



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS EM  
REFRIGERANTE DE COLA E GUARANÁ**

Débora de Barros Nassif

Porto Alegre

2011/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS EM  
REFRIGERANTE DE COLA E DE GUARANÁ**

Débora de Barros Nassif

Monografia apresentada ao Curso  
de Engenharia de Alimentos como  
requisito parcial para obtenção do  
título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Alessandro de Oliveira Rios

Porto Alegre

2011/2

# **ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS EM REFRIGERANTE DE COLA E DE GUARANÁ**

Débora de Barros Nassif

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

.....  
Alessandro de Oliveira Rios (Orientador)  
Doutor em Ciência dos Alimentos  
ICTA - UFRGS

.....  
Plinho Francisco Hertz  
Doutor em Ciência dos Alimentos  
ICTA - UFRGS

.....  
Vitor Manfro  
Doutor em Ciência e Tecnologia  
Agroindustrial  
ICTA - UFRGS

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, que sempre confiaram em mim e apoiaram as minhas decisões.

Ao meu irmão, a alegria da casa, porque eu sempre pude e sei que sempre poderei contar com a sua paciência e amizade.

Ao meu querido orientador Alessandro pela dedicação, paciência e exigência.

Aos meus colegas de faculdade por terem tornado esses anos de estudo também anos de amizade e de muito aprendizado de vida.

Às minhas amigas, a família que eu escolhi, por serem as minhas companheiras de sempre. Especialmente às queridas Márcia e Mariana, por terem demonstrado compreensão e compartilhado comigo momentos em que nos esforçamos juntas pelos nossos trabalhos de conclusão.

## RESUMO

As propriedades antioxidantes de alimentos e bebidas têm sido bastante estudadas, no entanto existem poucos dados a respeito de capacidade antioxidante de refrigerantes. Este estudo teve como objetivo determinar o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante de refrigerantes contendo corante caramelo e extratos vegetais. Foram coletadas amostras de refrigerante de cola e guaraná e analisadas quanto ao conteúdo de compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante pelo método DPPH. Para a bebida de cola, conteúdo de fenólicos variou de 113,21 a 146,88 mg de equivalente de ácido gálico/L e a atividade antioxidante variou de 149,24 a 243,89  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox/L. O conteúdo de fenólicos foi ligeiramente superior ao encontrado na literatura para a mesma bebida, o que pode ser devido à natureza do extrato de noz de cola utilizado e os valores de atividade antioxidante foram próximos ao encontrado na literatura. Para a bebida de guaraná, o conteúdo de fenólicos variou de 4,39 a 76,61 e a atividade antioxidante esteve entre 105,72 e 176,63. Uma das amostras diferiu significativamente das demais a um nível de significância de 5%, acredita-se que devido a possíveis diferenças no processamento no momento do aquecimento do xarope. Além disso, os valores encontrados estavam abaixo do limite de quantificação da curva padrão. Os valores de atividade antioxidante foram menores do que os encontrados para bebida de cola, possivelmente pela baixa quantidade de extrato de semente de guaraná e corante caramelo adicionados à bebida. Apesar de apresentarem baixa atividade antioxidante, os refrigerantes podem ser levados em consideração no consumo total de substâncias antioxidantes na dieta. Novos estudos podem ser realizados com refrigerantes à base de suco de frutas e bebidas energéticas.

**Palavras-chave:** *refrigerante, atividade antioxidante, guaraná, cola*

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>8</b>
1.1.1	<i>Objetivos Gerais.....</i>	8
1.1.2	<i>Objetivos Específicos.....</i>	8
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.</b>	<b>Atividade Antioxidante.....</b>	<b>9</b>
2.1.1	<i>Mecanismo de ação dos antioxidantes.....</i>	9
2.1.2	<i>Antioxidantes em frutas e bebidas.....</i>	10
2.1.3	<i>Atividade biológica de antioxidantes contidos em bebidas.....</i>	13
<b>2.2.</b>	<b>Refrigerantes.....</b>	<b>15</b>
2.2.1	<i>Atividade antioxidante em refrigerantes.....</i>	16
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1.	<b>Instrumentação.....</b>	20
3.2.	<b>Reagentes químicos.....</b>	20
3.3.	<b>Amostras.....</b>	20
3.4.	<b>Determinação de fenólicos totais.....</b>	21
3.5.	<b>Determinação de atividade antioxidante.....</b>	21
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
4.1.	<b>Atividade antioxidante e compostos fenólicos em bebida de cola...</b>	22
4.2.	<b>Atividade antioxidante e compostos fenólicos em bebida de guaraná.....</b>	24
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>27</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>28</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físico-químicas para refrigerante de cola.....	15
Tabela 2 - Características físico-químicas para refrigerante de guaraná.....	16
Tabela 3 - Dados das amostras analisadas.....	20
Tabela 4 - Conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante para as bebidas de cola.....	22
Tabela 5 - Conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante para as bebidas de guaraná.....	24

## INTRODUÇÃO

Compostos antioxidantes são aqueles capazes de inibir a oxidação de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos. Estes compostos agem por meio da inibição da formação de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação, bem como, através da eliminação de radicais importantes (alcoxila e peroxila) impedindo a etapa de propagação da oxidação através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (SOARES, 2002).

Existem estudos que relacionam a ingestão de substâncias antioxidantes à diminuição da incidência de certas doenças como câncer (JASKA S. et al., 2011), e doenças cardiovasculares (KIWIMAKI A. S. et al., 2011). Os antioxidantes podem ter ainda ação ansiolítica (RIMANDO et al., 2011), atividade anti-inflamatória (GIOVINAZZO G. et al., 2011) e contribuir na diminuição da pressão sanguínea (HODGSON et al., 2011; RIBA R. E. et al., 2011) e do nível de glicose no sangue (MARTÍNEZ-LÓPEZ S. et al., 2011).

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos (DECKER, 1997). Os polifenóis estão presentes em bebidas derivadas de frutas como o vinho, sucos, néctares e refrescos; de cereais malteados como a cerveja; de sementes torradas como o café e cacau ou de folhas como os chás.

O refrigerante é a bebida não alcoólica mais consumida no Brasil (ABIR, 2011), no entanto há poucos estudos relatando as propriedades químicas e bioquímicas dessas bebidas. Os refrigerantes são compostos basicamente de água, açúcar e uma pequena quantidade de outros compostos como suco de frutas, aromatizantes e corantes.

Brenna O. V. et al. (2009) relataram a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bebida de cola e bebida de Chinotto, uma fruta típica consumida na Itália. Neste estudo, os autores atribuíram a atividade antioxidante da bebida principalmente ao corante caramelo presente na formulação.

Relatos na literatura sugerem que a atividade antioxidante em refrigerantes pode ser devida ao corante caramelo e também à presença de sucos de frutas e outros extratos vegetais presentes na bebida, como, por exemplo, o extrato de noz de cola e extrato de semente de guaraná.



## **1.1 Objetivos**

### *1.1.1. Objetivos Gerais*

Avaliar a atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos de refrigerantes do tipo cola e sabor guaraná em diferentes períodos de armazenamento.

### *1.1.2. Objetivos Específicos*

Determinar, através de análise pelo método de Folin-Ciocalteu o conteúdo de compostos fenólicos em amostras de bebida de cola e bebida de guaraná;

Determinar, através de análise pelo método DPPH adaptado a bebidas, a atividade antioxidante de bebida de cola e de guaraná;

Relacionar ação antioxidante, teor de compostos fenólicos, a adição de corante caramelo e extrato de semente de guaraná a esses produtos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Atividade antioxidante

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (SIES, 1993). Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. Uma ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES & STAHL, 1995).

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os flavonóides. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar os radicais livres (DECKER, 1997).

#### 2.1.1. Mecanismo de ação dos antioxidantes

Os antioxidantes podem desativar radicais através de dois mecanismos principais: transferência de átomo de hidrogênio (TAH) e transferência de elétron (TE). O resultado é o mesmo, não importando o mecanismo, mas a cinética e o potencial para outras reações em paralelo é diferente. A transferência de elétrons TE e TAH podem ocorrer em paralelo, e o mecanismo dominante em um dado sistema será determinado pela estrutura e propriedades do composto antioxidante, e também pela solubilidade, coeficiente de partição e solvente do sistema. A energia de dissociação e o potencial de ionização são os fatores que principalmente determinam o mecanismo e a eficiência dos antioxidantes (WRIGHT et al., 2001).

Os métodos baseados no princípio da transferência do átomo de hidrogênio medem a habilidade dos antioxidantes de eliminar os radicais livres através da doação de hidrogênios. Por isso, muitos pesquisadores entendem que esses métodos são os mais relevantes para as reações onde os antioxidantes tipicamente atuam. A medição da capacidade antioxidante é baseada na cinética de competição.

As reações de TAH são independentes de pH e do solvente utilizado, e normalmente são rápidas (WRIGHT et al., 2001).

A transferência de elétrons pode ocorrer através de um mecanismo de desativação física ou química. A primeira envolve a transferência de energia de excitação do composto para o antioxidante sendo o excesso de energia dissipado através de interações rotacionais e vibracionais (STAHL & SIES, 1993). Por sua vez o processo químico resulta em destruição do antioxidante e na formação de produtos de oxidação (STRATTON et al., 1993).

Os métodos baseados na transferência de elétron detectam a capacidade de um antioxidante de transferir um elétron para reduzir qualquer composto, incluindo metais, carbonilas e radicais. Os métodos FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), DPPH e TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) usualmente são colocados nessa categoria (WRIGHT et al., 2001).

Os dois mecanismos quase sempre ocorrem juntos em todas as amostras, tendo o balanço entre eles determinado pela estrutura do antioxidante e o pH do meio (WRIGHT et al., 2001).

As reações oxidativas produzem os chamados “ROS” (reactive oxygen species, ou oxigênios reativos) e tais compostos podem interagir com moléculas biológicas, especialmente lipídios, formando outros radicais. A cadeia de formação de radicais pode se tornar autocatalítica uma vez iniciada, sendo que alguns compostos agem como desativadores de radicais livres devido à sua habilidade antioxidante (FINLEY J. W. et al., 2011).

### 2.1.2. Atividade antioxidante em frutas e bebidas

Diversos autores relatam a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante em frutas, sucos, chás, vinho e cerveja.

Li Fu et al. (2011) analisaram a capacidade antioxidante e conteúdo total de fenólicos de 62 frutas. Para análise de capacidade antioxidante, foram utilizados os métodos FRAP (*Ferric-Reducing Antioxidant Power*) e ABTS (para o método ABTS, os resultados foram expressos em TEAC, ou *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). Pelo método ABTS, a maior atividade antioxidante foi encontrada em azeitonas (80,68  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ) e a menor em pera (0,84  $\mu\text{mol Trolox/g}$ ). O método FRAP, no entanto, mostrou a mais alta atividade antioxidante em goiaba (23,80  $\mu\text{mol}$

Fe(II)/g), e essa mesma fruta também mostrou conteúdo de fenólicos (194,11 mg GAE/100g, contra uma média de 71,80), Isto está em concordância com a forte correlação encontrada ( $R^2 = 0,8416$ ) entre a atividade antioxidante pelo método FRAP e o conteúdo total de fenólicos, sugerindo que os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela capacidade redutora dessas frutas. Porém, há uma correlação muito fraca ( $R^2 = 0,0404$ ) entre os valores de TEAC e conteúdo total de fenólicos, o que leva a concluir que os compostos fenólicos podem não ser os principais responsáveis pela propriedade de “quebra” de radicais livres dessas substâncias.

Pantelidis G. E. et al. (2006) analisaram a atividade antioxidante pelo método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu em frutas vermelhas provenientes do norte da Grécia. Os valores de FRAP variaram de 40,7 (em groselhas de cor amarela) a 169,7  $\mu\text{mol}$  ácido ascórbico/g (em um híbrido de amora e framboesa de cor vermelha). Os valores FRAP encontrados mostraram correlação positiva com o conteúdo total de fenólicos das frutas ( $R^2=0,947$ ).

A concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante em maçãs são mais altos na casca do que na polpa (VIEIRA F.G.K. et al., 2011). A concentração máxima de fenólicos encontrada na polpa de maçãs foi de 212 mg equivalentes de ácido gálico GAE/100g, enquanto na casca a mínima concentração foi de 304,6 e a máxima de 712,6 mg GAE/100g. Foi encontrada correlação positiva entre o conteúdo total de fenólicos e a atividade antioxidante tanto na polpa ( $R^2=0,717$ ) quanto na casca ( $R^2=0,716$ ).

GRANATO D. et al. (2011) caracterizaram a composição fenólica de 73 vinhos da América do Sul e os classificaram de acordo com a sua atividade antioxidante, preço de venda e qualidade sensorial. A quantidade de fenólicos totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu, e foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência para a identificação dos diferentes compostos fenólicos presentes nas amostras. A análise de atividade antioxidante foi realizada as técnicas DPPH e ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Os resultados da pesquisa mostram correlação significativa ( $p<0,01$ ) entre a atividade antioxidante dos vinhos e o conteúdo total de fenólicos.

Zhao et al. (2010) determinaram o perfil fenólico e a atividade antioxidante em 34 marcas de cerveja comerciais. O teor de compostos fenólicos foi determinado

pelo método de Folin-Ciocalteu, os diferentes fenólicos foram separados e identificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e foram realizadas análises de atividade antioxidante por cinco métodos: DPPH, ABTS, degradação do ânion superóxido, poder redutor (expresso em equivalentes de ácido ascórbico), e atividade metal-quelante. Os resultados mostraram grande variação entre o perfil fenólico e atividade antioxidante entre as marcas de cerveja testadas. Ácido gálico e ácido ferúlico foram os principais compostos fenólicos identificados, respondendo por mais de 50% do total de fenólicos. Os cinco métodos para atividade antioxidante mostraram correlação positiva entre si e com o conteúdo de (+)-catequina e ácido cafeico.

Climczak I. et al. (2007) encontraram correlação entre o conteúdo de vitamina C e compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de amostras de suco de laranja. A diminuição no conteúdo de polifenóis e vitamina C ao longo do tempo de estocagem refletiram no decréscimo da capacidade antioxidante dos sucos de laranja. Para a aferição da atividade antioxidante, foram utilizados os métodos DPPH (com resultados expressos em porcentagem de degradação do radical) e o método FRAP, também encontrado em diversos artigos que tratam de atividade antioxidante. Pelo método DPPH, as maiores atividades antioxidantes foram encontradas em zero e dois meses de estocagem (valores próximos de 50% de degradação do DPPH). Foram observadas apenas pequenas mudanças no conteúdo de flavononas, indicando a estabilidade desses compostos ao longo do tempo de estocagem.

C. DANI et al. (2007) encontraram atividade antioxidante em amostras de suco de uva produzidas no sul do Brasil pelo método DPPH. Os resultados foram expressos em quantidade de amostra requerida para reduzir 50% de DPPH, tendo como padrão para comparação uma solução contendo catequinas. Quatro das oito amostras testadas mostraram atividade antioxidante maior do que a da solução padrão de catequina. A atividade antioxidante das amostras foi correlacionada positivamente com o conteúdo total de compostos fenólicos, procianidinas e catequinas.

Bancirova M. (2010) relatou alta atividade antioxidante em chá verde e preto. Foram encontrados valores na faixa de 500 a 3000 $\mu$ mol/L de equivalentes de Trolox. Neste estudo, não foi analisado o conteúdo total de fenólicos, porém é citado que a atividade antioxidante em chás é proveniente das catequinas, que são compostos fenólicos. O método utilizado foi diferente do tradicional DPPH, pois foi utilizado

somente Trolox e a curva padrão foi construída em função do tempo de inibição obtido com soluções de Trolox em diferentes concentrações.

Chan E. W. C. et al. (2010) realizaram ensaios de atividade antioxidante e conteúdo total de fenólicos pelos métodos DPPH e Folin-Ciocalteu, respectivamente, em 14 chás tropicais e 5 chás de clima temperado, comparando os resultados com os tradicionais chás verde e preto. Os resultados para fenólicos foram expressos em equivalentes de ácido gálico por 100g de amostra, e para atividade antioxidante em mg de equivalentes de ácido ascórbico por 100g de amostra. Diversos chás herbais apresentaram conteúdo de fenólicos e atividade antioxidante sem diferença significativa dos chás preto e verde. Entre os chás tropicais destacou-se a “murta de limão” (7560 mg GAE/100g e 13600 mg AA/100g), e o chá de orégano foi o destaque entre os de clima temperado (5860mg GAE/100g e 7240 mgAA/100g). Os valores para chá verde, que foram os mais altos encontrados no estudo, foram de 14120 mg GAE/100 g e 25000 mg AA/100 g).

As informações contidas na literatura indicam que a atividade antioxidante em alimentos e bebidas pode estar relacionada a compostos fenólicos e não fenólicos.

### *2.1.3. Atividade biológica dos antioxidantes presentes em bebidas*

Diversas pesquisas epidemiológicas têm mostrado uma relação inversa entre o consumo de frutas, vegetais e cereais e a incidência de doenças coronárias e certos cânceres (RICE-EVANS et. al. 1997).

A ingestão regular de chá preto pode diminuir significativamente a pressão sanguínea em humanos (HODGSON J. et al., 2011). Os mesmos autores atestam que, em nível populacional, esse efeito de controle da pressão pode ter um impacto significativo no risco de desenvolvimento de hipertensão, infarto e doenças coronárias. Rodríguez-Mateos A. et al. (2011) também constatou o efeito de diminuição pressão sanguínea em ratos em uma dieta controlada contendo mirtilo.

Martínez-López S. et al. (2011) relataram que o consumo de produtos à base de cacau adicionados a bebidas produz efeitos hipoglicêmicos, reduz o risco de doença cardiovascular e protege contra o estresse oxidativo.

O composto antioxidante pterostilbeno, um análogo do resveratrol contido em vinhos, mostrou ter ação ansiolítica em um experimento conduzido com animais de laboratório (RIMANDO A. et al., 2011).

Kivimaki A. S. et al. (2011) estudaram o efeito de suco de frutas vermelhas na saúde vascular de animais de laboratório hipertensos. Os animais foram alimentados com os sucos por oito semanas e os efeitos foram medidos através da análise de expressão do mRNA de genes importantes para a saúde cardiovascular. Concluiu-se que a ingestão de suco contribuiu para a expressão desses genes, o que suporta a teoria de que os sucos de frutas vermelhas podem ter efeitos positivos sobre doenças cardiovasculares em humanos.

Polifenóis provenientes de vinhos mostram importante atividade anti-inflamatória (GIOVINAZZO G. et al, 2011). Os autores estudaram o efeito de polifenóis extraídos de vinhos italianos em processos inflamatórios em tecido de cordão umbilical humano. Os resultados positivos podem explicar, ao menos em parte, a ação anti-inflamatória das substâncias analisadas.

Riba R. E. et al. (2011), com o objetivo de estudar os efeitos positivos do consumo de suco de laranja em população com alto risco de doenças cardiovasculares, realizaram um estudo envolvendo 2606 pacientes de risco com idade entre 55 e 80 anos. Os pacientes foram monitorados por um ano. Constatou-se que os pacientes que consumiam suco de laranja em grande quantidade (mais de 5 porções por semana) apresentavam menor nível de pressão arterial. Além disso, os pacientes que passaram a consumir mais suco de laranja ao longo do ano mostraram melhora em seu perfil lipídico. Dessa forma, o consumo de suco de laranja pode ser recomendado para diminuição da pressão e melhoria do perfil lipídico.

Foi estudado o efeito de *Cola nitida*, uma das espécies de cola utilizadas como aditivo em refrigerantes, durante a formação de câncer de fígado em ratos. O objetivo do trabalho foi investigar o efeito de supressão do câncer pela semente de cola. Os animais foram divididos em diversos grupos os quais receberam diferentes doses de extrato de semente de cola. Os resultados mostraram diferenças significativas entre os grupos, atestando que as doses de extrato administrada tiveram influência nos parâmetros testados e logo na supressão do câncer nesses animais (JASKA, S. et al., 2011).

Além das funções fisiológicas, os compostos antioxidantes também podem exercer ação antimicrobiana, como constataram Mingo E. et al. (2011) em um estudo envolvendo extrato fenólico de resíduo de produção de vinho. Foi constatada atividade antimicrobiana contra *Campylobacter*.

## 2.2. Refrigerantes

Refrigerantes são bebidas não alcoólicas, gaseificadas com dióxido de carbono, obtidas pela dissolução em água potável de açúcares, suco de frutas, extrato de sementes e outras partes inócuas de vegetais, bem como substâncias permitidas pela legislação vigente (BRASIL, 1998).

As formulações de refrigerantes são propriedades corporativas e são mantidas em segredo. Uma formulação típica consiste em 87 a 89% de água carbonatada, 10 a 12% de açúcar e menos de 1% de outros componentes como ácidos, corantes e aromatizantes (K. JORGE, 2003).

Os refrigerantes de cola devem conter obrigatoriamente noz de cola ou extrato de noz de cola, e os refrigerantes de guaraná devem conter semente de guaraná (gênero *Paullinia*) ou seu equivalente em extrato de guaraná (BRASIL, 1998).

As Tabelas 1 e 2 mostram as características físico-químicas exigidas pela legislação para refrigerante de cola e guaraná.

Tabela 1 – Características físico-químicas para refrigerante de cola

Semente de noz de cola ou extrato de noz de cola	q. s. p.
Açúcar	q. s. p.
Acidez titulável em ácido cítrico (g/100mL)	Mínimo 0,065
Cafeína (mg/100mL)	Máximo 20

Fonte: BRASIL, 1998.



Tabela 2 – Características físico-químicas para refrigerante de guaraná

Semente de guaraná ou seu equivalente em extrato (mg/100mL)	Mínimo 20
Açúcar	q. s. p.
Acidez titulável em ácido cítrico (g/100mL)	Mínimo 0,1
Cafeína (mg/100mL)	Mínimo 0,6
Tanino (mg/100mL)	Mínimo 1,0

Fonte: Brasil, 1998.

O refrigerante que contiver semente de guaraná (gênero *Paullinia*), ou seu equivalente em extrato, deverá apresentar os quantitativos dos componentes secundários do guaraná, sendo proibida a adição de cafeína sintética ou obtida de outro vegetal. Além disso, o refrigerante de guaraná não poderá ser adicionado de “cumarina” ou seus derivados (BRASIL, 1998).

### 2.2.1. Atividade antioxidante em refrigerantes

A atividade antioxidante em refrigerantes pode ser atribuída a sucos de frutas presentes na composição, ao corante caramelo e a outros extratos presentes na bebida (extrato de noz de cola e extrato de semente de guaraná, por exemplo).

Brenna O. V. et al. (2009) relataram atividade antioxidante em corante caramelo e bebida de cola. Foram analisadas quatro amostras de corante caramelo e 11 amostras de refrigerantes contendo corante caramelo, sendo nove de bebida de cola e duas de refrigerante de *Chinotto*, um fruto típico italiano. Todas as amostras foram analisadas quanto ao conteúdo de compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante foi analisada pelos métodos FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e DPPH. Os resultados de compostos fenólicos para as amostras de corante caramelo variaram de 29,92 a 112,30 mg de equivalentes de ácido gálico por kg. Estes valores foram da mesma ordem de grandeza daqueles obtidos para bebida de cola (56,38 a 98,47), sugerindo que existem outras fontes de compostos fenólicos na bebida, já que o corante caramelo

é adicionado em baixa concentração. Por sua vez, os resultados para atividade antioxidante em corante caramelo, em média 202.135  $\mu$ moles de equivalentes de Trolox por kg, foram cerca de mil vezes mais altos para os corantes do que para as bebidas de cola (média de 206  $\mu$ moles de Trolox por litro), o qual provavelmente está relacionado à baixa concentração de corantes na bebida. Segundo estudo realizado por Lucena et al. (2005) o conteúdo de corante caramelo classe IV em bebidas de cola está entre 0,85 e 0,95 g/L.

Melanoidinas presentes em corante caramelo foram isoladas por ultra filtração e cromatografia de gel, e sua atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de degradação do radical DPPH após 30 minutos de reação. Uma das amostras desativou o radical DPPH em aproximadamente 30%, a outra em aproximadamente 40% (YONG-GUANG GUAN et al., 2011).

As melanoidinas estão massivamente presentes na dieta dos países ocidentais, devido ao processamento caseiro ou industrial dos alimentos. No passado, acreditava-se serem constituintes poliméricos, de cor marrom e inertes. No entanto, estudos recentes de suas propriedades nutricionais, fisiológicas e funcionais sugerem que as melanoidinas possuem propriedades antioxidantes (MORALES F. J. et al., 2009).

Brudzynski & Miotto (2011) realizaram um estudo da composição das melanoidinas presentes no mel, e a relação do teor de melanoidinas com a capacidade antioxidante e conteúdo fenólico das amostras. Esse estudo foi considerado importante para o presente trabalho, pois as melanoidinas tem contribuição importante para a atividade antioxidante de refrigerantes. As amostras foram submetidas a um tratamento térmico (121°C, 30min), e diluídas. Foi realizada a separação de componentes de acordo com o seu tamanho por cromatografia. Em seguida foi medida a atividade antioxidante utilizando o reagente AAPH e o conteúdo total de fenólicos foi determinado pelo método de Folin. As melanoidinas previamente separadas foram submetidas a cromatografia para separação das frações, e em seguida submetida a espectrometria mássica. O conteúdo de fenólicos em melanoidinas de mel submetido a tratamento térmico foi maior do que naquelas de mel não aquecido. Esse aumento no teor de fenólicos aumentou também a atividade antioxidante das melanoidinas. Os dados de tal pesquisa indicam que as melanoidinas possuem componentes fenólicos em sua estrutura e que o teor desses componentes pode aumentar com o aquecimento.

Morales et al. (2009) realizaram um estudo sobre a capacidade das melanoidinas provenientes de cerveja na desativação de radicais. Os diferentes processos de elaboração de cerveja podem ser classificados de acordo com a sua atividade antioxidante, sendo que tal atividade, não está relacionada com a sua cor, o que significa que as estruturas que possuem cor não estão envolvidas neste efeito antioxidante.

Cano et al. (1998) realizaram ensaios de atividade antioxidante em cerveja, sucos, isotônicos e bebidas carbonatadas de cola e de frutas. Foi utilizado o método ABTS, sendo a curva padrão construída com uma solução de ácido L-ascórbico. Dentre todas essas bebidas, a de cola foi a que apresentou menor atividade antioxidante, de 0,73 mg ácido ascórbico/100 mL de bebida para a marca A e 1,58 para a marca B. Tal atividade foi cerca de cinco vezes menor à encontrada em refrigerante de limão e vinte vezes menor ao valor encontrado para refrigerante de laranja.

Boudjeko, T. et al. (2009) analisaram sementes de cola de três diferentes espécies (*Cola acuminata*, *Cola nitida* e *Garcinia kola*) quanto ao conteúdo de fenólicos totais utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Foi realizada também a identificação e quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O conteúdo de fenólicos totais foi expresso em mg de equivalentes de ácido clorogênico por grama de amostra, resultando em  $49,36 \pm 2,75$  para *C. nitida*;  $31,6 \pm 4,83$  para *C. acuminata* e  $17,03 \pm 3,03$  para *G. kola*. Os resultados de cromatografia mostram que a cafeína representa cerca de 50% dos fenóis solúveis em sementes de *C. nitida* e *C. acuminata*. Além disso, a catequina foi o flavonóide dominante, e representou cerca de 30% dos fenóis solúveis em *C. nitida* e *C. acuminata*. Este estudo forneceu informações que podem servir para explicar a atividade bioquímica da semente de cola e sua possível utilização em alimentos funcionais.

Niennenak et al. (2008) realizaram a extração e análise de polifenóis presentes em sementes de cola de diferentes espécies. Os resultados mostraram que a catequina é o flavonóide predominante em sementes de cola. O conteúdo de catequinas foi entre 13 e 26 mg/g de peso fresco.

Os resultados de atividade antioxidante em bebida de cola obtidos por Brenna et al. (2009) somados aos resultados em sementes de cola e corante caramelo motivaram o estudo de atividade antioxidante em bebida de cola.

Foi encontrada atividade antioxidante em extrato de semente de guaraná obtido com diferentes solventes (água, metanol, acetona e etanol) pelos métodos DPPH e  $\beta$ -caroteno (MAJHENIČ L. et al., 2007). A atividade antioxidante pelo método DPPH foi expressa em porcentagem de desativação do radical DPPH. Todos os extratos apresentaram desativação acima de 85%. Além disso, através da análise de compostos fenólicos totais nos extratos, foram encontrados valores de 119 (extração com água a 100°C) a 186 (extração com acetona 35% a 85°C) de equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico por grama de extrato).

Brenna O. V. et al. (2009) relataram alta atividade antioxidante em bebida de Chinotto, um refrigerante de fruta típico italiano. Foi realizado ensaio de acordo com os métodos FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e DPPH, onde uma das amostras apresentou atividade antioxidante de 1442  $\mu\text{mol/L}$  de equivalentes de Trolox no ensaio FRAP e 986 no ensaio DPPH. Esses resultados motivaram o estudo com bebida de guaraná, já que, assim como a bebida de Chinotto, também contém extrato de fruta em sua composição, além de corante caramelo.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Instrumentação

Foi utilizado espectrofotômetro marca HP modelo Agilent 8453 e ultrassom Unique modelo USC 700.

#### 3.2. Reagentes químicos

Os solventes e reagentes utilizados foram puros para análise (etanol, metanol e carbonato de sódio anidro), ácido gálico (Nuclear), reagente de Folin da marca Fator 1 e o Radical DPPH adquirido da Sigma-Aldrich.

#### 3.3. Amostras

As amostras foram coletadas e armazenadas no laboratório a temperatura ambiente e ao abrigo da luz até o momento das análises. Foram coletados quatro lotes de cada bebida, sendo três produzidos nos dias próximos à coleta e um produzido anteriormente. No momento da análise, as amostras foram colocadas em béqueres e descarbonatadas em ultrassom por 10 minutos. A Tabela 3 apresenta os dados das amostras analisadas.

Tabela 3 – Dados das amostras analisadas

Amostra	Tipo	Tempo de Armazenamento (dias)
Cola A	Refrigerante de Cola	44
Cola B	Refrigerante de Cola	43
Cola C	Refrigerante de Cola	44
Cola D	Refrigerante de Cola	68
Guaraná A	Refrigerante de Guaraná	41
Guaraná B	Refrigerante de Guaraná	42
Guaraná C	Refrigerante de Guaraná	42
Guaraná D	Refrigerante de Guaraná	128

### **3.4. Determinação de fenólicos totais**

A análise foi realizada segundo o método de Folin-Ciocalteu (SLINKARD & SINGLETON, 1977). Resumidamente, foi preparada uma curva padrão utilizando diferentes concentrações de uma solução aquosa de etanol e ácido gálico. Alíquotas de 0,02 mL dessas soluções reagiram por 2h ao abrigo da luz com 1,58 mL de água e 0,4 mL de reagente de Folin. O mesmo procedimento foi realizado para as amostras. A curva padrão e amostras foram analisados em espectrofotômetro a 765nm. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE): mg de ácido gálico por litro, calculados de acordo com a curva padrão obtida na faixa de 20 a 500 mg/L de ácido gálico.

### **3.5. Determinação de atividade antioxidante**

Foi utilizada a técnica DPPH adaptada a bebidas (BRAND-WILLIAMS, 1995). A curva padrão foi preparada através da diluição em série da solução de Trolox em metanol. Alíquotas de 0,05 mL das soluções padrão, assim como das amostras, reagiram por 30 minutos ao abrigo da luz com 0,95 mL de uma solução metanólica do radical DPPH. A curva padrão e amostras foram analisados em espectrofotômetro a 515nm. Os resultados foram expressos em equivalentes de Trolox ( $\mu\text{mol Trolox/L}$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Atividade antioxidante e compostos fenólicos em bebida de cola

Os resultados indicaram que não houve diferença significativa em relação ao teor de compostos fenólicos para os diferentes lotes analisados (Tabela 4).

Tabela 4 – Conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante para as bebidas de cola.

Amostra	GAE*	DPPH**
Cola A	137,93 <sup>a</sup>	180,12a
Cola B	146,88 <sup>a</sup>	171,38a
Cola C	113,21 <sup>a</sup>	243,89a
Cola D	123,69 <sup>a</sup>	149,24a

\* - Resultados expressos em mg de ácido gálico por litro de amostra

\*\* - Resultados expressos em  $\mu$ mol de equivalentes de Trolox por litro de amostra

Letras iguais na coluna indicam resultados sem diferença significativa a 95% de confiança

Os valores de concentração de compostos fenólicos variaram na faixa de 113,21 a 146,88 GAE (mg de ácido gálico/L). Não foi detectada correlação positiva entre o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante.

Brenna O. V. et al. (2009), analisaram nove amostras de bebida de cola quando ao conteúdo de compostos fenólicos: três regulares (A, B e C); três *light* (D, E e F); duas descafeinadas (G e H); e uma adicionada de suco de limão (I). Não houve diferença significativa no conteúdo de compostos fenólicos entre as amostras B, C, G e I e entre B, C e H. A técnica utilizada também foi a de Folin-Ciocalteu, assim como no presente trabalho.

Brenna et al. (2009), ao analisarem compostos fenólicos em refrigerante de cola, encontraram valores entre 56,38 e 98,47 mg de ácido gálico/L, valores inferiores aos encontrados no presente trabalho. Essa diferença no conteúdo de fenólicos pode ser devida à natureza do extrato de noz de cola utilizado ou outros aditivos empregados no preparo da bebida.

Boudjeko et al. (2009) encontraram valores diferentes para conteúdo total de fenólicos ao analisarem três espécies de semente de cola e o fruto de *Garcinia kola*. Foram obtidos valores entre 17,03 e 49,36 mg de equivalentes de ácido clorogênico por grama de peso fresco pelo método de Folin-Ciocalteu.

Granato et al. (2011) analisaram amostras de vinhos produzidos na América do Sul e encontraram um valor médio de conteúdo de compostos fenólicos de 1.476,75 mg de equivalentes de ácido gálico por litro de amostra. Este valor foi cerca de 10 vezes maior ao valor médio encontrado para refrigerantes de cola.

Chan E. W. C. et al. (2010) encontraram teor de fenólicos de 2.810 mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de chá de alecrim. Convertendo esse valor para mg por litro de infusão do chá, tem-se 140,50 mg GAE/L. Esse valor foi muito próximo à média dos valores encontrados para bebida de cola, que foi de 132,67 GAE/L.

Os valores de atividade antioxidante apresentaram-se na faixa de 149,2 a 243,89  $\mu\text{mol Trolox/L}$ , contudo sem diferença significativa entre os quatro lotes analisados (Tabela 4).

Os valores encontrados para atividade antioxidante em bebida de cola foram semelhantes aos obtidos por Brenna O. V. et al. (2009) ao analisarem bebidas de cola comerciais. O princípio do método utilizado foi o mesmo do presente trabalho e os autores encontraram valores entre 170 e 288  $\mu\text{mol Trolox/L}$ . As amostras foram as mesmas testadas para compostos fenólicos (amostras de A a I). Dentre estas, os seguintes pares não apresentaram diferença significativa quanto à atividade antioxidante: C e D (uma regular e outra *light*); F e H (uma *light* e outra regular descafeinada) e G e H (ambas regulares descafeinadas).

Bancirova M. (2010) realizou análise de atividade antioxidante pelo método DPPH para chá verde e preto. Foram analisadas infusões preparadas com o chá fresco e com o mesmo após congelamento por 12 meses a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Os resultados mostraram uma grande diminuição na atividade antioxidante dos chás após o período de congelamento. Os chás não fermentados (chá verde) apresentaram valores em média de 1.650  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox/L quando frescos e 250 após o período de congelamento. O mesmo efeito foi observado para o chá fermentado (chá preto): média de 1.700 quando frescos e 160 após o período de congelamento. Os valores encontrados, tanto para chá preto quando para chá verde após o período congelamento foram da mesma ordem de grandeza daqueles encontrados para bebida de cola.



#### 4.2. Atividade antioxidante e compostos fenólicos em bebida de guaraná

Para a análise de compostos fenólicos o maior valor obtido foi de 76,61 mg de ácido gálico por litro de amostra de bebida de guaraná, sendo que houve diferença significativa entre os lotes analisados (Tabela 5). O teste de Tukey a 5% de significância indicou que somente um dos lotes diferiu significativamente dos demais no conteúdo de compostos fenólicos.

Para a análise de atividade antioxidante, os valores variaram entre 105,72 e 176,63  $\mu\text{mol Trolox/L}$  e não houve diferença significativa entre as amostras.

Tabela 5 – Conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante para as bebidas de guaraná.

Amostra	GAE*	DPPH**
Guaraná A	76,61 <sup>a</sup>	105,72 <sup>a</sup>
Guaraná B	17,36 <sup>b</sup>	135,20 <sup>a</sup>
Guaraná C	9,89 <sup>b</sup>	150,15 <sup>a</sup>
Guaraná D	4,39 <sup>b</sup>	176,63 <sup>a</sup>

\* - Resultados expressos em mg de ácido gálico por litro de amostra

\*\* - Resultados expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox por litro de amostra.

Letras iguais na coluna indicam resultados sem diferença significativa a 95% de confiança.

Uma vez que o lote A diferiu dos demais em relação ao conteúdo de compostos fenólicos, acredita-se que essa diferença seja devido à quantidade de fenólicos no guaraná ser reduzida, o que torna mais difícil sua detecção pela técnica utilizada. Os quatro lotes foram elaborados seguindo a mesma formulação, mesmos procedimentos e mesmos equipamentos. Contudo, podem ter ocorrido pequenas diferenças no processamento em dois momentos em que o produto é aquecido. Primeiramente, na preparação do xarope simples (água e açúcar) o açúcar é adicionado a um tanque contendo água a 60°C e em seguida a mistura é aquecida a 80 - 90°C por aproximadamente 25 minutos sob agitação constante. O objetivo desta etapa é obter uma solução homogênea e livre de contaminação microbiológica (DUDA, 2000). Logo após essa etapa, ocorre a filtração do xarope simples, com o objetivo de eliminar impurezas para obtenção de um xarope límpido e transparente, para que não haja influencia da coloração no produto final. Essa filtração é realizada com carvão ativado e terra diatomácea (auxiliar de filtração). O carvão ativado é

aplicado ao xarope aquecido a 85°C e o tempo de contato mínimo é de 20 minutos, sob agitação (SANTANA, 2000).

Acredita-se que o tratamento térmico tenha influência no conteúdo fenólico das amostras com base no trabalho de Brudzynski & Miotto (2011), que encontraram maior teor de compostos fenólicos em melanoidinas isoladas de mel submetido a processamento térmico em comparação com mel não aquecido. O mel foi tratado a 121°C por 30 minutos. O aumento no teor de fenólicos em uma das frações de melanoidinas de mel de flor de trigo sarraceno chegou a 50%, o maior observado no trabalho.

As amostras de refrigerante de guaraná B, C e D apresentaram conteúdo de compostos fenólicos reduzido, valores esses abaixo do limite de quantificação da curva padrão. Majhenič L. et al., (2007) encontraram conteúdo de compostos fenólicos em extrato de semente de guaraná variando de 119 (extração com água a 100°C) a 186 (extração com acetona 35% a 85°C) de equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico por grama de extrato). A pequena quantidade de extrato de semente de guaraná adicionada justificaria o baixo conteúdo de fenólicos na bebida, visto que o extrato de guaraná é um dos componentes do mix de aditivos que, segundo K. Jorge (2003), representa menos de 1% da composição do produto.

O teor de fenólicos para bebida de guaraná, em média 34,62, é mais de vinte vezes menor ao valor médio encontrado por Granato et al. (2011) para vinhos, que foi em média de 1476,75.

Chan E. W. C. et al. (2010) encontraram teor de fenólicos de 1.370 mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de chá de camomila. Convertendo esse valor para mg por litro de infusão do chá, obtêm-se 68,5 mg GAE/L. Esse valor foi próximo ao maior valor encontrado entre os lotes de bebida de guaraná, que foi de 76,61 mg GAE/L. O valor médio encontrado para bebida de guaraná, de 34,62 GAE/L, aproxima-se do valor encontrado para chá de capim-limão que foi de 32,20 mg GAE/L.

Zhao et al. (2010) analisaram a capacidade antioxidante de 34 amostras de cervejas comerciais pelo método DPPH. O menor resultado encontrado foi para uma marca chinesa de cervejas e foi igual a 240  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox/L, o qual se encontra na mesma ordem de grandeza da média encontrada para bebida de guaraná, de 130,35  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox/L.

Uma das explicações para a menor atividade antioxidante apresentada pela bebida de guaraná em relação à bebida de cola pode ser o estudo realizado por Lucena R. et al. (2005), dado que o corante caramelo contribui em grande parte para a atividade antioxidante em bebidas. Os autores utilizaram um método contínuo automático para determinação de açúcares totais, corante caramelo classe IV e cafeína em bebidas. O caramelo é o corante mais importante na produção de refrigerante de cola e outros. A Associação Técnica Internacional do Caramelo identificou quatro diferentes classes do corante: I, II, III e IV, sendo a IV a mais utilizada em bebidas. Foram analisadas diversas amostras de bebida de cola (regular, sem açúcar e sem cafeína) e uma amostra de bebida de guaraná. O conteúdo de corante caramelo classe IV variou entre 0,85 e 0,95 g/L entre as bebidas de cola e foi de 0,05 em bebida de guaraná.

## 5. CONCLUSÃO

A contribuição das diversas substâncias, interação entre elas e mecanismo da atividade antioxidante ainda não é completamente compreendido.

A composição dos refrigerantes é confidencial, porém sabe-se que os refrigerantes de cola contêm extrato de noz de cola em sua composição, assim como os refrigerantes de guaraná possuem extrato de semente de guaraná. Ambos os extratos possuem compostos fenólicos que contribuem para a atividade antioxidante dessas bebidas.

A capacidade antioxidante pode estar relacionada com a presença de corante caramelo em ambas as bebidas.

A atividade antioxidante em refrigerantes é baixa quando comparada a bebidas como vinho e chá verde e preto, cuja ingestão já possui efeitos benéficos à saúde associados. Portanto, há possibilidade de que essa capacidade antioxidante contribua apenas para a proteção do produto contra a oxidação, não possuindo efeito na saúde humana.

Novos estudos podem ser realizados com refrigerantes a base de suco de uva ou laranja, pois a literatura relata atividade antioxidante em sucos dessas frutas. O estudo de energéticos também é uma perspectiva interessante, uma vez que essas bebidas possuem maiores concentrações de extratos vegetais como o extrato de guaraná e outros. Além disso, podem ser realizados estudos do perfil fenólico dos refrigerantes, para identificar quais compostos estão efetivamente contribuindo para a atividade antioxidante.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO Brasileira das Indústrias de Refrigerante. **Brasil bebidas não alcoólicas**: consumo regional de 2008. Brasília: ABIR, 2011. Disponível em: <<http://www.abir.org.br/downloads/2008/pt2.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2011.
- BANCIROVA M. (2010). Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food research international*, 43, (1379-1382).
- BOUDJEKO, T. et al. (2009). Characterisation of cell wall polysaccharides, arabinogalactans-proteins (AGPs) and phenolics of Cola nitida, Cola acuminata and Garcinia cola seeds. *Carbohydrate Polymers*, 78, (820-827).
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Portaria nº 544 de novembro de 1998. Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade, para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 de novembro de 1998. Seção 1, p. 106.
- BRAND-WILLIAMS et al. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, Garching*. 28 (25-30).
- BRENNAN O. V. et al. (2009). Antioxidant capacity of some caramel-containing soft drinks. *Food Chemistry*, 115 (119-123).
- BRUDZYNSKI & MIOTTO (2011). Honey melanoidins: analysis of the compositions of the high molecular weight melanoidins exhibiting radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 127, (1023-1030).
- C. DANI et al. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically or conventionally produced grapes. *Food and Chemical Toxicology*, 45, (2574-2580).
- CANO et al. (1998). Estimación de la actividad antioxidante de distintas bebidas comerciales. *Alimentaria*, 9 (73-76).
- CHAN E. W. C. et al. (2010). Antioxidant properties of tropical and temperate herbal teas. *Journal of food composition and analysis*, 23, (185-189).
- CLIMCZAK I. et al. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of food composition and analysis*, 20, (313-322).
- DECKER, E.A. (1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutrition Reviews*, 55 (396-407).
- DUDA, R. Elaboração de xarope simples e composto. Ambev. Curitiba, 2000.

FINLEY J. W. et al. (2011). Antioxidants in foods: State of the Science Important to the Food Industry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59, (6837-6846).

GIOVINAZZO G. et al. Anti-inflammatory properties of polyphenols from Italian red wines in human endothelial and monocytoid cells. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 221

GRANATO D. et al. (2011). Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. **Food Chemistry**, 129 (366-373).

HODGSON J. et al. (2011). Regular consumption of black tea lowers blood pressure: a randomized controlled trial. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 218

JASKA, S. et al. (2011). Effect of cola nut (*Cola nitida*) on tumour marker enzymes in rat liver during hepatocarcinogenesis. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 247

K. JORGE. Soft Drinks/Chemical Composition. In: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Maryland: Academic Press, 2003 (5346-5352).

KIVIMAKI A. S. et al. Effects of lingonberry, cranberry and blackcurrant juices on vascular health of spontaneously hypertensive rats – focus on mRNA expressions. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 219

LI FU et al. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, 129, (345-350).

LUCENA R. et al. (2005). Continuous flow autoanalyzer for the sequential determination of total sugars, colorant and caffeine contents in soft drinks. **Analytica Chimica Acta**, 530 (283-289).

MAJHENIČ L. et al. (2007). Antioxidant and antimicrobial properties of guarana seed extracts. **Food Chemistry**, 104, (1258-1268).

MARTÍNEZ-LÓPEZ S. et al. (2011). A comparative study of the effects of regularly consuming two cocoa products with different polyphenol levels on cardiovascular health in humans. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 222

MINGO E. et al. (2011). Antimicrobial effect of phenolic compounds extracted from winemaking waste against *Campylobacter* spp. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 224

MORALES F. J. et al. (2009). Non-specific Hydroxyl Radical Scavenging Properties of Melanoidins from Beer. **Health and disease prevention**, 78 (765-774).

NIENENAK et al. (2008). Purine alkaloids and phenolic compounds in three *Cola* species and *Garcinia kola* grown in Cameroon. **South African Journal of Botany**, 74 (629-638).

PANTELIDIS, G. E. et al, (2006). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. **Food Chemistry**, 102, (777-783).

RIBA R. E. et al. (2011). Positive effects of orange juice consumption in high cardiovascular risk mediterranean population, the predimed randomized trial. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 223

RICE-EVANS C. A. et al. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, 2 (152-159).

RIMANDO A. et al. (2011). Anxiolytic action of pterostilbene. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 228

RODRIGUEZ-MATEOS A. et al. (2011). Blueberry consumption improves vascular reactivity and lowers blood pressure in high fat fed rats. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON POLYPHENOLS AND HEALTH, 5, 2011, Barcelona. **Resumos...** Barcelona: [s. n.], 2011. p. 223

SANTANA, R. Fabricação de Xarope Simples/Composto. In: Curso de Tecnologia de Refrigerantes. Ambev. Vassouras, 2000.

SIES, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. Review. **European Journal of Biochemistry**, 215 (213-219).

SIES, H., STAHL, W. (1995). Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, 62 (1315-1321).

SLINKARD & SINGLETON (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**. 28 (49-55).

SOARES, S. E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidante. **Rev. Nutrição**, 15.

STAHL, W. & SIES, H (1993). Physical quenching of singlet oxygen and cis-trans isomerization of carotenoids. **Ann. New York Acad. Sci.**, 691 (10-19)

STRATTON, S. P et al. (1993). Isolation and identification of singlet oxygen oxidation products of  $\beta$ -carotene. **Chem. Res. Toxicol.**, 6 (542-547).

VIEIRA, F.G.K. et al. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. ***Scientia Horticulturae***, 128, (261-266).

WRIGHT J. S. et al. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. ***Journal of American Chemist Society***, 123, (1173-1183).

YONG-GUANG GUAN et al. (2011). Proposed formation mechanism, antioxidant activity and MDA-MB-231 cells survival analysis of two glucose–ammonium sulfite caramel colour melanoidins fractions. ***Carbohydrate polymers***, 86 (948-955).

ZHAO et al. (2010). Phenolic profiles and antioxidante activities of commercial beers. ***Food Chemistry***, 119 (1150-1158).