

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ISABELLA DOS SANTOS SILVA

**EFEITO DA LUZ NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
REFRIGERANTE SABOR GUARANÁ ACONDICIONADO EM
DIFERENTES EMBALAGENS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2017

ISABELLA DOS SANTOS SILVA

**EFEITO DA LUZ NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
REFRIGERANTE SABOR GUARANÁ ACONDICIONADO EM
DIFERENTES EMBALAGENS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos - DALIM - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Porto Ineu.

Campo Mourão

2017



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO
PARANÁ
Campus Campo Mourão
Departamento Acadêmico de Alimentos (DALIM)
Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

EFEITO DA LUZ NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE REFRIGERANTE SABOR GUARANÁ ACONDICIONADO EM DIFERENTES EMBALAGENS

por

ISABELLA DOS SANTOS SILVA

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 23 de junho de 2017 como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após a deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Rafael Porto Ineu
Orientador

Prof. Dra. Ailey Aparecida Coelho Tanamati
Membro Titular

Prof. Dr. Alexandre Santa Bárbara Azevedo
Membro Titular

NOTA: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no Departamento Acadêmico de Alimentos da UTFPR campus Campo Mourão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, por ter me dado luz e força para superar as dificuldades e vencer essa caminhada.

Aos meus pais, Eleni e Marcos, que sem dúvidas são os melhores pais do mundo, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Por colocarem esse meu sonho em primeiro plano durante todos esses anos e acreditarem em mim.

À minha irmã, Isadora, por todo amor, apoio, carinho, amo muito você. Aos meus avós pelo amor, cuidado e por todas as orações. Aos meus pequenos, que mesmo de longe são meus motivos de força e determinação, madrinha ama além da vida.

Agradeço ao meu orientador professor Rafael Porto Ineu pela orientação e confiança ao longo desse trabalho. Foi um grande prazer tê-lo como orientador. À toda banca examinadora pelas sugestões e atenção dedicadas a este estudo. Ao professor Manuel Plata pelo empréstimo dos reagentes necessários para realização de determinadas análises. A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a busca pelo título que tanto sonhei.

Agradeço à família Cyclus Consultoria, empresa júnior, pelo aprendizado que tive durante esse tempo que pude fazer parte e pelas pessoas maravilhosas que tive a oportunidade de conhecer.

À empresa Oficina do Croissant e aos amigos que lá trabalham pela oportunidade de estagiar e por todo aprendizado.

Aos meus amigos da vida, Marina, Igor e Leandro, pelo apoio, amizade e companheirismo durante todos esses anos, independente da distância. Amo vocês, obrigada por tudo.

Aos amigos que conquistei durante essa caminhada, Thais, Gabriela, Angélica, Bruno, Juliana, Bianca, Hemerson, Rafael e outros que não conseguirei citar os nomes aqui, mas que carrego no coração, obrigada pela amizade, carinho, confiança, paciência e companheirismo. Os momentos que aqui passamos ficarão eternamente guardados.

O agradecimento especial vai para o melhor presente que Deus me deu nesses anos de faculdade, minhas amigas de turma, apartamento e vida, Taini e Natália. Obrigada por cada momento compartilhado, vocês são pessoas maravilhosas que quero levar pra vida toda no coração. Amo vocês.

Aos professores do Colégio Santa Teresa, onde pude crescer e me desenvolver como pessoa para que pudesse realizar esse sonho, meu muito obrigado pelos ensinamentos e apoio de sempre.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, seja de forma direta ou indireta, fica registrado aqui o meu muito obrigada.

RESUMO

Silva, Isabella dos S. **Efeito da luz na atividade antioxidante de refrigerante sabor guaraná acondicionado em diferentes embalagens.** 2017. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso - Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campus Campo Mourão, 2017.

O interesse em estudar a atividade antioxidante de alimentos e bebidas vem crescendo nos últimos anos. O presente trabalho teve como objetivo analisar o efeito da luz na atividade antioxidante do refrigerante sabor guaraná acondicionado em diferentes tipos de embalagens. A análise de antioxidantes resultou em um intervalo de valores entre 110,00 e 225,63 μmol de equivalente de trolox por litro de amostra. Já para a análise quanto ao teor de fenólicos totais, os valores obtidos variaram entre 17,65 e 40,40 mg ácido gálico por litro de amostra. Os resultados obtidos para vitamina C, acidez titulável e pH variaram entre 409,72 e 717,26 μg de AA por mL de amostra, 0,1152 e 0,1395 g de ácido cítrico por L de amostra e 3,745 e 3,795, respectivamente. O objetivo principal do estudo foi alcançado, visto que, houve diferença significativa a nível de 95% de confiança com relação a atividade antioxidante das amostras, em paralelo ao seu tipo de armazenamento, seja a luz ambiente ou sob abrigo da mesma.

Palavras-chave: Antioxidante, refrigerante, guaraná, efeito da luz, acondicionamento.

ABSTRACT

Silva, Isabella dos S. **The light effect on the antioxidant activity of guarana flavored soft drink in different packages**. 2017. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso - Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Câmpus Campo Mourão, 2017.

The interest in studying the antioxidant activity of foods and beverages has been growing in recent years. The present work had as objective to analyze the light effect on the antioxidant activity of the guarana flavored soft drink conditioned in different types of packaging. Antioxidant analysis resulted in a range of values between 110.00 and 225.63 μmol of trolox equivalent per liter of sample. For the analysis of total phenolic content, the values obtained varied between 17.65 and 40.40 mg of gallic acid per liter of sample. The results obtained for vitamin C, titillated acidity and pH varied between 409.72 and 717.26 μg AA per mL of sample, 0.11152 and 0.1395 g of citric acid per L of sample and 3,745 and 3,795 respectively. The main objective of the study was reached, since there was a significant difference at the 95% confidence level with respect to the antioxidant activity of the samples, in parallel to their type of storage, either under the light or under ambient light.

Key words: Antioxidant, refrigerant, guarana, light effect, packaging.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Definição das siglas e tempo de armazenamento das amostras.....	23
Tabela 2. Atividade antioxidante para as amostras de refrigerante.....	28
Tabela 3. Conteúdo total de compostos fenólicos para as amostras de refrigerante.	29
Tabela 4. Concentração de ácido ascórbico obtida para cada amostra.....	30
Tabela 5. Valores de acidez obtidos para cada amostra.	31
Tabela 6. Valores de pH obtidos para cada amostra.....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Transmitância obtida para as embalagens metálicas.....	26
Figura 2. Transmitância obtida para as embalagens plásticas.....	27
Figura 3. Transmitância obtida para as embalagens de vidro.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (Ácido 2,2-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
BHA	Hidroxianisol de butila
BHT	Hidroxitolueno de butila
CUPRAC	Íon cuprico na redução de capacidade antioxidante
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
ERO	Espécie reativa de oxigênio
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
GAE	Equivalente de ácido gálico
ORAC	Capacidade de absorção dos radicais oxigenados
TEBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TRAP	Potencial antioxidante total

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 REFRIGERANTES	15
3.1.1 MATÉRIAS-PRIMAS	15
3.1.1.1 ÁGUA.....	15
3.1.1.2 AÇÚCAR	15
3.1.1.3 SUCO E EXTRATO VEGETAL.....	15
3.1.1.4 CONSERVANTES.....	16
3.1.1.5 ACIDULANTES	16
3.1.1.6 ANTIOXIDANTES.....	16
3.1.1.7 AROMATIZANTES E/OU FLAVORIZANTES	17
3.1.1.8 CORANTES	17
3.1.1.9 DIÓXIDO DE CARBONO (CO ₂).....	17
3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	17
3.2.1 AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES	19
3.2.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM REFRIGERANTES.....	19
3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	20
3.4 EMBALAGENS	20
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 INSTRUMENTOS UTILIZADOS	22
4.2 REAGENTES UTILIZADOS	22
4.3 AMOSTRAS	22
4.4 TRANSMITÂNCIA	23
4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	23
4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	24
4.7 DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C	24
4.8 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL.....	24
4.9 DETERMINAÇÃO DO pH	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1 TRANSMITÂNCIA	26

5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	28
5.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	29
5.4 VITAMINA C	30
5.5 ACIDEZ TOTAL	31
5.6 pH	32
6 CONCLUSÃO.....	33
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1 INTRODUÇÃO

A relevância do presente trabalho se dá pelo fato do Brasil ser atualmente um dos maiores mercados consumidores e produtores de refrigerantes do mundo, e paralelamente, ao fato da não existência de muitos dados e estudos sobre a atividade antioxidante desse produto (CERVIERI et al., 2014).

Segundo a ABIR (2016) o refrigerante é a bebida não alcóolica mais consumida no Brasil, apesar do decaimento quando comparado o consumo em 2010 e em 2015. A base dessa bebida é composta de água, açúcar e uma pequena quantidade de outros compostos, como, aromatizantes, corantes e sucos de frutas.

Brenna (2009) associa a atividade antioxidante com a presença do corante caramelo, sucos de frutas e extratos vegetais, como por exemplo, no refrigerante sabor guaraná, o extrato da semente do guaraná.

Um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devidos à oxidação (como rancificação e formação de off-flavors em alimentos) estando presente em pequenas concentrações, quando em comparação com o agente oxidante. As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades protetivas e agir em diversas etapas do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos e são, portanto, classificadas em duas categorias principais: antioxidantes primários e secundários. São considerados primários os compostos de ação antioxidante capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres graças à doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, o que transforma os radicais em substâncias estáveis. Os antioxidantes secundários apresentam uma grande variedade de modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); inativação de espécies reativas de oxigênio (EROs), conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicalares ou absorção de radiação UV (MAISUTHISAKUL et al., 2007).

Além dos antioxidantes clássicos presentes em concentrações consideradas relativamente baixas, existem compostos que possuem atividade antioxidante em concentrações relativamente altas, e podem contribuir para capacidade antioxidante total, dentre eles destacam-se os compostos fenólicos (GRIS, 2010).

Segundo Venturini (2010) os antioxidantes melhoram a estabilidade dos aromas, fazendo assim, com que a vida de prateleira do produto seja maior. O antioxidante mais utilizado na indústria de refrigerantes é o ácido ascórbico.

A preocupação com a correta utilização de bons antioxidantes vem das modificações sensoriais que a oxidação pode gerar no refrigerante, mesmo que presentes em quantidades

pequenas, as alterações organolépticas são facilmente perceptíveis (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

Sabe-se que existem alguns fatores externos que podem interferir diretamente na ação antioxidante dos refrigerantes. Como exemplo, podemos citar o calor, a luz ou até mesmo a presença de substância reativa (oxigênio, metais e peróxido).

A oxidação é um processo químico que ocorre, na maioria dos casos, devido à exposição ao oxigênio ou aos efeitos do calor e luz. Como a luz acelera a oxidação, a exposição de produtos em embalagens transparentes induz a reação (VENTURINI, 2010).

A perda de gás carbônico em bebidas, também é um importante fator a ser considerado no controle de qualidade de um produto. Este controle envolve não só a etapa de produção, mas também as características da embalagem utilizada e dos sistemas de armazenagem, transporte e distribuição (DANTAS, 1999).

Em relação ao controle do produto, diversos aspectos determinam a qualidade da carbonatação tais como a pressão de CO₂ no saturador, temperatura de carbonatação, manutenção de temperatura, ausência de ar no xarope e qualidade da água. Além disso, existe a questão da embalagem, considerando-se seu material (vidro, plástico ou metal) e o tipo de fechamento da mesma, e também seu desempenho físico-mecânico frente às condições de transporte e armazenagem, como variações de temperatura, movimentação e empilhamento (DANTAS, 1999).

Quanto à embalagem, os refrigerantes podem ser envasados em garrafas retornáveis de vidro de diversas capacidades. O vidro apresenta como vantagens o alto valor mercadológico de visualização, devido à transparência, e perfeita impermeabilidade. Em contra partida, a fragilidade, o peso e o preço elevado, são fatores que colocam o vidro em desvantagem, quando comparado as latas e garrafas PET (VENTURINI, 2010).

Outra possível embalagem para a fabricação de refrigerantes são as garrafas PET. Atualmente elas estão substituindo o vidro por conta de suas vantagens, tais como: embalagem resistente a impacto, são descartáveis, agilizam a distribuição dos produtos e menor investimento do engarrafador com máquinas de lavar vasilhames. No entanto, a utilização dessas embalagens requer uma quantidade maior de carbonatação comparado com o vidro, para compensar a perda de CO₂ pelas paredes do recipiente durante o armazenamento (VENTURINI, 2010).

Por fim, as latas para refrigerantes apresentam algumas vantagens como: gelam mais rapidamente, peso baixo e resistência, menor custo de transporte e estocagem. Essas embalagens metálicas oferecem proteção total contra a luz, oxigênio e ao vapor de água e

microrganismos, sendo resistentes a diversos tipos de danos mecânicos. A opacidade da embalagem é uma característica importante, por prevenir alterações induzidas pela luz e radiação ultravioleta (OLIVEIRA, 2006).

Apesar do segredo que há por trás do processamento de cada tipo de refrigerante, a certeza que se tem é que no caso do de sabor guaraná, há presença de extrato vegetal da semente do guaraná. Devido ao alto teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante no extrato citado, surgiu o interesse em analisar esses teores no produto pós-processamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar o efeito da luz na atividade antioxidante de refrigerante sabor guaraná armazenado em PET, lata e vidro.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a atividade antioxidante pelo método DPPH adaptado a bebidas;
- Determinar o conteúdo de compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu;
- Quantificar o teor de vitamina C pelo método de Jacques-Silva;
- Medir a acidez total;
- Determinar o pH.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 REFRIGERANTES

O Art. 45 do Decreto nº 2.314 de 1997, define refrigerante como uma “bebida gaseificada, obtida pela dissolução, em água potável, de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionada de açúcares” (BRASIL, 1997).

Townseed Speakman, em 1870, preparou o primeiro refrigerante por meio da adição de flavorizantes e sucos de fruta com água carbonatada, porém, existem registros de que David McBride produzira uma bebida carbonatada à base de frutas em 1767, adicionando sais alcalinos ao suco de limão (VENTURINI, 2010).

3.1.1 MATÉRIAS-PRIMAS

3.1.1.1 ÁGUA

É o ingrediente de maior quantidade na composição do refrigerante, chegando a até, aproximadamente, 90% do volume total. Assim, deve apresentar características adequadas e não contribuir com substâncias que possam causar alterações na estabilidade, aparência e sabor do produto final. De acordo com o Art. 15 do Decreto nº 2.314 de 1997, a água utilizada para produzir refrigerante deve ser “limpa, inodora, incolor, não conter germes patogênicos e observar o padrão de potabilidade” (BRASIL, 1997; MENDA, 2011).

3.1.1.2 AÇÚCAR

Os açúcares representam de 08-12% no volume final do produto. Na produção de refrigerantes o açúcar mais utilizado se apresenta na forma líquida ou cristalizada, chamado de xarope de sacarose. Nos refrigerantes, o açúcar apresenta como funções, transmitir gosto doce, realçar sabor e dar corpo, além de auxiliar na estabilização do CO₂ e fornecer valor energético (LIMA; AFONSO, 2009).

3.1.1.3 SUCO E EXTRATO VEGETAL

Os variados tipos de concentrados sejam eles originados de sucos de frutas, destilados de frutas/vegetais ou óleos essenciais, têm as quantidades mínimas a serem utilizadas para fabricação dos refrigerantes, e aquelas são determinadas por lei (MENDA, 2011).

Para o refrigerante do tipo guaraná, de acordo com o quarto parágrafo do Art. 45 do Decreto nº 2.314 de 1997 deve conter, obrigatoriamente, dois centésimos de grama de semente de guaraná (gênero *Paullinia*), ou em quantidade igual quando for extrato, para cada cem mililitros de bebida, sendo esta a quantidade mínima aceitável por lei (BRASIL, 1997).

3.1.1.4 CONSERVANTES

Os conservantes são usados para prevenir ou retardar a deterioração química ou biológica dos alimentos. Com a seleção correta dos conservantes, o tempo de prateleira dos produtos pode aumentar substancialmente (IRIE, 1991).

Para a escolha do conservante a ser usado deve-se levar em conta as características físico químicas do mesmo, analisando se é compatível com a bebida. A Legislação Brasileira estabelece como conservantes permitidos em refrigerantes o ácido benzoico, benzoato de sódio, ácido sórbico e sorbatos (LIMA, 2009).

3.1.1.5 ACIDULANTES

Os acidulantes têm um papel importante, pois colaboram no realce do sabor da bebida, regula a doçura do açúcar, acentuam o sabor ácido, regulam o pH e colaboram na inibição da proliferação de micro-organismos. São considerados importantes na qualidade sensorial e devem ser levados em consideração para se obter um equilíbrio entre açúcar e ácido. Os acidulantes mais utilizados na fabricação de refrigerantes são os ácidos, cítrico, málico fosfórico e tartárico (MENDA, 2011).

3.1.1.6 ANTIOXIDANTES

São definidos como substâncias que previnem a influência negativa do oxigênio nos alimentos. Aldeídos, ésteres e outros componentes do sabor são susceptíveis a oxidações pelo oxigênio do ar durante a estocagem, sendo aceleradas pela luz solar e calor. Por isso, os refrigerantes nunca devem ser expostos ao sol. O antioxidante mais utilizado na indústria de refrigerantes é o ácido ascórbico (MENDA, 2011).

3.1.1.7 AROMATIZANTES E/OU FLAVORIZANTES

Aromatizante é a substância que confere e intensifica o aroma dos alimentos, e flavorizante é a substância que confere ou intensifica o sabor e o aroma dos alimentos. Esses aditivos têm características interessantes, pois podem criar outros sabores ainda não encontrados na natureza ou até mesmo, substituir e/ou mascarar sabores já presentes, quando entram em contato com os alimentos. Os aromatizantes/flavorizantes utilizados em refrigerantes são: sucos naturais, extratos naturais, óleos essenciais, emulsões e aromas (naturais ou sintéticos) (MENDA, 2011).

3.1.1.8 CORANTES

O uso de corantes é comum para tornar a bebida visualmente mais atraente. Busca-se a aproximação da cor da fruta que dá o sabor ao refrigerante. A Legislação Brasileira permite o uso de certos corantes naturais e alguns sintéticos idênticos aos naturais. Os corantes artificiais (amarelo crepúsculo, vermelho bordeaux e azul brilhante) juntamente com o corante caramelo são os mais utilizados em refrigerantes (LIMA, 2009).

3.1.1.9 DIÓXIDO DE CARBONO (CO₂)

Como descrito no primeiro parágrafo do Art. 45 do Decreto nº 2.314 de 1997, o refrigerante deve ser, obrigatoriamente, saturado de dióxido de carbono, industrialmente puro (BRASIL, 1997).

O CO₂ define várias características no produto final, desde o realce no sabor até uma sensação refrescante, portanto a quantidade a ser usada é determinante para a qualidade final do refrigerante. Contudo, os diferentes volumes adicionados à bebida podem afetar o aroma e até mesmo o sabor da bebida (MENDA, 2011).

3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Sies e Stahl (1995) definiram antioxidantes como uma substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz.

Os antioxidantes podem ser sintéticos ou naturais e, para serem utilizados em alimentos, devem ser seguros para a saúde. Alguns dos antioxidantes sintéticos mais importantes são hidroxianisol de butila (BHA) e o hidroxitolueno de butila (BHT) (RICE-EVANS et al., 1996).

Já os naturais incluem os tocoferóis, vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos existentes nas plantas atuam protegendo-as contra injúrias em seus tecidos, contra a ação de subprodutos provenientes da fotossíntese que podem causar danos e também contra plantas herbívoras. Muitos desses compostos têm similaridades quanto à estrutura molecular básica, em que todos possuem pelo menos um anel aromático com um grupo hidroxila ligado a ele, incluindo, principalmente, os ácidos fenólicos e flavonoides, que conferem defesa contra o ataque de radicais livres (SHAHIDI, 1996).

A capacidade antioxidante pode ser expressa por meio de vários parâmetros, incluindo a remoção de um radical peroxil (ORAC - oxygen radical absorbance capacity, TRAP - total reactive antioxidant potential), a capacidade de redução de metal (FRAP - ferric reducing antioxidant power, CUPRAC - cupric ion reducing antioxidant capacity), a capacidade de remoção de radical orgânico (ABTS - 2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico), DPPH - peroxidação do 2,2-difenil-1-picrylhidrazil) e a quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, a oxidação do LDL, co-oxidação do β -caroteno) (SANCHEZ et al., 1998).

O teste de DPPH é um dos métodos indiretos para se determinar a atividade antioxidante mais antigo sendo sugerido originalmente em 1950 para se descobrir os doadores de hidrogênio em matérias naturais. Mais tarde foi quantificado para determinar o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados e alimentos tão bem como amostras biologicamente relevantes (ROGINSKY; LISSI, 2005). Uma característica desse método é que ele não envolve condições drásticas de temperatura e oxigenação (SILVA et al., 1999).

Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH. O radical DPPH possui coloração púrpura. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R-), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (CHANDRASEKAR et al., 2006; KIM; THOMAS, 2006; RAYMUNDO et al., 2004).

3.2.1 AÇÃO DOS ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. Dentre eles podemos citar o mecanismo de defesa contra os radicais livres impedindo sua formação; a capacidade de interceptar esses radicais gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídios, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres. Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas (BIANCHI et al., 1999).

A ação dos antioxidantes, em geral, se dá pela inibição do início ou da propagação de reações de oxidação, promovendo a formação de compostos mais estáveis (MBAEBIE et al., 2012; SUN et al., 2011). É possível que uma mesma substância antioxidante atue por um único mecanismo ou por um conjunto de mecanismos, isto é, transferência de próton e/ou elétron, ação quelante, inibição seletiva de oxidases, dependendo do meio ou espécies envolvidas (PRIOR et al, 2005).

Como já mencionado anteriormente, a vitamina C que é um antioxidante natural, é uma doadora de elétrons ou agente redutor. Ela doa em sequência dois elétrons, ficando oxidada, enquanto a outra substância fica reduzida ao receber os elétrons, fato que impede sua oxidação. Ela também é capaz de diminuir a peroxidação lipídica. (SCOTTI; VELASCO, 2003).

3.2.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM REFRIGERANTES

No caso de produtos como refrigerantes, a atividade antioxidante possui total relação com os vegetais presentes no extrato utilizado para produção da bebida. Em refrigerante sabor guaraná, essa atividade está ligada especificamente ao extrato da semente do guaraná.

Alguns estudos, como o de Brenna et al., (2009), relataram atividade antioxidante em corante caramelo. Quatro amostras de corante caramelo, o mesmo que está presente em refrigerante sabor guaraná, foram analisadas. Os resultados para compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu variaram entre 29,92 e 112,30 mg de equivalente de ácido

gálico/kg. Já a análise quanto a atividade antioxidante pelo método DPPH, obteve como resultado uma quantidade de 202,1 μmol de equivalente de trolox/kg.

Majhenic et al., (2007) realizaram estudo que obteve como resultado atividade antioxidante em extrato de semente de guaraná a partir de diferentes solventes pelo método DPPH. A atividade por esse método foi expressa em porcentagem de desativação do radical DPPH. Todos os extratos analisados apresentaram desativação acima de 85%.

3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos compõem a grande classe dos fitoquímicos alimentares. Sua fórmula química contém pelo menos um anel aromático, ao qual está unida uma (ou mais) hidroxila(s). Existe grande variedade de compostos fenólicos, classificados em dois grupos, flavonóides e não flavonóides (KARAKAYA, 2004). Estes compostos são considerados como os antioxidantes mais ativos nos vegetais, sendo encontrados com grande frequência (BIANCHI et al., 1999).

Em geral esses compostos atuam de várias formas, tais como, combatendo os radicais livres através da doação de um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática, que possui a capacidade de suportar um elétron desemparelhado através do deslocamento deste ao redor de todo o sistema de elétrons da molécula; quelando metais de transição, como o Fe^{2+} e o Cu^+ ; interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica; modificando o potencial redox do meio; reparando a lesão a moléculas atacadas por radicais livres (PODSEDEK, 2007).

Os fenólicos em geral tem papel importante nas características organolépticas de frutas e legumes, podendo intervir na cor natural e sabor dos alimentos de origem vegetal, sejam eles frescos ou processados; contribuindo para o sabor amargo e adstringente dos alimentos e bebidas (DREWNOSKI, GOMES 2000; CASARIN, 2012).

3.4 EMBALAGENS

Os tipos de embalagens comumente utilizados para o acondicionamento de refrigerantes são lata, vidro e as garrafas PET.

As embalagens transparentes são de extremo interesse para o setor de marketing, tendo em vista que este busca a todo o momento valorizar a apresentação visual do produto. Porém, muitas vezes a proteção contra a incidência de luz é necessária por se tratar do

condicionamento de produtos sensíveis a reações de deterioração catalisadas pela luz (BROWN, 1992).

No que tange ao parâmetro incidência de luz através da embalagem, as latas apresentam melhor material por ser uma excelente barreira contra a passagem de iluminação para o interior da mesma. A luz e o calor aceleram o processo de oxidação e, por isso, os refrigerantes nunca devem ser expostos ao sol (VENTURINI, 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 INSTRUMENTOS UTILIZADOS

Foram utilizados um espectrofotômetro Ocean Optics, Red Tide USB650 Fiber Optic Spectrometer e pHmêtro Tecnopan mPa 210.

4.2 REAGENTES UTILIZADOS

- Reagente de Folin (Sigma Aldrich)
- Trolox (Sigma Aldrich)
- Radical DPPH (Sigma Aldrich)
- Ácido gálico (Dinâmica)

4.3 AMOSTRAS

As amostras utilizadas foram obtidas no comércio local da cidade de Campo Mourão – PR e posteriormente mantidas em acondicionamentos pré-estabelecidos, sendo metade delas sob abrigo da luz e o restante à luz ambiente.

A Tabela 1 traz a descrição de cada amostra e o tempo de armazenamento. A primeira letra indica a embalagem utilizada, ou seja, lata (L), vidro (V) ou PET (P), e a segunda letra o tipo de armazenamento utilizado, claro (C) ou escuro (E).

Para realização das análises foram obtidas duas amostras em garrafas PET de coloração verde, duas garrafas de vidro também na coloração verde e duas latas metálicas.

Foi levado em consideração na obtenção das amostras fatores como, o prazo de validade, o lote de fabricação e a marca.

A amostra das embalagens PET apresentavam menor prazo de validade por conta de que a perda de CO₂ por esse material, se dá de maneira mais fácil (VENTURINI, 2010).

Tabela 1. Definição das siglas e tempo de armazenamento das amostras.

Amostra	Definição (embalagem/armazenamento)	Tempo de armazenamento (dias)
LC	Lata/Claro	90
VC	Vidro/Claro	90
PC	PET/Claro	90
LE	Lata/Escuro	90
VE	Vidro/Escuro	90
PE	PET/Escuro	90

LC – lata armazenada a luz ambiente; VC – vidro armazenado a luz ambiente; PC – PET armazenado a luz ambiente; LE – lata armazenada ao abrigo da luz; VE – vidro armazenado ao abrigo da luz; PE – PET armazenado ao abrigo da luz.

4.4 TRANSMITÂNCIA

Para a determinação da transmitância (T%), definida como a porcentagem de luz incidente que é transmitida através da embalagem, utilizou-se a metodologia ASTM D1003-07 (2007). Foram feitos pequenos cortes das embalagens utilizadas, vidro, PET e lata. Posteriormente esses cortes foram inseridos em cubetas, e então realizada a leitura em espectrofotômetro na faixa de varredura de 200 a 800 nm.

4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a determinação da atividade antioxidante utilizando a técnica DPPH adaptada a bebidas (BRAND-WILLIAMS, 1995), uma curva padrão foi preparada através da diluição em série de Trolox em etanol. Foram dissolvidos 6 mg de DPPH em 50 mL de etanol absoluto para obtenção dessa curva. Preparou-se também uma solução 1,0 mM de Trolox, pesando-se 12,5 g de Trolox e dissolvendo-o em etanol absoluto. A curva foi realizada a partir da leitura em espectrofotômetro de concentrações de 15, 25, 50, 75 e 100 μ M de Trolox. Para a curva adicionou-se 0,5 mL da solução diluída de Trolox, 3 mL de etanol absoluto e 0,3 mL da solução de DPPH. Essas amostras reagiram por 45 minutos ao abrigo da luz e depois foram analisadas em espectrofotômetro a 517nm. Os resultados obtidos foram expressos em equivalentes de Trolox por litro de amostra (μ mol Trolox/L).

4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Na determinação de fenólicos totais, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu (SLINKARD & SINGLETON, 1999). Uma curva padrão com concentrações distintas de etanol e ácido gálico foi preparada. A curva foi realizada a partir de leitura no espectrofotômetro de concentrações de 20, 50, 100, 200, 300 e 500 mg/L de ácido gálico. Essas soluções e as amostras reagiram com 1,58 mL de água e 0,4 mL do reagente de Folin. Posteriormente armazenaram-se todas essas amostras durante duas horas ao abrigo da luz e então se realizou a leitura em espectrofotômetro a 765nm. Os resultados obtidos foram expressos em equivalente de ácido gálico (GAE), mg de ácido gálico por litro.

4.7 DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C

A determinação de vitamina C se deu conforme o método de Jacques-Silva (2001), onde as proteínas foram precipitadas em ácido tricloroacético 10%. A uma alíquota do sobrenadante adicionou-se DNPH (4,5 mg/mL), CuSO_4 (0,075mg/mL), e ácido tricloroacético (13,3%) e então essas amostras foram incubadas por 3 horas à 37 °C. Após esse tempo adicionou-se 1 mL de H_2SO_4 65% para que fosse parada a reação. As amostras foram então lidas em espectrofotômetro à 520nm. Os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{g AA/mL}$ de amostra.

4.8 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL

A análise foi realizada com as amostras previamente desgaseificadas utilizando-se método titulométrico. Utilizou-se um volume de 25 mL de cada amostra para a titulação com uma solução de NaOH 0,1 mol L^{-1} (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.9 DETERMINAÇÃO DO pH

A determinação do pH foi efetuada diretamente na amostra, sem diluição, à temperatura ambiente e após calibração com duas soluções tampão a pH 4 e pH 7. Foram realizadas duas determinações de cada amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos resultados foi realizada por análise de variância ANOVA, sendo as diferenças avaliadas pelo Teste de Tukey de comparações de médias ao nível 5% de significância, utilizando-se o software Assistat 7.7.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 TRANSMITÂNCIA

Para a análise de transmitância, os resultados obtidos para cada embalagem utilizada no acondicionamento podem ser vistos a seguir.

A Figura 1 mostra a transmissão de luz total para a embalagem metálica.

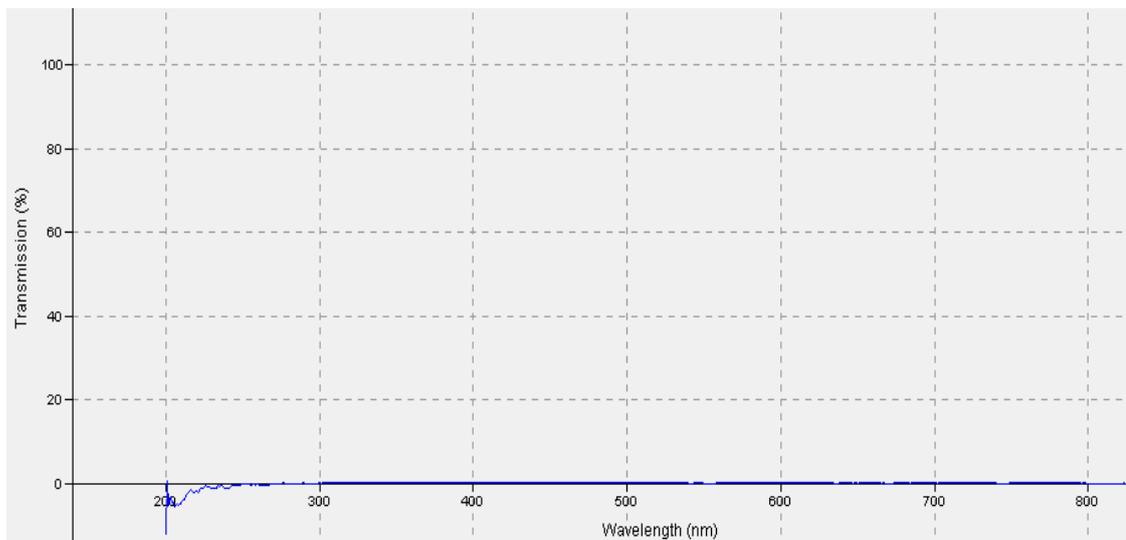


Figura 1. Transmitância obtida para as embalagens metálicas.

A literatura relata que as embalagens metálicas possuem uma forte barreira contra a luz. Desse modo, a transmitância obtida na faixa de varredura pré-determinada para este trabalho, comprova que a lata de alumínio utilizada para acondicionamento do refrigerante possui uma boa barreira, impossibilitando que ocorra passagem de luz para o interior do recipiente (VENTURINI, 2010).

Sendo assim, além de vantagens como leveza e resistência, a lata de alumínio é uma boa indicação para o acondicionamento de bebidas carbonatadas, visto que é uma ótima barreira contra a luz e também por conseguir manter o CO₂ em seu interior por um tempo maior quando comparado com as embalagens plásticas (VENTURINI, 2010).

Já a Figura 2 mostra a transmissão de luz incidida pela embalagem plástica analisada.

Analisando o resultado obtido para as embalagens plásticas, pode-se observar que o valor máximo para transmitância foi de aproximadamente 60% na faixa de 700 a 800 nm.

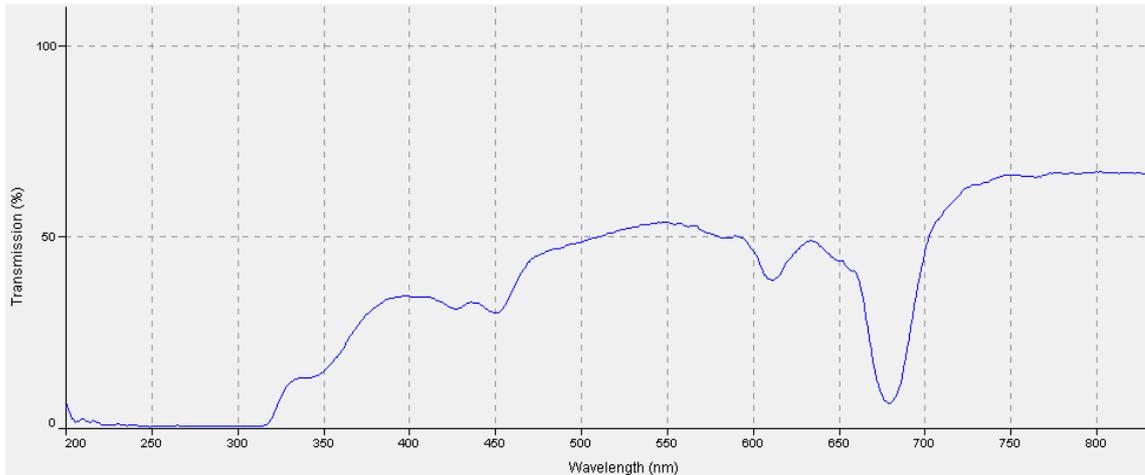


Figura 2. Transmitância obtida para as embalagens plásticas.

Estudo realizado por Alves et al., (2008) obteve como resultado para o PET verde, similar ao utilizado no presente trabalho, um resultado de transmitância de no máximo 50% para o mesmo intervalo observado.

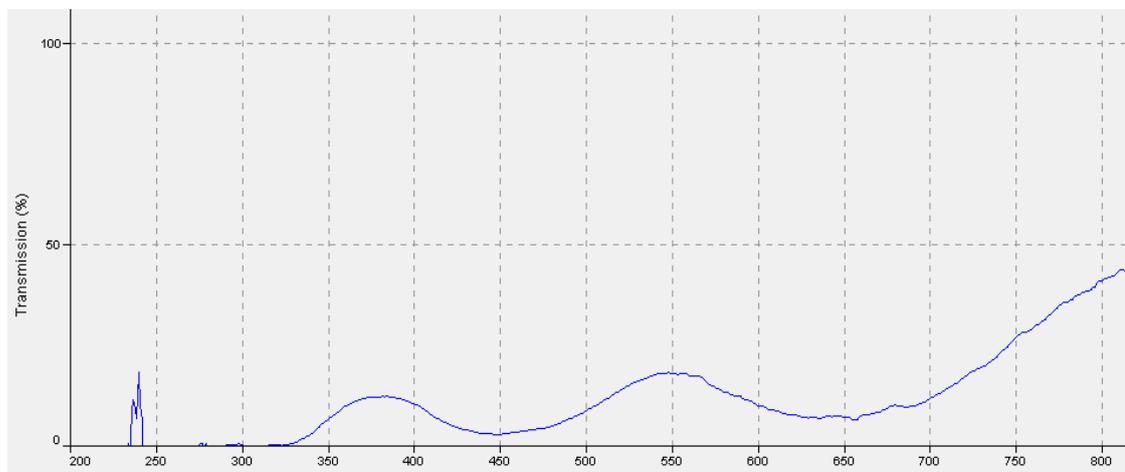


Figura 3. Transmitância obtida para as embalagens de vidro.

Por fim, a embalagem de vidro analisada teve como resultado uma faixa de transmissão baixa, como pode ser visto na Figura 3, assim como o esperado, tendo como transmissão máxima um valor próximo a 50% para aproximadamente 800 nm.

O vidro verde utilizado para acondicionamento de alguns refrigerantes é um ótimo material, e apresenta uma faixa de transmissão de luz baixa, ou seja, também pode ser considerado um bom material com relação à barreira contra a luz.

No estudo realizado por Alves et al. (2008), para as embalagens de vidro os resultados foram de 80% de transmitância para o vidro transparente avaliado na faixa acima de 300 nm, e para a embalagem âmbar, de coloração avermelhada, a transmitância foi de 10%.

5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O cálculo dos valores para quantificação da atividade antioxidante nas amostras de refrigerante deu-se por meio da curva padrão preparada que obteve como equação ($y = 0,0006x + 0,1288$) com $R^2=0,9952$.

Os resultados obtidos para essa análise podem ser vistos na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2. Atividade antioxidante para as amostras de refrigerante.

Amostra	DPPH*
LC	119,38 ± 22,10 ^a
VC	110,00 ± 17,68 ^a
PC	153,75 ± 8,84 ^b
LE	213,13 ± 4,42 ^c
VE	225,63 ± 13,25 ^c
PE	191,25 ± 8,84 ^d

*Resultados expressos em μmol de equivalentes de Trolox por litro de amostra.
Letras diferentes na coluna indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$).
A análise foi realizada em duplicata.

De acordo com os resultados obtidos e demonstrados, pode-se perceber que houve uma diferença entre as atividades antioxidantes quanto às embalagens e o tipo de armazenamento utilizado. Quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, valor expresso em μmol de equivalentes de Trolox por litro, maior será sua atividade antioxidante.

Segundo a análise estatística realizada, de modo geral as amostras apresentam diferença significativa entre si. As amostras que não apresentaram diferença significativa entre si são lata e vidro quando comparados nas mesmas condições de armazenamento.

As embalagens armazenadas ao abrigo da luz apresentaram maior teor de atividade antioxidante no fim do período de armazenamento. Dentre elas, a de lata e vidro foram as que melhor conseguiram manter essa atividade antioxidante no produto.

Um estudo realizado por Lima (2012) com objetivo de analisar a influência da luz na atividade antioxidante e composição fenólica em aguardentes com tempos diferentes de

armazenamento, teve como resultado um aumento no teor da capacidade antioxidante. No tempo inicial, determinada amostra tinha uma atividade antioxidante de 16,52 % de inibição. Essa amostra foi então separada em dois armazenamentos, sob abrigo da luz e à luz ambiente. No final de seis meses, a amostra que ficou mantida ao abrigo da luz tinha uma atividade antioxidante de 16,32%, enquanto que a amostra que sofreu incidência de luz apresentou uma atividade de 2,26% inibição do radical DPPH.

A título de comparação com o presente estudo, os dados estão dentro do esperado, visto que as amostras mantidas sob abrigo da luz, apresentaram uma atividade antioxidante maior do que aquelas que sofreram interferência de luz.

5.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

O cálculo dos valores para quantificação dos compostos fenólicos nas amostras de refrigerante deu-se por meio da curva padrão preparada que obteve como equação ($y = 0,0001x - 0,0018$) com $R^2=0,9529$. A Tabela 3 abaixo apresenta os resultados obtidos para cada amostra.

Tabela 3. Conteúdo total de compostos fenólicos para as amostras de refrigerante.

Amostra	GAE*
LC	17,65 ± 1,06 ^a
VC	38,15 ± 0,35 ^b
PC	22,65 ± 0,35 ^c
LE	26,40 ± 6,36 ^c
VE	40,40 ± 2,12 ^b
PE	27,90 ± 2,83 ^c

*Resultados expressos em mg de ácido gálico por litro de amostra.

Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa a ($p < 0,05$).

A análise foi realizada em duplicata.

Brena et al., (2009) realizaram estudos quanto ao teor de compostos fenólicos presentes em corante caramelo utilizando em refrigerantes e tiveram como resultado teores entre 29,92 a 112,3 mg de equivalente de ácido gálico por kg de corante.

Outro estudo realizado por Majhenic et al., (2007) com extratos da semente de guaraná para quantificação do teor de compostos fenólicos nessas amostras, teve como resultado uma média de valores entre 119 e 186 mg ácido gálico por grama de extrato. Com isso, é possível

assimilar o fato de que o extrato em si apresenta maior quantidade que compostos fenólicos pois está em sua forma pura. Já para a produção de refrigerante, uma quantidade bem pequena desse extrato é utilizada, o que condiz com a diminuição do teor de fenólicos no produto final.

Podemos notar que as amostras que ficaram armazenadas ao escuro, apresentam um conteúdo de fenólicos maior que as amostras acondicionadas à luz ambiente. Porém, para verificar se há diferença significativa ou não entre esses conteúdos utilizou-se ANOVA e teste de Tukey a 95% de confiança, que indicou como resultado que não há diferença significativa entre as amostras de vidro acondicionadas no claro e escuro, e também para aquelas advindas da embalagem PET.

O conteúdo de fenólicos da amostra acondicionada em lata e armazenada à exposição da luz foi o único que apresentou diferença significativa com relação aos demais. Essa diferença pode ter ocorrido por diferenças durante o processo de produção da bebida ou também pela concentração de fenólicos em refrigerantes ser baixa, o que dificultaria sua quantificação pelo método utilizado.

5.4 VITAMINA C

No caso dos refrigerantes, o fabricante não pode informar que há vitamina C, uma vez que a quantidade de ácido ascórbico adicionada é deteriorada dentro da própria bebida no período de armazenamento.

Os valores obtidos na análise da concentração de vitamina C presente nas amostras de refrigerante podem ser vistos na Tabela 4 abaixo.

Tabela 4. Concentração de ácido ascórbico obtida para cada amostra.

Amostra	Concentração de Vitamina C ($\mu\text{g AA/mL}$ de amostra)
LC	$497,58 \pm 10,11^a$
VC	$480,22 \pm 2,89^b$
PC	$409,72 \pm 24,56^c$
LE	$673,32 \pm 13,00^d$
VE	$723,39 \pm 8,67^e$
PE	$590,56 \pm 37,57^f$

Letras diferentes na coluna indicam que há diferença significativa ($p < 0,05$).
A análise foi realizada em duplicata.

A vitamina C é extremamente instável e perde suas propriedades na presença de ar, calor, água ou luz, o que dificulta sua utilização em formulações tanto para alimentos como outras aplicações, onde é utilizada em concentrações entre 5 e 10% (SILVA, 1995).

Correlacionando-se a tabela de resultados de concentração de vitamina C para as amostras de refrigerante, com a literatura mencionada, podemos ver que há uma concordância com o fato desta vitamina perder suas propriedades na presença de luz, visto que as amostras que ficaram acondicionadas ao abrigo da luz, embora uma quantidade pequena, mostram uma concentração maior em comparação às amostras que sofreram incidência de luz. Ou seja, a exposição das amostras à luz interferiu diretamente na concentração final de ácido ascórbico das mesmas.

De acordo com a análise estatística realizada, é possível notar que há diferença significativa entre todos os valores de concentração de ácido ascórbico obtidos.

5.5 ACIDEZ TOTAL

Os valores de acidez titulável medidos nesse estudo podem ser vistos na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5. Valores de acidez obtidos para cada amostra.

Amostra	Acidez (g/100mL ácido cítrico)
LC	0,1395 ± 0,027 ^a
VC	0,1370 ± 0,031 ^a
PC	0,1254 ± 0,004 ^a
LE	0,1152 ± 0,000 ^a
VE	0,1203 ± 0,000 ^a
PE	0,1216 ± 0,002 ^a

Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).
A análise foi realizada em duplicata.

Segundo a legislação para os refrigerantes de sabor guaraná, a acidez mínima do produto deve ser de 0,1 g/ 100 mL de ácido cítrico. Sendo assim, é possível observar que as amostras utilizadas nesse estudo obedecem aos padrões impostos pela legislação.

Por meio da análise estatística, pode-se observar que não há diferença significativa entre o valor de acidez para as amostras analisadas.

5.6 pH

Os valores de pH obtidos para as amostras analisadas podem ser vistos na Tabela 6 abaixo.

Tabela 6. Valores de pH obtidos para cada amostra.

AMOSTRA	pH
LC	3,79 ± 0,02 ^a
VC	3,75 ± 0,06 ^a
PC	3,74 ± 0,08 ^a
LE	3,76 ± 0,02 ^a
VE	3,75 ± 0,01 ^a
PE	3,76 ± 0,01 ^a

Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).
A análise foi realizada em duplicata.

Sobral et al. (2000) realizaram um estudo com o objetivo de comparar o pH de refrigerantes de diferentes sabores. Para o refrigerante sabor guaraná, o valor médio encontrado foi de 3,06, valor bem próximo ao obtido pelo trabalho atual.

Esse valor de pH também foi obtido em estudo realizado por Ferreira et al. (2004), uma vez que ao analisar 7 marcas distintas de refrigerante sabor guaraná, obteve um intervalo de pH entre 2,96 e 3,44.

6 CONCLUSÃO

O efeito da luz na atividade antioxidante e nos demais fatores também pode ser observado. O resultado desse efeito no teor de compostos fenólicos interferiu diretamente no teor de atividade antioxidante, visto que os fenólicos são compostos antioxidantes e estão presentes no produto. Consequentemente, uma maior quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras armazenadas no escuro, refletiu na atividade antioxidante das amostras desse mesmo tipo de armazenamento.

Levando em conta os resultados obtidos para cada uma das análises realizadas foi possível afirmar que a embalagem de vidro é o melhor tipo de acondicionamento a ser utilizado para o refrigerante sabor guaraná.

Sendo assim, o objetivo de avaliar e quantificar o efeito da luz nos fatores pretendidos foi alcançado, tendo em vista que os resultados estão de acordo com outros estudos realizados e com o que se encontra na literatura.

Novos estudos poderão ser realizados a fim de utilizar outros métodos de análise para comparação ou então outros sabores de refrigerante.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R.M.V.; JAIME, S.B.M.; GONÇALVES, M.P.; SUZUKI, P.W. **Embalagens plásticas e de vidro para produtos farmacêuticos: avaliação das propriedades de barreira à luz.** Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 29, n.2, p. 169-180, 2008.

ASSOCIAÇÃO Brasileira das Indústrias de Refrigerante. **Brasil bebidas não alcoólicas: consumo per capita do mercado brasileiro de refrigerantes dos anos de 2010 a 2015.** Brasília: ABIR, 2016. Disponível em: <<http://abir.org.br/o-setor/dados/refrigerantes/>>. Acesso em: 29 abril 2017.

ASTM. American Society for Testing and Materials. D 1003- 07: Standard test method for haze and luminous transmittance of transparent plastics. Philadelphia; 2007. 7p.

BARUFFALDI, R; OLIVEIRA, M.N. Fundamentos de Tecnologia de Alimentos. São Paulo, Atheneu, 1998, v. 3, 316p.

BIANCHI MLP, ANTUNES LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. Rev Nutr 1999;12(2):123-30.

BRAND-WILLIAMS et al. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, Garching.** 28 (25-30).

BRASIL. Decreto nº 2.314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 05 set. 1997. Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Decretos/Ant2001/Ant1999/Dec231497.htm>. Acesso em: 27 abril 2017.

BRENNA O. V.; CEPPI, E. L. M.; GIOVANELLI, G. (2009). Antioxidant capacity of some caramel-containing soft drinks. **Food Chemistry**, 115 (119-123).

BROWN, W.E. **Plastics in food packaging: properties, design and fabrications.** New York : Marcel Dekker Inc. 1992, 539 p.

CASARIN, F. Otimização do processo de secagem da amora preta (*Rubus* sp.) para a produção de farinha. 2012. 97 f. Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais). Universidade Comunitária Regional de Chapecó, 2012.

CERVIERI JÚNIOR, O.; TEIXEIRA JUNIOR, J.R.; GALINARI, R.; RAWET, E. L.; SILVEIRA, C. T. J. O setor de bebidas no Brasil. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 40, p. [93]-129, set. 2014.

CHANDRASEKAR, D, MADHUSUDHANA, K, RAMAKRISHNA, S, DIWAN, PV. Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 40, 460-464. 2006.

DANTAS, S.T. **Embalagens e a sua interação com alimentos e bebidas**. Campinas: CETEA/ITAL, 1999.

DREWNOSKZ, A.; GOMEZ-CARNEIROS, C.. Bitter taste, Phytonutrients and the consumer: A review. *American Journal of Clinical Nutrition*.v.72, p. 1424-1435, 2000.

FERREIRA, M. J. G.; BEZERRA, L. C. N. M. Avaliação da qualidade dos refrigerantes populares comercializados na região do Cariri. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004. Recife. **Anais.**, Rio de Janeiro: SBCTA, 2004. 4 p.

GRIS, E. F. **Perfil fenólico e atividades antioxidantes e hipolipemiante de vinhos de variedades Vitis vinifera cultivadas em São Joaquim – SC – Brasil**. 2010. 157 f. Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, v. 1. 3ª ed. São Paulo, 1985.

IRIE, E. M.; Conservantes Químicos em Alimentos. Londrina: UEL, 1991.

JACQUES-SILVA MC; NOGUEIRA CW; BROCH LC; FLORES EMM; ROCHA JBT. 2001. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. **Pharmacology & Toxicology** 88:119-125.

KARAKAYA S. Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004;44(6):453-64.

KIM, KW, THOMAS, RL. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weight. *Food Chemistry*. 2006.

LIMA, A. C. S; AFONSO, J. C. A. A Química do Refrigerante. *Química Nova na Escola*, São Paulo, ago., 2009. Disponível em: http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc31_3/10-PEQ-0608.pdf. Acesso em: 25 abril 2017.

LIMA, LIDIANY MENDONÇA ZACARONI. Influência da luz na composição fenólica, atividade antioxidante e concentração de carbamato de etila em aguardentes/cachaças envelhecidas em diferentes madeiras. Tese (doutorado). Lavras: UFLA, 2012.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. **Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants**. *Food Chemistry*, London, v. 100, p. 1409-1418, 2007.

MAJHENIC, L.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial properties of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104, (1258-1268)

MBAEBIE, B. O.; EDEOGA, H. O.; AFOLAYAN, A. J. Phytochemical analysis and antioxidant activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, p. 118 – 124. 2012.

- MENDA, M. Refrigerantes. Rio de Janeiro: Conselho Regional de Química 4ª Região, 2011. Disponível em: <http://crq4.org.br/default.php?p=texto.php&c=refrigerantes> . Acesso em: 26 abril 2017.
- OLIVEIRA, L. M. **Requisitos de proteção de produtos em embalagens plásticas rígidas.** Centro de Tecnologia de Alimentos – ITAL. Campinas, 2006. 328p.
- PODSEDEK A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. *J Food Compos Anal* 2007;40:1-11.
- PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 53, p. 4290 – 4302. 2005.
- RAYMUNDO, MS, HORTA, P, FETT. R, Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil), *Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas*. 40. 2004.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- ROGINSKY, V, LISSI, EA. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92, 235-254. 2005.
- SANCHEZ-MORENO C, LARRAURI JA, SAURA-CALIXTO F. A procedure to measure the antiradical e fficient of poly phenols. *J Sci Food Agric* 1998;76:270-6.
- SCOTTI, L.; VELASCO, M. V. R. Envelhecimento cutâneo à luz da cosmetologia: estudos das alterações da pele no decorrer do tempo e da eficácia das substâncias ativas empregadas na prevenção. São Paulo: Tecnopress, 2003.
- SHAHIDI F. Natural antioxidants: an overview. In: Shahidi F. *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications.* Newfoundland: Aocs; 1996. p.1-11.
- SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.
- SILVA, FAM, BORGES, MFM, FERREIRA, MA. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*. 22, 1999.
- SILVA, L. A. da; FERREIRA, G. A. L.; SILVA, R. R. da, *Revista Química nova na escola*, A procura da Vitamina C. n.º2 p.31-32, nov 1995.
- SLINKARD & SINGLETON. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**. 28 (49-55), 1999.
- SOBRAL, M. A. P; LUZ M. A. A. de C; GAMA, A; NETTO, N. G. Influência da dieta líquida ácida no desenvolvimento da erosão dental. *Pesqui. Odontol. Brás*, 2000; 14(4): 406-10.

SUN, L.; ZHANG, J.; LU, X.; ZHANG, L.; ZHANG, Y. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2689 – 2696, 2011.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni, coordenador. **Bebidas não alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Editora Blucher, v. 2, 385p., 2010.