

NOTA

NOVO PROCESSO DE AVALIAÇÃO DA ADSTRINGÊNCIA DOS FRUTOS NO MELHORAMENTO DO CAQUIZEIRO ⁽¹⁾

FERNANDO ANTONIO CAMPO-DALL'ORTO^(2,4), MÁRIO OJIMA^(2,4),
WILSON BARBOSA^(2,4) e MARCO ANTONIO TEIXEIRA ZULLO^(3,4)

RESUMO

Nos trabalhos de melhoramento do caqui no Instituto Agronômico, é fato comum defrontar-se com grande número de frutos para serem analisados, de diferentes amostras colhidas no estágio de maturação comercial (de vez). Todas as amostras têm que passar por prova gustativa, ao lado de análises dos parâmetros de qualidade, como as do °Brix e do pH, eis que envolvem diferentes tipos de caqui - desde os fortemente adstringentes (taninosos) até os praticamente desprovidos de tanino (doces). Nesse particular, pode-se aquilatar a dificuldade para o melhorista realizar tais testes, pois um grupo de caquis taninosos mascara o paladar de duas ou três amostras subseqüentes. Daí a necessidade de desenvolver um processo de análise indireta, a exemplo do presente, que consiste no tratamento da polpa dos frutos com a solução de cloreto férrico. A reação de coloração "achocolatada", em diferentes tonalidades, indica o grau de tanino que encerra, permitindo efetuar a tipificação preliminar dos caquis, sem a necessidade de degustação.

Termos de indexação: *Diospyros kaki* L.f., melhoramento, tipos varietais, processo de análise, tanino, cloreto férrico.

ABSTRACT

NEW ANALYTIC PROCESS FOR PERSIMMON ASTRINGENCY DETERMINATION

In IAC persimmon breeding program there is usually the need of analysing hundreds of fruit samples coming from different hybrid plants, aiming at the selection of the best genetic materials. Fruits are usually harvested unripe and classified as to the astringency level in tasting tests: constant "shibugaki", variable "shibugaki"/"amagaki" and absence of astringency "amagaki". As misleading results have been

⁽¹⁾ Trabalho desenvolvido dentro do projeto: Melhoramento genético e cultural do caquizeiro (IAC - CPA). Recebido para publicação em 6 de dezembro de 1995 e aceito em 19 de agosto de 1996.

⁽²⁾ Seção de Fruticultura de Clima Temperado, Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP).

⁽³⁾ Seção de Fitoquímica, IAC.

⁽⁴⁾ Com bolsa de pesquisa do CNPq.

obtained in tasting tests, an indirect procedure has been proposed to evaluate tannin levels in persimmon flesh. It is based on a color scale (dark blue/dark gray - astringent type; brown - variable astringency, and light gray - absence of astringency), detected after the application of 0.1 N iron chloride solution on persimmon flesh. The new method has shown good precision, allowing determination of a great number of samples in a short period of time.

Index terms: *Diospyros kaki* L.f., breeding program, analytic process, tannin determination, iron chloride.

Entre as frutíferas de características climáticas temperado-subtropicais no Estado de São Paulo, o caquizeiro é uma das de maior importância econômica atual, ao lado de culturas como a de pessegueiro, figueira e videira. Com cerca de 700 mil pés em cultivo comercial e uma produção estimada em 40 mil toneladas, apresenta como principais regiões produtoras áreas próximas ou pertencentes aos municípios de Mogi das Cruzes, Jundiaí, Campinas e Atibaia, além de outras novas, no Sudoeste e Oeste paulista.

Esse fato conduz São Paulo à liderança entre os Estados brasileiros produtores de caquis, e em posição de destaque perante os países líderes na produção dessa fruta, como o Japão (290 mil toneladas), China, Itália, Nova Zelândia, África do Sul e Israel. Nesse particular, não é por acaso que as instituições mais renomadas, que lideram o melhoramento dessa espécie frutífera, se localizem exatamente nesses países - Instituto Agrônomo (1980); Kitagawa & Glucina (1984); Rigitano et al. (1984); Campo-Dall'Orto et al. (1989); Ojima et al. (1993); Yamada (1994).

Os protocolos e as observações indispensáveis no processo de melhoramento do caquizeiro, são feitos, anotando-se as produções individuais das plantas e analisando-se os frutos, em detalhes, no laboratório, logo após colhidos. Caracterizam-se o tipo do fruto, a qualidade da polpa e a presença de sementes.

Dependendo do teor de tanino e da presença ou não da coloração chocolate na polpa, próximo às sementes, são classificados, nas condições brasileiras, entre os três diferentes tipos básicos: taninoso ("shibugaki"), variável ("variant shibugaki" ou "variant amagaki") e doce ("amagaki") (Rigitano,

1966; Ojima & Campo-Dall'Orto, 1974; Campo-Dall'Orto et al. 1995) ⁽⁵⁾.

A literatura japonesa especializada no assunto caracteriza os tipos de caquis mais taninosos e de polpa mole como de origem chinesa; os de origem japonesa são mais firmes e perdem a adstringência mais facilmente no ponto de maturação. Essa adstringência é causada por taninos solúveis em água, liberados por células especializadas, dispersas na polpa dos frutos. Esclarece que, em determinados cultivares, dependendo do efeito da polinização na produção de sementes, estas exsudam acetaldeído e etanol, que produzem a condensação, a insolubilização ou a oxidação dos taninos, causando escurecimento da coloração da polpa. Os pesquisadores japoneses adotam, ainda, a classificação de quatro grupos ou tipos de caquis, dependendo da coloração da polpa e da adstringência dos frutos, condicionada pela presença de sementes: PCA = "pollination constant astringent"; PVA = "pol. variant astrin."; PCNA = "pol. con.non.astrin.", e PVNA = "pol. vari. non astrin." - Ojima, 1965; Yamada, 1994.

Quanto à caracterização dos taninos de origem vegetal, definem-se, atualmente, duas classes: os hidrolisáveis ou de pirogalol e os condensáveis ou de catecol. Para dificultar ainda mais essa caracterização, sabe-se que esses dois tipos de tanino dão reações pouco distintas com os diferentes sais de ferro, dado que, em solução indicadora, apresentam apenas

⁽⁵⁾ CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; OJIMA, M.; BARBOSA, W.; CAMARGO, C.E. de O.; CHIAVEGATO, E.J.; NAGAI, H.; GODOY, I.J. de; FAZUOLI, L.C.; VEIGA, R.F. de A.; CARBONELL, S.A.M. & SIQUEIRA, W.J. *Descritores mínimos para o registro institucional de cultivares: caqui*. Campinas, Documentos IAC. (No prelo)

algumas nuances de coloração, que variam da negro-esverdeada à negro-purpúrea ou azulada (Fisher & Freudenberg, citados por Kirk & Othmer, s.d.). No caso das variedades de caquis cultivadas nas condições paulistas, de diferentes origens, por analogia, podem coexistir os dois tipos, ou isoladamente, cada uma dessas classes de tanino referidas.

A caracterização dos frutos, nos trabalhos do Instituto Agrônomo, é feita mediante degustação da polpa de amostras, logo após trazidas do campo experimental. Nesse procedimento, a prova de um lote de frutos adstringentes, com elevados teores de taninos, dificulta a sensação de paladar das próximas amostras a serem analisadas, principalmente se envolver caquis com sutis gradações de tanino, dos grupos variável ou doce.

Com a finalidade de facilitar e simplificar essa caracterização no processo de melhoramento e de seleção de caquis, desenvolveu-se o método a seguir exposto, com base em rápido e prático processo de análise qualitativa, ou seja, na reação de oxidação e/ou de precipitação dos taninos por meio da solução aquosa de cloreto férrico - FeCl_3 (Brasil, 1959).

Material e Métodos

Os 28 cultivares de caquizeiro pesquisados estão relacionados no quadro 1, discriminando-os de acordo com a adstringência dos frutos: taninoso ou adstringente ("shibugaki") - apresentando ou não sementes; variável ("variant shibugaki" ou "variant amagaki") - apresentando polpa chocolate com a presença de sementes ou polpa adstringente e amarelada sem as sementes; e doce ou não adstringente ("amagaki") - com ou sem sementes, pela classificação adotada por Rigitano (1966), Ojima & Campo-Dall'Orto (1974), Ojima et al. (1976, 1989 e 1993) e Campo-Dall'Orto et al. (1991, 1995).

No estudo proposto, colheram-se cerca de 30 frutos, dentro do padrão exigido de cada variedade, nos seguintes estádios de maturação: (a) verdes, porém bem desenvolvidos; (b) de vez, no ponto de colheita comercial; (c) praticamente maduros. Os testes foram realizados no laboratório, durante as safras de 1993, 1994 e 1995, e os frutos colhidos de plantas bem

identificadas e submetidas aos tratamentos culturais de rotina (Ojima et al., 1985, 1987).

Nas determinações qualitativo-indicadoras de taninos, empregou-se a solução aquosa de cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 0,1\text{N}$) preparada no momento das análises, dissolvendo-se 0,901 g do sal em 100 mL de água bidestilada. Essa concentração foi considerada como a mais adequada, nas predeterminações feitas à adoção desse procedimento.

Os frutos foram cortados transversalmente em duas partes: logo a seguir, uma se destinou à prova gustativa e, a outra, à contraprova idealizada com a da solução indicadora, constatando-se ou não a reação imediata dos taninos com o produto, pela observação visual. Nos protocolos, as reações mais notáveis na polpa dos frutos foram apontadas pelo símbolo +++; as pouco menos notáveis, por ++; as bem pouco evidentes, por + e, as não detectáveis, por 0. Pela gradação dos teores de tanino entre os cultivares, inclusive dentro de um mesmo tipo de fruto, detectável tanto pelo paladar como pela variação de tonalidade na cor da reação com o cloreto férrico, inseriram-se, para melhor discriminação, os seguintes símbolos de transição, em ordem crescente: 0(+); +(-); +(+) ; ++(-); ++(+); +++(-) e +++(+). A esse propósito, visando à maior precisão na determinação das diferentes tonalidades observadas nas reações dos taninos com o cloreto férrico, utilizou-se como ferramenta visual auxiliar o dicionário de cores de Maerz & Rea Paul (1930).

Resultados e Discussão

Os resultados analíticos da caracterização de presença de taninos nos 28 cultivares, referentes aos três tipos básicos de caquis - taninoso, variável e não taninoso - encontram-se sumariados no quadro 1. Em todo o material pesquisado, no estádio de maturação ainda verde, o uso da solução indicadora de cloreto férrico conduziu às reações imediatas, bem visíveis, de oxidação ou de precipitação de taninos, na polpa dos caquis ainda adstringentes. Nos cultivares do tipo não taninoso, no estádio de vez, e nos três tipos, com os frutos maduros, inclusive nos bem destanzados artificialmente, com vinagre ou álcool (Rigitano, 1966), não se detectou reação

Quadro 1. Caracterização dos frutos de cultivares de caqui: classificação usual quanto ao tipo e à reação de taninos na polpa, com a solução indicadora de cloreto férrico em três estádios de maturação

Tipo de fruto (¹)	Reação do tanino na polpa dos frutos com a solução indicadora (0; +; ++; +++) ⁽²⁾		
	Verdes	De vez	Maduros
Presença de tanino			
Taninoso ("shibugaki")	Reação		
Trakoukaki	++	+	0
IAC 6-21	++	+	0
Taubaté	++(+)	+(+)	0
Pomelo (IAC 6-22)	++(+)	+(+)	0
Coral (IAC 158-12)	++(+)	+(+)	0
IAC 158-19	++(+)	+(+)	0
Rubi (IAC 8-4)	+++	+(+)	0
IAC 4-16	+++	++(-)	0
IAC 15-3	+++	++(-)	0
Regina (IAC 2-4)	+++	++(-)	0
IAC 12-8	+++	++	0(+)
IAC 870-75	+++	++(+)	0(+)
IAC 9-4	+++(+)	+++	+
Variável ("variant shibugaki" ou "variant amagaki")			
Giombo	++(-)	+(-)	0
Rama Forte	++	+	0
Kaoru (IAC 13-6)	++	+(+)	0
IAC 2-1	+++	+	0
IAC 4-18	+++	+(-)	0
Não taninoso ("amagaki")			
Jiro	0(+)	0	0
Fuyu	+(-)	0	0
Hanagosho	+(-)	0	0
IAC 152-8	+(-)	0	0
IAC 152-24	+(-)	0	0
IAC 152-32	+	0	0
IAC 152-33	+	0	0
Fuyuhana (IAC 152-7)	+	0	0
IAC 152-27	+(+)	0	0
IAC 152-4	+(+)	+(-)	0

(¹) Variedade. (²) Com transições: 0(+); +(-); +(+); ++(-); ++(+); +++(-) e +++(+).

visível de taninos com o cloreto férrico. Esses resultados, por sinal, foram comprovados nos testes de sabor, não se verificando adstringência alguma nos frutos já maduros.

As polpas dos caquis ainda verdes dos tipos taninoso ou variável, com presença de taninos bem evidente na prova gustativa, proporcionaram, com a solução indicadora, de cor bronzeada - 11L7 ("yellow ochre"), uma reação negro-azulada marcante, representada, por sua vez, na escala de cores (Maerz & Rea Paul, 1930), pela classificação 48H12 ("egg plant"), e constatada na seleção IAC 9-4 (taninoso), ou com a classificação 47L12 ("hortênsia") nos seguintes cultivares também taninosos: Rubi, IAC 4-16, IAC 15-3, Regina, IAC 12-8 e IAC 870-75; nos do tipo variável: IAC 2-1 e IAC 4-18; além dos próprios frutos ainda de vez da seleção IAC 9-4.

A reação de coloração negro-azulada esmaecida, na escala de cores com a classificação próxima de 39A5, foi a constatada nos frutos igualmente verdes dos cultivares considerados pouco menos taninosos: Trakoukaki, IAC 6-21 e Kaoru, além dos caquis no estágio de vez da seleção IAC 12-8. Os outros cultivares do tipo taninoso: Taubaté, Pomelo, Coral e IAC 158-19, em amostras de frutos ainda verdes, ficaram numa classificação intermediária na escala de cor - 47C6 (cinza-azulado fraco).

Quanto aos caquis do tipo variável, quando com sementes (polpa chocolate), a exemplo do cultivar Rama Forte, apresentaram, com o cloreto férrico, reação amarronzada na escala de cores: 14L12 ("Sudan brown") e, no caso do cultivar Giombo, coloração azulada fraca (47E7), nas partes ainda taninosas da polpa, nos frutos considerados de vez.

No grupo de cultivares não taninosos, as polpas dos frutos ainda verdes apresentaram reações anotadas como pouco evidentes. Nesses exemplos, entretanto, verificaram-se, com o teste indicador, sutis variações ou transição de coloração entre os diferentes cultivares analisados. Essas pequenas variações de adstringência também foram, a seguir, confirmadas por provas gustativas mais apuradas. Nesses testes, Jiro foi considerado o menos taninoso, seguido por Fuyu, Hanagosho, IAC 152-8 e

IAC 152-24; as seleções IAC 152-4 e IAC 152-27, em especial, como pouco mais adstringentes e, na posição intermediária, IAC 152-32, IAC 152-33 e Fuyuhana (IAC 152-7).



Figura 1. A. Caquis 'Rama Forte' (tipo variável). **Metades de cima**, tratadas com solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 0,1\text{N}$; **Metades de baixo**, sem o tratamento. **Da esquerda para a direita**: respectivamente, partes maduras, sem sementes e não adstringentes; partes de vez, com sementes, polpa chocolate e sem adstringência, e partes verdes, sem sementes e adstringentes (reação bem nítida constatada com a solução indicadora). **B. Da esquerda para a direita e de cima para baixo**: Cultivares Taubaté, Rama Forte, Regina, IAC 15-3, IAC 4-18, IAC 152-33, Giombo e IAC 152-32 (frutos ainda verdes e com adstringência presente). As metades, **à esquerda**, nas respectivas porções esquerdas superiores, foram gotejadas com o cloreto férrico ("sombras" mais escuras). Frasco com a solução indicadora, ao meio e ao alto.

Na tabela de cores, o último grupo seria enquadrado por pequenas nuances na coloração cinza-claro (37A1 a 37G1), confirmando-se, inclusive, constatações anteriores de caracterização da eventual presença de adstringência (Instituto Agrônômico, 1980; Rigitano et al., 1984; Ojima et al., 1993).

No caso particular de amostras de caquis do cultivar Rama Forte, a reação do cloreto férrico na parte mais taninosa dos frutos, surpreendentemente, em muito se assemelha à própria coloração chocolate da polpa de caquis com sementes. Essa evidência sugere a própria elucidação do comportamento fisiológico ou bioquímico de parte do processo de maturação desses caquis, pela precipitação ou condensação, pelo íon férrico, dos taninos presentes.

No primeiro grupo, ou seja, dos caquis taninosos, no estágio de plena maturação, o fato de perderem por completo a adstringência ou os teores detectáveis de taninos conduz à possibilidade da presença de taninos hidrolisáveis, passíveis, contudo, de oxidação pelo sal de ferro nos frutos verdes ou de vez. Essas constatações propiciam, inclusive, um paralelismo com os postulados de Fischer e Freudenberg (citados por Kirk & Othmer, s.d.), a respeito da existência das duas classes referidas de taninos vegetais.

Apesar de, muitas vezes, estarem presentes inclusive em espécies distintas, podem coexistir em diferentes proporções na mesma espécie - podendo ser o caso dos cultivares de caquizeiro aqui considerados, ao envolver nos cruzamentos diversos tipos varietais, de diferentes origens. Nesse aspecto, os caquis do tipo variável, quando sem sementes, nos três estádios de maturação, se comportam à semelhança dos do tipo taninoso. Quando com numerosas sementes, lembram os do tipo doce. Com poucas sementes, a porção não-chocolate da polpa volta a comportar-se como os do tipo taninoso.

Tal comportamento, por sinal, é típico do cultivar Giombo, bastante difundido em nossas condições produtoras, com frutos de tamanho médio, oblongo-ovóides e meio tardios. Nas condições japonesas, entretanto, menciona-se outro cultivar, de mesma denominação, mas pertencente ao tipo taninoso - "pollination constant astringent" - com a particula-

ridade, ainda, de que os frutos se apresentam com quatro sulcos longitudinais (Ojima, 1965).

Através desse desenvolvimento experimental, constatou-se uma estreita relação entre a adstringência detectada pela prova gustativa na polpa dos frutos no estágio de maturação de vez e a gradação de tanino indicada na reação com o cloreto férrico, traduzida na variação de cor observada visualmente. Assim, o método ora apresentado poderá ser de alta valia para simplificar e agilizar o procedimento de avaliação, quando da análise rotineira de numerosas amostras de caquis. Além disso, sugere a adoção, no futuro, de processo colorimétrico ou analógico, tendo por base o emprego do cloreto férrico, à própria determinação mais precisa dos teores de tanino nos frutos.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Técnica de Apoio Meire Correia da Silva Ferrari a colaboração na seleção de drogas químicas, nas análises efetuadas e na digitação do presente trabalho. Sem sua prestimosa participação, não seria possível a publicação desse novo avanço tecnológico no procedimento de seleção de caquizeiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Código Farmacêutico Brasileiro. Tanino (*Tannin*). Ácido tânico. In: FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2.ed. São Paulo, Siqueira, 1959. v.2, p.797.
- CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; BARBOSA, W.; OJIMA, M. & FRANCO, J.A.M. *Formação de pomares de frutíferas de clima temperado-subtropical*. Campinas, Instituto Agrônômico, 1989. 28p. (Boletim técnico, 128)
- CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; OJIMA, M. & BARBOSA, W. Fruticultura: queda de frutos imaturos. *O Agrônômico*, Campinas, **43**(2/3):79-86, 1991.
- INSTITUTO AGRÔNOMICO (CAMPINAS). Caqui (*Diospyros kaki* L.f.) - Cultivares lançados pelo IAC no período 1968-1979. *O Agrônômico*, Campinas, **32**:86-88, 1980.

- KIRK, R.E. & OTHMER, D.F. Curtientes (química). In: ENCICLOPEDIA DE TECNOLOGIA QUÍMICA. Tomo II. Cristales - enzimas industriales. 1.ed. Unión Tip. Hispano-americana, s.d. p.152-157.
- KITAGAWA, H. & GLUCINA, P.G. *Persimmon culture in New Zealand*. Wellington, DSIR, Science Information Publishing Centre, 1984. 73p.
- MAERS, A. & REA PAUL, M. *A dictionary of color*. 1.ed. New York, McGraw-Hill, 1930. 207p.
- OJIMA, M. *Relatório das atividades e observações durante a bolsa de aperfeiçoamento técnico em fruticultura no Japão (JICA)*. Campinas, Instituto Agrônomo, 1965. 107p. (Datilografado)
- OJIMA, M. & CAMPO-DALL'ORTO, F.A. Produção de caqui mais difundida em São Paulo. *Dirigente Rural*, São Paulo, Anuário, 1975:30-38, 1974.
- OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; BARBOSA W. & RIGITANO, O. Caqui. In: INSTITUTO AGRO-NÔMICO (Campinas). *Instruções agrícolas para o Estado de São Paulo*. 4.ed. Campinas, 1987. p.57-58. (Boletim, 200)
- OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; BARBOSA, W. & RIGITANO, O. Fruticultura de clima temperado. In: FURLANI, A.M.C. & VIÉGAS, G.P., eds. *O melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo*. Campinas, Instituto Agrônomo, 1993. v.1, p.157-194.
- OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A. & RIGITANO, O. *Germinação das sementes de caqui (Diospyros spp.)*. Campinas, Instituto Agrônomo, 1989. 2.^a impr., 13p. (Boletim técnico, 51)
- OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; RIGITANO, O. & IGUE T. *Pegamento e desenvolvimento dos frutos do caqui e de seu relacionamento com a presença de sementes*. Campinas, Instituto Agrônomo, 1976. 14p. (Boletim técnico, 34)
- OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A.F.C. & RIGITANO, O. Frutificação alternada em caqui - cv. Pomelo (IAC 6-22). *Bragantia*, Campinas, 44:(1):481-486, 1985.
- RIGITANO, O. *Cultura do caqui*. 2.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1966. 32p. (ABC do Lavrador Prático, 35)
- RIGITANO, O.; OJIMA, M.; CAMPO-DALL'ORTO, F.A.; TOMBOLATO, A.F.C.; BARBOSA, W.; SCARANARI, H.J. & MARTINS F.P. Fuyuhana - novo cultivar de caqui não taninoso para São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., Florianópolis, 1983. *Anais*. Florianópolis, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1984. v.1, p.288-294.
- YAMADA, M. Fruit trees - Persimmon. In: KONISHI, K. et al., eds. *Horticulture in Japan*. Tokyo, Asakura Publishing, 1994. p.47-52.