uma boa prática pós-colheita.

Quanto aos taninos da epiderme, observamos que no dia da colheita, seu teor foi aproximadamente sete vezes superior ao da polpa e, no dia 24, a epiderme apresentou teor de taninos próximo ao encontrado na polpa no dia da colheita (Figura 3D). É por esse motivo que ao se morder o caju com a casca (epiderme), tem-se uma forte sensação de adstringência. De acordo com Michodjehoun-Mestres *et al.* (2009), é comum a ocorrência de maior quantidade de proantocianidinas na casca em comparação com a polpa, sendo que em uvas (Kennedy, 2002) e maçãs (Takos *et al.*, 2006), isso também ocorre. Outra diferença com relação às proantocianidinas da epiderme e da polpa dos cajus está na composição dos seus polímeros. A epiderme apresenta maior quantidade de -(-) epigallocatequina, enquanto que a polpa apresenta maior quantidade de -(-) epigallocatequina galato e -(-) epicatequina galato (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009).

Ainda com relação ao teor de proantocianidinas da epiderme, observamos maior redução do seu conteúdo em relação à polpa. Também não houve diferença entre cajus embalados em BOPP 50 e PA/PE, mas ambos diferiram dos embalados em PVC. Ressalta-se ainda que da colheita até o dia 6, caju embalados em PVC tiveram teor de proantocianidinas da epiderme relativamente constante, sendo esse mais um motivo da sensação de adstringência continuar em frutas não destanizadas e senescentes. Todos os pedúnculos tiveram redução significativa do dia 6 para o 12, o que provavelmente está relacionado com a senescência dos pedúnculos, visto que com o desenvolvimento das frutas, aumenta a produção de acetaldeído e também a de outros compostos que se polimerizam com os taninos, como as pectinas solúveis, que são resultantes do amolecimento dos pedúnculos (Figueiredo *et al.*, 2001).

Pedúnculos embalados em PVC tiveram aumento significativo do IC do dia 3 para o dia 6, quando a epiderme estava completamente vermelha, como indicado pelo índice superior a 15 (Figura 4A). O aumento da cor vermelha da epiderme dos cajus é decorrente da biossíntese de antocianinas, que são os principais pigmentos desta cor nessa fruta (Figueiredo *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2010). A mudança na coloração, ou seja, o ganho da cor vermelha, foi dificultada pelos filmes BOPP 50 e PA/PE, de modo que os cajus destanizados permaneceram com faixas

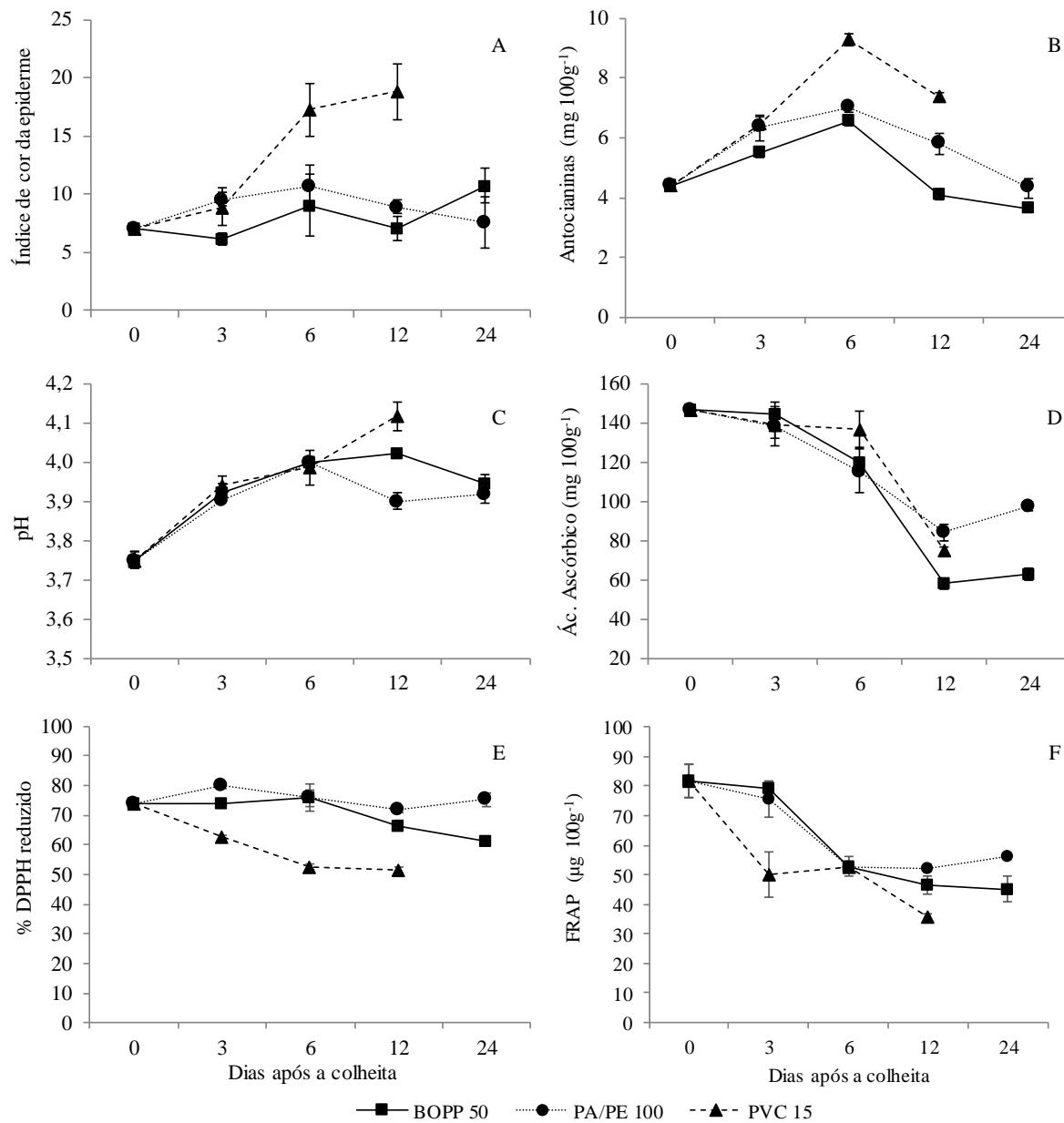
esverdeadas na epiderme durante os 24 dias de armazenamento. Esses resultados são condizentes com o teor de antocianinas, uma vez que houve aumento da sua biossíntese até o dia 6 e que cajus embalados em BOPP 50 e PA/PE apresentaram teor inferior ao do PVC (Figura 4B). Esse resultado indicou que a destanização reduz também a biossíntese desse pigmento, o que é coerente, dado que, assim como as proantocianidinas, as antocianinas são compostos fenólicos pertencentes a classe dos flavonóis (Aron e Kennedy, 2008).

Observamos também que os três tratamentos reduziram o teor de antocianinas da epiderme no dia 12. Acreditamos que esse fato não está relacionado com a destanização, mas com o prolongamento da vida útil dessa fruta, que podem ter usado as antocianinas com composto fenólico de proteção. Autores que estudaram formas de conservação de pedúnculos de caju anão-precoce do clone CCP-76 observaram redução de 50% no teor de antocianinas ao longo do armazenamento refrigerado (Figueiredo *et al.*, 2007; Moura *et al.*, 2010). Outro motivo para acreditarmos que a redução do teor de antocianinas do dia 12 não foi consequência da destanização, foi o comportamento do pH da polpa dos pedúnculos (Figura 4C). O pH é um dos principais fatores de estabilidade das antocianinas, sendo que valores acima de 4, como o ocorrido a partir do dia 6, caracterizam a descoloração vermelha desse pigmento (Stafford, 1990).

Cajus dos três tratamentos tiveram pequeno aumento de pH do dia da colheita para o dia 3, mas apenas os embalados em PVC tiveram novo aumentado do dia 6 para o 12, quando cajus embalados no PA/PE diferiram dos embalados no PVC. O menor aumento do pH dos pedúnculos embaldos em BOPP 50 e PA/PE é mais um indicativo de que a AMP além de reduzir a adstringência, conserva a qualidade dos cajus.

O teor de ácido ascórbico não foi influenciado pela destanização (Figura 4D). A única diferença ocorreu no dia 24, quando cajus embalados em PA/PE apresentaram teor vitamínico superior aos embalados em BOPP 50, sendo que nesse dia ambos estavam destanizados. Durante o armazenamento, todos os tratamentos tiveram perdas significativas até o 12º dia após a colheita, quando pedúnculos embalados em BOPP 50, PA/PE e PVC apresentaram 58,23, 84,26 e 75,02 mg 100<sup>-1</sup>, respectivamente. Figueiredo *et al.* (2007) e Moura *et al.* (2010) acreditam que a redução pós-colheita do teor de ácido ascórbico dos pedúnculos está relacionada com aumento da atividade da ascorbato oxidase (AO). Embora a atividade dessa enzima não tenha sido quantificada nesse trabalho, concordamos com esses autores, tendo-se em vista que a maior parte da sua atividade ocorre na parede celular, que é justamente o local de maior acúmulo do ácido ascórbico quando está atuando na defesa contra O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> e radicais livres (Moser; Kanellis, 1994; Simirnoff, 1996). Existem fortes evidências da relação entre o ascorbato e a AO no metabolismo da parede celular (Simirnoff, 1996), o que pode incluir a degradação do ácido

ascórbico em função da senescência. Como a destanização não interferiu na firmeza dos pedúnculos (Tabela 3), acreditamos que esse tratamento não influenciou na degradação de parede celular e por isso não houve influência no teor do ácido ascórbico.



**Figura 4.** Índice de cor (A), teor de antocianinas (B), pH (C), teor de ácido ascórbico (D) e atividade antioxidante representada pela % de DPPH reduzido (E) e FRAP (F) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a atmosfera modificada passiva e armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  e 90% de UR, por 24 dias. BOPP 50= polipropileno de camada biorientada de 50  $\mu\text{m}$ , PA/PE= poliamida/polietileno de 100  $\mu\text{m}$  e PVC= policloreto de vinila de 15  $\mu\text{m}$ . As barras verticais representam o erro padrão da média. Dados originais, transformação usada para IC:  $(x+0,375)^{-0,5}$ , antocianinas e FRAP:  $\log(x)$

A absorção de radical livre pelos métodos DPPH (Figura 4E) e FRAP (Figura 4F) mostrou redução da atividade antioxidante de todos os pedúnculos durante o período analisado, sendo que pelo método do DPPH, a maior redução ocorreu nos últimos dias de análise e pelo método do FRAP, no começo do armazenamento (até dia 6). Porém, cajus destanizados mantiveram maior atividade antioxidante que os cajus embalados em PVC em ambos os métodos analiados, indicando que a destanização por meio da AMP não reduz esse atributo qualitativo e ainda ajuda na sua manutenção durante o armazenamento.

Quanto à comparação entre os filmes BOPP 50 e PA/PE, observamos diferença na porcentagem de DPPH reduzido apenas no último dia de análise. Semelhantemente ao observado no teor de ácido ascórbico, no dia 24, cajus embalados em PA/PE tiveram as maiores atividades. Essa comparação está de acordo com estudos de Moo-Huchin *et al.* (2015) e Rufino *et al.* (2010), que indicaram que o ascorbato é a principal biomolécula influente na atividade antioxidante dos compostos hidrossolúveis, que são os detectados pelo DPPH nos pedúnculos de caju.

A atividade antioxidante medida pelo FRAP, possivelmente, está relacionada com o teor de quercetinas, uma vez que não houve diferença no teor desta biomolécula entre pedúnculos embalados em BOPP 50 e PA/PE, mas houve entre estes e os embalados em PVC (Tabela 3). As quercetinas são compostos fenólico com alto poder antioxidante e presente em alta quantidade dos pedúnculos de caju (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009). Portanto, esses resultados concordam com as observações feitas por Moo-Huchin *et al.* (2015) e Rufino *et al.* (2010), indicando as quercetinas, juntamente com o ácido ascórbico, são os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos pedúnculos de caju. Esses autores também sugerem que além das proantocianidinas, existem outros compostos responsáveis pela alta atividade antioxidante, sendo eles os ácidos gálico, elágico, cafeico, ferúlico e as miricetinas, os quais ainda precisam ser quantificados em pedúnculos destanizados.

A PM dos pedúnculos de caju destanizados foi inferior à dos embalados em PVC (Tabela 3). No entanto, esse resultado só ocorreu porque os cajus submetidos à AMP puderam ser armazenados por 24 dias, em quanto que os embalados em PVC, apenas por 12. Além disso, para os três tratamentos, a perda de massa ocorreu até o dia 12, quando atingiu 1,32% de perda, que é um valor extremamente baixo para esse intervalo de vida útil. Desse modo que não se pode inferir que a destanização aumentou a perda de massa fresca.

Como dito acima, a firmeza dos pedúnculos de caju não foi alterada com a destanização, obtendo médias variando de 7,38 a 8,13N, o que está adequando para um pedúnculo e compatível com outros trabalhos (Figueiredo *et al.*, 2001; Figueiredo *et al.*, 2002). Houve redução da firmeza para todos os tratamentos do dia da colheita até o dia 6, quando atingiram, em média

6,32 N. A partir desse dia, a firmeza permaneceu constante, sendo que no último dia de análise houve um pequeno aumento, o que provavelmente se deve ao aumento da perda de massa, visto que essas variáveis tiveram alta correlação negativa ( $r^2 = -0,85$ ). Os demais atributos qualitativos analisados, TSS e AT, também não apresentaram diferença em função da remoção da adstringência (dados não apresentados).

**Tabela 3.** Polifenois, teor de flavonoides, perda de massa fresca e firmeza de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos à atmosfera modificada passiva e armazenados a 5°C e 90% de UR, por 24 dias.

Trat.	Quercetinas (mg 100g <sup>-1</sup> )	Perda massa fresca (%)	Firmeza (N)
<i>Filmes</i>			
BOPP	70,38 A	0,88 A	8,13 A
PA/PE	69,80 A	0,71 A	8,06 A
PVC	60,79 B	0,65 B	7,38 A
<i>Dias após a colheita</i>			
0	48,71 d	0,00 d	10,09 a
3	77,85 a	0,50 c	9,16 ab
6	80,77 a	0,86 b	6,32 c
12	68,05 b	1,3 a	5,94 c
24	58,96 c	1,29 ab	6,76 bc

Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si nos filmes e minúscula não difere entre si nos dias pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). \*Transformação usada para perda de massa:  $(1+x)^{0,5}$

#### 5.4. Conclusão

A AMP gerada pelos filmes PA/PE 100 µm e BOPP 50 µm é a mais efetiva para redução da adstringência dos pedúnculos de caju, uma vez que diminui o teor das proantocianidinas aos menores valores e de forma mais rápida. Além disso, o uso desses filmes amplia a vida útil dos pedúnculos de caju por 12 dias, contribuindo também para conservação da coloração da epiderme, do teor de antocianinas e quercetinas e para a maior atividade antioxidante. A destanização com esses filmes não reduz o teor de ácido ascórbico nem a firmeza dos cajus. Na comparação entre PA/PE e BOPP, ocorre diferença no teor de ácido ascórbico e na atividade do DPPH apenas no último dia de armazenamento, quando pedúnculos embalados em PA/PE apresentam os melhores resultados. Entretanto, esses pedúnculos também apresentam maior teor de etanol na polpa desde o dia 3, indicando odor característico de fermentado. Dessa forma, os resultados indicam que o BOPP 50 µm é o filme mais indicado para redução da adstringência e conservação da qualidade de pedúnculos de caju.

## Referências

- AGOSTINI-COSTA, T. D. S.; LIMA, A.; LIMA, M. V. Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método dobutanol ácido. **Química Nova**. São Paulo. 26: 763-765 p. 2003.
- AKINWALE, T. O. Cashew apple juice: its use in fortifying the nutritional quality of some tropical fruits. **European Food Research and Technology**, v. 211, n. 3, p. 205-207, 2000. ISSN 1438-2377.
- AKINWALE, T. O.; ALADESUA, O. O. Comparative study of the physicochemical properties and the effect of different techniques on the quality of cashew juice from Brazilian and local varieties. **Nigerian Journal of Tree Crop Research**. 3: 60-66 p. 1999.
- ANTONIOLLI, L. R. et al. Utilização de embalagens de polietileno na conservação de caquis 'Giombo' durante o armazenamento refrigerado. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal. 25: 77-80 p. 2003.
- ARON, P. M.; KENNEDY, J. A. Flava-3-ols: nature, occurrence and biological activity. **Molecular, Nutrion and Food Research**. Weinheim. 52 2008.
- ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D 3985-05 (Reapproved 2010)ed1**: standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. Philadelphia, 2005. 7p.
- ASTM INTERNATIONAL. **ASTM E 96/E 96 M-15**: standard test methods for water vapor transmission of materials. Philadelphia, 2015. 13 p.
- ASTM INTERNATIONAL. **F 1249 – 13**: standard test methods for water vapor transmission rate through plastic film and sheeting using a modulated infrared sensor. Philadelphia, 2013.6 p.
- BEN-ARIE, R. et al. Modified atmosphere packaging for long-term storage of astringent persimmons. **Postharvest Biology and Technology**. 1: 169-179 p. 1991.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, Jul 15 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, // 1995.
- CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises químicas de alimentos**. Campinas 1990.
- CIA, P. et al. Modified atmosphere packaging for extending the storage life of 'Fuyu' persimmon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 42, n. 3, p. 228-234, 2006.
- DAVIS, P. L.; CHACE JÚNIOR, W. G. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. **HortScience**, v. 4, p. 117-119, 1969.
- EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 585-594, 2009.
- 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. Piracicaba, SP. 14, 2006.
- FIGUEIREDO, R. W. et al. Alterações de firmeza, pectinas e enzimas pectinolíticas durante o desenvolvimento e maturação de pedúnculos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L. Var. *Nanum*) CCP-76. **INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE**. Frutales. 43: 82-86 p. 2001.

- \_\_\_\_\_. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 343-347, Jun 2002.
- \_\_\_\_\_. Quality of cashew pseudofruits treated with calcium at postharvest and stored under refrigeration. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 475-482, Apr 2007.
- FUKUSHIMA, T. et al. Mechanisms of astringency removal by ethanol treatment in hiratanenashi kaki fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v. 60, n. 3, p. 685-694, Dec 1991.
- 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, Jun 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**. 10: 917-922 p. 1989.
- ITTAH, Y. Sugar content changes in persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.) during artificial ripening with CO<sub>2</sub> - a possible connection to deastringency mechanisms. **Food Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 25-29, 1993 1993.
- KENNEDY, J. **Understanding grape berry development**. Practical Winery & Vineyard. San Rafael, CA. 4: 1-5 p. 2002.
- KHANBABAEE, K.; VAN REE, T. Tannins: Classification and definition. **Natural Product Reports**, v. 18, n. 6, p. 641-649, 2001.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.
- MENEZES, J. B. **Armazenamento refrigerado de pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.) sob atmosfera ambiental e modificada**. 1992. 102 (Dissertação (Mestrado)). Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MENEZES, J. B.; ALVES, R. E. **Fisiologia e tecnologia pós-colheita dopedúnculo do caju**. Fortaleza, CE: EMBRAPA-CNPAT, 1995. 20p.
- MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, p. 851-857, Feb 2009.
- \_\_\_\_\_. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009..
- MONTEIRO, M. F. **Técnicas de remoção da adstringência e refrigeração de caqui ‘Giombo’**. 2011. 75 (Mestrado). Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo., Piracaba/SP.
- MOO-HUCHIN, V. M. et al. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 166, p. 17-22, Jan 2015.
- MOSER, O.; KANELLIS, A.K. Ascorbate oxidase of *Cucumis melo* L. var. reticulatus: purification, characterization and antibody production. **Journal of Experimental Botany**, v. 45, p.717-724, 1994.
- MOURA, C. F. H. et al. Increasing shelf life of early dwarf cashew tree peduncle through reduction of storage temperature. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 34, n. 1, p. 140-145, Jan-Feb 2010.
- NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.
- OLIVEIRA, V. H. D. et al. **Sistema de produção: Cultivo do Cajueiro**. Brasília, 2003.

- 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, n. 1, p. 1-19, Jul 2005.
- PESIS, E.; BENARIE, R. CARBON-DIOXIDE ASSIMILATION DURING POSTHARVEST REMOVAL OF ASTRINGENCY FROM PERSIMMON FRUIT. **Physiologia Plantarum**, v. 67, n. 4, p. 644-648, Aug 1986.
- QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, 2011.
- RAMOS, A. D. et al. **A cultura do caju**. Brasília: EMBRAPA - CNPAT: 96 p. 1996.
- RUFINO, M. D. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, Aug 15 2010.
- SANTOS, A. M. D.; COELHO, L. C. **Recomendações técnicas para a cultura do cajueiro-anão-precoce no Estado de Mato Grosso**. Cuiabá: EMPAER-MT: 33 p. 2000.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999 1999.
- SMIRNOFF, N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. **Annals of Botany**, v. 87, p. 661-669, 1996.
- STAFFORD, H. A. **Flavonoid metabolism**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 286.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. Porto Alegre: Artmed 2009. 848.
- TAKOS, A. M. et al. Condensed tannin biosynthesis genes are regulated separately from other flavonoid biosynthesis genes in apple fruit skin. **Plant Science**, v. 170, n. 3, p. 487-499, Mar 2006.
- TREVISAN, M. T. S. et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p. 188-197, Feb 2006.
- ZHANG, T. et al. Persimmon tannin composition and function. **International Conference on Agricultural and Biosystems Engineering**, Hong Kong, v. 1, p. 389-392, 2011.

## Anexos

**Tabela 4.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (dia), filmes plásticos e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 12 dias.

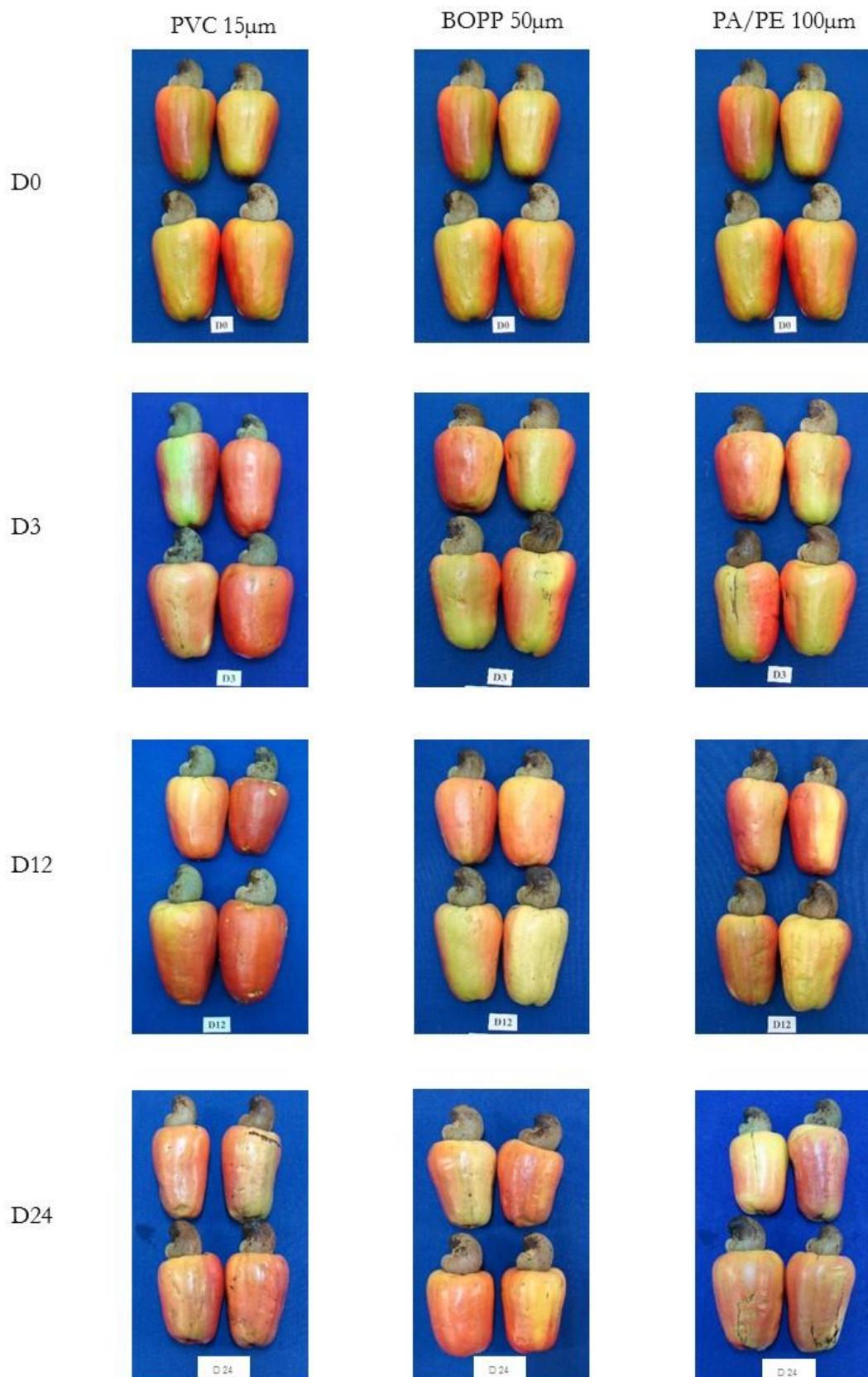
Variável	Dia	Trat	Dia x trat	C.V. (%)
Concentração O <sub>2</sub> (%)	*	*	*	4,13
Concentração CO <sub>2</sub> (%)	*	*	*	7,87
Perda de massa (%)	*	*	*	3,57
Índice cor epiderme	*	ns	ns	14,09
Índice cor polpa	*	ns	*	19,74
Índice adstringência	*	*	*	0,50
Teor sólidos solúveis (°Brix)	*	ns	ns	2,41
Etanol (μg g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	*	6,91
Acetaldeído (μg g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	*	12,59
Proantocianidinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	26,04
Polifenois solúveis (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	12,35
Polifenois hidrolisável (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	7,14

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. \*:  $P \leq 0,05$ ; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.

**Tabela 5.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (dia), filmes plásticos e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 24 dias.

Variável	Dia	Trat	Dia x trat	C.V. (%)
Concentração O <sub>2</sub> (%)	*	*	*	4,13
Concentração CO <sub>2</sub> (%)	*	*	*	6,21
Etileno (ppm)	*	*	*	14,47
Perda de massa (%)	*	*	ns	15,15
Índice cor epiderme	*	*	*	8,95
Firmeza (N)	*	*	ns	22,00
Nota odor	*	*	ns	15,41
Nota sabor	*	*	ns	17,34
Ácido ascórbico (mg 100g <sup>-1</sup> )	*	*	*	9,74
Teor sólidos solúveis (°Brix)	*	ns	ns	4,05
Acidez titulável (% ac. Málico)	*	ns	ns	5,61
pH	*	*	*	1,20
Etanol (μg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	8,93
Acetaldeído (μg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	11,53
Proantocianidina polpa (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	8,91
Proantocianidina epiderme (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	8,14
Polifenois solúveis (mg 100 g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	ns	9,62
Polifenois hidrolisável (mg 100 g <sup>-1</sup> polpa)	*	*	ns	5,44
Antocianinas (mg 100g <sup>-1</sup> )	*	*	*	4,08
Quercetinas (mg 100g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	4,20
DPPH reduzido (%)	*	*	*	4,96
FRAP hidrossolúvel (μg g <sup>-1</sup> )	ns	ns	ns	2,72
FRAP lipossolúvel (μg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	3,10

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. \*:  $P \leq 0,05$ ; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.



**Figura 5.** Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 submetidos a atmosfera modificada passiva e armazenados a  $5\pm1^{\circ}\text{C}$  e 90% de UR, por 24 dias.

## 6. REDUÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA DE CAJU COM ALTA DOSE DE CO<sub>2</sub> E SEUS EFEITOS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA

### Resumo

O consumo de caju é relativamente baixo, pois tanto o pseudofruto, quanto o suco, necessitam de tratamento a fim de remover a adstringência. A aplicação do CO<sub>2</sub>, feita pelo controle da atmosfera ao redor de frutos é uma das formas mais empregadas na destanização. Esse trabalho objetivou determinar a dose e tempo de exposição de pedúnculos de caju ao CO<sub>2</sub> a fim de reduzir sua adstringência e conservar sua qualidade físico-química e nutricional. Caju anão-precoce do clone CCP-76 foram colocados em caixas conectadas a um fluxo contínuo de gases composto por mistura de CO<sub>2</sub> e ar atmosférico. Os tratamentos foram 0,03% de CO<sub>2</sub> por 12 h (controle), 100% CO<sub>2</sub> por 12 h, 100% CO<sub>2</sub> por 24 h e 80% CO<sub>2</sub> por 48 h. A aplicação do CO<sub>2</sub> induziu a respiração anaeróbica, reduziu o teor de proantocianidinas e a adstringência dos pedúnculos de caju. Houve aumento da produção de etanol, mas sem resultar em fermentação. As três doses e tempos de exposição ao CO<sub>2</sub> reduziram o teor ácido ascórbico nos primeiros dias de armazenamento e os dois maiores tempos de exposição também reduziram o teor de antocianinas. Todos os pedúnculos destanizados tiveram redução do DPPH e do Frap\_hidro no início do armazenamento. Os demais compostos bioativos estudados, o Frap\_lipo e firmeza não foram afetados. Pedúnculos tratados com 80% de CO<sub>2</sub> por 48 h tiveram perdas de massa semelhantes ao controle e os demais, tiveram perdas menores. A destanização nos dois maiores tempos de exposição reduziu a incidência de podridão. A dose de 100% de CO<sub>2</sub> por 24 h reduz a adstringência de forma imediata sem reduzir a qualidade físico-química e resulta nas menores perdas nutricionais, sendo a mais indicada para os pedúnculos de caju.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale* L.; Taninos; Atmosfera controlada; Ácido ascórbico; Podridão

### Abstract

Cashew consumption is relatively low because not only the pseudofruit, but also the juice need treatment to remove the astringency. The application of CO<sub>2</sub>, made by the atmosphere control around the fruits is one of the most used forms to remove the astringency. This work aimed to determine the dose and time of exposure of cashew apples to CO<sub>2</sub> in order to reduce its astringency and to maintain its physical-chemical and nutritional quality. Early dwarf cashew apples of the CCP-76 clone were placed in boxes connected to a continuous flow of gases composed by a mixture of CO<sub>2</sub> and atmospheric air. The treatments were 0.03% CO<sub>2</sub> for 12 h, 100% CO<sub>2</sub> for 12 h, 100% CO<sub>2</sub> for 24 h and 80% CO<sub>2</sub> for 48 h. The application of CO<sub>2</sub> induced anaerobic respiration, reduced the proanthocyanidins content and the astringency of the cashew apples. There was an increase in the ethanol production, but it did not result in fermentation. The three doses and times of CO<sub>2</sub> exposure reduced the ascorbic acid content in the first days of storage and the two longer exposure times also reduced anthocyanin content. All fruit showed reduction of DPPH and Frap\_hidro at the beginning of storage. The bioactive compound compounds studied, Frap\_lipo and firmness were not affected. Cashew apples treated with 80% CO<sub>2</sub> for 48 h had the same weight loss of the control cashews and the other, showed the lesser losses. The detanization in the two largest exposure times reduced the decay incidence. A dose of 100% CO<sub>2</sub> for 24 h reduces the astringency immediately without reducing the physicochemical quality and results in lower nutritional losses, being more suitable for cashew apples.

Keywords: *Anacardium occidentale* L.; Tannin; Controlled atmosphere; Ascorbic acid; Decay

## 6.1. Introdução

Adstringência é o nome dado à sensação gustativa de secura ou contração da boca, resultante de ligações covalentes entre taninos e proteínas da saliva, principalmente, as ricas em prolina (Aron e Kennedy, 2008; Battestin *et al.*, 2004). Os taninos são compostos fenólicos da classe dos flavonoides, solúveis em água, provavelmente produzidos no tonoplasto, armazenados no vacúolo celular e encontrados em todas as partes de um vegetal, incluindo os frutos (Aron e Kennedy, 2008; Tessmer *et al.*, 2014). Várias espécies de frutos são adstringentes quando imaturos e perdem essa característica ao longo do desenvolvimento, seja quando ainda estão ligados à planta ou após sua colheita. No entanto, existem frutos que necessitam de tratamentos para remoção ou redução artificial da adstringência, tais como algumas variedades de caqui, tâmara, jambolão e caju (Michodjehoun-Mestres *et al.*, 2009; Pesis, 2005; Severo *et al.*, 2010).

O caju é um pseudofruto carnoso, suculento, com casca macia, coloração e aroma muito atrativo. O pedúnculo de caju, ou seja, o pseudofruto, apresenta inúmeras propriedade nutricionais, dado sua composição rica em minerais, vitaminas, principalmente o ácido ascórbico, aminoácidos, carotenoides, antocianinas, quercetinas e miricetinas, além da alta capacidade antioxidante (De Brito *et al.*, 2007; Rufino *et al.*, 2010; Talasila *et al.*, 2012). Entretanto, seu consumo é relativamente baixo, pois tanto o pseudofruto quanto o suco e outros derivados necessitam de tratamentos a fim de remover a adstringência. Para produtos processados existem diversas técnicas e pesquisas que solucionam esse problema (Campos *et al.*, 2002; Jayalekshmy e John, 2004; Talasila *et al.*, 2011), mas para o produto *in natura* há carência de estudos.

Dentre as formas de remoção artificial da adstringência, destaca-se a aplicação do CO<sub>2</sub>, feita pelo controle da atmosfera ao redor dos frutos, durante um determinado período de tempo (Salvador *et al.*, 2007). Esse método baseia-se na exposição dos frutos a condições controladas de anaerobiose, as quais forçam a descarboxilase do piruvato (proveniente da glicólise) e resultam na produção do acetaldeído, que é a molécula que polimeriza os taninos e impede sua reação com as proteínas da saliva, reduzindo a sensação de adstringência (Benarie e Sonego, 1993; Edagi e Kluge, 2009; Pesis e Benarie, 1986). De acordo com Matsuo *et al.* (1991), apenas a primeira parte desse processo é enzimática e necessita do acúmulo do CO<sub>2</sub>, enquanto que a segunda pode ocorrer em condições aeróbicas e não envolve enzimas. Os principais pontos desse tratamento pós-colheita são a determinação do período ideal para

exposição dos frutos as condições anaeróbicas e a composição ou concentração gasosa do ambiente.

Diversos trabalhos provaram que a aplicação de 70 a 100% de CO<sub>2</sub> por 12 a 24 h é eficaz para remoção da adstringência das principais variedades de caqui comercializadas em todo o mundo (Arnal e Del Rio, 2003; Salvador *et al.*, 2007). Entretanto, para algumas variedades, como ‘Rojo Brilhante’ e ‘Rama forte’, certas condições da destanização com CO<sub>2</sub> resultam em perda de firmeza e aparecimento de manchas escuras na casca e na polpa dos frutos (Edagi e Kluge, 2009; Salvador *et al.*, 2007). No entanto, para caquis, a remoção da adstringência e a preservação da firmeza por meio da aplicação de altas doses de CO<sub>2</sub> tem sido mais efetiva do que a aplicação de vapor de etanol, N<sub>2</sub> ou ozônio (Arnal e Del Rio, 2003; Salvador *et al.*, 2006; Yamada *et al.*, 2002).

Como ainda não há relatos quanto a essa forma destanização de cajus, esse trabalho objetivou determinar a dose e tempo de exposição de pedúnculos de caju ao CO<sub>2</sub> a fim de reduzir sua adstringência e conservar sua qualidade físico-química e nutricional.

## 6.2. Material e métodos

### 6.2.1. Material vegetal

Cajus anão-precoce do clone CCP-76 foram adquiridos de uma propriedade de Arthur Nogueira, SP (22°34'23" Sul, 47°10'21" Oeste e 588 m de altitude), a partir de cultivo convencional da safra 2015/2016. A colheita foi realizada no momento em que as castanhas estavam completamente maduras e os pedúnculos apresentavam de 70-75% da casca com coloração laranja-vermelhada. Os cajus foram colocados em caixas de papelão, sem sobreposição, e transportados em veículo refrigerado até o laboratório, em Piracicaba, SP, onde passaram por seleção e homogeneização quanto à coloração, formato, ausência de danos mecânicos e patógenos visíveis. Os cajus selecionados foram sanitizados com hipoclorito de sódio (50 g de StartClor® em 10 L de água, por 10 min) e colocados para secar sobre papel absorvente, em temperatura ambiente por 2 horas.

### 6.2.2. Tratamentos e controle da atmosfera

No mesmo dia da colheita, os cajus selecionados foram colocados em oito câmaras plásticas e herméticas de 8,6 L, com capacidade para 3,0 kg de fruta cada (aproximadamente 30

cajus sobrepostos, mas espaçados). Os tratamentos testados foram compostos pela mistura de CO<sub>2</sub>, fornecido por cilindro do tipo K com 99,99% de pureza, e ar atmosférico, fornecido por compressor de ar odontológico (Schulz modelo MSV 6/30 L, São Paulo, Brasil). Variou-se a concentração do dióxido de carbono e o tempo de exposição à atmosfera controlada, totalizando quatro tratamentos: 0,03% de CO<sub>2</sub> por 12 h (controle), 100% CO<sub>2</sub> por 12 h, 100% CO<sub>2</sub> por 24 h e 80% CO<sub>2</sub> por 48 h (misturas resultantes de pré-testes). Cada tratamento foi composto por duas câmaras.

O equipamento utilizado para estabelecer e controlar a atmosfera de cada minicâmara foi o fluxocentro (“Flowboard”) descrito por Calbo (1989), com as seguintes modificações: para regular a pressão do equipamento, utilizou-se uma válvula diferencial de botijão de gás GLP doméstico no lugar do barostato, para evitar a perda de gás (Cerqueira *et al.*, 2009). Para regular o fluxo e a concentração gasosa, utilizou-se uma válvula agulha de plástico no lugar dos capilares flexíveis de cobre, o que facilitou a obtenção das condições desejadas. O fluxo e concentração ajustados de cada gás seguiram para um misturador do tipo conexão “T” e essa mistura foi aplicada nas minicâmaras. As misturas gasosas foram umidificadas com água destilada e injetadas na parte inferior das minicâmaras, com saída na parte superior e oposta à entrada, em fluxo contínuo de 220 mL min<sup>-1</sup>. As misturas foram aferidas regularmente com auxílio um analisador de gases da marca Dansensor, modelo Checkmate 9001.

Todo o processo de aplicação das misturas gasosas ocorreu dentro de câmara-fria, a 5°C e 90% UR. Após os tratamentos, os cajus foram transferidos para outra câmara fria, nas mesmas condições e armazenados por 12 dias. As análises ocorreram no dia da colheita, no dia em que saíram da atmosfera controlada (após a retirada do flowboard), e então, a cada 4 dias, com 12 horas de comercialização simulada a 15°C e 70% de UR. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5 (misturas de atmosfera controlada x dias de análise). Foram utilizadas três repetições, compostas por três cajus cada. As análises espectrofotométricas foram feitas em duplicatas.

### **6.2.3. Determinações**

A produção de etanol e acetaldeído foram determinadas de acordo com a metodologia de Davis e Chace Júnior (1969), com modificações: 1 g de polpa triturada foi lacrada em frasco de vidro de 12 mL e congelada a -26°C. No momento da análise, os frascos foram colocados em banho-maria (Tecnal, TE-0541) a 50°C por 30 minutos e, após esse período, 0,5 mL de gás do espaço livre do frasco foi retirado e injetado em cromatógrafo a gás (Thermo, modelo Trace GC

Ultra, com detector de ionização de chama FID e coluna Porapak N). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g}$  de acetaldeído ou etanol  $\text{g}^{-1}$  de polpa.

O teor de proantocianidinas ou taninos da polpa (TAN\_P) e da casca (TAN\_C) foi determinado pelo método da Vanilina-HCl e descrito por Nakamura *et al.* (2003). Em tubos de ensaios foram adicionados 1 mL de amostra (extraída com metanol), 2,5 mL de solução de vanilina 1% em metanol e 2,5 mL de HCl 9,0 N em metanol. A mistura foi incubada durante 20 min a 30°C e a absorbância a 500 nm foi determinada em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22). Como padrão foi utilizado catequina (0-300 mM) e o resultado foi expresso em  $\text{mg g}^{-1}$  de polpa fresca.

Os fenóis solúveis (FS) foram determinados de acordo com Vinson *et al.* (2001) e modificações propostas por Queiroz *et al.* (2011), em que 5 mL de metanol e água (1:1 v/v) foram adicionados a 1 g de polpa triturada e aquecidos a 90°C, durante 3 h. As amostras resfriadas foram acrescidas de 4 mL da mesma solução extratora e centrifugadas (Clinical Centrifuge, IEC) durante 8 minutos, a 1500 xg, sendo o sobrenadante usado como extrato. O método colorimétrico de Singleton *et al.* (1999), utilizando o reagente Folin-Ciocalteau (1:10 v/v) e ácido gálico como padrão (0-500 mM), foi usado para quantificação. Os resultados foram expressos em  $\text{mg}$  de ácido gálico equivalente (AGE)  $100 \text{ g}^{-1}$  de polpa fresca. O teores de antocianinas (Ant) e queracetinas (Querc) totais foram determinados de acordo com Lees e Francis (1972), em que 10 g de casca foram homogeneizadas em 50 mL de solução com etanol 95% e HCl 1,5 N (85:15 v/v). Após 12 horas em escuro a 4°C, utilizou-se alíquota de 10 mL para as leituras de absorbância a 535 e 374 nm (ANT e QUERC, respectivamente). Os resultados foram expressos em  $\text{mg}$   $100 \text{ g}^{-1}$  de polpa fresca. O teor de ácido ascórbico (AA) foi determinado por titulometria, de acordo com Carvalho *et al.* (1990), em que 10 g de polpa triturada foram diluídas em 50 mL de ácido oxálico 1% e filtradas com papel quantitativo. A titulação foi feita com solução de 2,6-diclorofenolindofenol e os resultados expressos em  $\text{mg}$   $100 \text{ g}^{-1}$  de polpa fresca.

A capacidade antioxidante (CA) foi determinada pelo método do FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Potential), de acordo com Benzie e Strain (1996) e pela captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com Brand-Williams *et al.* (1995). Para determinação do FRAP fração lipossolúvel (Frap\_lipo), adicionou-se 10 mL de etanol:hexano (v/v) e da fração hidrossolúvel (Frap\_hid) 10 mL de metanol a 0,10 g de polpa triturada, as quais foram submetidas a 10 min de banho ultrassônico (Unique, USC-1400A) e 10 min de centrifugação a 15.000 xg. O ensaio foi realizado em cubetas adicionando 90  $\mu\text{L}$  de água, 30  $\mu\text{L}$  da amostra e 900  $\mu\text{L}$  do reagente FRAP. As leituras de absorbância foram efetuadas a 594 nm

após 90 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se metanol como “branco” e para a construção da curva padrão, FeSO<sub>4</sub> 7.H<sub>2</sub>O (solução estoque 0,2 mM), sendo os resultados expressos em μmoL FeSO<sub>4</sub> 100 g<sup>-1</sup> de polpa. Na determinação do DPPH, adicionou-se 10 mL de etanol a 0,10 g de polpa triturada, a qual foi submetida a 10 min de banho ultrassônico e 10 min de centrifugação a 15.000 xg. Nas cubetas adicionou-se 500 μL de amostra, 3.000 μL de etanol e 300 μL do reagente DPPH. As leituras de absorbância foram efetuadas a 517 nm após 30 min em repouso. Para a calibragem, utilizou-se etanol como “branco” e a atividade antioxidante foi expressa em % de DPPH reduzido: % de DPPH reduzido = [(Absorbância branco – Absorbância amostra)/(Absorbância branco)]\*100.

O índice de cor da casca (IC) foi determinado com colorímetro (Konica Minolta, modelo CR-400), utilizando o sistema L\*a\*b\* e calibração em D65. Foram feitas oito leituras ao redor de cada pedúnculo e o índice foi calculado a partir da seguinte fórmula: IC= (100 x a)/(L x b), com valores variando de 0,0 a 2,0 sendo que quanto menor o valor, mais verde o pedúnculo, e quanto maior, mais vermelho. A perda de massa fresca (PM) foi determinada pela diferença em %, entre a massa inicial da repetição e a massa verificada a cada dia de análise. A incidência de podridão (IP) foi realizada visualmente, por notas, em função da área da casca afetada por micélio aparente do patógeno, sendo nota 0= 0%, 1= 1-5%, 2= 5-25%, 3= 25-50% e 4= >50% da casca infectada. A firmeza da polpa foi determinada com auxílio de um penetrômetro digital de bancada (TuronI Italy, modelo 53205) com ponteira de 8 mm de diâmetro, efetuando-se duas leituras em lados opostos na região equatorial dos pedúnculos, após a remoção da casca. Os valores foram expressos em Newtons (N).

#### **6.2.4. Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ). Adicionalmente foi realizada análise multivariada por meio da Análise de Componentes Principais (ACP) (gráfico biplot). O software estatístico utilizado para realização de todos os testes foi o SAS 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2010).

### **6.3. Resultados**

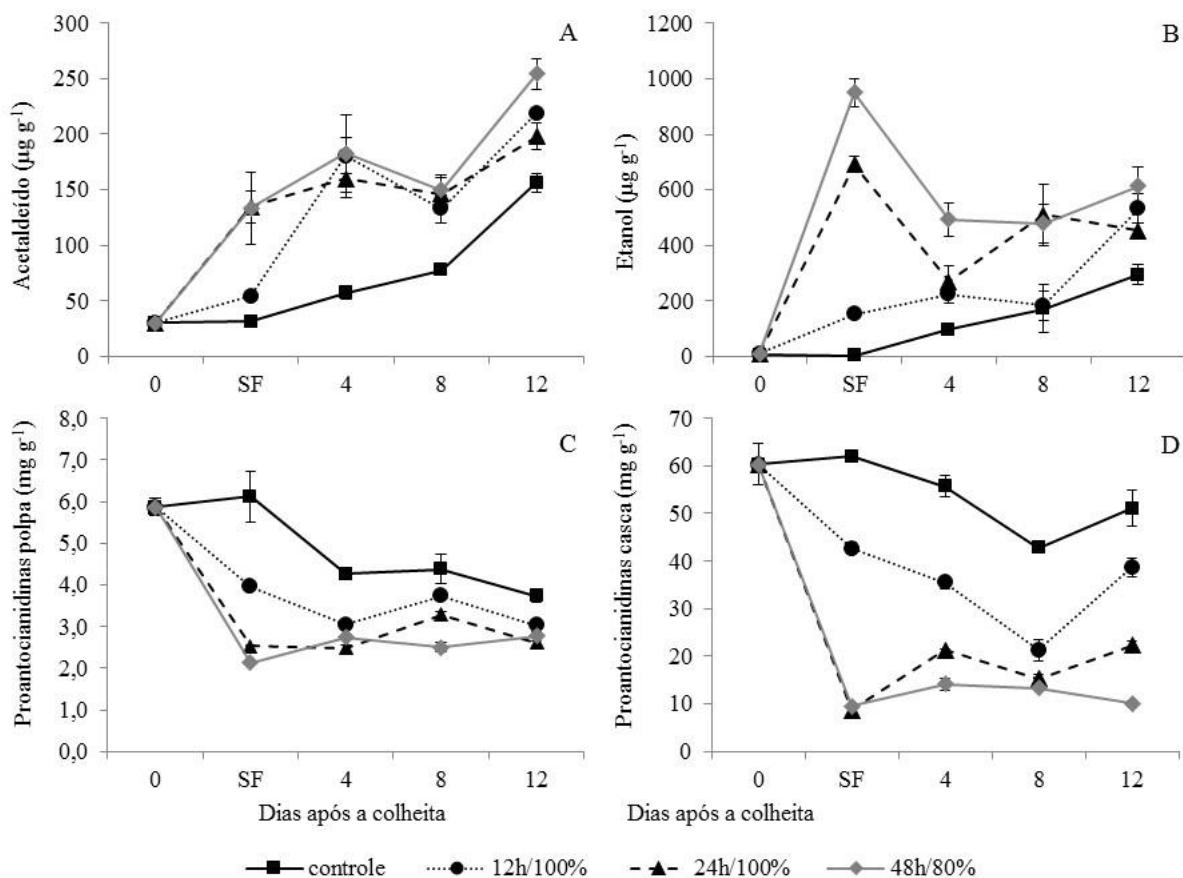
#### **6.3.1. Acetaldeído, etanol e proantocianidinas**

O uso do CO<sub>2</sub> alterou a produção de acetaldeído dos pedúnculos de caju durante o tempo em que foi aplicado e também nos dias seguintes à destanização (Figura 1A). No momento da saída do “flowboard” (SF), pedúnculos controle tinham o mesmo teor de acetaldeído do dia da colheita (dia 0), enquanto que os tratados por 12, 24 e 48 h tiveram aumento de 1,8, 4,5 e 4,4 vezes, respectivamente. Essa alta diferença inicial entre os pedúnculos controle e os tratados com 100% de CO<sub>2</sub> por 24 h e 80% por 48 h foi mantida ao longo do armazenamento e a diferença entre o controle e os tratados por 12 h aumentou a partir do dia 4, sendo que estes não mais diferiram daqueles tratados por 24 e 48 h. No último dia de análise, os pedúnculos controle tiveram aumento significativo desse composto volátil, não mais diferindo dos destanizados pelos dois menores tempos.

Como consequência da produção de acetaldeído, sua conversão em etanol sofreu influência das doses e tempos de exposição ao CO<sub>2</sub> (Figura 1B). Os três tratamentos que receberam altas doses de CO<sub>2</sub> aumentaram o teor de etanol da colheita para a SF, sendo que os pedúnculos tratados por 24 e 48 h atingiram os maiores valores de todo o período avaliado na SF e não diferiram entre si. Quando os pedúnculos destanizados voltaram à atmosfera ambiente, o teor de etanol daqueles tratados por 12 h foi mantido e o dos destanizados por 24 e 48 h foi reduzido, não mais havendo diferença entre esses três tratamentos. Os pedúnculos controle apresentaram aumento significativo apenas no dia 8 e não diferiram dos destanizados por 12 h na maioria dos dias após a colheita.

Os teores de proantocianidinas ou taninos reduziram em resposta aos tratamentos com CO<sub>2</sub>. Logo no momento da SF, os cajus submetidos à AC por 12, 24 e 48 h apresentaram redução de 32,6, 56,8 e 63,6% do teor de TAN\_P (Figura 1C) e 29,3, 85,6 e 84,3 % do teor de TAN\_C (Figura 1D), respectivamente. Outra resposta interessante foi que cajus destanizados por 24 e 48 h apresentaram os menores teores de taninos desde a SF, enquanto que os destanizados por 12 h só atingiram os menores valores de TAN\_P no dia 4 e de TAN\_C no dia 8. Os pedúnculos controle também apresentaram redução das proantocianidinas, mas essa redução não foi suficiente para destanizar os cajus uma vez que nos últimos dias de análise ainda apresentavam teor próximo a 4 mg g<sup>-1</sup> de polpa e 50 mg g<sup>-1</sup> de casca. Esses cajus estavam adstringentes, pois teor de taninos superior a 0,1% é perceptível e incomoda o paladar humano (Antoniolli *et al.*, 2000; Vídrigh *et al.*, 1994).

Ainda quanto às proantocianidinas, duas observações foram relevantes nesse estudo. A primeira está relacionada ao fato do teor de TAN\_C ter sido, em média, 9 vezes superior ao TAN\_P durante todo o período avaliado e, a segunda, a ressurgência dos TAN\_C dos cajus controles, destanizados por 12 e 24 h no último dia de análise. No entanto, mesmo com essa ressurgência, as respostas dessas variáveis indicaram eficácia da aplicação de CO<sub>2</sub> para redução da adstringência dos pedúnculos de caju, principalmente quando aplicado por 24 h a 100% e 48 h a 80%.



**Figura 1.** Teor de acetaldeído (A), etanol (B), proantocianidinas da polpa (C) e casca (D) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com dióxido de carbono, por diferentes tempos de exposição (h) e concentrações (%) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=3$ ). SF = saída do “flowboard”. Dados originais, transformação usadas para acetaldeído:  $x^{0,5}$ , etanol:  $x^{-1}$  e proantocianidinas polpa:  $\log(x)$

### 6.3.2. Compostos bioativos e atividade antioxidante

Os polifenóis são os principais compostos bioativos presentes nos pedúnculos de caju (Schulze-Kaysers *et al.*, 2015), sendo seu teor altamente influenciado por tratamentos pós-colheita. Entretanto, a destanização a partir do CO<sub>2</sub> não alterou o teor de FS da polpa nem das

quercetinas totais da casca dos pedúnculos, os quais apresentaram valores de FS variando entre 10,75 a 10,96 mg 100 g<sup>-1</sup> e de queracetinas, entre 67,13 e 69,22 mg 100 g<sup>-1</sup> (Tabela 1). Quanto ao período de armazenamento, pedúnculos dos quatro tratamentos tiveram aumento desses compostos da colheita para a SF, mas o teor de FS permaneceu constante a partir desse momento. O teor das queracetinas foi reduzido nos dias 8 e 12. Mesmo com essas reduções, o valor de queracetinas do último dia de análise foi superior ao do dia da colheita.

**Tabela 1.** Compostos bioativos e atributos físico de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com dióxido de carbono, por diferentes tempos de exposição (h) e concentrações (%) e armazenados a 5°C e 90% UR, por 12 dias.

Trat.	FS (mg 100g <sup>-1</sup> )	Querc (mg 100g <sup>-1</sup> )	Ant (mg 100g <sup>-1</sup> )	IC	PM (%)	IP	Firm (N)
<b>Tempo/CO<sup>2</sup></b>							
Controle	10,96 A	68,85 A	8,51 A	1,30 A	1,87 A	1,33 A	6,21 A
12 h/100%	10,94 A	69,07 A	8,11 AB	1,32 A	1,64 B	1,07 AB	6,80 A
24 h/100%	10,87 A	69,22 A	7,29 BC	1,07 B	1,63 B	0,73 BC	6,63 A
48 h/80%	10,75 A	67,13 A	7,04 C	1,01 B	1,86 A	0,47 C	6,57 A
<b>Dias após a colheita</b>							
0	10,38 b	57,43 c	5,69 d	0,57 c	0,00 e	0,00 c	8,60 a
SF	11,18 a	76,31 a	6,82 c	0,88 b	0,70 d	0,00 c	7,15 b
4	10,83 ab	81,16 a	9,77 a	1,31 a	1,38 c	0,58 c	6,67 b
8	10,93 a	64,17 b	8,38 b	1,49 a	3,06 b	1,42 b	4,84 c
12	11,08 a	63,75 b	8,03 b	1,51 a	3,61 a	2,50 a	5,52 c

SF= saída do “flowboard”, FS= Fenóis Solúveis, Querc= Quercetinas totais, Ant= Antocianinas totais, IC=Índice de cor, PM= Perda de massa, IP= Incidência podridão, Firm= Firmeza. Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si na aplicação de CO<sub>2</sub> e minúscula não difere entre si nos dias pelo teste de Tukey ( $P \geq 0,05$ ). \*Transformação usada para antocianinas: log(x), perda de massa:  $(x+0,375)^{0,5}$  e incidência podridão:  $(x+1)$

As antocianinas foram outros compostos bioativos da classe dos polifenois avaliadas nesse trabalho, mas, diferentemente dos anteriores, seu teor foi menor em pedúnculos destanizados com CO<sub>2</sub> (Tabela 1). Pedúnculos submetidos à AC por 24 e 48 h tiveram redução de 14,33 e 17,27%, respectivamente, quando comparados ao controle. Os pedúnculos destanizados por 12 h não diferiram do controle nem daqueles destanizados por 24 h. Todos os tratamentos aumentaram o teor desse pigmento do dia da colheita até o dia 4, reduziram no dia 8. Os valores ficaram constantes a partir de então.

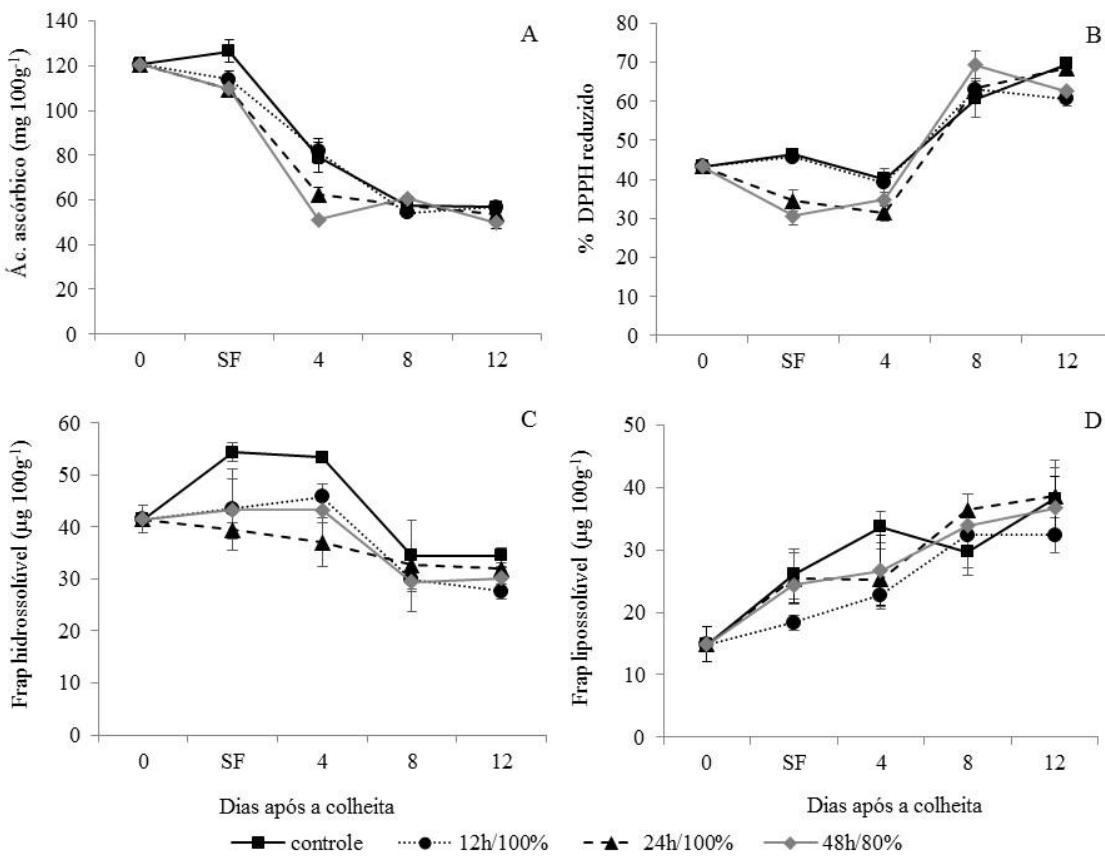
Outro importante composto bioativo dos pedúnculos de caju é o AA, responsável pelo elevado teor de vitamina C e seu consequente poder antioxidante (Assunção e Mercadante, 2003). De acordo com os resultados desse trabalho, a destanização com CO<sub>2</sub> resultou em menor teor do AA apenas no período de aplicação dos tratamentos e no dia 4 (Figura 2A). No dia da SF

pedúnculos controle tiveram valores acima de  $125 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , enquanto que os destanizados reduziram para valores médios de  $110 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , independentemente da dose e tempo de exposição ao CO<sub>2</sub>. No dia 4, todos os tratamentos tiveram redução desse composto, mas a redução foi maior para os destanizados por 24 e 48h, os quais não diferiram entre si e permaneceram com teores próximos a  $50 \text{ mg } g^{-1}$  até o fim do armazenamento. Pedúnculos controle e os destanizados por 12 h tiveram nova redução no dia 8 e não mais diferiram dos demais tratamentos.

Três diferentes métodos de avaliar a capacidade antioxidante foram estudados, a fim de verificar grande parte da atividade antioxidante dos pedúnculos de caju destanizados. A atividade indicada pelo sequestro do radical livre DPPH foi menor nos pedúnculos destanizados com CO<sub>2</sub> por 24 e 48 h apenas no dia da SF (Figura 2B). Nesse dia, estes tratamentos sofreram redução da % de DPPH enquanto os demais permaneceram estáveis. Do dia 4 em diante todos os pedúnculos apresentaram aumento da atividade do DPPH e não houve mais diferença entre os tratamentos. Quanto ao método do Frap\_hidr, houve diferença entre os pedúnculos controle e os destanizados, independentemente do tempo e concentração, apenas na SF e no dia 4 (Figura 2C). Pedúnculos destanizados permaneceram com valores próximos a  $40 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  até o dia 4, enquanto os do controle tiveram aumento, ultrapassando os  $50 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ . A partir desse dia, todos os tratamentos apresentaram redução da atividade antioxidante pelo método Frap\_hidro, não tendo mais diferença entre os tratamentos.

Diferentemente os métodos anteriores, a atividade antioxidante expressa pelo Frap\_lipo não diferiu em função da destanização com CO<sub>2</sub> (Figura 2D). Durante o tratamento e o armazenamento pedúnculos dos quatro tratamentos tiveram aumento dessa atividade, chegando ao último dia de análise com valores médios de  $35 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ .

Dessa forma, os resultados mostraram que as três doses e tempos de exposição ao CO<sub>2</sub> por meio da AC apenas reduziram o teor AA dos pedúnculos nos primeiros dias de armazenamento e que os dois maiores tempos de exposição também reduziram o teor de antocianinas. Como consequência, todos os pedúnculos destanizados tiveram redução do DPPH e do Frap\_hidr no início do armazenamento. Os demais compostos bioativos estudados e o Frap\_lipo não sofreram influência da destanização por CO<sub>2</sub>.



**Figura 2.** Teor de ácido ascórbico (A), captura do radical livre DPPH (B) e potencial antioxidante de redução do ferro na fração hidrossolúvel (C) e lipossolúvel (D) de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com dióxido de carbono, por diferentes tempos de exposição (h) e concentrações (%) e armazenados a 5°C e 90% UR por 12 dias. Barras verticais representam o erro padrão da média ( $n=3$ ). SF= saída do “flowboard”. Dados originais, transformação usadas para ácido ascórbico, DPPH e Frap\_hidro:  $\log(x)$

### 6.3.3. Coloração, perda de massa, incidência de podridão e firmeza

Os pedúnculos destanizados por 24 e 48 h de exposição ao CO<sub>2</sub> apresentaram os menores IC da casca, o que é um indicativo da permanência de faixas esverdeadas da casca durante todo o período de armazenamento (Tabela 1). O IC da casca dos pedúnculos destanizados por 12 h não diferiu do controle e ambos ficaram com a casca completamente vermelha. Embora tenha ocorrido essa diferença da coloração em função da destanização, todos os pedúnculos ganharam tons de vermelho da colheita até o dia 4 e chegaram no último dia de análise com o triplo do valor inicial do IC.

A PM dos pedúnculos também sofreu alteração em função da destanização, no entanto, apenas pedúnculos tratados com 80% de CO<sub>2</sub> por 48 h tiveram perdas semelhantes ao controle (Tabela 1). Os demais tratamentos tiveram menor PM, o que é importante para pós-colheita.

Quanto ao período de armazenamento, o aumento da PM ocorreu da colheita até o dia 12, embora os valores atingidos nesse dia estejam aquém do aceitável para esse período.

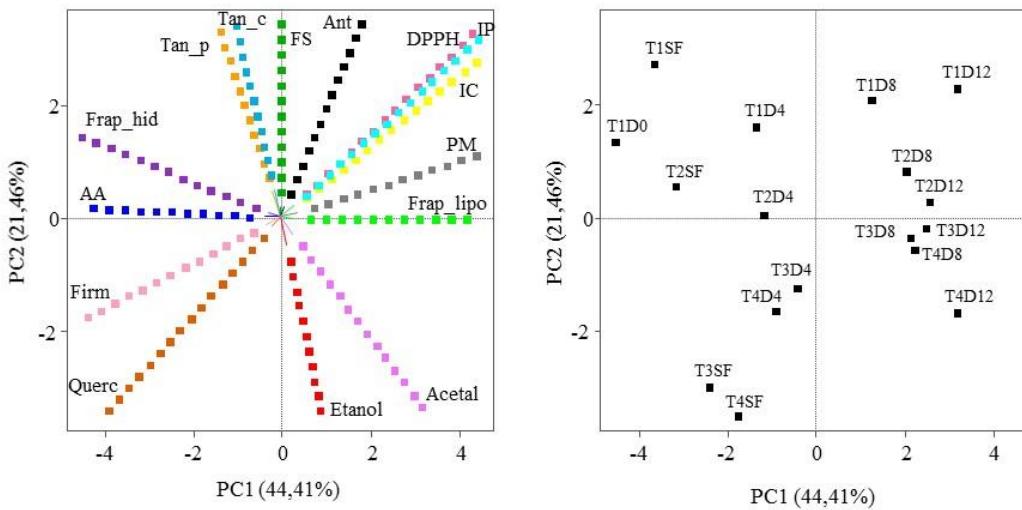
A IP dos pedúnculos também foi avaliada e indicou que a destanização nos dois maiores tempos de exposição, além de resolver o problema da adstringência, controlou o aumento da infestação por patógenos (Tabela 1). A IP desses pedúnculos indicou que de 1 a 5% da casca foi afetada por micélio aparente, enquanto os pedúnculos controle e os destanizados por 12 h tinham de 5-25% de infestação. Outro dado interessante foi que os primeiros sinais de podridão ocorreram a partir do dia 4, chegando no dia 12 com 25 a 50% da casca infestada, sendo, por esse motivo, considerados impróprios para o consumo e descartados.

A firmeza dos pedúnculos não foi afetada pela destanização com CO<sub>2</sub> e todos os cajus mantiveram valores médios acima de 6,00 N (Tabela 1). Do dia da colheita até o dia 8 todos os cajus perderam firmeza, chegando no último dia de análise com valores médios de 5,52 N, o que está adequado para um pedúnculo mantido sobre as condições desse experimento. Portanto, em função dos atributos físicos avaliados, o tratamento de 100% de CO<sub>2</sub> por 24 h foi o melhor, uma vez que manteve a coloração da casca por maior período, reduziu a PM e a IP e não alterou a firmeza dos pedúnculos.

#### **6.3.4. Análise multivariada**

A ACP do conjunto total dos dados foi representada pela projeção das variáveis (Figura 3A) e das observações (Figura 3B). Essa análise mostrou que duas componentes foram capazes de explicar 65,78% da variância total dos dados, sendo a primeira componente (CP1) capaz de explicar 44,41% da variância e a segunda (CP2) 21,46%. A CP1 foi caracterizada pelos atributos físicos e pela atividade antioxidante, representados pela PM, IC, IP, firmeza, DPPH e teor de AA. A CP2 foi caracterizada pelo teor de proantocianidinas (TAN\_C e TAN\_P) e pelo etanol.

A interpretação dessas análises demonstrou que a CP1 separou as observações em função dos dias, uma vez que o dia da colheita (D0), da SF e o dia 4 (D4) ficaram alocados a esquerda do gráfico e os dias 8 (D8) e 12 (D12) à direita. A CP2 separou as observações em função dos tratamentos, sendo que pedúnculos controle (T1) e os destanizados com por 12h (T2) ficaram alocados acima do eixo e os destanizados por maior tempo (T3 e T4) foram alocados abaixo. Essas distribuições significam, por exemplo, que as observações T1 e T2 dos primeiros dias após a colheita, estão mais adstringentes, com os melhores atributos físicos e com maior atividade antioxidante. Por sua vez, as observações T3 e T4 estavam menos adstringentes em qualquer dia e tiveram os menores atributos físicos e antioxidantes apenas na SF.



**Figura 3.** Análise de Componentes Principais utilizando as variáveis analisadas (A) e as observações (B) realizadas nos pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com dióxido de carbono, por diferentes tempos de exposição (h) e concentrações (%) e armazenamento a 5°C e 90% UR, por 12 dias. (A) Variáveis: FS: fenóis solúveis, Ant: antocianinas, DPPH: captura do radical livre DPPH, IP: incidência de podridão, IC: índice de cor, PM: perda de massa fresca, Frap\_lipo: potencial antioxidante de redução do ferro fração lipossolúvel, Acetal: acetaldeído, Querc: quercetinas, Firm: firmeza, AA: ácido ascórbico, Frap\_hid: potencial antioxidante de redução do ferro fração hidrolúvel, TAN\_P: proantocianidinas da polpa e TAN\_C: proantocianidinas da casca. (B) Observações: T1: 0,03% de CO<sub>2</sub> por 12 h, T2: 100% de CO<sub>2</sub> por 12 h, T3: 100% de CO<sub>2</sub> por 24 h, T4: 80% de CO<sub>2</sub> por 48 h, D: dia da análise. SF: saída do “flowboard”.

Outro resultado obtido a partir da ACP foi a correlação entre as variáveis. Observamos que TAN\_P, TAN\_C e FS foram altamente dependentes e correlacionados, enquanto etanol e acetaldeído, também dependentes entre si, foram inversamente proporcionais aos anteriores, indicando mais uma vez que o aumento desses gases reduziu o teor dos taninos e, consequentemente, a adstringência dos pedúnculos. Ainda quanto ao etanol e acetaldeído, a ACP também demonstrou que o aumento do teor desses gases não prejudicou a firmeza nem a PM dos pedúnculos, uma vez que formou ângulos próximos a 90° entre essas variáveis.

Outras correlações de dependência indicadas pela ACP e que ajudam a explicar os resultados desse trabalho foram entre AA e Frap\_hidro e entre DPPH, IP e IC. Uma correlação inversamente proporcional que também complementa os resultados das análises univariadas foi entre firmeza e PM. Dessa forma, os resultados da análise multivariada indicaram que as doses 100% por 24 h e 80% de CO<sub>2</sub> por 48 h são as mais indicadas para remoção da adstringência dos pedúnculos de caju, que houve redução de atributos físico e nutricionais apenas durante a aplicação dos tratamentos, ou seja, na análise feita na SF, e que a maioria dos atributos avaliados não foram alterados pela destanização.

#### 6.4. Discussão

A aplicação do CO<sub>2</sub> nos tempos e doses testados nesse trabalho conseguiu induzir a respiração anaeróbica, reduzir o teor de proantocianidinas e, com isso, a adstringência dos pedúnculos de caju. A ocorrência da anaerobiose é sustentada pelo aumento do teor de acetaldeído dos cajus tratados com altas doses de CO<sub>2</sub> logo no momento em que saíram do “flowboard”, pois, como provado por outros trabalhos, o acetaldeído é um composto volátil resultante da descarboxilase do ácido pirúvico em condições de ausência de oxigênio (Matsuo *et al.*, 1991; Pesis, 2005). A redução da adstringência é provada pela drástica redução das proantocianidinas da polpa e da casca, pela correlação entre os taninos e o acetaldeído na ACP e pelo comportamento do acetaldeído durante o período analisado. Acetaldeído é o composto que polimeriza os taninos e forma um produto insolúvel e incapaz de reagir com as proteínas da saliva bucal (Benarie e Sonego, 1993; Matsuo e Itoo, 1982). Acreditamos que mesmo o caju não sendo um fruto verdadeiro, também ocorreu polimerização dos taninos pelo acetaldeído e que para o pedúnculo é necessário um período de 24 h com 100% de CO<sub>2</sub> ou 48 h com 80% de CO<sub>2</sub> para redução imediata da adstringência.

Como mostrado, a redução do teor de proantocianidinas dos cajus do controle não foi suficiente para resultar na destanização, uma vez que a sensação de adstringência não é sentida pela mordida humana quando a concentração de proantocianidinas é inferior a 1 mg g<sup>-1</sup> de polpa (Yamada *et al.*, 2002). Possivelmente, essa redução natural dos taninos esteja atrelada a dois fatores, o primeiro foi o aumento do teor de acetaldeído no fim do armazenamento desses pedúnculos. De acordo com Pesis (2005), a produção desse volátil ocorre durante o desenvolvimento dos frutos, independentemente de serem expostos à condições forçadas de anaerobiose, mas em menor escala, fato que foi verificado nesse trabalho. O segundo fator se deve à degradação ou descompartimentalização da parede celular, a qual ocorre com a senescência dos cajus. Esses processos expõem os taninos à outros compostos, como proteínas e açúcares, os quais reagem de forma não covalente, aumentando o tamanho da molécula e tornando-a incapaz de reagir com as proteínas da saliva bucal (Edagi e Kluge, 2009; Taira *et al.*, 1998). No entanto, esses processos são ineficazes e inviáveis para destanização ao nível comercial.

Esse segundo motivo de redução do teor de proantocianidinas pode estar relacionado com o reaparecimento da adstringência, como observado nos TAN\_C dos cajus controle e tratados por 12 e 24 h, no último dia de análise. O reaparecimento da adstringência também foi observado por algumas cultivares de caqui quando destanizados a partir da exposição ao CO<sub>2</sub>.

(Edagi *et al.*, 2006; Itamura e Fukushima, 1989). Não se sabe ao certo o motivo da ressurgência, mas acredita-se que as ligações entre os taninos e os compostos polimerizadores sejam facilmente rompidas em função da inexistência de enzimas para tal reação, de modo que algumas condições celulares, como mudança de temperatura e pH, facilitem a hidrólise ou ressolubilização do polímero (Benarie e Sonego, 1993). Essas mudanças podem ter acontecido nos pedúnculos desse experimento.

A aplicação do CO<sub>2</sub>, e a consequente indução da respiração anaeróbica, também induziu o aumento da produção de etanol, contudo, os resultados obtidos estão de acordo com o esperado, uma vez que o acetaldeído, por ser tóxico à célula, foi convertido em etanol. Este álcool é considerado o produto final da respiração a anaeróbica dos frutos (Hribar *et al.*, 2000), mas só resulta em sensação de produto deteriorado, ou fermentado, quando atinge valor superior a 75 mg 100 mL<sup>-1</sup> (Ben-Arie *et al.*, 1991). Mesmo os pedúnculos destanizados por 24 ou 48 h não atingiram tais valores e, portanto, não fermentaram.

Grande parte do apelo ao consumo *in natura* dos pedúnculos de caju está relacionado ao seu alto valor nutricional (Queiroz *et al.*, 2011), de forma que a remoção da adstringência não deve resultar em maiores perdas desse atributo pós-colheita. Dentre os cinco compostos bioativos avaliados, apenas as antocianinas da casca e o AA da polpa foram alterados pela destanização. As antocianinas são compostos fenólicos com atividade antioxidante e os principais pigmentos de coloração vermelha dos cajus (Figueiredo *et al.*, 2002). Assim como os taninos, pertencem à classe dos flavonoides, sendo formadas pelas unidades de antocianidinas (Agostini-Costa *et al.*, 2000; Figueiredo *et al.*, 2002; Robards e Antolovich, 1997). De acordo com nossos resultados, seu teor esteve relacionado com o teor dos taninos, de forma que um dos fatores resultante em sua menor quantidade nos cajus destanizados pode ter sido o maior acúmulo de acetaldeído e etanol, os quais devem ter degradado o pigmento, assim como degradaram os taninos. Outro fator que pode ter levado ao menor teor das antocianinas foi o acúmulo do CO<sub>2</sub>, pois ao reduzir a atividade metabólica desses pedúnculos, a síntese de novas moléculas foi reduzida. Morangos tratados com altas doses de CO<sub>2</sub> apresentaram menor coloração, o que foi atribuído a menor síntese de antocianinas também em função da redução do seu metabolismo (Cunha *et al.*, 2012).

Quanto ao AA, duas hipóteses foram encontradas para redução do seu teor, quando frutos são submetidos às altas concentrações de CO<sub>2</sub> (Cunha *et al.*, 2012). A primeira está relacionada à sua oxidação em ácido 2,3 diceto-glucônico, que é uma reação estimulada por altas doses de CO<sub>2</sub> (Agar *et al.*, 1997) e a segunda, com a inibição das enzimas mono e dehidroascobatoredutase, além dos doadores de elétrons NADP e NADPH, que juntos são os

responsáveis pela biossíntese do AA (Hausladen e Kunert, 1990). Acreditamos que esses fatores também podem ser ocorrido nos pedúnculos de caju. No entanto, quando eles voltaram à condição ambiente de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, a biossíntese do referido composto se reestabeleceu.

Em função das reduções sofridas pelos compostos bioativos dos cajus, também observamos redução da capacidade antioxidante dos pedúnculos destanizados, a qual ocorreu apenas no dia da SF e no dia 4. Acreditamos que o comportamento do DPPH esteja vinculado ao teor das antocininas e o do Frap\_hidr ao AA, uma vez que tiveram as mesmas tendências e alta correlação na ACP. Queiroz *et al.* (2011) também encontraram relação do DPPH e FRAP com os fenóis e AA em pedúnculos de caju. Assim, a remoção da adstringência dos cajus a partir da aplicação do CO<sub>2</sub> reduz sua capacidade antioxidante, em pequena porcentagem, apenas durante os períodos do tratamento e nos poucos dias seguintes. Na maior parte do período de armazenamento, os pedúnculos continuam fornecendo altos benefícios à saúde, devendo ser indicados para o consumo *in natura* como fonte natural de antioxidante.

Com relação aos atributos físicos avaliados, observamos que a aplicação de CO<sub>2</sub>, nos tempos e doses testados, não resultou em perdas da qualitativa pós-colheita. Ao contrário, os dois melhores tratamentos, ou seja, 24 h com 100% de CO<sub>2</sub> ou 48 h com 80% de CO<sub>2</sub>, reduziram a respiração aeróbica e o metabolismo dos pedúnculos, o que deve ter reduzido a degradação da clorofila e a síntese de antocianinas, resultando nos menores IC da casca. A manutenção do menor IC é vantajosa, uma vez que é típico do caju clone CCP-76 apresentar faixas esverdeadas quando recém-colhidos ou com poucos dias após a colheita e completamente laranja-vermelhados quando completamente maduros e senescentes (Alves *et al.*, 1999; Lopes *et al.*, 2011). Além disso, não houve formação de manchas marrom na casca ou polpa, como observado em caquis (Edagi e Kluge, 2009; Salvador *et al.*, 2007), nem a ocorrência de outras alterações indesejáveis.

A redução do metabolismo também deve ter sido o motivo da redução da PM dos pedúnculos destanizados por 12 e 24 h, uma vez que os principais fatores que levam à PM são a respiração e transpiração (Chitarra e Chitarra, 2005). Pedúnculos mantidos por 48 h a 80% de CO<sub>2</sub>, possivelmente, tiveram a mesma porcentagem de PM dos pedúnculos do controle em função do alto tempo de exposição ao fluxo de gases, o qual mesmo sendo umidificado deve ter aumentado a perda do vapor de água da superfície dos pedúnculos.

A destanização feita nos dois maiores tempos de exposição ao CO<sub>2</sub> também trouxe como vantagem a redução da IP. Resultados semelhantes foram observados em laranjas (Pesis e Avissar, 1988) e morangos (Simpson *et al.*, 2003) tratados com altas concentrações de CO<sub>2</sub>. O efeito fungistático do CO<sub>2</sub> se deve ao aumento do teor de acetaldeído, que aumenta a resistência

dos frutos por propiciar a síntese de compostos antifúngicos, como o monoterpeno ácido mevalônico (Pesis, 2005).

Dessa forma, observamos que a aplicação de CO<sub>2</sub> nas doses 100% por 24 h e 80% por 48% resultam na destanização imediata dos pedúnculos de caju sem promover a fermentação, perda de firmeza, ocorrência de manchas na casca ou perdas do teor de fenóis e quercetinas. Em adição, a dose de 100% por 24 h reduz a PM e a IP, sendo a mais indicada. Pedúnculos destanizados nesta dose e tempo continuam com alto valor nutricional na maior parte da sua vida útil.

## REFERÊNCIAS

- AGAR, I. T.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Effect of high CO<sub>2</sub> and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. *Postharvest Biology and Technology*, v. 11, n. 1, p. 47-55, May 1997..
- AGOSTINI-COSTA, T. D. S. et al. Caracterização, por cromatografia em camada delgada, dos compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale L.*). *Boletim CEPPA*. Curitiba. 18: 129-137 p. 2000.
- ALVES, R. E. et al. Development and maturation of the apple of early dwarf cashew tree CCP-76. In: MICHALEZUK, L. (Ed.). *International Symposium on Effect of Preharvest and Postharvest Factors on Storage of Fruit*. Leuven 1: International Society Horticultural Science, 1999. p.25-30. (Acta Horticulturae).
- ANTONIOLLI, L. R. et al. Astringency removal of 'Giombo' persimmon fruit in different exposure periods to ethyl alcohol vapor. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, Oct 2000.
- ARNAL, L.; DEL RIO, 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, May 2003.
- ARON, P. M.; KENNEDY, J. A. Flava-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Molecular, Nutrion and Food Research*. Weinheim. 52 2008.
- ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale L.*): variety and geographic effects. *Food Chemistry*, v. 81, n. 4, p. 495-502, 2003.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. *Alimentos e Nutrição*. Araraquara. 15: 63-72 p. 2004.
- 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.
- BENARIE, R.; SONEGO, L. TEMPERATURE AFFECTS ASTRINGENCY REMOVAL AND RECURRENCE IN PERSIMMON. *Journal of Food Science*, v. 58, n. 6, p. 1397-1400, Nov-Dec 1993.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, v. 239, n. 1, p. 70-76, Jul 15 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, // 1995.

- CALBO, A. G. Adaptation of a flowboard for gas-exchange studies and a method for capillary calibration. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 24, n. 6, p. 733-739, Jun 1989.
- CAMPOS, D. C. P. et al. Cashew apple juice stabilization by microfiltration. **Desalination**. v.148, p.61-65, 2002.
- CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises químicas de alimentos**. Campinas 1990.
- CERQUEIRA, T. S. et al. Flowboard for postharvest gas mixtures applications to fruits and vegetables without waste of gas. **INTERNATIONAL CONTROLLED AND MODIFIED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE**, 2009, Analya. p.56-56.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785.
- CUNHA, L. C. et al. Cold storage of strawberries under high CO<sub>2</sub> concentrations. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 688-694, Oct-Dec 2012.
- DAVIS, P. L.; CHACE JÚNIOR, W. G. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. **HortScience**, v. 4, p. 117-119, 1969.
- DE BRITO, E. S. et al. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1112-1118, // 2007.
- EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui: um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 585-594, 2009.
- EDAGI, F. K. et al. Recorrência de adstringência em frutos de caqui cv. Rama-Forte destanizados com dióxido de carbono. **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP**. Piracicaba, SP. 14 2006.
- FIGUEIREDO, R. W. et al. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v. 77, n. 3, p. 343-347, Jun 2002.
- HAUSLADEN, A.; KUNERT, K. J. Effects of artificially enhanced levels of ascorbate and glutathione on the enzymes monodehydroascorbate reductase, dehydroascorbate reductase, and glutathione-reductase in spinach (*Spinacia oleracea*). **Physiologia Plantarum**, v. 79, n. 2, p. 384-388, Jun 1990.
- 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, Jun 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.
- JAYALEKSHMY, V. G.; JOHN, P. S. 'Sago' - a natural product for cashew apple juice clarification. **Journal of Tropical Agriculture**.v.42, p. 67-68, 2004.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.
- LOPES, M. M. A. et al. Caracterização física de pedúnculos de clones de cajueiro anão precoce em diferentes estádios de maturação. **Revista Ciência Agronômica**. Fortaleza. 42: 914-920 p. 2011.
- MATSUO, T.; ITOO, S. a model experiment for de-astringency of persimmon fruit with high-carbon dioxide treatment - invitro gelation of kaki-tannin by reacting with acetaldehyde. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 683-689, 1982 1982.

MATSUO, T.; ITOO, S.; BEN-ARIE, R. A model experiment for elucidating the mechanism of astringency removal in persimmon fruit using respiration inhibitors. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**. v.60, p.437-442, 1991.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L. et al. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 989-995, Jun 2009.

NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. **Journal of Health Science**, v. 49, n. 1, p. 45-54, Feb 2003.

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, n. 1, p. 1-19, Jul 2005.

PESIS, E.; AVIASSAR, I. Effect of acetaldehyde vapors or anaerobic conditions prior to storage on postharvest quality of citrus fruits. In: GOREN, N., **Proceedings of the Sixth International Citrus Conference**, 1988, Tel Aviv, Israel. p.1393-1399.

PESIS, E.; BENARIE, R. Carbon-dioxide assimilation during postharvest removal of astringency from persimmon fruit. **Physiologia Plantarum**, v. 67, n. 4, p. 644-648, Aug 1986.

QUEIROZ, C. et al. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1459-1462, 2011.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids - A review. **Analyst**, v. 122, n. 2, p. R11-R34, Feb 1997.

RUFINO, M. D. M. et al. Acerola and cashew apple as sources of antioxidants and dietary fibre. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 11, p. 2227-2233, Nov 2010.

SALVADOR, A. et al. Effect of Ozone on Postharvest Quality of Persimmon. **Journal of food science**. v.71, n.6, p. 443-446, 2006.

\_\_\_\_\_. Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante'. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, n. 2, p. 181-188, Nov 2007.

SCHULZE-KAYSERS, N.; FEUEREISEN, M. M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family - a review. **Rsc Advances**, v. 5, n. 89, p. 73301-73314, 2015.

SEVERO, J. et al. Detannization and conservation of Jambolan fruit. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 4, p. 976-982, 2010 2010.

SIMPSON, T.; BIKOBA, V.; MITCHAM, E. J. Effects of acetaldehyde on fruit quality and target pest mortality for harvested strawberries. **Postharvest Biology and Technology**. 28: 405-416 p. 2003.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants, Pt A**, v. 299, p. 152-178, 1999 1999.

TAIRA, S.; ONO, M.; OTSUKI, M. Effects of freezing rate on astringency reduction in persimmon during and after thawing. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, n. 3, p. 317-324, 11/9/ 1998.

TALASILA, U.; VECHALAPU, R. R.; SHAIK, K. B. Clarification, preservation, and shelf life evaluation of cashew apple juice. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 709-714, Jun 2012.

TALASILA, U.; VECHALAPUA, R. R.; SHAIKB, K. B. Preservation and Shelf life Extension of Cashew Apple Juice. *Internet Journal of Food Safety*. v.13, p. 275-280, 2011.

TESSMER, M. A.; KLUGE, R. A.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. The accumulation of tannins during the development of 'Giombo' and 'Fuyu' persimmon fruits. *Scientia Horticulturae*, v. 172, p. 292-299, 6/9/2014.

VIDRIH, R. et al. Astringency removal by high CO<sub>2</sub> treatment in persimmon fruit (*Diospyros kaki*). *International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops, Vols I and II*, n. 368, p. 652-656, 1994.

VINSON, J. A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, Nov 2001.

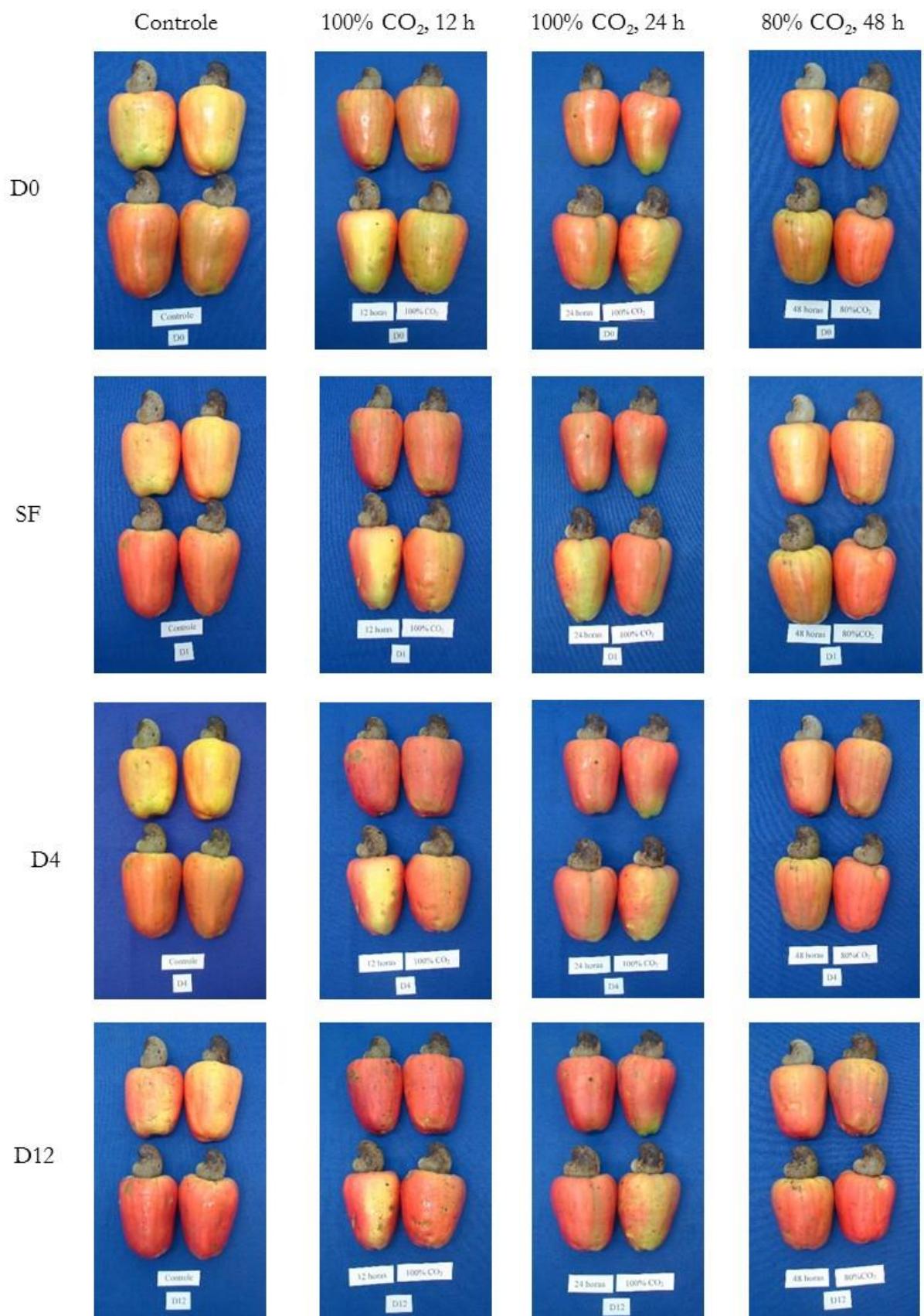
YAMADA, M. et al. Varietal differences in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among oriental astringent persimmons of Japanese and Chinese origin. *Scientia Horticulturae*. 94: 63-82 p. 2002.

## Anexos

**Tabela 2.** Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento (dia), dose e período de exposição ao CO<sub>2</sub> e interação destes sobre os aspectos qualitativos de pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 armazenados a 5°C e 90% de UR, por 12 dias.

Variável	Dia	Trat	Dia x trat	C.V. (%)
Firmeza (N)	*	ns	ns	14,69
Perda de massa (%)	*	*	ns	4,41
Ácido ascórbico (mg 100g <sup>-1</sup> )	*	*	*	1,94
Índice cor epiderme	*	*	ns	19,74
Acetaldeido (μg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	10,22
Etanol (μg g <sup>-1</sup> )	*	*	*	16,72
Proantocianidina polpa (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	6,48
Proantocianidina epiderme (mg 100 g <sup>-1</sup> )	*	*	*	2,73
Polifenois solúveis (mg 100 g <sup>-1</sup> polpa)	*	ns	ns	4,14
Polifenois hidrolisável (mg 100 g <sup>-1</sup> polpa)	*	ns	*	22,66
Antocianinas (mg 100g <sup>-1</sup> )	*	*	ns	5,10
Quercetinas (mg 100g <sup>-1</sup> )	*	ns	ns	7,88
DPPH reduzido (%)	*	*	*	2,20
FRAP hidrossolúvel (μg g <sup>-1</sup> )	*	ns	ns	5,25
FRAP lipossolúvel (μg g <sup>-1</sup> )	*	ns	ns	26,41
Incidência podridão	*	*	ns	28,01

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. \*: P ≤ 0,05; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação.



**Figura 4.** Pedúnculos de caju anão-precoce clone CCP-76 destanizados com dióxido de carbono, por diferentes tempos de exposição (h) e concentrações (%) e armazenamento a 5°C e 90% UR, por 12 dias.