



## NOVA TECNOLOGIA EM BEBIDA DE AÇAÍ: CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL, QUÍMICA E BIOQUÍMICA

Rejane Vanessa da **Silva**<sup>1</sup>; Izabela Giubilei **Bezerra**<sup>2</sup>; Adriana Barreto **Alves**<sup>3</sup>; Maria Teresa Bertoldo **Pacheco**<sup>3</sup>; Daniela Souza **Ferreira**<sup>4i</sup>

Nº 14208

**RESUMO** - O açaí (*Euterpe oleracea* Mart) é um fruto que vem despertando cada vez mais o interesse de empresas e instituições internacionais de pesquisa devido à sua alta capacidade antioxidante, capaz de ajudar na prevenção de várias doenças crônicas relacionadas aos radicais livres e no retardo do envelhecimento. A baixa estabilidade dos compostos fenólicos, que são os principais responsáveis pelas características antioxidantes do fruto, tem sido um grande empecilho para as indústrias de alimentos. Atualmente, toda a cadeia produtiva do açaí (colheita, tratamento pós-colheita, método de processamento e formulação do produto) é baseada em técnicas e equipamentos inadequados para a preservação dos compostos fenólicos. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma bebida a base de açaí, que possibilite aproveitar todo o potencial antioxidante do fruto para desenvolvimento de um produto que atenda as exigências dos mercados internacionais. O trabalho foi desenvolvido para obtenção de um extrato padronizado de açaí com compostos fenólicos utilizando solventes GRAS (*Generally Recognized as Safe*). Foram realizadas análises da estabilidade desta bebida do ponto de vista físico-químico, microbiológico e sensorial, além de análise bioquímica da atividade enzimática da polifenoloxidase (PFO) e Peroxidase (POD). Aplicando o conceito de química verde, o extrato de açaí foi obtido com água e possui ácido vanílico, cianidina-3-glucosídeo e orientina como os principais compostos fenólicos observados por HPLC-DAD. A bebida formulada, estável por dois meses a 4°C, possui elevada atividade antioxidante (939,8 µmol/100mL por ORAC) e 92% dos provadores gostaram de sua coloração, sabor, consistência e aroma.

**Palavras-chaves:** Bebida de Açaí, Antioxidante, Compostos Fenólicos, HPLC, PFO e POD.

<sup>1</sup> Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, Faculdade de Jaguariúna, Jaguariúna-SP; rejanevan@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Biomedicina, Faculdade Metropolitana de Campinas - METROCAMP, Campinas-SP

<sup>3</sup> Colaborador: Pesquisador, Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (CCQA)/Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas-SP.

<sup>4</sup> Orientador: Pesquisador, Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (CCQA)/Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas-SP; eng.dsf@gmail.com.



**ABSTRACT** -Açaí (*Euterpeoleracea Mart*) is a fruit which has been increased the interest of international companies and organizations of research manly because of its high antioxidant capacity, which is able to prevent chronic diseases related to free radicals and helps to delay aging. The low stability of phenolic compounds, which are the principal components responsible for antioxidant properties of fruit, has been the big issue for the food industry. Nowadays, the whole process chain (harvest, postharvest treatment, processing and formulation) is based on inappropriate techniques and equipment's to prevent phenolic compounds. In this regard, the objective of this work was to develop a beverage based on açaí extract, allowing taking advantage of all antioxidant potential of the fruit to develop a product that attend the international demand. This work has been developed to obtain a stable extract of açaí with phenolic compounds of interest using GRAS solvents (water, alcohol and combinations). It was analyzed the stability of this beverage of the point physic-chemistry, microbiologic and sensory, also biochemistry analysis and enzymatic activity of peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO). Applying the concept of green chemistry, the extract of açaí was obtained by water and has vanillic acid, cyanidin-3-glucoside and orientin as the principal phenolic compounds observed by HPLC-DAD. The beverage formulated, stable for two months at 4°C, has high antioxidant activity (939.8  $\mu\text{mol}/100\text{mL}$  by ORAC) and 92% of consumers liked its color, taste, consistency and flavour.

**Key-words:** Açaí Beverage, Antioxidant, Phenolic Compounds, HPLC, PPO and POD.

## 1 INTRODUÇÃO

O açaí (*Euterpe oleracea Mart*) é um fruto nativo da região Amazônica do Brasil de extrema importância econômica e cultural, principalmente para o Estado do Pará, onde detém a maior produção nacional: cerca de 706 mil toneladas/ano, equivalente a 88% da produção brasileira. Em 2012 o suco congelado foi vendido do Pará para outros Estados na quantidade de 100.000 toneladas e sua exportação registrou 25.000 toneladas. O consumo do açaí começou a ser ampliado no final da década de 1990 com a industrialização e congelamento da polpa vendida aos mercados nacional (especialmente Rio de Janeiro, São Paulo) e internacional (SAGRI, 2014). Sua elevada capacidade antioxidante, capaz de ajudar na prevenção de várias doenças crônicas relacionadas aos radicais livres e no retardo do envelhecimento, desperta o interesse em diversos segmentos da indústria alimentícia, porém a baixa estabilidade dos seus compostos fenólicos tem sido um grande empecilho para o desenvolvimento de novos produtos (KANG et al., 2012). Estudos apontam as enzimas Peroxidase e Polifenoloxidase como responsáveis pela elevada



perecibilidade do açaí, pois atuam na oxidação dos compostos fenólicos. Sua atividade é um indício da velocidade de degradação dos mesmos e servem como parâmetro para avaliação da etapa de pasteurização do produto (ALBARICI, 2009).

Diante do exposto e ainda do potencial desta super fruta, este trabalho visa à elaboração de um produto que preserve as propriedades benéficas do açaí e com características organolépticas diferenciadas.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os frutos de açaí da espécie *Euterpe oleraceae* Mart. Foram obtidos no estado do Tocantins, armazenados em câmara-fria por 18 horas, em seguida transportados em caixas de isopor até o ITAL, onde foram higienizados imediatamente antes do processamento com hipoclorito de sódio a 2,5%.

### 2.1 Obtenção de extrato e bebida de açaí

O extrato de açaí foi obtido a partir da casca do fruto, utilizando um protótipo desenvolvido pela empresa Açaíamazon Ind. Pesq. e Com. de Açaí Ltda. com disco abrasivo, segundo Figura 1.

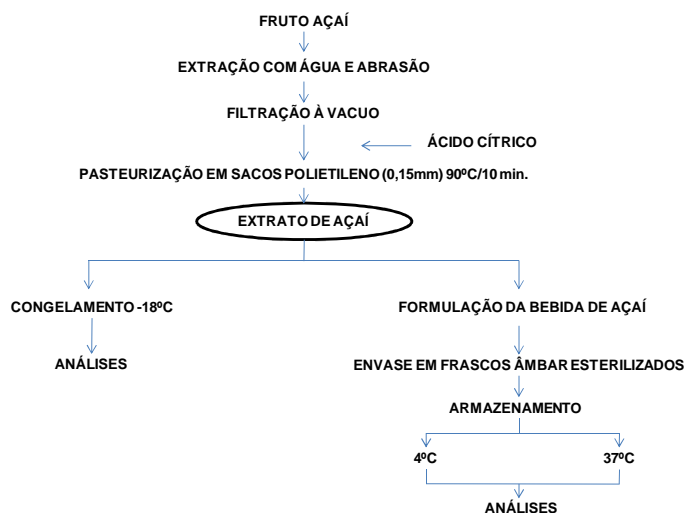


Figura 1. Fluxograma do processo de obtenção do extrato e bebida de açaí.

Os ingredientes utilizados na formulação da bebida foram: extrato de açaí (40%), água mineral (49,95%), sacarose (10%), ácido cítrico (0,176 %), goma xantana (0,05%), aroma natural de açaí (Dohler, Alemanha) (0,53%) e extrato natural de açaí (Duas Rodas, Brasil) (0,80%). Foram utilizados aroma e extrato natural para intensificar o *flavour* do fruto. Antes de conduzir a amostra para análise sensorial, foi realizada análise microbiológica para garantir aos provadores a inocuidade do produto oferecido e o laudo não apresentou contaminação.



## **2.2 Análise de compostos fenólicos no extrato de açaí**

O Sistema HPLC utilizado foi um equipamento com detector de arranjo de diodos (SPD – M10AVP) e UV (SHIMADZU Corporation, Japão). As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna Zorbax SB-C18 5µm, 4,6x250mm, Agilent; fase móvel A: ácido acético 5% e B: metanol; gradiente de eluição: 0-5min: 5%B; 20min: 27,5%B; 50min: 35%B; 60min: 75%B; 65min: 100%B; 66min: 5%B; 76min: 5%B; vazão: 0,8mL/min; varredura de 190 a 600nm e forno de colunas a 25°C. O extrato de açaí foi liofilizado e concentrado em coluna PA-polyamid antes da injeção. Os padrões e a amostra foram diluídos em solução metanol em água com 1% de HCl. A atividade antioxidante do extrato foi realizada pelos seguintes métodos: ABTS (RE et al., 1999), DPPH (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) e ORAC (DAVALOS; GOMEZ-CORDOVES; BARTOLOME, 2004), e antocianinas totais (FRANCIS, 1982; WROLSTAD et al., 2005).

## **2.3 Análise da atividade da Polifenoloxidase (PFO) e Peroxidase (POD) a 25°C**

Para realização do método foram utilizados três tipos de amostra: polpa + casca, extrato de açaí sem pasteurização e extrato acidificado pasteurizado. As amostras foram diluídas em solução tampão fosfato 0,2M-pH 7,0, homogeneizadas e filtradas sob vácuo. A solução catecol 0,06M foi utilizada para atividade de Polifenoloxidase (PFO) e solução guaiacol 1%, solução tampão fosfato 0,05M-pH7,0, para atividade de Peroxidase (POD).

## **2.4 Análise sensorial da bebida**

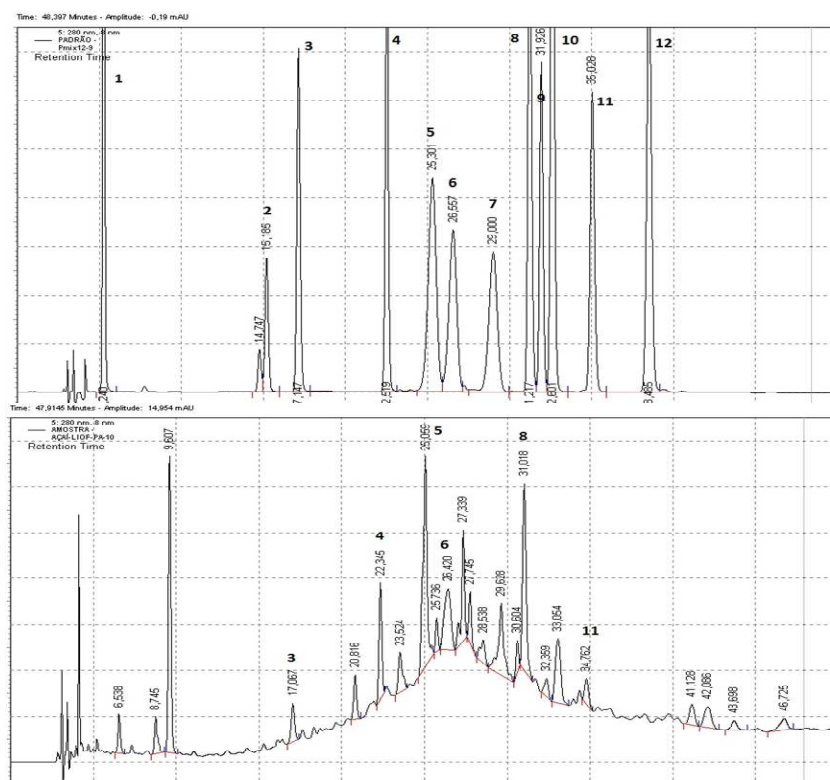
Após vários testes de formulação, a bebida de açaí foi submetida à avaliação sensorial por um grupo de 62 consumidores de açaí. Foi avaliada quanto à aceitabilidade global, aparência, aroma, sabor e consistência por meio de escala hedônica de nove pontos. No final foi questionada a provável frequência de consumo e a intenção de compra.

## **2.5 Análises de estabilidade da bebida**

A bebida de açaí foi armazenada por 107 dias em frascos de vidro âmbar em duas condições distintas: câmara de refrigeração a  $4,0 \pm 0,6^\circ\text{C}$  e estufa a  $37,2 \pm 1,6^\circ\text{C}$ , as análises foram realizadas a cada 15 dias com relação à acidez (ZENEON e PASCUET, 2005), pH, Brix (ZENEON e PASCUET, 2005), antocianinas totais (FRANCIS, 1982), cor CIELab (SHARMA, 2003), microbiologia (ISO 6579, AOAC, 2012, ISO 4831, ISO 7251 e DOWNES e ITO, 2001) e sensorial (teste ADQ). Para análise sensorial e de cor, uma amostra controle era preparada a cada ensaio como padrão.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de identificação dos compostos fenólicos do extrato de açaí estão apresentados na Figura 2 juntamente com um cromatograma dos padrões preparados em metanol.



**Figura 2.** Cromatogramas obtidos a 280 nm – superior: padrão; inferior: amostra. Picos: 1: ác. gálico; 2: catequina; 3:ác. hidroxibenzoico; 4: ác. vanílico; 5: kuromanina; 6: cianidina-3-rutinosídeo; 7: pelargonidina; 8: orientina; 9: isorientina; 10: ác. ferúlico; 11: vitexina; 12: isovitexina.

Dos 12 compostos fenólicos pesquisados, foram detectados 6 compostos na amostra analisada: ác. hidroxibenzoico, ác. vanílico, kuromanina (cianidina-3-glucosídeo), cianidina-3-rutinosídeo, orientina (luteolina-8-glucosídeo) e vitexina.

Na Tabela 1 estão apresentados os teores encontrados para compostos fenólicos totais (CF), antocianinas totais (AT), e atividade antioxidante do extrato de açaí. Os resultados apresentados indicam sua elevada capacidade antioxidante, comparado com diversas frutas e plantas da Amazônia utilizadas para fins medicinais (SILVA et al, 2007). Na Tabela 2 estão apresentadas as análises da atividade da Polifenoloxidase (PFO) e Peroxidase (POD) expresso em unidade de atividade por minuto por grama.



**Tabela 1.** Resultados de atividade antioxidante do extrato de açaí.

| Análises  | Média ± desvio padrão                   |
|---|---|
| Compostos Fenólicos (mg GAE/100g) <sup>1</sup>                    | 156,61 ± 1,46                           |
| Antocianinas totais (mg.100g <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>         | 31,35 ± 1,04                            |
| Antocianinas pH diferencial (mg.100g <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup> | 24,88 ± 0,37                            |
| ABTS (µmol TE/g) <sup>3</sup>                                     | 8,31 ± 0,21                             |
| DPPH (gDPPH/g)  | 0,011 ± 0,00                            |
| EC50 (g/g DPPH)   | 91,97 ± 1,01                            |
| ORAC (µmol/100mL)   | 2349,39 ± 26,85                         |
|   | TE (µmol)      Conc. (mg/mL)      slope |
| Linearidade   | 70,09 ± 6,11      0,3-1,25      38,953  |

<sup>1</sup>Expresso em ácido gálico equivalente (GAE); <sup>2</sup> Expresso em cianidina 3-glucosídeo ( $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 98.2$ ). <sup>3</sup>Expresso em µmol equivalente Trolox (TE) por grama de amostra.

**Tabela 2.** Resultados obtidos de Polifenoloxidase e Peroxidase

| Amostras                  | Polifenoloxidase (U <sub>ativ</sub> /min.g) | Peroxidase (U <sub>ativ</sub> /min.g) |
|---------------------------|---|---------------------------------------|
| Polpa de açaí             | 15267 ± 1398                                | 8969 ± 354                            |
| Extrato sem pasteurização | 236 ± 54                                    | 502 ± 60                              |
| Extrato pasteurizado      | ND*   | ND*                                   |

\*ND – não detectado.

A atividade das enzimas reduziu com o processamento do fruto, além disso, devido a não detecção da atividade da PFO e POD no extrato pasteurizado, que deu origem à bebida, a análise da atividade das enzimas não foi realizada na bebida. Além disso, durante o armazenamento da bebida há formação de quinonas (coloração escura) que competem com as enzimas.

### 3.1 Análise sensorial da bebida de açaí

A bebida inovadora deste projeto possui aparência semelhante ao suco de uva integral, com coloração vermelho-arroxeadada. Os resultados médios obtidos no teste de aceitabilidade da aparência, do aroma, do sabor, da consistência e do produto de modo global da amostra de bebida de açaí estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Resultados obtidos no teste para avaliação da aceitabilidade da cor, aroma, consistência, sabor e do produto de modo global (escala hedônica de 9 pontos – 7=gostei, 8=gostei muito).

| Atributos    | Aceitabilidade* | Aceitação (%) | Indiferença (%) | Rejeição (%) |
|--------------|-----------------|---------------|-----------------|--------------|
| Aparência    | 7,6 (1,0)       | 96,9          | 1,6             | 1,6          |
| Aroma        | 7,5 (1,1)       | 95,3          | 3,2             | 1,6          |
| Sabor        | 7,0 (1,4)       | 88,7          | 6,5             | 4,8          |
| Consistência | 7,0 (1,3)       | 87,1          | 6,5             | 6,4          |
| Modo global  | 7,0 (1,1)       | 92,0          | 6,5             | 1,6          |

\*Resultado expresso como média (desvio padrão) entre 62 avaliações.





O resultado de aceitabilidade do produto foi satisfatório, tendo em vista que mais de 92% dos provadores gostaram da bebida. O atributo consistência foi aceito por 87% dos provadores, pois alguns esperam a consistência grossa da bebida de açaí comercializada atualmente.

### 3.2 Estudo de estabilidade da bebida

Quanto à avaliação de cor  $\Delta E^*_{ab}$ , não houve diferença significativa entre as amostras avaliadas e a amostra Controle. A cor de a (vermelho) e b (amarelo) foram se intensificando com o tempo, devido principalmente a formação de coloração marrom da bebida, que se deve à formação de polímeros. Na Tabela 4 estão apresentados os resultados obtidos com análises físico-químicas da bebida de açaí ao longo de 107 dias.

**Tabela 4.** Resultados físico-químicos da bebida de açaí a 4°C e 37°C (Média e desvio padrão).

| Dias | Acidez<br>(g ácido cítrico/100mL) |           | Brix       |            | pH         |           | Antocianinas totais<br>(mg/100mL) |            |
|------|-----------------------------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|-----------------------------------|------------|
|      | 4°C                               | 37°C      | 4°C        | 37°C       | 4°C        | 37°C      | 4°C                               | 37°C       |
|      | 0                                 | 0,3 ± 0,0 | 0,3 ± 0,0  | 12,5 ± 0,8 | 12,5 ± 0,8 | 3,2 ± 0,0 | 3,2 ± 0,0                         | 10,4 ± 0,1 |
| 23   | 0,3 ± 0,0                         | 0,4 ± 0,0 | 11,3 ± 0,0 | 11,2 ± 0,3 | 3,2 ± 0,0  | 2,9 ± 0,0 | 11,7 ± 0,4                        | 8,6 ± 0,0  |
| 37   | 0,3 ± 0,0                         |           | 11,3 ± 0,0 |            | 3,4 ± 0,0  |           | 11,9 ± 0,0                        |            |
| 51   | 0,3 ± 0,0                         |           | 11,3 ± 0,3 |            | 3,1 ± 0,0  |           | 12,1 ± 0,3                        |            |
| 65   | 0,3 ± 0,0                         |           | 11,0 ± 0,3 |            | 3,3 ± 0,0  |           | 11,4 ± 0,1                        |            |
| 81   | 0,3 ± 0,0                         |           | 11,3 ± 0,0 |            | 3,4 ± 0,0  |           | 11,3 ± 0,9                        |            |
| 93   | 0,3 ± 0,0                         |           | 11,3 ± 0,0 |            | 3,2 ± 0,0  |           | 12,4 ± 0,4                        |            |
| 107  | 0,3 ± 0,0                         |           | 11,3 ± 0,0 |            | 3,5 ± 0,0  |           | 11,8 ± 0,7                        |            |

Após 23 dias de armazenamento a 37°C a bebida apresentou contagem de  $6,8 \times 10^2$  UFC/mL de aeróbios mesófilos, sabor e aroma de fermentado no teste sensorial e leve aumento de acidez (Tabela 4). Portanto, as análises sensoriais e físico-químicas seguiram somente com as amostras armazenadas a 4°C, que apresentou  $3,4 \times 10^3$  UFC/mL de bolores e leveduras após 81 dias de armazenamento. Porém já com 2 meses de armazenamento a 4°C, verificou-se que as principais alterações do produto foram as descritas a seguir: diminuição do odor e sabor que lembra xarope de groselha, redução do sabor de açaí e da doçura; aumento da adstringência e da acidez; e desenvolvimento de sabor fermentado. O conteúdo de antocianinas na bebida armazenada a 4°C sofreu leve aumento pela liberação dos pigmentos retidos na casca do fruto (Tabela 5).

## 4 CONCLUSÃO

O extrato obtido do açaí é rico em antocianinas e compostos fenólicos, conferindo elevada capacidade antioxidante e atraente coloração à bebida formulada neste estudo. A bebida apresentou aparência de um líquido encorpado, de coloração vermelho-arroxeadada com pequenas partículas de casca, conferindo um aspecto natural, além disso, possui odor e sabor característico



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

de açaí, doce que lembra xarope de groselha. Mais de 92% dos provadores gostaram da bebida e 84% consumiria quando disponível e frequentemente. No estudo de estabilidade da bebida, os fatores mais relevantes foram o conteúdo de antocianinas e as análises sensoriais, que definiram dois meses de estabilidade a 4°C. Este estudo demonstra a viabilidade técnica de fabricação de uma bebida de açaí natural, rica em compostos fenólicos e de grande aceitação de mercado.

### 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida, à FAPESP (proc. nº 2012/50374-1) pelo financiamento do projeto. Ao Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos/ITAL pela oportunidade de estágio.

### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Analytical Chemists – International (AOAC). HORWITZ, W., LATIMER, G. W. (Eds.). Official Methods of Analysis (19th ed.), 2012.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** *Lebensmittel Wissenschaft end Technologie*, v.28, p.25-30, 1995.

DAVALOS, A.; GOMEZ-CORDOVES, C.; BARTOLOME, B. **Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 1, p. 48-54, Jan 14 2004.

DOWNES, F, P; ITO, K. (eds.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4th ed., Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

FRANCIS, F. J. **Analysis of Anthocyanins.** In P. Markakis (Ed.), **Anthocyanins as Food Colors** (Vol. null, pp. 181–207). Elsevier, 1982.

ISO 4831. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – most probable number technique, 3rd ed. The International Organization for Standardization, 2006.

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp., 4th ed. The International Organization for Standardization, 2002, Corrigendum 1:2004, Amendment 1:2007.

ISO 7251. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive Escherichia coli – most probable number technique, 3rd ed. The International Organization for Standardization, 2005.

KANG, J., THAKALI, K.M., XIE, C., KONDO, M., TONG, Y., OU, B., JENSEN, G., MEDINA, M.B., SCHAUSS, A.G., WU, X. **Bioactivities of açaí (Euterpe precatoria Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to Euterpe oleracea Mart.** *Food Chemistry*, 133, 671-677, 2012.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, 1999.

SAGRI. **Secretaria de Estado de Agricultura.** Disponível em <<http://www.sagri.pa.gov.br>>. Consultado em Abril/2014.

SHARMA, G. **Uniform Color Spaces and Color Differences.** In: Digital Color Imaging Handbook. Editora CRC Press, Boca Raton, FL, 2003.

SILVA, E. M. et al. **Antioxidant activities and polyphenolic content of fifteen selected plant species from the Amazonian region.** *Food Chemistry*, v. 101, n. 3, p. 1012–1018, Jan. 2007.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S. (Coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4 ed. Brasília: Ministério da Saúde/ANVISA; São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. cap. 10, met. 253, p. 464.