



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

THIAGO DE PAULA CARMO

**ESTABILIDADE QUÍMICA DE CHÁ ORGÂNICO DE HIBISCO (*HIBISCUS
SABDARIFFA* L.) PRONTO PARA CONSUMO**

**CHEMICAL STABILITY OF READY-TO-DRINK ORGANIC HIBISCUS TEA
(*HIBISCUS SABDARIFFA* L.)**

CAMPINAS

2023

THIAGO DE PAULA CARMO

**ESTABILIDADE QUÍMICA DE CHÁ ORGÂNICO DE HIBISCO (*HIBISCUS
SABDARIFFA L.*) PRONTO PARA CONSUMO**

**CHEMICAL STABILITY OF READY-TO-DRINK ORGANIC HIBISCUS TEA
(*HIBISCUS SABDARIFFA L.*)**

Dissertação e apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

Dissertation presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of master in food technology.

Orientador/Advisor: Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO THIAGO DE PAULA
CARMO, E ORIENTADA PELO PROF.
DR. CARLOS ALBERTO RODRIGUES
ANJOS.

CAMPINAS

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Carmo, Thiago de Paula, 1987-
C213e Estabilidade química de chá orgânico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.)
pronto para consumo / Thiago de Paula Carmo. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Carlos Alberto Rodrigues Anjos.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Engenharia de Alimentos.

1. Chá pronto para consumo. 2. *Hibiscus sabdariffa* L.. 3. Cinética de
degradação. 4. Antocianinas. 5. Capacidade antioxidante. I. Anjos, Carlos
Alberto Rodrigues. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Chemical stability of ready-to-drink organic hibiscus tea (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Palavras-chave em inglês:

Ready-to-drink tea
Hibiscus sabdariffa L.
Degradation kinetics
Anthocyanins
Antioxidant capacity

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora:

Carlos Alberto Rodrigues Anjos [Orientador]
Flavio Luis Schmidt
Luís Marangoni Júnior

Data de defesa: 17-05-2023

Programa de Pós-Graduação: Tecnologia de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-9534-9744>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0243250111918807>

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
Orientador -Presidente

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP
Membro Titular

Dr. Luís Marangoni Júnior
Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL
Membro Titular

A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertações/Teses e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação

DEDICATÓRIA

Às minhas avós, Maria de Barbacena (*in memoriam*) e Maria de Bias Fortes. Fica aqui eternizada a minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Geraldo e Maria José, pelo apoio, pela liberdade, pela aceitação.

Às minhas avós Marias, ou a de Bias Fortes e a de Barbacena, pelo carinho e pelas comidas.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) pela oportunidade da realização do mestrado em Tecnologia de Alimentos, em especial ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA).

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Anjos pela orientação, acessibilidade, conversas, bom humor e extrema paciência.

Ao corpo docente da FEA, especialmente ao do DTA, pela grande carga de aprendizado.

Aos técnicos e funcionários do DTA pela disponibilidade e ajuda.

Aos colegas do Laboratório de Embalagens e de Frutas e Hortaliças pelas trocas, em especial à Bruna pelo auxílio em algumas análises.

Aos amigos de Viçosa, Adelaide e Santana, que às vezes me levam a crer que distância não existe.

Agradeço ainda a Angélica, David, Jefferson, Edvaldo, Gabriel e aos amigos de república pela alegria e descontração.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio para a realização do trabalho – Processo nº 132823/2018-7.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

RESUMO

Chá pronto para consumo tem ganhado espaço no mercado por se mostrar como uma alternativa a bebidas tradicionais como refrigerantes e sucos e ser uma bebida versátil, capaz de atender a demandas de saudabilidade, sustentabilidade e de produtos com apelo *clean label* (produtos sem adição de aditivos artificiais ou ingredientes de percepção negativa pelo consumidor). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade química de uma formulação de chá de hibisco com açúcar orgânico pronto para consumo. Primeiramente, caracterizou-se o comportamento cinético e termodinâmico do processo de degradação das antocianinas do extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) a temperaturas elevadas (65 a 85°C). Em seguida, foi avaliada a estabilidade de uma formulação de chá de hibisco (0,2% (m/v)) adicionado de açúcar cristal orgânico (6,0°Brix) pronto para consumo a temperaturas de 5 °C (protegido da luz), 25 °C (protegido da luz), 25 °C (exposto à luz), 35°C (protegido da luz) e 40°C (protegido da luz) quanto ao pH, sólidos solúveis, acidez, *ratio*, cor, capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, quantidade de fenólicos totais, além de caracterizar cinética e termodinamicamente as antocianinas da formulação. O extrato de hibisco seguiu modelo cinético de primeira ordem. Com o incremento da temperatura, observou-se aumento da constante cinética e, por conseguinte, diminuição da meia-vida das antocianinas. Valor z foi 39,8°C indicando que as antocianinas do extrato possuem maior resistência térmica que microrganismos deteriorantes. A energia de ativação foi de 66,1 kJ/mol e coeficiente de temperatura variou de 1,4 a 2,4. O processo de degradação das antocianinas do extrato foi caracterizado como endotérmico, não espontâneo e com o estado de transição das moléculas mais organizado estruturalmente. Em relação ao chá de hibisco com açúcar orgânico, houve uma leve variação de pH (3,05-3,2) ao longo do tempo de armazenamento para todas as condições, assim como sólidos solúveis (6,0-6,3 °Brix). Não houve variação da acidez total nem de *ratio*. O chá apresentou baixa capacidade antioxidante tanto pelo método ABTS quanto pelo DPPH, assim como baixa quantidade de fenólicos totais. A degradação das antocianinas do chá seguiu modelo de primeira ordem, com aumento da constante de degradação com o incremento da temperatura e presença de luz. Em temperaturas de 35 e 40°C e a 25°C (exposta à luz), o tempo de meia-vida das antocianinas foi inferior a 2 dias. Valor z foi de 38,9°C. A energia de ativação foi de 44,1 kJ/mol e coeficiente de temperatura 2,2. O processo de degradação das antocianinas do chá foi caracterizado como endotérmico, não espontâneo e com o estado de transição das moléculas mais organizado estruturalmente. Houve acentuada degradação da cor, tendendo à cor amarela, com o aumento da temperatura e presença de luz nos primeiros 8 dias de teste. Os resultados do trabalho indicam que as antocianinas do hibisco possuem relativa resistência térmica, mas para maior estabilidade da bebida, deve-se armazená-la a baixas temperaturas e em embalagens que a protejam da luz. O estudo indica ainda o potencial tecnológico do hibisco na substituição de aditivos acidulantes atendendo à tendência de produtos *clean label*.

Palavras-chave: chá pronto para consumo, *Hibiscus sabdariffa* L., açúcar orgânico, clean label, cinética de degradação, termodinâmica, capacidade antioxidante, antocianinas.

ABSTRACT

Ready-to-drink (rtd) tea has been considered an interesting alternative to traditional beverages such as soft drinks and juices by consumers who are increasingly demanding products which meet sustainability and health trends as well as products with clean appeal (additive-free and non-negatively perceived by consumers). The present work aimed to evaluate the chemical stability of a hibiscus rtd tea formulation with organic sugar. First, the kinetic and thermodynamic behavior of the anthocyanin degradation process was characterized in a hibiscus extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) at high temperatures (65 to 85°C). Then, the stability of an rtd hibiscus tea formulation (0.2%(m/v) added with organic sugar (6.0°Brix) at 5 °C (protected from light), 25 °C (protected from light) , 25 °C (exposed to light), 35 °C (protected from light) and 40 °C (protected from light), was evaluated regarding pH, soluble solids, acidity, ratio, color, antioxidant capacity by DPPH and ABTS methods, amount of total phenolics, in addition to kinetically and thermodynamically characterizing the anthocyanins of the formulation. The hibiscus extract followed a first-order kinetic model. By increasing temperature, there was an increase in the kinetic constant value and, therefore, a decrease in the half-life of anthocyanins. Z value was 39.8°C indicating that the anthocyanins in the extract have greater thermal resistance than spoilage microorganisms. Activation energy was 66.1 kJ/mol and temperature coefficient ranged from 1.4 to 2.4. The degradation process of anthocyanins in the extract was characterized as endothermic, non-spontaneous and with the transition state of molecules more structurally organized. Regarding the rtd hibiscus tea with organic sugar, there was a slight pH variation (3.05-3.2) over the storage time for all conditions, as well as a slight variation in soluble solids content (6.0-6.3 °Brix). There was no significant difference in total acidity and in ratio. The tea showed low antioxidant capacity both by the ABTS and DPPH methods, as well as a low amount of total phenolics. The degradation of tea anthocyanins followed a first-order model, with an increase in the degradation constant with increasing temperature and presence of light. At 35 and 40°C and at 25°C (exposed to light), the half-life of anthocyanins was less than 2 days. Z value was 38.9°C. The activation energy was 44.1 kJ/mol and the temperature coefficient, 2.2. The degradation process of the tea anthocyanins was characterized as endothermic, non-spontaneous and with the transition state of molecules more structurally organized. There was a marked degradation of the color, tending to yellow, with the increase of temperature and presence of light, mainly during the first 8 days of test. The results of the work indicate that hibiscus anthocyanins have relative thermal resistance, but for greater stability, the rtd hibiscus tea must be stored at low temperatures and in packages that protect it from light. The study also indicates the technological potential of hibiscus in replacing acidulant additives in view of the trend towards clean label products.

Keywords: ready-to-drink tea, *Hibiscus sabdariffa* L., organic sugar, clean label, degradation kinetics, thermodynamics, antioxidant capacity, anthocyanins.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Antocianidinas mais abundantes e seus grupos substitutos no cátion <i>flavilium</i> ----	22
Tabela 2. Temperaturas e coeficientes de correlação da cinética de degradação de primeira ordem das antocianinas -----	39
Tabela 3. Temperaturas e porcentagem de degradação das antocianinas totais (AT) ao final de 90 minutos. -----	39
Tabela 4. Valores das constantes cinéticas de degradação térmica (Kd), tempo de redução decimal (D) e meia-vida ($t_{1/2}$) para as condições estudadas-----	40
Tabela 5. Valores z , energia de ativação (Ea) e coeficiente de temperatura (Q_{10}) para as condições estudadas.-----	41
Tabela 6. Parâmetros termodinâmicos obtidos para as antocianinas do extrato de hibisco em temperaturas variando de 65 a 85°C por 90 minutos.-----	44
Tabela 7. Valores determinados de pH para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo -----	46
Tabela 8. Valores determinados de sólidos solúveis (°Brix) para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.-----	48
Tabela 9. Valores determinados de acidez total para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.-----	50
Tabela 10. Valores determinados de ratio para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.-----	52
Tabela 11. Temperaturas e coeficientes de correlação da cinética de degradação de primeira ordem das antocianinas.-----	55
Tabela 12. Valores das constantes cinéticas de degradação térmica (Kd), tempo de redução decimal (D) e meia-vida ($t_{1/2}$) para as condições estudadas.-----	55
Tabela 13. Valores de z , energia de ativação (Ea) e coeficiente de temperatura (Q_{10}) para a degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições estudadas-----	57
Tabela 14. Parâmetros termodinâmicos obtidos para a degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições estudadas.-----	59
Tabela 15. Valores de L^* , a^* , b^* , C^* , H^* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 5°C ao longo do armazenamento -----	61
Tabela 16. Valores de L^* , a^* , b^* , C^* , H^* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 25°C sob abrigo da luz ao longo do armazenamento-----	63
Tabela 17. Valores de L^* , a^* , b^* , C^* , H^* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 25°C exposta à luz ao longo do armazenamento-----	64

Tabela 18. Valores de L*, a*, b*, C*, H* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 35°C ao longo do armazenamento.-----	65
Tabela 19. Valores de L*, a*, b*, C*, H* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 40°C ao longo do armazenamento.-----	66
Tabela 20. Valores de teor de fenólicos totais para o chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições de armazenamento.-----	68
Tabela 21. Valores de teor de capacidade antioxidante pelo método DPPH para o chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições de armazenamento.-----	70
Tabela 22. Valores de teor de capacidade antioxidante pelo método ABTS para o chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições de armazenamento.-----	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Hibiscus sabdariffa</i> L (cálices e folhas).-----	20
Figura 2. Cátion <i>flavilium</i> -----	22
Figura 3. Estrutura química da sacarose -----	24
Figura 4. Mecanismo de degradação de antocianinas -----	25
Figura 5. Fluxograma da elaboração do chá de hibisco com açúcar orgânico-----	31
Figura 6. Degradação das antocianinas do extrato de hibisco durante aquecimento a 65,70,75,80 e 85°C por 90 minutos -----	38
Figura 7. Determinação do valor Z por meio do logaritmo de D pela temperatura (°C).-----	42
Figura 8. Determinação da energia de ativação (Ea) por meio do logaritmo neperiano da constante de degradação térmica pelo inverso da temperatura (K).-----	43
Figura 9. Valores de pH ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.-----	46
Figura 10. Valores de Sólidos Solúveis (°Brix) ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.-----	48
Figura 11. Valores de acidez titulável total ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.-----	51
Figura 12. Valores de ratio ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.-----	53
Figura 13. Degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico a 5, 25, 25(luz), 35 e 40°C.-----	54
Figura 14. Degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico a 5°C ao longo de 167 dias.-----	54
Figura 15. Determinação do valor Z por meio do logaritmo de D pela temperatura (°C). --	57
Figura 16. Determinação da energia de ativação (Ea) por meio do logaritmo neperiano da constante de degradação térmica pelo inverso da temperatura (K).-----	58
Figura 17. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 5°C-----	62
Figura 18. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 25°C sob abrigo da luz.-----	63
Figura 19. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 25°C expostas à luz.-----	65
Figura 20. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 35°C.-----	66
Figura 21. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 40°C.-----	67

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. Objetivo geral.....	17
2.2. Objetivos específicos	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. Chá pronto para consumo.....	18
3.2. Hibisco.....	19
3.3. Antocianinas	21
3.4. Açúcar orgânico	23
3.5. Cinética e termodinâmica do processo de degradação das antocianinas	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1. Material.....	27
4.1.1. Ingredientes da formulação e material de acondicionamento	27
4.2. Métodos.....	27
4.2.1. Estudo da cinética de degradação das antocianinas do extrato do cálice de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) em pó	27
4.2.1.1. Determinação das antocianinas monoméricas totais	28
4.2.2.2. Parâmetros Cinéticos	28
4.2.2.3. Parâmetros termodinâmicos	30
4.3. Estudo da estabilidade de chá de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) com açúcar orgânico	30
4.3.2. Preparo e Caracterização da amostra de chá de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) com açúcar orgânico.....	30
4.3.2.1. Tratamento Térmico	32
4.3.2.2. Envase a quente (<i>hot fill</i>)	32
4.3.2.3. Sólidos Solúveis.....	33

4.3.2.4.	Acidez Titulável.....	33
4.3.2.5.	Ratio.....	33
4.3.2.6.	pH.....	34
4.3.2.7.	Colorimetria.....	34
4.3.2.8.	Fenólicos Totais	34
4.3.2.9.	DPPH.....	35
4.3.2.10.	ABTS.....	36
4.3.2.10.	Determinação das antocianinas monoméricas totais	36
4.3.2.11.	Parâmetros Cinéticos	36
4.3.2.12.	Análise termodinâmica	37
4.4.	Análise Estatística	37
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1.	ETAPA I: Estudo das propriedades do extrato de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	38
5.1.1.	Estudo da cinética de degradação das antocianinas do extrato de hibisco	38
5.1.2.	Análise termodinâmica da degradação das antocianinas do extrato de hibisco	44
5.2.	ETAPA II: Estudo da estabilidade de chá de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) com açúcar orgânico.....	45
5.2.1.	pH	45
5.2.2.	Sólidos Solúveis	47
5.2.3.	Acidez Titulável.....	49
5.2.4.	Ratio.....	51
5.2.5.	Estudo da cinética de degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico.....	53
5.2.6.	Análise termodinâmica da degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico.....	59
5.2.7.	Colorimetria	60

5.2.8. Fenólicos Totais.....	67
5.2.9. DPPH.....	69
5.2.10. ABTS	71
6. CONCLUSÃO.....	75
7. BIBLIOGRAFIA	77

1. INTRODUÇÃO

Os consumidores vêm buscando bebidas prontas para o consumo alternativas aos tradicionais refrigerantes ou mesmo sucos, refrescos e néctares, como bebidas híbridas, águas e chás prontos para consumo (ready-to-drink (RTD)) (MADI; CASTRO, WALLIS, 2016). Tendo este último um aumento de 117,6% no consumo de 2010 para 2021, e um consumo per capita, em 2021, de 0,99 L/habitante/ano (ABIR, 2023).

O mercado aponta interesse crescente dos consumidores por produtos com ingredientes naturais, orgânicos e *clean label* (produtos sem aditivos artificiais e com ingredientes não percebidos negativamente pelo consumidor) (REGO; VIALTA, 2016). Assim, chás prontos para consumo se tornam uma opção interessante.

O chá pronto para o consumo é definido como a bebida obtida pela maceração, infusão ou percolação de chá, erva-mate ou de outros vegetais, sendo permitida a adição de outras substâncias de origem vegetal e de açúcares (BRASIL, 2021). A RDC Nº 27 de 22 de setembro de 2005 regulamenta as espécies vegetais para o preparo de chás, entre elas encontra-se o hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.).

O Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) é uma planta cujos cálices são empregados para elaboração de infusões aquosas adstringentes, ácidas, de aroma floral, sendo ainda empregados como corantes naturais. Seus extratos são ricos em antocianinas, vitamina C, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, entre outros (DOMÍNGUEZ-LOPEZ; REMONDETTO; NAVARRO-GALINDO, 2008; WONG et al., 2002).

Ingrediente comumente adicionado aos chás, o açúcar refinado ou cristal tem sido substituído parcial ou completamente por edulcorantes ou por outras formas de açúcar como demerara, mascavo e orgânico. Este último advindo de agricultura orgânica cuja atividade não emprega agrotóxicos, adubos químicos, antibióticos, entres outros, possuindo, assim, um apelo de sustentabilidade e consciência ambiental ao consumidor (REGO; VIALTA, 2016).

A temperatura, luz e tempo do processamento e de armazenamento afetam as propriedades físico-químicas e os compostos bioativos dos alimentos. Sendo assim, é de suma importância avaliar o impacto desses fatores na estabilidade de um produto, podendo ser feita por meio da avaliação do comportamento cinético de degradação e obtenção de dados termodinâmicos de um composto de relevância, como as antocianinas do hibisco, além do acompanhamento de parâmetros físico-químicos de pH, sólidos solúveis, cor, entre outros ao longo do armazenamento.

Tendo em vista as tendências de saudabilidade, sustentabilidade e *clean label*, objetivou-se estudar a estabilidade de uma formulação de chá orgânico pronto para consumo de hibisco adicionado de açúcar orgânico.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar a estabilidade de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) adicionado de açúcar orgânico.

2.2. Objetivos específicos

- Desenvolver uma formulação de chá de hibisco alinhada à tendência *clean label* (produto sem aditivos e com ingrediente orgânico)
- Avaliar a estabilidade físico-química (pH, acidez e sólidos solúveis) da bebida
- Determinar o comportamento cinético e termodinâmico de degradação das antocianinas do extrato do cálice de hibisco e do chá de hibisco com açúcar orgânico
- Analisar o comportamento de degradação de compostos antioxidantes (compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante – ABTS e DPPH) do chá
- Avaliar a estabilidade da coloração da bebida ao longo do tempo de armazenamento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Chá pronto para consumo

O chá é considerado a bebida não alcoólica mais antiga na humanidade e cuja história envolve revoluções, guerras, estabelecimento de rotas comerciais e grande importância cultural onde é popular, sendo ainda a bebida à base de planta mais consumida no mundo (CHEADLE; KILBY, 2015; FLORES-MARTINEZ et al, 2018). Consumido primeiramente por suas propriedades medicinais, devido a seu sabor, o chá se transformou de remédio em bebida (OKAKURA, 2022). Tradicionalmente, se considera o chá como a bebida obtida da infusão de folhas da planta *Camellia sinensis* (WANG; HOO, 2009), entretanto, a legislação brasileira permite o emprego do termo “chá” para bebidas obtidas de outras plantas (BRASIL, 2005).

Devido a mudanças no estilo de vida moderno, requerendo conveniência e praticidade além de saudabilidade e bem-estar, o chá pronto para consumo (*ready-to-drink* (RTD)) tem ganhado espaço no mercado, servindo como alternativa a bebidas tradicionais como refrigerantes e sucos e por serem fontes de nutrientes e refrescância (MADI et al, 2016).

O chá pronto para o consumo é definido como a bebida obtida pela maceração, infusão ou percolação de chá, erva-mate ou de outros vegetais, sendo permitida a adição de outras substâncias de origem vegetal e de açúcares (BRASIL, 2021) e, para o preparo do chá pronto para consumo, pode-se empregar como ingrediente característico extrato aquoso líquido ou desidratado, com adição de fruta, de vegetal e como ingredientes opcionais açúcar, vitaminas, sais minerais e outros nutrientes (BRASIL, 2013).

Os maiores consumidores de chá pronto para consumo, em 2017, foram China, Japão e Estados Unidos, com 13356,0, 6489,8 e 3423,2 milhões de litros consumidos, respectivamente (EUROMONITOR, 2023). Em 2021, foram consumidos no Brasil 211,96 milhões de litros de chá pronto para o consumo, um aumento de 117,6% em relação a 2010, tendo o consumo per capita aumentado de 0,5 a 0,99 litros/habitante/ano, aumento de 50,5% no mesmo período (ABIR, 2023).

Além das tendências de praticidade e conveniência, saudabilidade e bem-estar, chás prontos para consumo apresentam grande potencial para atender a demandas de sustentabilidade, como ao utilizar ingredientes orgânicos, por estes serem obtidos por meio de práticas que preservam o meio ambiente (BRASIL, 2003), sendo considerados pelos consumidores como naturais, nutritivos e sustentáveis (HEIM, 2011). Um ingrediente

interessante para se adicionar ao chá é o açúcar orgânico por se enquadrar na categoria de ingredientes com apelo sustentável. Soma-se ainda à tendência *clean label* de produtos livres de aditivos e ingredientes percebidos negativamente pelos consumidores (ASCHEMANN-WITZEL; VARELA; PERSCHEL, 2019).

Devido a suas propriedades bioativas, bebidas à base de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) apresentam apelo funcional (CID-ORTEGA; BELTRAN-GUERRERO; 2015), tornando-se uma interessante opção para chás prontos para consumo.

3.2. Hibisco

O hibisco (*Hibiscus sp*) é uma planta que cresce em climas tropicais e subtropicais e que possui mais de 300 espécies (AKPAN, 2000; MAHUNU, 2021). A maioria das espécies são de uso ornamental, enquanto outras possuem emprego medicinal. Entre estas se encontra a espécie *Hibiscus sabdariffa* L. (Figura 1), de crescimento anual e pertencente à classe das Dicotyledoneae, família das malváceas e gênero *Hibiscus*, sendo de origem africana e estando presente em várias regiões tropicais e subtropicais do planeta (VIZZOTO; CASTILHO; PEREIRA, 2009). É conhecida popularmente conforme a região geográfica por sobolo (ganês), roselle (francês), té de Jamaica (espanhol), red sorrel ou Jamaica sorrel (inglês), entre outros. No Brasil, alguns nomes pelos quais *Hibiscus sabdariffa* L. é conhecido são hibisco, rosela e azedinho (ANKRAH et al, 2018; VIZZOTO; CASTILHO; PEREIRA, 2009). China, Tailândia e Índia são os maiores produtores de hibisco no mundo, apresentando produção substancial também países como Egito, Sudão, Senegal e México (MAHUNU, 2021).

Figura 1. *Hibiscus sabdariffa* L (cálices e folhas).



Fonte: Fariod, Thair e Mahunu (2021.)

O hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) é ainda uma planta subutilizada (ARSLAN et al, 2021) com potencial para ser cultivada em países em desenvolvimento por ser adaptável a condições tropicais e subtropicais, ter relativa facilidade de crescimento e ser tolerante a secas e cultivada em sistemas de multi-cultivo, além da capacidade de uso de suas partes como alimentos (molhos e saladas a partir de suas folhas e bebidas, geleias, xaropes com uso do cálice, entre outros) e fibras para indústria têxtil (PLOTTO et al, 2004; TETTEH et al, 2019).

Dentre as partes da planta, o cálice apresenta maior valor econômico (GOMA; RASHED, 2016). Os cálices podem ser utilizados para fabricação de geleias, molhos e bebidas. Podem ser empregados para elaboração de infusões aquosas adstringentes, ácidas e de aroma floral. Seus extratos são ricos em antocianinas, vitamina C, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, entre outros. Devido à presença de antocianinas, podem ser utilizados como corantes naturais (DOMÍNGUEZ-LOPEZ; REMONDETTO; NAVARRO-GALINDO, 2008; JULIANI et al, 2009; WONG et al., 2002).

Entre os constituintes importantes para as propriedades farmacológicas do hibisco estão as antocianinas, flavonoides e ácidos orgânicos. Os extratos de hibisco contêm elevada quantidade de ácidos orgânicos, estando em maior porcentagem o ácido cítrico, hidroxicitrico, hibisco, málico e tartárico, estando ainda presentes, em menor quantidade, o ácido ascórbico e oxálico. Encontram-se nos extratos de hibisco ainda inúmeros compostos polifenólicos

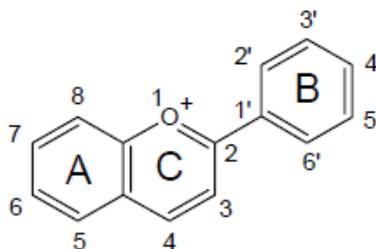
flavonoides oriundos de flavonóis e flavanois, como hibiscitrina, quercetina e luteolina, entre outros. As duas principais antocianinas presentes nos extratos do cálice e da folha de hibisco são delfinidina 3-O-sambubioside e cianidina 3-O-sambubioside (DA-COSTA-ROCHA et al, 2014).

O hibisco tem se mostrado uma planta com inúmeros benefícios à saúde devido às propriedades de seus compostos bioativos, entre eles as antocianinas (DA-COSTA-ROCHA et al, 2014). Além de atuar como corante natural e por suas propriedades bioativas de interesse nutricional, é possível que a alta porcentagem de ácidos orgânicos dos extratos de hibisco cumpra função tecnológica ao substituir aditivos acidulantes.

3.3. Antocianinas

As antocianinas (do grego *anthos* (flor) e *kyanos* (azul)) são compostos pertencentes ao grupo dos flavonoides, solúveis em água e são os pigmentos majoritariamente responsáveis pelas variações de cores do vermelho ao azul em plantas (ANDERSEN; JORDHEIM, 2006).

As antocianinas são derivados polihidroxilados e polimetoxilados do 2-fenilbenzopirilium, denominado cátion *flavilium* (Figura 2), cujas duplas ligações conjugadas são responsáveis pela absorção da luz ao redor de 500 nm, conferindo as cores características dos pigmentos (CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011). As antocianinas são moléculas glicosiladas e os glicosídeos mais comuns ligados a elas são glicose, raminose, galactose, arabinose e xilose (REIN, 2005). Ácidos orgânicos também podem se ligar às antocianinas. A forma aglicona das antocianinas recebe o nome de antociadinina. Mais de 90% das antocianidinas são representadas por apenas 6: delfinidina, cianidina, pelargonidina, peonidina, petunidina e malvidina (ANDERSEN; JORDHEIM, 2006). As antocianidinas são nomeadas conforme o grupo (H, OH, OCH₃) substituído nas posições 3' ou 5' do cátion *flavilium* (Figura 2) (CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011) e mostrados na Tabela 1. Os açúcares se ligam na posição 3, 5 e 7 do cátion *flavilium* para constituir as antocianinas.

Figura 2 Cátion *flavilium*

Fonte: Rein (2005).

Tabela 1. Antocianidinas mais abundantes e seus grupos substitutos no cátion *flavilium*.

Antocianidina	Grupo em 3'	Grupo em 5'
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Pelargonidina	H	H
Peonidina	OCH ₃	H
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Fonte: Rein (2005).

A estabilidade das antocianinas pode ser afetada por fatores intrínsecos do alimento como a própria composição das antocianinas assim como pH, íons, ácido ascórbico, enzimas e copigmentos; e, ainda, fatores extrínsecos relacionados ao processamento e armazenamento como temperatura, luz e oxigênio (DAMADORAN; FENNEMA; PARKIN, 2010; CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011).

O pH pode afetar a estabilidade da cor ao promover a mudança estrutural das antocianinas, sendo estas mais estáveis em pH baixo e se degradando mais facilmente em pH > 7. Em soluções ácidas, as antocianinas coexistem em 4 formas: cátion *flavilium* (vermelho/roxo), pseudo-base quinoidal (azul/violeta), carbinol (incolor) e chalcona (amarelo). Em pH < 2, a forma predominante é o cátion *flavilium* que, à medida em que se aumenta o pH, perde próton se convertendo na forma quinoidal; simultaneamente, o cátion *flavilium* se hidrata, produzindo a forma carbinol ou pseudo-base, alcançando lentamente o equilíbrio com a forma chalcona (BOBBIO; MERCADANTE, 2008; CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011; IACOBUCCI, SWEENEY, 1983; WILSKA-JESZKA, 2007).

Já o efeito da adição de açúcares sobre a estabilidade das antocianinas é influenciado pela estrutura e concentração das antocianinas e pelo tipo de açúcar (RUBINSKIENE et al, 2005), onde reações entre as antocianinas e os açúcares e seus produtos de degradação podem levar a formação de polímeros marrons (KRIFI et al, 2000).

A estabilidade das antocianinas e de todos os pigmentos encontrados em alimentos diminui no processamento e armazenamento à medida que a temperatura aumenta (BOBBIO; MERCADANTE, 2008; CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011). A degradação térmica resulta em produtos de coloração marrom, em especial na presença de oxigênio (CAVALCANTI, SANTOS, MEIRELES, 2011; MARKAKIS, 1982).

O oxigênio apresenta ação deteriorante sobre as antocianinas seja por mecanismos de oxidação direta sobre as antocianinas ou mecanismos oxidativos indiretos pelos quais componentes oxidados do meio reagem com as antocianinas, resultando em produtos incolores ou marrons (JACKMAN et al, 1987).

A luz apresenta efeito antagônico sobre as antocianinas que, ao mesmo tempo em que é necessária para a sua biossíntese, a luz acelera a degradação das antocianinas, especialmente após serem extraídas e aplicadas como corantes em matrizes alimentícias (BETCHTOLD; MUSSAK, 2009).

Além do amplo uso dos pigmentos de antocianinas como corantes naturais em substituição aos sintéticos em alimentos, esses pigmentos demonstram potencial efeito benéfico à saúde em estudos *in vitro* devido ao seu potencial antioxidante, indicando ação contra o stress oxidativo e ação antimicrobiana, além de atuar contra doenças metabólicas, neurodegenerativas, vasculares e câncer (MATTIOLI et al, 2020; KHOO et al, 2017). Não há limite estipulado de quantidade de antocianinas pela legislação em alimentos, com sua aplicação relacionada à quantidade necessária para o efeito requerido (BRASIL, 1988).

Diante do exposto, é de importância estudar o efeito da temperatura e da luz no comportamento das antocianinas no processamento e armazenamento de produtos.

3.4. Açúcar orgânico

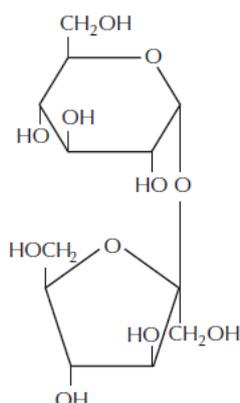
Produto orgânico é definido como aquele obtido em um sistema orgânico de produção agropecuária ou oriundo de processo extrativista sustentável e não prejudicial ao ecossistema local, sendo necessário registro para sua comercialização (BRASIL, 2003). Ingredientes orgânicos têm sido empregados cada vez mais em alimentos por serem percebidos pelos

consumidores como saudáveis, relacionados a bons tratos animais e proteção ao meio ambiente (REGO, 2016).

Açúcares são uma opção interessante de ingredientes orgânicos, sendo ofertados em diversas formas como cristal, demerara, mascavo, classificados conforme o grau de sacarose (BRASIL, 2018).

A sacarose (Figura 3) é um dissacarídeo formado por uma molécula de frutose e uma de glicose por meio de uma ligação o-glicosídica resultante da reação entre a hidroxila de uma glicose e o carbono anomérico da frutose (LEHNINGER et al, 2006). O açúcar cumpre importantes funções tecnológicas em bebidas. Além de ser usado como adoçante, apresenta aplicação como agente de textura, *flavor* e conservante (CHEN et al, 2022).

Figura 3. Estrutura química da sacarose.



Fonte: Damadoran, Fennema e Parkin (2010).

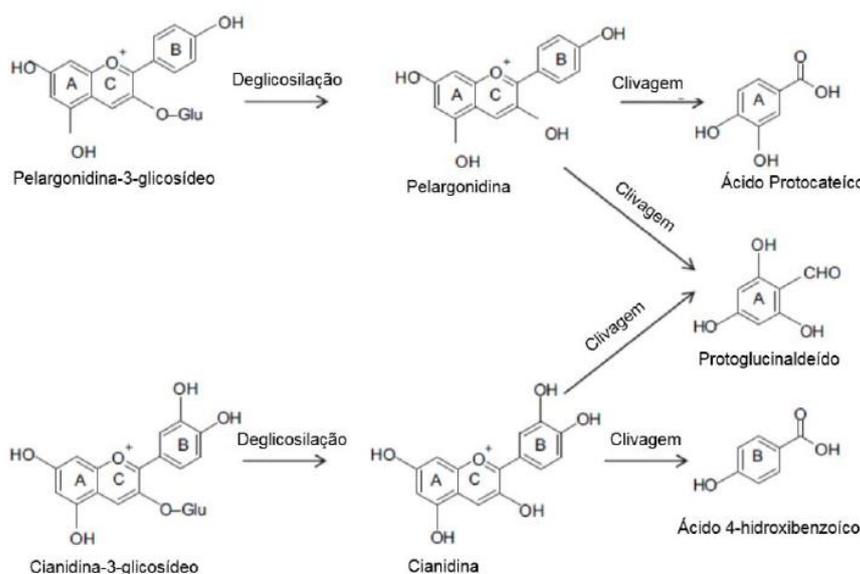
3.5. Cinética e termodinâmica do processo de degradação das antocianinas

No processamento de alimentos, é de grande importância compreender o comportamento de degradação dos componentes do alimento. Estudos têm indicado que a degradação térmica das antocianinas segue modelo de primeira ordem (FERNANDEZ-LOPEZ et al, 2013; KIRCA et al, 2003; NAYAK et al, 2011; PERON; FRAGA; ANTELO, 2017). Em modelos de primeira ordem, a velocidade da reação de degradação está relacionada diretamente à concentração do componente reagente (LEVENSPIEL, 2000; NETO; VITALI, 1996). A modelagem cinética pode ser empregada para prever a forma como o tratamento

térmico impacta parâmetros críticos de qualidade. São importantes para compreender o comportamento de degradação durante o processamento e armazenamento: a ordem da reação, a constante de velocidade da reação, energia de ativação da reação (PATRAS et al, 2010), tempo de redução decimal, valor Z e coeficiente de temperatura (ROBERTSON, 2013).

A degradação térmica das antocianinas pode ocorrer de duas formas, com formação de chalconas e glicosídeos cumarínicos ou com formação de aldeídos e derivados do ácido benzóico. Conforme ilustrado na Figura 4, o mecanismo envolvendo a formação aldeídos e derivados do ácido benzóico ocorre, no primeiro momento, clivagem da molécula de antocianina e perda do glicosídeo. Em seguida, ocorre outra clivagem, resultando em derivados do ácido benzóico e aldeídos (PATRAS et al, 2010; SEERAM et al, 2001).

Figura 4. Mecanismo de degradação de antocianinas.



Fonte: Patras et al. (2010)

A avaliação do efeito da temperatura sobre a degradação das antocianinas pode também ser feita pelo uso de parâmetros termodinâmicos de entalpia, energia de livre de inativação (Gibbs) e entropia (FOGLER, 2016; MERCALI et al, 2013).

A entalpia (H) é uma função termodinâmica que reflete a capacidade de troca de calor do sistema com sua vizinhança, em sistema isobários, sendo uma consequência da primeira lei da termodinâmica que esta determina a conservação da energia e a forma pela qual o processo transcorre em função do sentido do escoamento do calor (processo endotérmico ($\Delta H > 0$) ou

exotérmico ($\Delta H < 0$). Entretanto, a primeira lei termodinâmica não indica o sentido preferencial do fluxo de calor ou sobre sua fonte. A segunda lei da termodinâmica estabelece a entropia (S) como uma função de estado que relaciona a capacidade de um sistema de trocar calor por unidade de temperatura e ainda indica a medida de tendência de desordem do universo (BASTOS; RODRIGUES; SOUZA, 2011). Por sua vez, a energia livre de inativação (Gibbs) permite completar as informações obtidas pela entalpia e entropia ao indicar se um processo ocorre de forma espontânea ($\Delta G < 0$) ou não ($\Delta G > 0$) (FOGLER, 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O desenvolvimento e a avaliação da estabilidade de chá de hibisco com adição de açúcar orgânico foram realizados no Laboratório de Embalagens e Estabilidade de Alimentos (LE), Planta Piloto de Frutas e Hortaliças, laboratório de Análise Instrumental (AI) e no Laboratório de Tecnologia Emergentes (LATEM), do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos (DETA) da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) – UNICAMP. O estudo envolveu duas etapas: Análise da cinética de degradação das antocianinas do extrato do cálice de hibisco em pó e o desenvolvimento e avaliação da estabilidade do chá de hibisco com açúcar orgânico quanto a pH, sólidos solúveis, acidez, ratio, capacidade antioxidante, fenólicos totais, cor e cinética da degradação das antocianinas.

4.1. Material

4.1.1. Ingredientes da formulação e material de acondicionamento

A flor de hibisco em pó adquirida foi importada pela empresa Nutri Ervas - Ervanaria e Especiarias, na cidade de Campinas-SP. O açúcar orgânico, da marca Native, foi comprado em um mercado na cidade de Campinas-SP.

Os chás foram envasados em garrafas de vidro transparente de 200 mL, pesando 136,7 g. Foram acravadas com tampa metálica de folha de flanders (tipo *Crown*), em recravador manual.

4.2. Métodos

4.2.1. Estudo da cinética de degradação das antocianinas do extrato do cálice de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) em pó

O extrato aquoso de hibisco foi obtido pela infusão e homogeneização da flor de hibisco em pó [2,0 % (m/v)]. Para isso, 20,0 g de pó de hibisco foram pesados em balança analítica (em um béquer de 20,0 mL). Na sequência, o pó de hibisco foi transferido para um béquer de 2,0 L e, então, foi adicionado 1,0 L de água deionizada. A homogeneização do extrato aquoso de hibisco foi feita em agitador magnético por 10 minutos, em temperatura ambiente (25°C). Posteriormente, o extrato aquoso homogeneizado foi filtrado (papel filtro

A2 dispostos em Erlenmeyers). Na sequência, o filtrado foi vertido em frascos Schott (envoltos por folha de alumínio) e, por fim, o extrato aquoso de hibisco foi armazenado a -18°C até realização das análises.

O estudo da cinética de degradação de antocianinas do cálice de hibisco em pó foi realizado em triplicata. Para isso, 5,0 mL de extrato de hibisco foram adicionados a um tubo de ensaio de 10,0 mL e tratados em banho maria (MA184, Marconi, Piracicaba, Brasil) em 5 temperaturas: 65, 70, 75, 80 e 85°C , sendo feitas retiradas nos tempos de 0 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 60 min, 70 min, 80 min e 90 min. As amostras tratadas foram armazenadas a -18°C até serem analisadas (24 horas). As análises foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS Orion Aquamate 8000 (Thermo Fisher Scientific, EUA).

4.2.1.1. Determinação das antocianinas monoméricas totais

As antocianinas totais foram determinadas pelo método de pH diferencial conforme Giusti e Wrolstad (2001). Inicialmente, determinou-se o pH das amostras de chá de hibisco com o uso do pHmetro. Na sequência, o extrato de hibisco foi diluído na proporção 1:10 em solução de KCl 0,025 M pH 1,0 em solução de $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ 0,4M pH 4,5. As soluções foram homogeneizadas em vórtex e deixadas em repouso por 20 minutos até a leitura em espectrofotômetro. O espectrofotômetro foi ajustado para a leitura da absorbância nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm.

A absorbância das amostras diluídas foi calculada pela Equação 1, e o cálculo das antocianinas totais (mg/L) é dado pela Equação 2.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (1)$$

$$C = \frac{A \times PM \times FD \times 1000}{E \times L} \quad (2)$$

Onde A é a absorbância da amostra; C é concentração das antocianinas totais em mg/L; FD é o fator de diluição; PM é o peso molecular, que nesta amostra corresponde ao da cianidina-3-glicosídeo (449,2 g/mol); E é o coeficiente de absorvidade molar, sendo 26900 L/cm para cianidina-3-glicosídeo; L, largura da cubeta (1 cm).

4.2.2.2. Parâmetros Cinéticos

Para a determinação dos parâmetros cinéticos, foram utilizadas as equações de 3 a 7, conforme Fogler (2016).

A degradação térmica das antocianinas seguiu uma cinética de primeira ordem. A constante cinética das reações (k_d) foi obtida pela Equação 3.

$$\ln\left(\frac{C_A}{C_{A0}}\right) = -k_d \times t \quad (3)$$

Onde C_A é concentração (mg/mL) de antocianinas totais na amostra após tempo t à temperatura constante; C_{A0} é a concentração (mg/mL) inicial de antocianinas totais na amostra; t é o tempo (min) e k_d é constante cinética da reação (min^{-1}).

O tempo de meia vida ($t_{1/2}$) (min) na degradação pode ser calculado pela Equação 4.

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_d} \quad (4)$$

Onde k_d é a constante cinética da reação (min^{-1}).

O tempo de redução decimal (D) foi determinado pela Equação 5.

$$D = \frac{\ln 10}{k_d} \quad (5)$$

Onde k_d é a constante cinética da reação (min^{-1}).

O valor z foi determinado pela Equação 6.

$$\log D = \frac{1}{z} \times T + B \quad (6)$$

Sendo D o tempo de redução decimal (min); T , a temperatura (K); e B , o coeficiente linear obtido da reta da equação de regressão.

A energia de ativação (E_a) foi obtida por meio da equação de Arrhenius (Equação 7) (Fogler, 2016).

$$\ln k_d = \ln A - \frac{E_a}{R \times T} \quad (7)$$

Onde k_d é a constante cinética (min^{-1}); A , fator de frequência (min^{-1}); R , constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); T , temperatura (K).

O coeficiente Q_{10} foi determinado conforme a Equação 8 (NETO; VITALI, 1996).

$$Q_{10} = \left(\frac{k_{dT_2}}{k_{dT_1}} \right)^{\left(\frac{10}{T_2 - T_1} \right)} \quad (8)$$

4.2.2.3. Parâmetros termodinâmicos

A entalpia de ativação (ΔH), a energia livre de inativação (ΔG) e a entropia de ativação (ΔS) foram obtidas pelas Equações 9, 10 e 11 respectivamente, conforme Mercali *et al.* (2013).

$$\Delta H = E_a - R \times T \quad (9)$$

$$\Delta G = -R \times T \times \ln \left(\frac{k_d \times h}{k_B \times T} \right) \quad (10)$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (11)$$

Sendo E_a a energia de ativação para degradação reação (J mol^{-1}); R , constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); T , temperatura (K); k_d é a constante cinética (s^{-1}); k_B , constante de Boltzmann ($1,2806 \times 10^{-23} \text{ J s}^{-1}$); e h , constante de Planck ($6,6262 \times 10^{-34} \text{ J s}^{-1}$).

4.3. Estudo da estabilidade de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) com açúcar orgânico

4.3.2. Preparo e Caracterização da amostra de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) com açúcar orgânico

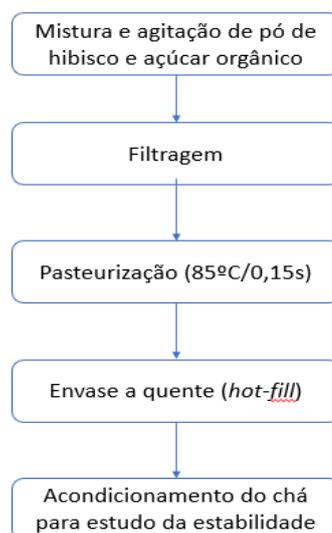
Sabe-se que produtos de alta acidez ($\text{pH} < 3,5$) apresentam maior estabilidade e vida de prateleira (VARNAN; SUTHERLAND, 1994). De forma a obter um produto ácido sem uso de acidificantes, utilizou-se extrato de hibisco com concentração de 0,2% (m/v) e açúcar orgânico, de forma a obter um chá de hibisco pronto para o consumo adicionado de açúcar orgânico com pH igual a 3,0, sólidos solúveis igual a 6,0°Brix e $\text{ratio}=11,0$, formulação esta escolhida pelos pesquisadores visando um produto com menor teor de açúcares frente a outras bebidas como sucos e refrigerantes ($^{\circ}\text{Brix}>9$) (HORMAN, 2006; TAYLOR, 2016).

Para produzir 50,0 L de chá de hibisco adicionado de açúcar orgânico, foram adicionados a um recipiente contendo 50,0 L de água ultrapura (miliQ), 100,0 g de cálice de hibisco em pó, sendo o açúcar orgânico adicionado até se alcançar 6,0°Brix. A mistura foi mantida sob agitação com pá espátula até as análises de pH e sólidos solúveis permanecerem constantes (após 5 minutos).

Em seguida, a bebida foi duplamente filtrada, primeiramente em gaze, para retirada de impurezas maiores e, na sequência, em filtro A2 dispostos em Erlenmeyers de 100,0 mL para remoção das impurezas restantes. Na sequência, o chá de hibisco com açúcar orgânico foi pasteurizado e envazado a quente (85°C) e armazenado para a análise de estabilidade. O processo se encontra exemplificado na Figura 5.

As amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico foram caracterizadas, em triplicata, quanto a cor, pH , acidez, sólidos solúveis, ratio , capacidade antioxidante, determinação de compostos fenólicos totais e degradação de antocianinas.

Figura 5. Fluxograma da elaboração do chá de hibisco com açúcar orgânico.



4.3.2.1. Tratamento Térmico

O tratamento térmico foi aplicado utilizando um forno de micro-ondas conforme Munhoz (2016) e binômio tempo-temperatura de 85°C / 0,15 s. Por se tratar de uma bebida de alta acidez, sabe-se que o crescimento microbiano predominante será de fungos e leveduras (STUMBO, 1973). Desta forma, optou-se pelo tratamento brando e redução decimal de 8 logaritmos ($8D_{85^{\circ}\text{C}}$). A Equação 12 foi utilizada para o cálculo de $D_{85^{\circ}\text{C}}$ e os valores dos parâmetros D e Z utilizados foram de acordo com Stumbo (1973).

$$D_f = D_{ref} \times 10^{(T_{ref}-T_f)/z} \quad (12)$$

Onde $D_{ref} = D_{65^{\circ}\text{C}} = 1 \text{ min}$, $z = 5,5^{\circ}\text{C}$, $T_{ref} = 65^{\circ}\text{C}$, $T_f = 85^{\circ}\text{C}$. Após substituição dos valores, encontrou-se $8D_f = 8D_{85^{\circ}\text{C}} = 0,15\text{s}$.

Para determinação do tempo necessário para se alcançar o binômio tempo-temperatura, foram feitos pré-testes considerando bateladas de 600,0 mL do chá (3 garrafas de vidro de 200,0 mL cada) em potes plásticos para aquecimento no microondas, determinando uma rampa de aquecimento de 6 minutos para se alcançar 85°C. Deve-se levar em consideração o efeito do tempo e temperatura de aquecimento e resfriamento na letalidade do tratamento térmico. Sendo assim, como o aquecimento e resfriamento das amostras não foram instantâneos, o tratamento térmico total foi mais severo que o calculado para a 85°C por 0,15s.

4.3.2.2. Envase a quente (*hot fill*)

As garrafas, tampas e utensílios utilizados para o envase foram previamente higienizados com solução sanificante de 200,0 ppm de cloro ativo por 20 min e, em seguida, enxaguadas em água potável.

Após pasteurização, o chá foi envasado a quente 85°C em garrafas de vidro, as quais foram imediatamente acravadas e invertidas por 3 minutos para a esterilização do espaço livre e da tampa. Visando proporcionar um resfriamento gradual e manter a integridade da embalagem, as garrafas foram imersas em recipientes com água a aproximadamente 50°C e, depois, resfriadas em recipientes com água à temperatura ambiente ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$) por 10 minutos em cada etapa.

O acondicionamento do chá de hibisco com adição de açúcar se deu de três formas:

- Câmaras ajustadas a temperaturas de 5°C, 35°C e 40°C e amostras protegidas da luz
- Temperatura ambiente (24±1°C) e protegidas da luz
- Temperatura ambiente (24±1°C) e expostas à luz

Como medida de precaução, as amostras a 24±1°C protegidas da luz foram envoltas em folha de alumínio e mantidas em caixas de papelão. As amostras a 24±1°C expostas à luz utilizando 4 lâmpadas fluorescentes tld 30W eld 25 bivolt (Philips), aproximadamente 1 m distantes das amostras.

As análises físico-químicas e de degradação de antocianinas foram realizadas no mesmo dia da retirada das amostras. Para as análises de cor, capacidade antioxidante e fenólicos totais, as amostras foram mantidas congeladas a temperatura de -18°C. Todas as análises foram feitas em triplicata.

4.3.2.3.Sólidos Solúveis

Determinado utilizando refratômetro de bancada (Hanna - modelo HI 96813), conforme IAL (2008).

4.3.2.4.Acidez Titulável

Determinado conforme descrita em IAL (2008).

4.3.2.5.Ratio

O *ratio* é relação entre sólidos solúveis (°Brix) e acidez (%). É determinada pela seguinte Equação 12:

$$\text{Ratio} = (\text{°Brix/acidez}) \times 100 \quad (12)$$

4.3.2.6.pH

Determinado com uso de potenciômetro (Digimed, modelo DM 20, Brasil) conforme descrito em IAL (2008).

4.3.2.7.Colorimetria

A avaliação colorimétrica das amostras de chá de hibisco foi feita em colorímetro (Hunter Lab, UltraScan PRO, EUA) com uso do sistema CIELAB. Para a realização das leituras o equipamento foi calibrado com iluminante D65.

Para a leitura da cor, utilizou-se 20,0 mL de chá de hibisco adicionado de açúcar (em uma cubeta inserida no equipamento).

Para a cor, serão considerados os seguintes parâmetros:

- L*: luminosidade, variando de 0 (preto) a 100 (branco);
- a*: cromaticidade, variando de +a* (vermelho) a -a* (verde);
- b*: cromaticidade, variando de +b* (amarelo) a -b* (azul).

Foram ainda determinados os valores de chroma (C), hue (H) e diferença total da cor (DE) conforme as equações 13, 14 e 15, respectivamente.

$$\text{chroma ou saturação} = C = \sqrt{(a^2 + b^2)} \quad (13)$$

$$\text{Hue ou Tom} = H = \arctan \left(\frac{a}{b} \right) \quad (14)$$

$$\Delta E = \sqrt{L^2 + a^2 + b^2} \quad (15)$$

4.3.2.8.Fenólicos Totais

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando método espectrofotométrico de Folin Ciocalteau descrito por Singleton e Rossi (1965) e aplicado por Tukyılmaz *et al.* (2013).

Foi feita uma curva de calibração diluindo-se 0,100 g±0,001 g de ácido gálico em água ultrapura (miliQ) em um béquer de 50,0 mL, sendo essa solução transferida para um

balão volumétrico de 100 mL e tendo seu volume completado com água ultrapura. Obteve-se a curva com diluições da solução de ácido gálico em água ultrapura em concentrações na faixa de 20-100 µg/mL.

Adicionou-se 5,0 mL da amostra em um balão volumétrico de 100,0 mL sendo seu volume completado com álcool absoluto. O balão foi envolto em folha de alumínio e mantido no escuro. Foram pipetados, em tubos ensaio, 1,0 mL da amostra ou dos padrões de ácido gálico e 9,0 mL de água ultrapura, sendo realizado o mesmo para todas as amostras e padrões em triplicata. Pipetou-se 9,0 mL de água ultrapura em um tubo de ensaio como o branco. Adicionou-se 1,0 mL de *Folin Ciocalteau* em todos os tubos. Os tubos permaneceram em repouso por 5 min, sendo, em seguida, adicionados 10,0 mL de solução de carbonato de sódio 7% e 4,0 mL de água ultrapura. Em seguida os tubos foram agitados por 10 segundos em agitador de tubos e colocados sob abrigo da luz à temperatura ambiente por 90 min. A absorbância foi medida a 765 nm em espectrofotômetro e os resultados expressos em EAG mg/L (equivalência de ácido gálico).

4.3.2.9.DPPH

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método DPPH, de acordo com Arend *et al.* (2017), que se baseia na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por compostos antioxidantes gerando uma redução da absorbância a 515 nm. O radical DPPH apresenta cor violeta quando em solução e, ao ser reduzido, torna-se amarelo. Essa mudança de cor é tanto mais rápida quanto maior for o potencial antioxidante de um alimento.

Foi preparada uma solução DPPH 0,06 mM dissolvendo-se 2,4 mg de DPPH em metanol 80% em um balão de 100,0 mL, sendo seu volume completado com o mesmo e a solução, homogeneizada. O reagente foi armazenado em frasco âmbar e usado apenas no dia das análises.

Para a construção da curva padrão, dissolveu-se e homogeneizou-se 25,0 mg de Trolox em etanol PA em um balão volumétrico de 50,0 mL, completando-se volume com o próprio etanol PA. Após ser transferido para um frasco âmbar, foram feitas diluições em balões volumétricos de 10,0 mL na faixa de 25-1000µM.

Pipetou-se 1,0 mL da amostra em balão volumétrico de 100,0 mL com o volume sendo completado com etanol PA, sendo a solução mantida protegida da luz. Foram pipetados 1,0 mL da solução ou dos padrões de Trolox e 3,9 mL da solução de DPPH em tubos de

ensaio, em seguida agitados e mantidos em repouso por uma hora sob abrigo da luz. As análises foram feitas em triplicata em espectrofotômetro a 515 nm calibrada com solução de etanol PA (branco) e os valores expressos em μM trolox/g.

4.3.2.10. ABTS

A avaliação da capacidade antioxidante pelo método ABTS foi conduzida conforme Rufino *et al.* (2007). O método tem como princípio a captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), que, em solução, apresenta coloração verde escura e, ao sofrer redução, muda para verde claro, resultando em diminuição da absorbância a 734 nm. A mudança de cor será mais pronunciada quanto maior for a capacidade antioxidante do alimento.

A solução de trabalho do radical ABTS foi preparada adicionando-se 5,0 mL da solução estoque de ABTS com 88,0 μL de solução de persulfato de potássio em frasco âmbar e sendo mantida no escuro por 16 horas. Após esse tempo, foi diluído 1,0 mL da dessa solução em etanol PA até se alcançar absorbância de $0,7 \pm 0,05$ nm a 734 nm. Essa etapa é feita apenas no dia da análise.

Para a construção da curva padrão, dissolveu-se e homogeneizou-se 25,0 mg de Trolox em etanol PA em um balão volumétrico de 50,0 mL, completando-se volume com o próprio etanol PA. Após ser transferido para um frasco âmbar, foram feitas diluições em balões volumétricos de 10,0 mL na faixa de 25-2000 μM .

Foram transferidos 30,0 μL da amostra ou das soluções de Trolox para tubos de ensaio e adicionados 3,0 mL da solução radical ABTS, sendo, em seguida, agitados em por 10 segundos e deixados em repouso por 6 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 734 nm. A calibração foi feita com álcool etílico PA e as análises realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos em μM trolox/g.

4.3.2.10. Determinação das antocianinas monoméricas totais

Foi realizada conforme item 4.2.2.1.

4.3.2.11. Parâmetros Cinéticos

Foi realizada conforme item 4.2.2.2.

4.3.2.12. Análise termodinâmica

Foi realizada conforme item 4.2.2.3.

4.4. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA) e teste de Scott-Knott a 5% de significância por meio do software Sisvar versão 5.6 (Ferreira, 2019).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ETAPA I: Estudo das propriedades do extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.)

5.1.1. Estudo da cinética de degradação das antocianinas do extrato de hibisco

Na Figura 6, estão traçadas as retas da cinética de degradação do extrato de hibisco nas temperaturas de 65, 70, 75, 80 e 85°C ao longo de 90 minutos de aquecimento. A cinética de degradação do extrato seguiu o modelo de primeira ordem, devido à relação linear entre o logaritmo da concentração das antocianinas totais e o tempo. Reações de primeira ordem descrevem o comportamento de degradação de pigmentos e vitaminas no processamento e armazenamento de alimentos (NETO; VITALI, 1996). Na figura 6, é possível constatar aumento da velocidade de degradação com o incremento da temperatura, devido a maior inclinação das retas com o aumento da temperatura. Resultados semelhantes de degradação de antocianinas em temperaturas entre 30 a 90°C foram observados por Cisse *et al.* (2009), em extratos de hibisco e sucos de laranja e de amora preta; Mercali *et al.* (2013) em extrato de polpa de acerola e por Peron, Fraga e Antelo (2017), em extratos de uvas. As correlações para cada temperatura estão apresentadas na Tabela 2, indicando ajuste adequado ao modelo de primeira ordem.

Figura 6. Degradação das antocianinas do extrato de hibisco durante aquecimento a 65,70,75,80 e 85°C por 90 minutos.

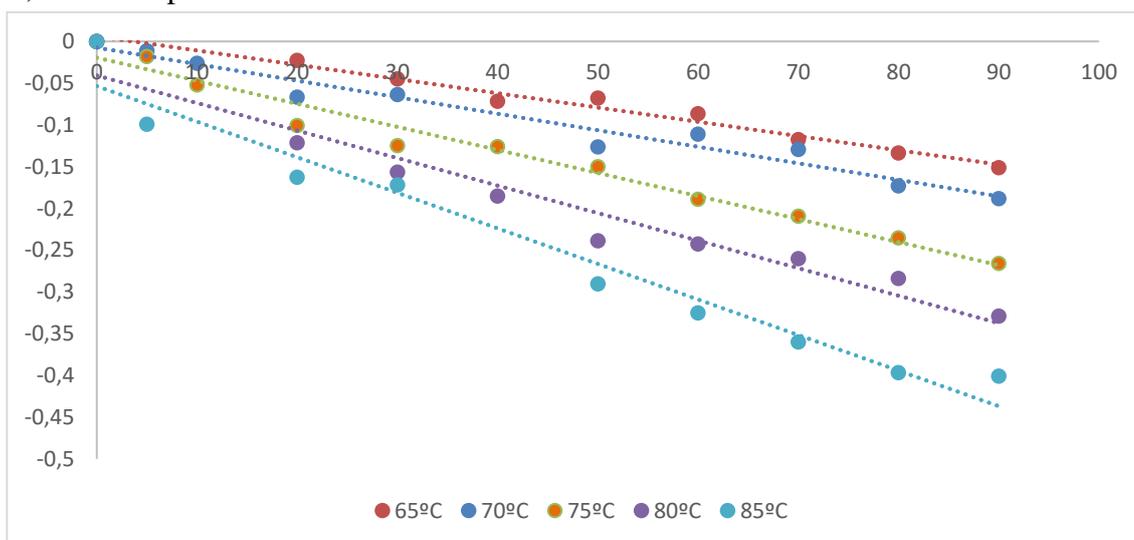


Tabela 2. Temperaturas e coeficientes de correlação da cinética de degradação de primeira ordem das antocianinas.

Temperatura (°C)	R ²
65	0,9792
70	0,9637
75	0,9744
80	0,9485
85	0,9610

Antocianinas são sensíveis ao aumento de temperatura (BOBBIO; MERCADANTE, 2008). Na Tabela 3, pode-se observar o percentual de degradação das antocianinas do extrato de hibisco ao final de 90 min de aquecimento. Nota-se diferença significativa nos tratamentos, indicando aumento da degradação com incremento na temperatura. Após 90 minutos de aquecimento, a quantidade de antocianinas totais apresentou uma redução de 38,41% a 85°C, enquanto na faixa de 65 a 75°C, a redução variou de 18,70 a 24,63%. Mercali *et al.* (2013) reportaram degradação das antocianinas de polpa de acerola a 75°C e 90°C após 90 min de 43% e 80%, respectivamente. Embora a temperatura exerça grande influência no processo de degradação das antocianinas, fatores como a matriz alimentar e características do processo podem contribuir com sua instabilidade (FISHER; CARLE; KAMMERER, 2013; HELLSTROM, MATTILA, KARJALAINEN, 2013; LEE; DUST; WROLSTAD, 2002; MERCALI *et al.*, 2013).

Tabela 3. Temperaturas e porcentagem de degradação das antocianinas totais (AT) ao final de 90 minutos.

T (°C)	AT inicial (mg/L)	AT final (mg/L)	% degradação após 90 min
65		66,35±2,84 ^c	18,70
70		66,18±2,65 ^c	18,91
75	81,6±0,63	61,51±2,15 ^b	24,63
80		56,05±1,06 ^b	31,32
85		50,26±1,43 ^a	38,41

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias (p<0,05).

Antocianinas apresentam diferentes formas químicas conforme a variação do pH do meio. Encontram-se predominantemente na forma de cátion *flavilium* em pH entre 2 e 4,

responsável pela cor vermelha. Em valores de pH compreendidos entre 4 e 6, além do cátion *flavilium*, estão presentes a forma de base quinoidal anidra (azul), base carbinol (incolor) e chalcona (amarelo pálido) (Jiang et al, 2019; Castaneda-Ovando et al, 2009). As duas principais antocianinas do cálice de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) são delfinidina 3-O-sambubioside e cianidina 3-O-sambubioside (Wong et al, 2002; Cisse et al, 2009), sendo estas, em especial a forma hidratada (mais instável) da delfinidina 3-O-sambubioside (Sinela et al, 2017), provavelmente as maiores responsáveis pelas perdas em antocianinas totais pelo tratamento térmico. Uma vez que o valor de pH do extrato de hibisco foi de 2,4 (não mostrado), as antocianinas se encontravam em sua maioria na forma de cátion *flavilium* (não hidratada). A degradação das antocianinas do extrato pode resultar na formação de chalconas e glicosídeos cumarínicos ou de aldeídos e derivados do ácido benzoico (Seeram et al, 2001), sendo estes possivelmente os produtos resultantes após 90 minutos de aquecimento.

Os resultados da constante de degradação térmica (kd), tempo de redução decimal (D) e meia-vida ($t_{1/2}$) estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores das constantes cinéticas de degradação térmica (Kd), tempo de redução decimal (D) e meia-vida ($t_{1/2}$) para as condições estudadas.

T (°C)	Kd (min ⁻¹)	D(min)	$t_{1/2}$ (min)
65	0,0015±0,0002 ^a	1483,9±139,3 ^d	446,7±73,2 ^d
70	0,0024±0,0007 ^a	985,2±68,0 ^c	319,3±20,5 ^c
75	0,0036±0,0009 ^b	760,7±21,1 ^b	219,0±6,34 ^b
80	0,0045±0,0009 ^c	574,5±60,07 ^a	177,6±18,1 ^a
85	0,0050±0,0004 ^c	459,2±38,7 ^a	139,9±12,7 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Assim como se observa o efeito da temperatura na degradação das antocianinas na Figura 4, seguindo modelo cinético de primeira ordem no intervalo de temperatura estudado, nota-se o efeito do incremento da temperatura na velocidade das reações com o aumento dos valores da constante cinética (kd), variando de 0,0015 min⁻¹ a 65°C a 0,0050 min⁻¹ a 85°C. Resultados similares foram encontrados por Sipahli, Mihanlall e Mellem (2017) que encontram valores de Kd para extrato de hibisco variando de 0,0004 a 0,0013 min⁻¹ no intervalo de 70 a 85°C. Mercali *et al.* (2013) reportaram valores de Kd em polpa de acerola de 0,0059 a 0,0199 min⁻¹ entre 75 e 90°C. Valores de mesma ordem foram encontrados por Marangoni Júnior *et al.* (2020) em polpa de açaí, com valores de Kd variando de 0,0005 a 0,002 min⁻¹ no intervalo de 60 a 90°C.

Para o tempo de meia vida, tempo em que a concentração do composto se reduz à metade, observou-se redução do tempo com o aumento da temperatura, variando de 7,4 h a 65°C a 2,3 h a 85°C. Estudos indicam comportamento semelhante da diminuição do tempo de meia vida à medida que se aumenta a temperatura. Mercali *et al.* (2015) obtiveram valores decrescentes de meia-vida para as antocianinas no tratamento térmico convencional para o intervalo de 70 a 90°C em suco de jaboticaba, similares ao presente trabalho, com $t_{1/2}$ = 6,6 h para 70°C, $t_{1/2}$ = 2,5 h para 80°C e $t_{1/2}$ =2,3 h para 85°C. Kechinski *et al.* (2010) determinaram $t_{1/2}$ =8,6 h e $t_{1/2}$ =5,6 h a 70°C e 80°C, respectivamente, para as antocianinas do suco de mirtilo. Gradinaru *et al.* (2003), trabalhando com extrato de hibisco, encontraram $t_{1/2}$ =3,9 h para as antocianinas no tratamento térmico a 85°C.

Os resultados obtidos para o tempo de redução decimal (D) corroboram com os parâmetros anteriores de kd e $t_{1/2}$, indicando aumento do tempo para a redução da concentração inicial de antocianinas em 90% com a diminuição da temperatura de tratamento, estando de acordo com os trabalhos de Mercali *et al.* (2013) e Mercali *et al.* (2015).

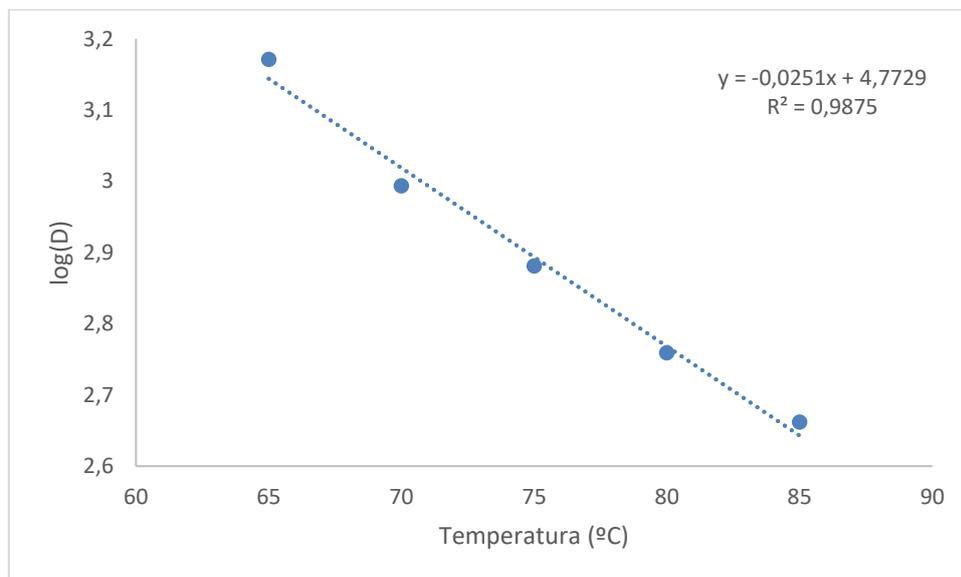
Os resultados para o valor z, energia de ativação (Ea) e o coeficiente de temperatura (Q_{10}) estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores Z, energia de ativação (Ea) e coeficiente de temperatura (Q_{10}) para as condições estudadas.

T (°C)	Z (°C)	Ea (kJ mol ⁻¹)	Intervalo de temperatura (°C)	Q_{10}
65			65-75	2,4
70			70-80	1,8
75	39,8	60,1	75-85	1,4
80				
85			65-85	1,8

Outra forma de verificar a influência da temperatura na velocidade de degradação das antocianinas é pelo cálculo do valor z, que é o intervalo de temperatura para que ocorra variação de 10 vezes na velocidade de degradação de compostos (NETO; VITALI, 1996). Sendo assim, de posse dos valores de D, plotou-se o gráfico de log(D) pela temperatura (°C) para o cálculo do valor z, apresentado na Figura 7.

Figura 7. Determinação do valor Z por meio do logaritmo de D pela temperatura (°C).



O valor z calculado para as antocianinas do extrato de hibisco foi de 39,8°C (Tabela 5). Esse resultado é similar aos encontrados por Cisse *et al.* (2009) cujos valores de z ficaram na faixa de 34 a 43°C em extratos de cálices de 4 variedades de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). Valores z para extratos de outras matrizes são vistos na literatura como em Reyes e Cisceros-Ceballos (2007), que determinaram valores de z para antocianinas em extratos de batata vermelha, batata roxa, uva e cenoura roxa de 28,4, 31,5, 26 e 28°C, respectivamente.

O valor z de 39,8°C determinado para as antocianinas do extrato de hibisco encontra-se acima da faixa de valores z (5-12°C) para esporos e células vegetativas conforme Holdsworth (1985), o que indica maior resistência ao tratamento térmico e menor degradação das antocianinas em relação a microrganismos, sendo um importante fator a se considerar na utilização de extratos de hibisco como corantes naturais na indústria.

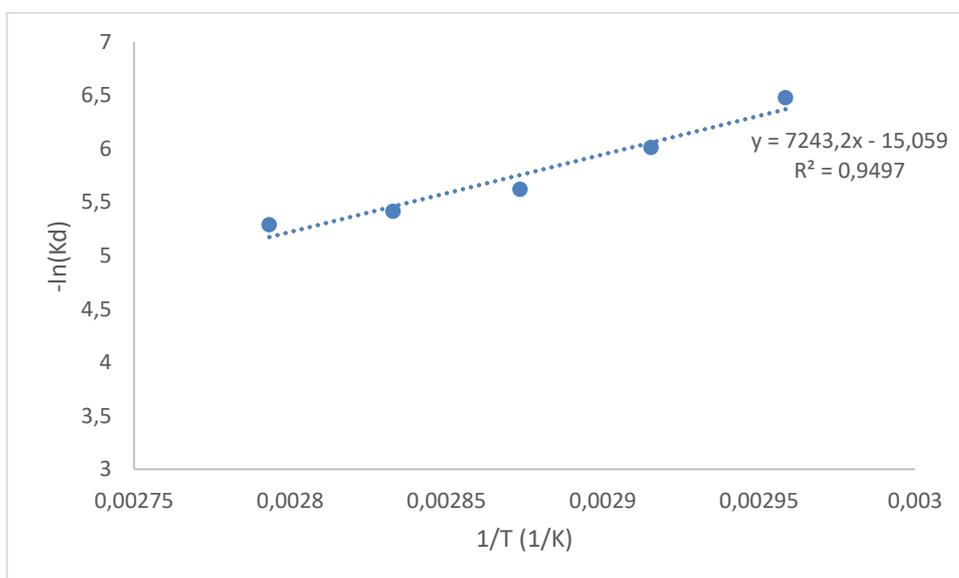
O coeficiente de temperatura (Q_{10}) representa a mudança na velocidade da reação quando há uma variação de 10°C na temperatura e quanto maior seu valor, maior a influência da temperatura na velocidade da reação (NETO; VITALI, 1996; ROBERTSON, 2013). Observa-se na Tabela 5 que os valores de Q_{10} nos intervalos estudados indicam que um incremento de 10°C em temperaturas mais elevadas tem menor efeito na velocidade de reação que a temperaturas mais baixas. Resultado semelhante pode ser encontrado em Peron, Fraga e Antelo (2017) em extratos de uva com valores de Q_{10} de 4,4, 1,7 e 2,6 nos intervalos de 50-70°C, 70-90°C e 50-90°C, respectivamente. Para extrato de hibisco, Domínguez-Lopez, Remondetto e Navarro-Galindo (2008) determinaram $Q_{10}=1,01$ no intervalo de 60 a 100°C. enquanto para as antocianinas de extrato de cenoura preta, Kirca, Ozkan e Cemeroglu (2007)

obtiveram valores de Q_{10} variando de 1,7 a 2,8 na faixa de 70 a 80°C e de 1,9 a 2,2 para a faixa de 80 a 90°C em pH=4,3 e variando a concentração de sólidos solúveis. Deve-se levar em consideração que interações entre componentes da matriz podem afetar a velocidade da reação, levando a menores valores de Q_{10} (Al-Zubaidy; Khalil, 2007).

A energia de ativação (E_a) é definida como a menor quantidade de energia necessária para as moléculas iniciarem as reações (FOGLER, 2016). A energia de ativação é uma outra forma de avaliar a sensibilidade de compostos à temperatura do tratamento, uma vez que quanto maior E_a , menor a velocidade das reações a temperaturas mais baixas, aumentando a velocidade com o incremento da temperatura (NETO; VITALI, 1996; ROBERTSON, 2013). Os resultados de E_a foram obtidos conforme apresentado na Figura 8.

Valores de energia de ativação para antocianinas se encontram na faixa de 35 a 125 kJ/mol (HELDMAN, 2011). A energia de ativação para as antocianinas do extrato de hibisco foi de 60,1 kJ/mol no intervalo estudado. Esse valor de energia de ativação se encontra próximo aos valores obtidos para extrato de hibisco por Domínguez-Lopez, Remondetto, Navarro-Galindo (2008), $E_a=66,22$ kJ/mol, e Cisse *et al.* (2009), $E_a=47,48-61,60$ kJ/mol. Trabalhos em outras matrizes determinaram valores de E_a de 64,89, 42,8, 94 e 92 kJ/mol para suco de uva (DANISMAN; ARSLAN; TOKLUCU, 2015), polpa de açaí (MARANGONI JÚNIOR *et al.*, 2020), extratos de groselha e de mirtilo (CASATI; BAEZA; SANCHEZ, 2017), respectivamente.

Figura 8. Determinação da energia de ativação (E_a) por meio do logaritmo neperiano da constante de degradação térmica pelo inverso da temperatura (K).



5.1.2. Análise termodinâmica da degradação das antocianinas do extrato de hibisco

A partir dos valores das constantes cinéticas de degradação (k_d) e da energia de ativação (E_a), foram calculados a variação de entalpia (ΔH), variação da energia livre de inativação (Gibbs) (ΔG) e variação da entropia (ΔS). Os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros termodinâmicos obtidos para as antocianinas do extrato de hibisco em temperaturas variando de 65 a 85°C por 90 minutos.

T (°C)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	ΔG (kJ mol ⁻¹)	ΔS (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
65	57,33	101,1	-129,6
70	57,29	101,3	-128,4
75	57,25	101,7	-127,8
80	57,21	102,6	-128,6
85	57,16	103,7	-130,1

Houve uma leve diminuição dos valores na variação de entalpia com aumento da temperatura, indicando que a energia requerida para quebrar as ligações moleculares e se chegar ao estado de transição diminui com o incremento da temperatura e o sinal positivo indica reação endotérmica na qual há absorção de calor. Comportamento similar foi reportado por Mercali *et al.* (2013) em polpa de acerola, Peron, Fraga e Antelo (2017) em extrato de uva juçara e Oliveira e Antelo (2020) em extrato de cerejeira-do-rio-grande. Cisse *et al.* (2009) determinaram valores de entalpia para extrato de hibisco na faixa de 47,19 a 58,78 kJ/mol, concordando com os do presente estudo.

Os resultados encontrados para a energia livre de Gibbs, que é a diferença de energia entre o estado ativado e o dos reagentes, apresentaram valores semelhantes, com leve aumento conforme o incremento da temperatura na faixa estudada. O sinal positivo da energia livre de Gibbs indica o caráter não espontâneo das reações. O mesmo comportamento pode ser visto em Mercali *et al.* (2015) e Oliveira e Antelo (2020).

A entropia de ativação é uma medida do grau de desorganização das moléculas no sistema e seu valor negativo indica que o estado de transição das moléculas se encontra mais organizado em relação ao início (VIKRAM; RAMESH; PRAPULHA 2005). Quanto menor o valor da entropia de ativação, mais próximo o material se encontra de seu estado de equilíbrio termodinâmico (GEORGIEVA; ZVEZDOVA; VLAEV, 2012). Os valores de entropia de ativação para a degradação das antocianinas do extrato de hibisco foram negativos, indicando

que as moléculas no estado de transição estão mais organizadas que aquelas em estado inicial da reação. Os valores de entropia tenderam a diminuir ao se aumentar a temperatura e, conforme Mercali *et al.* (2015) e Peron, Fraga e Antelo (2017) são considerados altos, sugerindo-se que o extrato ainda se encontra distante do equilíbrio termodinâmico e que as reações podem ocorrer a uma velocidade maior com o incremento da temperatura para formação do complexo ativado.

Os resultados indicam que as antocianinas do extrato de hibisco apresentam uma relativa resistência térmica com $t_{1/2}=139,9$ min ($t_{1/2}=2,3$ h) a 85°C e $z=39,8^{\circ}\text{C}$, parâmetros importantes ao se considerar tratamentos térmicos como a pasteurização, ao permitir diminuir o tempo de tratamento sem acarretar perdas excessivas das antocianinas, além de garantir estabilidade microbiológica.

5.2. ETAPA II: Estudo da estabilidade de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) com açúcar orgânico

5.2.1. pH

A flor de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) é rica em ácidos orgânicos (Da-Costa-Rocha et al., 2014). Para elaboração do chá de hibisco com açúcar orgânico pronto para consumo, foi adicionado cálice de hibisco em pó na concentração de 0,2% (m/v) visando alcançar valor de pH próximo a 3, típico de bebidas ácidas, com intuito de evitar o crescimento de fungos e leveduras e promover estabilidade microbiológica (VARNAN; SUTHERLAND, 1994; STUMBO, 1973).

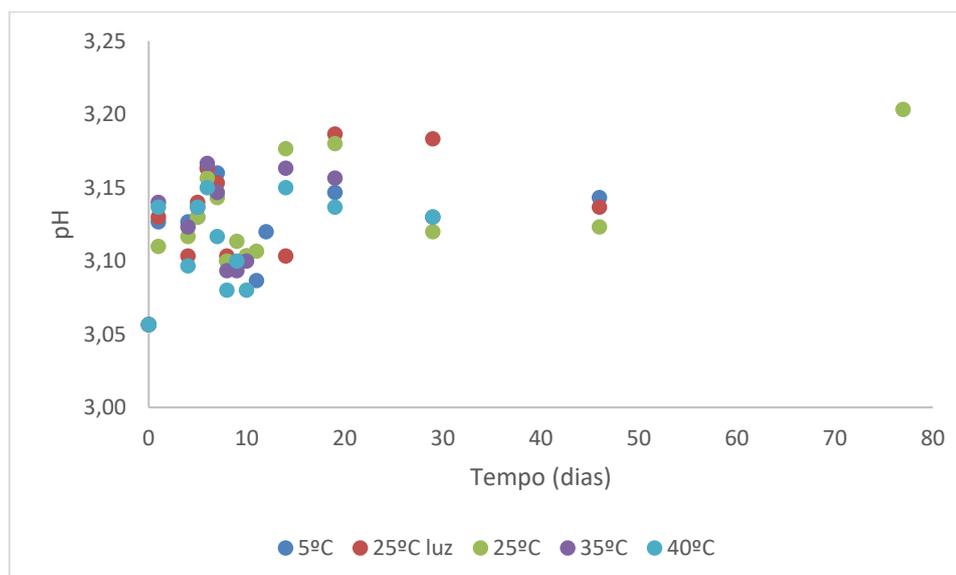
Conforme a Tabela 7 e Figura 9, o pH das amostras não diferiu significativamente ($p<0,05$) ao longo do tempo de armazenamento à temperatura 5°C , mantendo-se estável. Nas outras condições de temperatura aplicadas no teste, houve diferença significativa ($p<0,05$) do pH ao longo do tempo, variando de 3,06 a 3,20, porém, mantendo o pH ácido ($\text{pH}<3,5$), o que colaborou para o não crescimento de microrganismos nas amostras. Entre as temperaturas, não houve diferença significativa ($p<0,05$) na maior parte dos dias, em especial nos primeiros 8 dias do teste. Não se verificou diferença estatística significativa ($p<0,05$) entre as amostras a 25°C expostas e mantidas sob abrigo da luz, indicando que não houve efeito da luz sobre o pH.

Tabela 7. Valores determinados de pH para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C Luz	35°C	40°C
0	3,06±0,0009 ^{nsNS}	3,06±0,0009 ^{aNS}	3,06±0,009 ^{aNS}	3,06±0,01 ^{aNS}	3,06±0,009 ^{aNS}
1	3,13±0,0262 ^{nsNS}	3,11±0,01 ^{bNS}	3,13±0,03 ^{cNS}	3,14±0,01 ^{cNS}	3,14±0,01 ^{cNS}
4	3,13±0,0261 ^{nsNS}	3,12±0,01 ^{bNS}	3,10±0,02 ^{bNS}	3,12±0,02 ^{cNS}	3,10±0,01 ^{bNS}
5	3,13±0 ^{nsNS}	3,13±0,01 ^{bNS}	3,14±0,01 ^{cNS}	3,14±0,01 ^{cNS}	3,14±0,004 ^{cNS}
6	3,16±0,017 ^{nsNS}	3,16±0,01 ^{cNS}	3,16±0,005 ^{dNS}	3,17±0,01 ^{dNS}	3,15±0,01 ^{Dns}
7	3,16±0 ^{nsA}	3,14±0,02 ^{cA}	3,15±0,005 ^{cA}	3,15±0,004 ^{cA}	3,12±0,01 ^{cB}
8	3,10±0 ^{nsNS}	3,10±0,01 ^{bNS}	3,10±0,012 ^{bNS}	3,09±0,01 ^{bNS}	3,08±0,02 ^{bNS}
9	-	3,11±0,01 ^{bNS}	3,10±0,026 ^{bNS}	3,09±0,02 ^{bNS}	3,10±0,01 ^{bNS}
10	-	3,10±0,01 ^{bB}	3,10±0,005 ^{bB}	3,10±0,01 ^{bB}	3,08±0,01 ^{bA}
11	3,09±0,0125 ^{nsNS}	3,11±0,06 ^{bNS}	-	-	-
12	3,12±0,0356 ^{ns}	-	-	-	-
14	-	3,18±0,02 ^{dB}	3,10±0,02 ^{bA}	3,16±0,01 ^{dB}	3,15±0,01 ^{dB}
19	3,15±0,0262 ^{nsA}	3,18±0,01 ^{dB}	3,19±0,005 ^{dB}	3,16±0,005 ^{dA}	3,14±0,004 ^{cA}
29	-	3,12±0,02 ^{bA}	3,18±0,005 ^{dB}	3,13±0,02 ^{cA}	3,13±0,01 ^{cA}
46	3,14±0,0189 ^{nsNS}	3,12±0,01 ^{bNS}	3,14±0,005 ^{cNS}	-	-
77	3,12±0,0125 ^{nsA}	3,20±0,02 ^{d*B}	-	-	-
103	3,20±0,0163 ^{ns}	-	-	-	-
133	3,11±0,0464 ^{ns}	-	-	-	-
167	3,14±0,0125 ^{ns}	-	-	-	-
196	3,13±0,0497 ^{ns}	-	-	-	-

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

Figura 9. Valores de pH ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.



Estudos mostram leve aumento do pH ao longo do tempo de armazenamento de bebidas (ALAKA; AINA; FALADE, 2003; MENDONÇA et al, 2021; REHMAN et al, 2014),

devido à hidrólise ácida de polissacarídeos em mono e dissacarídeos, gerando diminuição da acidez e aumento do dulçor na bebida.

A estabilidade das antocianinas é fortemente influenciada pelo pH, uma vez que este afeta a estrutura molecular das antocianinas devido a seu caráter iônico (BROUILLARD, 1982). Conforme o valor de pH, as antocianinas apresentam cores distintas, indo do vermelho ao azul, apresentando maior estabilidade em meios ácidos (valores baixos de pH) que em meios alcalinos (valores altos de pH) (ANDERSEN; MARKHAM; 2006; REIN, 2005).

A maior estabilidade das antocianinas em pH baixo é creditada ao aumento da presença do cátion *flavilium* (forma colorida), sendo que maior presença da forma hidratada pseudo-base carbinol (incolor) e pH acima de 3,6 podem levar à perda da estabilidade das antocianinas (AZEREDO, 2012; GRADINARU et al., 2003).

Fatores que podem explicar a mudança da cor da bebida durante o teste são o efeito do incremento da temperatura, presença de oxigênio e exposição à luz que podem levar à degradação de antocianinas e formação de compostos marrons (MARKAKIS, 1982), presença de ácido ascórbico que por mecanismos de condensação com moléculas de antocianinas ou de geração de radicais livres podem levar à degradação das mesmas; e, ainda, o açúcar adicionado, cujos produtos de sua degradação podem afetar a estabilidade das antocianinas dependendo do tipo e concentração destas (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELLES, 2011).

Portanto, os resultados indicam que a adição de cálice de hibisco em pó a 0,2% (m/v) foi capaz de manter o pH do chá de hibisco com açúcar orgânico na faixa ácida ($\text{pH} < 3,5$) que, além de contribuir para a estabilidade microbiológica e não necessitar da adição de acidulantes à bebida, cumpre ainda a função de manter o pH da bebida na faixa na qual as antocianinas do hibisco são mais estáveis, contribuindo para a estabilidade da cor.

5.2.2. Sólidos Solúveis

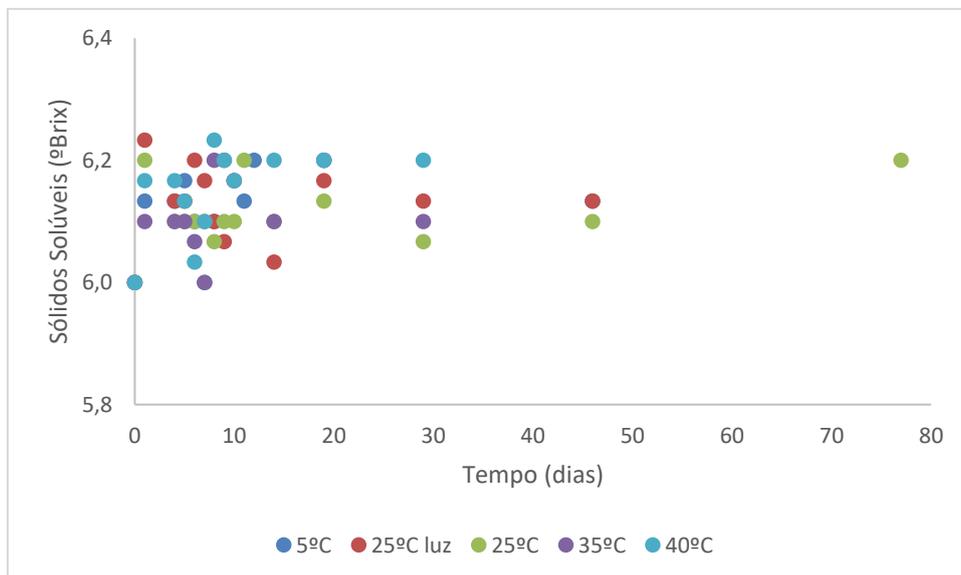
Extratos de hibisco possuem baixos teores de açúcares (Wong et al., 2002). Assim, para o desenvolvimento do chá de hibisco, açúcar orgânico cristal (sacarose) foi adicionado à bebida para se obter teor de sólidos solúveis igual a 6°Brix (valor de sólidos solúveis inferior ao de sucos e refrigerantes). Os resultados do teor de sólidos solúveis estão apresentados na Tabela 8 e Figura 10.

Tabela 8. Valores determinados de sólidos solúveis para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C Luz	35°C	40°C
0	6,0±0 ^{aNS}				
1	6,1±0,05 ^{cNS}	6,2±0 ^{cNS}	6,2±0,05 ^{bNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,2±0,05 ^{cNS}
4	6,1±0,1 ^{cNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,1±0,05 ^{bNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,2±0,05 ^{cNS}
5	6,2±0,05 ^{cNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,1±0,05 ^{bNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,1±0,05 ^{cNS}
6	6,1±0 ^{bNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,2±0 ^{bNS}	6,1±0,09 ^{bNS}	6,0±0,05 ^{aNS}
7	6,0±0 ^{aA}	6,1±0 ^{bB}	6,2±0,05 ^{bC}	6,0±0 ^{aA}	6,1±0 ^{bB}
8	6,1±0 ^{bA}	6,1±0,05 ^{bA}	6,1±0 ^{aA}	6,2±0 ^{cB}	6,2±0,05 ^{cB}
9	-	6,1±0 ^{bA}	6,1±0,05 ^{aA}	6,2±0 ^{cB}	6,2±0 ^{cB}
10	-	6,1±0 ^{bNS}	6,2±0,05 ^{bNS}	6,2±0,05 ^{cNS}	6,2±0,05 ^{cNS}
11	6,1±0,05 ^{cNS}	6,2±0,08 ^{Cns}	-	-	-
12	6,2±0 ^c	-	-	-	-
14	-	6,1±0 ^{bB}	6,0±0,05 ^{aA}	6,1±0 ^{bB}	6,2±0 ^{cC}
19	6,2±0 ^{cNS}	6,1±0,05 ^{bNS}	6,2±0,05 ^{bNS}	6,2±0 ^{cNS}	6,2±0 ^{Cns}
29	-	6,1±0,05 ^{bA}	6,1±0,05 ^{bA}	6,1±0 ^{bA}	6,2±0 ^{cB}
46	6,1±0,05 ^{cNS}	6,1±0 ^{bNS}	6,1±0,05 ^{bNS}	-	-
77	6,0±0,05 ^{aNS}	6,2±0 ^{cNS}	-	-	-
103	6,1±0,05 ^b	-	-	-	-
133	6,3±0 ^d	-	-	-	-
167	6,2±0 ^c	-	-	-	-
196	6,2±0,05 ^c	-	-	-	-

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

Figura 10. Valores determinados de sólidos solúveis (°Brix) ao longo de 77 dias para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.



Nota-se que os valores de sólidos solúveis divergiram significativamente ($p < 0,05$) ao longo do tempo para todas as temperaturas, com leve aumento, variando de 6,0 a 6,3°Brix. Tais resultados concordam com os resultados de Mendonça *et al.* (2021), ao desenvolverem blendas de infusão e extratos de folhas de hibisco e polpa de cupuaçu, e os de Rehman *et al.* (2014), ao estudarem a estabilidade de sucos, que verificam leve aumento do teor de sólidos solúveis ao longo do tempo de armazenamento. Os autores atribuem essa variação de sólidos solúveis à hidrólise ácida de polissacarídeos em mono ou dissacarídeos. Entre as temperaturas, as amostras não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) na maior parte dos períodos avaliados. Resultados similares foram observados por Alaka, Aina e Falade (2003) ao estudarem a estabilidade de suco de manga em garrafas de vidro, de PET e filmes de polietileno a temperaturas de 6°C, 26°C e 34°C, não havendo diferença significativa. Quanto ao efeito da luz, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas amostras à temperatura de 25°C, indicando que não houve efeito deteriorante da luz sobre o teor de sólidos solúveis das amostras.

Os resultados do presente estudo indicam preponderância do efeito do tempo sobre a temperatura e a luz no teor de sólidos solúveis do chá de hibisco com açúcar orgânico.

5.2.3. Acidez Titulável

O extrato de *hibiscus sabdariffa* L. é fonte de ácidos orgânicos, cujos principais representantes são os ácidos cítrico, hidroxicitrico, hibisco, málico e tartárico, estando ainda presentes, em menor quantidade, ascórbico e oxálico (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Como mostrados na Tabela 9 e Figura 11, os valores encontrados para a acidez total titulável do chá de hibisco com açúcar orgânico variaram de 0,53 a 0,58 (g/100mL), não diferindo significativamente ($p < 0,05$) ao longo do tempo em cada temperatura, entre temperaturas e sob ação da luz. Esses resultados estão de acordo com os de Castro *et al.* (2020), cuja acidez total de 3 blendas de chá de hibisco e água de coco não se alterou estatisticamente a 4°C ao longo de 35 dias, variando de 0,7 a 5,3 g/100mL de acordo com a proporção de chá de hibisco empregada. Outros estudos indicam diminuição da acidez total de bebidas, semelhante a Mgya-Kilima *et al.* (2015) que observaram diminuição da acidez total de blendas de extrato de hibisco e suco de manga ao longo de 6 meses armazenadas a 4°C e 28°C em garrafas de vidro e plásticas (não especificou o material); e Alaka, Aina e Falade (2003), ao estudarem o efeito do material de embalagem (garrafa de vidro, de PET, filme de polietileno) sobre suco de manga a 34°C por 2 meses.

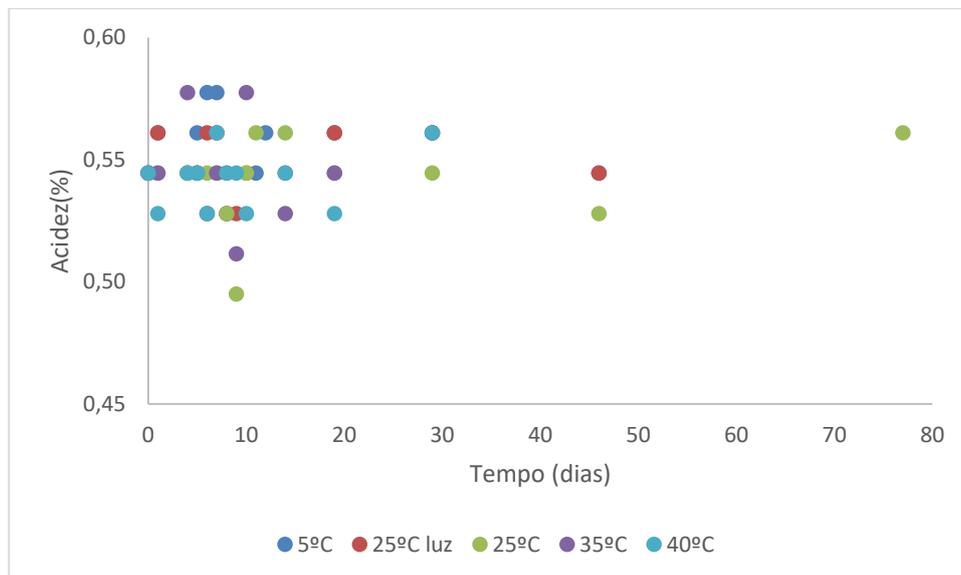
Ressalta-se a importância dos resultados da estabilidade da acidez da bebida no presente trabalho, que contribuiu para manutenção do *ratio* (°Brix/Acidez) do chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do armazenamento, não afetando o equilíbrio entre sólidos solúveis e acidez, relação de suma importância sensorial.

Tabela 9. Valores determinados de acidez total para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C Luz	35°C	40°C
0	0,54±0 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,54±0 ^{aNS}	0,54±0 ^{nsNS}
1	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{aNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}
4	0,54±0 ^{nsA}	0,54±0 ^{nsA}	0,54±0 ^{nsA}	0,58±0,02 ^{bB}	0,54±0 ^{nsA}
5	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,54±0 ^{aNS}	0,54±0 ^{nsNS}
6	0,58±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,53±0,02 ^{aNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}
7	0,58±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{aNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}
8	0,53±0,02 ^{nsNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{aNS}	0,54±0 ^{nsNS}
9	-	0,50±0 ^{nsNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}	0,51±0,02 ^{aNS}	0,54±0 ^{nsNS}
10	-	0,54±0 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,58±0,02 ^{bNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}
11	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	-	-	-
12	0,56±0,02 ^{ns}	-	-	-	-
14	-	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,53±0,02 ^{aNS}	0,54±0 ^{nsNS}
19	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{aNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}
29	-	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{bNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}
46	0,54±0 ^{nsNS}	0,53±0,02 ^{nsNS}	0,54±0 ^{nsNS}	-	-
77	0,54±0 ^{nsNS}	0,56±0,02 ^{nsNS}	-	-	-
103	0,56±0,02 ^{ns}	-	-	-	-
133	0,54±0 ^{ns}	-	-	-	-
167	0,54±0 ^{ns}	-	-	-	-
196	0,54±0 ^{ns}	-	-	-	-

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

Figura 11. Valores de acidez titulável total ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.



5.2.4. *Ratio*

O *ratio* (relação sólidos solúveis/acidez) possui enorme importância no desenvolvimento de novos produtos. Valores mais elevados de *ratio* indicam maior quantidade de sólidos solúveis e uma maior percepção do gosto doce, enquanto um *ratio* com valores menores refletem um produto de maior acidez e uma maior sensação de gosto ácido (SCHACHMAN, 2005).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 10 e Figura 12, o chá de hibisco com açúcar orgânico teve *ratio* inicial de 11,02 e apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) apenas no dia 9 a 25°C e 35°C, permanecendo não significativo para o restante das condições estudadas. Conforme visto, a acidez titulável total permaneceu constante durante o estudo, enquanto os sólidos solúveis tiveram uma leve variação (6,0-6,3°Brix) que, entretanto, não refletiu uma modificação significativa do *ratio*.

Esses resultados indicam que a adição de 0,2%(m/v) de hibisco em pó, visando pH=3,0, resultou em valores relativamente baixos de acidez, criando condições para adição de menor quantidade de açúcar orgânico (6,0°Brix) em relação à quantidade de açúcares encontrados em sucos e refrigerantes (acima de 9°Brix) (HORMAN, 2006; TAYLOR, 2016), o que levou a um valor de *ratio* igual a 11,02, sendo esta a formulação escolhida pelos

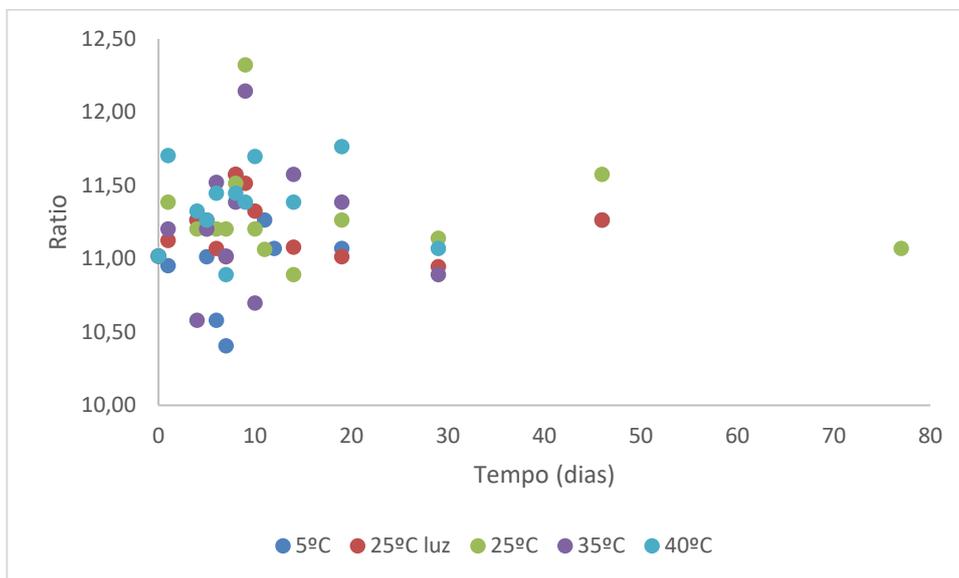
pesquisadores para a condução do estudo da estabilidade do chá de hibisco com açúcar orgânico.

Tabela 10. Valores determinados de *ratio* para o chá de hibisco nas temperaturas de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C ao longo do tempo.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C Luz	35°C	40°C
0	11,02±0 ^{nsNS}	11,02±0 ^{aNS}	11,02±0 ^{nsNS}	11,02±0 ^{aNS}	11,02±0 ^{nsNS}
1	10,95±0,49 ^{nsNS}	11,39±0 ^{aNS}	11,13±0,37 ^{nsNS}	11,20±0 ^{aNS}	11,70±0,58 ^{nsNS}
4	11,26±0,17 ^{nsB}	11,20±0 ^{aB}	11,26±0,09 ^{nsB}	10,58±0,44 ^{aA}	11,33±0,09 ^{nsB}
5	11,01±0,53 ^{nsNS}	11,20±0 ^{aNS}	11,26±0,09 ^{nsNS}	11,20±0 ^{aNS}	11,26±0,09 ^{nsNS}
6	10,58±0,44 ^{nsNS}	11,20±0 ^{aNS}	11,07±0,44 ^{nsNS}	11,52±0,7 ^{aNS}	11,45±0,48 ^{nsNS}
7	10,41±0,43 ^{nsNS}	11,20±0 ^{aNS}	11,01±0,52 ^{nsNS}	11,02±0 ^{aNS}	10,89±0,44 ^{nsNS}
8	11,58±0,53 ^{nsNS}	11,52±0,57 ^{aNS}	11,58±0,53 ^{nsNS}	11,39±0 ^{aNS}	11,45±0,09 ^{nsNS}
9	-	12,32±0 ^{bNS}	11,52±0,58 ^{nsNS}	12,15±0,53 ^{bNS}	11,39±0 ^{nsNS}
10	-	11,20±0 ^{aNS}	11,33±0,09 ^{nsNS}	10,70±0,49 ^{aNS}	11,70±0,44 ^{nsNS}
11	11,26±0,09 ^{nsNS}	11,07±0,33 ^{aNS}	-	-	-
12	11,07±0,45 ^{ns}	-	-	-	-
14	-	10,89±0,44 ^{aNS}	11,08±0,09 ^{nsNS}	11,58±0,53 ^{aNS}	11,39±0 ^{nsNS}
19	11,07±0,45 ^{nsNS}	11,26±0,09 ^{aNS}	11,01±0,53 ^{nsNS}	11,39±0 ^{aNS}	11,77±0,54 ^{nsNS}
29	-	11,14±0,09 ^{aNS}	10,95±0,36 ^{nsNS}	10,89±0,44 ^{aNS}	11,07±0,44 ^{nsNS}
46	11,26±0,09 ^{nsNS}	11,58±0,53 ^{aNS}	11,26±0,09 ^{nsNS}	-	-
77	11,08±0,09 ^{nsNS}	11,07±0,44 ^{aNS}	-	-	-
103	10,84±0,52 ^{ns}	-	-	-	-
133	11,57±0 ^{ns}	-	-	-	-
167	11,39±0 ^{ns}	-	-	-	-
196	11,33±0,09 ^{ns}	-	-	-	-

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

Figura 12. Valores de *ratio* ao longo de 77 dias para as condições de 5°C, 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C.



5.2.5. Estudo da cinética de degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico

Foi feito o estudo da cinética de degradação das antocianinas do chá de hibisco com adição de açúcar orgânico nas condições de 5°C, 25°C (ausência de luz), 25°C (exposta à luz), 35°C e 40°C. Verificou-se que o comportamento de degradação das antocianinas seguiu o modelo de 1ª ordem (Figura 13) com ajuste adequado dos dados (Tabela 11) na faixa de temperatura estudada, com aumento da degradação à medida que se aumenta a temperatura, podendo ser notado pela maior inclinação das retas com a elevação da temperatura. O comportamento de 1ª ordem foi observado na primeira parte do trabalho para o extrato de hibisco em temperaturas elevadas, assim como por Sinela *et al.* (2017) e De Moura *et al.* (2018) ao estudarem a estabilidade de extratos de hibisco durante armazenamento no intervalo 4-37°C e a 5 e 25°C, respectivamente. Na Figura 14, está representada a reta para a condição de 5°C por ter transcorrido ao longo de 167 dias.

Figura 13. Degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico a 5, 25, 25(luz), 35 e 40°C

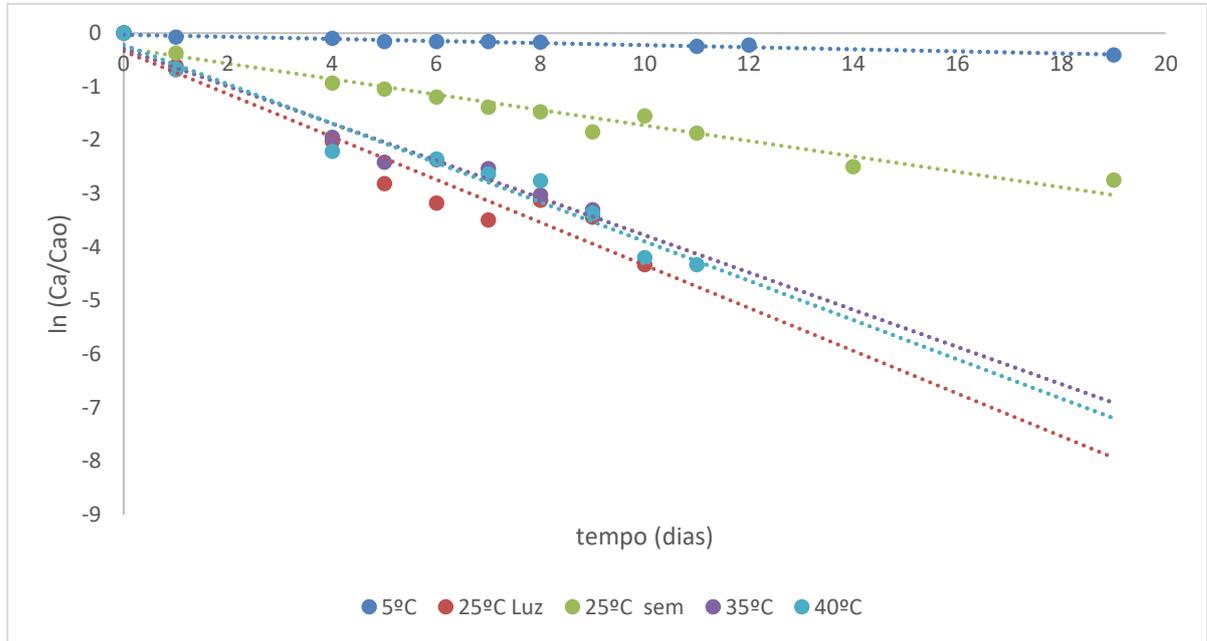


Figura 14. Degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico a 5°C ao longo de 167 dias.

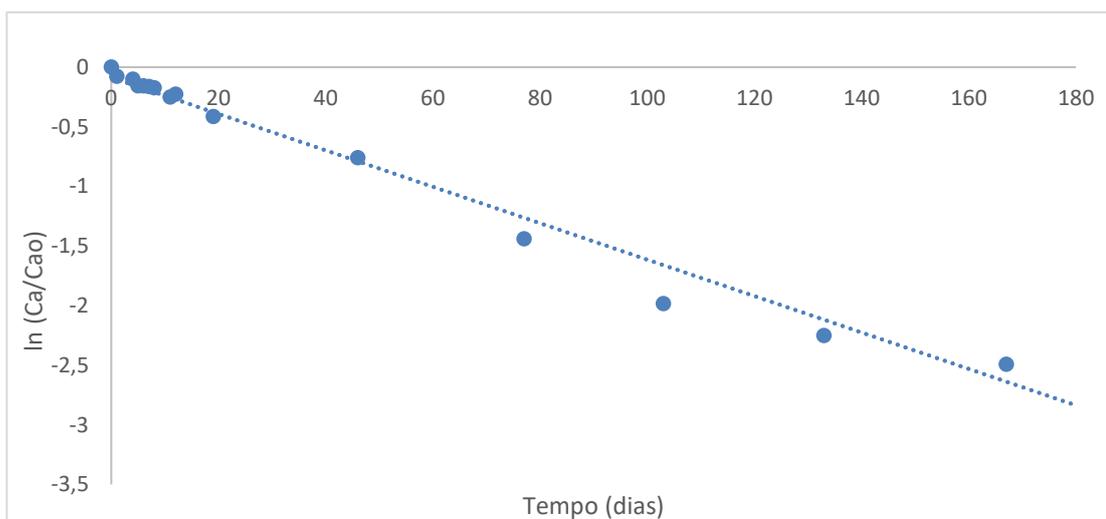


Tabela 11. Temperaturas e coeficientes de correlação da cinética de degradação de primeira ordem das antocianinas.

Temperatura (°C)	R ²
5	0,9595
25	0,9536
25(luz)	0,9316
35	0,9634
40	0,9617

Foram calculados a constante cinética de degradação (kd), o tempo de redução decimal (D) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) mostrados na Tabela 12.

Tabela 12. Valores das constantes cinéticas de degradação térmica (Kd), tempo de redução decimal (D) e meia-vida ($t_{1/2}$) para as condições estudadas.

T (°C)	kd (dia ⁻¹)	D(dia)	$t_{1/2}$ (dia)
5	0,0201±0,0036 ^a	118,65±21,81 ^c	35,72±6,56 ^c
25 luz	0,4904±0,0780 ^c	4,82±0,78 ^a	1,45±0,24 ^a
25	0,1928±0,0225 ^b	12,11±1,42 ^b	3,64±0,43 ^b
35	0,4122±0,0527 ^c	5,67±0,68 ^a	1,71±0,20 ^a
40	0,4603±0,1112 ^c	5,41±1,09 ^a	1,63±0,33 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Nota-se que a constante cinética diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre as condições estudadas e aumentou de valor com o incremento da temperatura. A degradação das antocianinas ocorreu à velocidade maior nas temperaturas de 25°C sob luz, 35°C e 40°C onde não houve diferença significativa ($p < 0,05$). A luz exerceu efeito acentuado sobre a velocidade da degradação das antocianinas a 25°C, com valor de kd cerca de 2,6 vezes superior, indicando alta sensibilidade das antocianinas e a baixa proteção conferida pela garrafa de vidro transparente à luz. Sugere-se que degradação fotoquímica das antocianinas e, conseqüente perda de cor, pode ocorrer pela transformação do cátion *flavilium* via pseudobase carbinol em chalconas (forma incolor) ou mesmo pela fotodegradação direta do cátion *flavilium* (DYRBY, WESTERGAARD, STAPELFELDT, 2001).

Após 10 dias, houve uma degradação de 98,7% das antocianinas sob efeito da luz a 25°C, enquanto, no mesmo período, as amostras protegidas da luz a 25°C tiveram uma

redução de 78,8% (dados não mostrados). Baublis, Spomer e Berber-Jimenez (1994) reportaram degradação acima de 94% para extratos de uva concordia e repolho vermelho sob luz. Chen *et al.* (2018) relataram perdas de 81% de antocianinas em extratos de repolho em 24h sob luz natural. Observa-se o efeito deteriorante da luz sobre a degradação das antocianinas em outros trabalhos como em Paraíso *et al.* (2020) em extrato de hibisco e Bhushan *et al.* (2023) em extrato de milho. Pereira Barbosa *et al.* (2021) não verificaram influência da luz sobre extrato de sorgo.

O tempo de redução decimal (D) para a degradação das antocianinas apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) e, conforme esperado, foi menor com o aumento da temperatura até 35°C e influência da luz. Nota-se o elevado valor de D a 5°C em relação ao restante das condições, indicando a influência da baixa temperatura na estabilidade das antocianinas.

O tempo de meia-vida, sendo o tempo necessário para que ocorra a deterioração de 50% da concentração inicial de um componente, teve diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Nota-se que $t_{1/2}$ diminuiu consideravelmente de valor com o incremento da temperatura até 35°C e efeito da luz a 25°C. O maior valor de tempo de meia-vida para as antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico em garrafa de vidro foi de 35,7 dias a 5°C, sendo este cerca de 9,8 vezes o valor encontrado para 25°C sob abrigo da luz, e cerca 22,3 vezes o valor do restante das condições. A luz teve impacto significativo na redução do tempo de meia-vida a 25°C de 3,6 dias sob abrigo da luz para 1,4 dia com exposição à luz. Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre 25°C sob luz, 35°C e 40°C, com tempos de meia-vida para as antocianinas do chá de hibisco muito baixos, menores que 2 dias. Os resultados para tempo de meia vida evidenciam a importância da manutenção do chá de hibisco com açúcar orgânico a baixas temperaturas e protegido da luz por meio de embalagens mais adequadas durante o armazenamento.

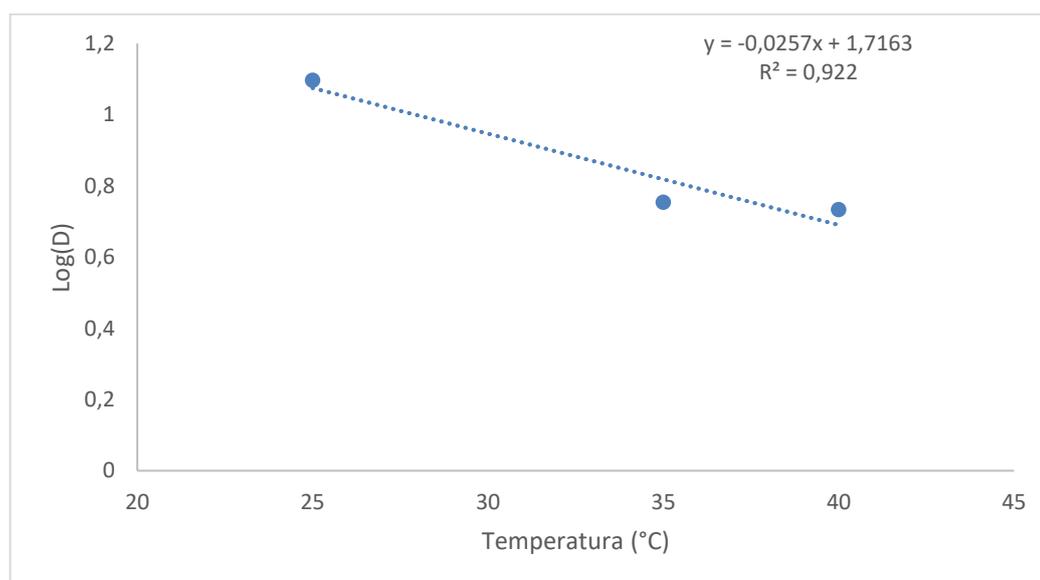
Os resultados para o valor z, energia de ativação (Ea) e o coeficiente de temperatura (Q_{10}) estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Valores de z, energia de ativação (Ea) e coeficiente de temperatura (Q₁₀) para a degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições estudadas

T (°C)	Z(°C)	Ea (kJ mol ⁻¹)	Intervalo de temperatura (°C)	Q ₁₀
25	38,9	44,7	5-25	3,1
35			25-35	2,2
40				

Para o cálculo do valor z, foi considerada a faixa de temperatura mais alta e sem o efeito da luz (25, 35 e 40°C). O valor z foi obtido plotando-se log(D) versus a temperatura (°C), conforme Figura 15. O valor z encontrado foi de 38,9°C, sendo próximo ao determinado para o extrato de hibisco (z=39,8°C) e concordando com outros trabalhos (CISSE et al, 2009; REYES, CICERO-CEBALLOS, 2007), sendo, ainda, superior a valores z de esporos e células vegetativas (5-12°C) (HOLDSWORTH,1985), o que indica maior resistência das antocianinas à temperatura que os microrganismos. Tal resistência pode ser verificada na eficiência do tratamento térmico (85°C/0,15s) aplicado ao chá, onde não houve crescimento de microrganismos ao longo do armazenamento e uma redução na concentração de antocianinas de 8,4 para 7,8 mg/L (3,7%) (dados não mostrados) após o tratamento térmico.

Figura 15. Determinação do valor Z por meio do logaritmo de D pela temperatura (°C).

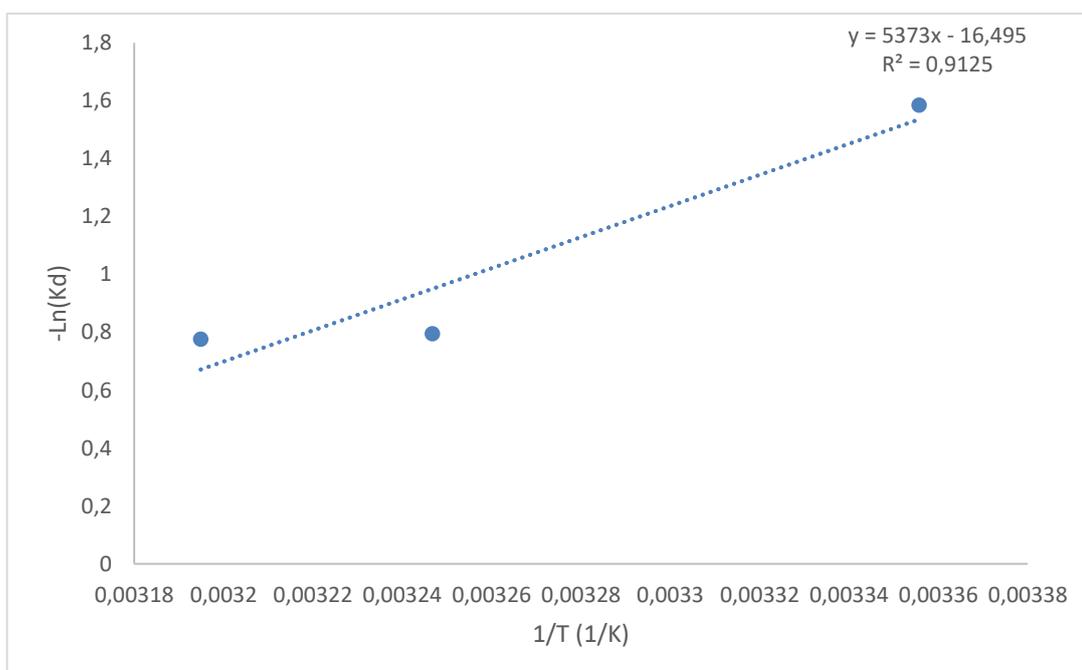


O coeficiente de temperatura (Q₁₀) calculado foi maior na faixa de temperatura mais baixa, indicando a maior influência da temperatura na velocidade de degradação das

antocianinas entre 5 e 25°C que entre 25 e 35°C. De Moura (2018) obteve $Q_{10}=4,0$ para extrato de hibisco no intervalo de 5 a 25°C, superior ao encontrado do presente trabalho. Essa diferença em Q_{10} pode ser devido a concentração do extrato e interação entre componentes da matriz (açúcares e antocianinas), influenciando na velocidade da reação e levando a menor valor de Q_{10} . Entre 25 e 35°C, Q_{10} foi de 2,2, estando próximo aos valores encontrados para o extrato de hibisco em temperaturas mais elevadas na primeira parte do trabalho, que sugere efeito similar da variação de 10°C na velocidade de degradação das antocianinas nessas faixas.

A energia de ativação (E_a) das reações de degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico foi obtida plotando-se $-\ln(k_d)$ pelo inverso das temperaturas (K) conforme apresentado na Figura 16. E_a calculada foi de 44,7 kJ/mol, valor inferior ao encontrado para o extrato de hibisco (60,1 kJ/mol), o que indica uma menor dependência da temperatura, ou seja, uma degradação mais rápida a temperaturas relativamente menores. Em temperaturas similares, Cisse *et al.* (2009) e Cisse *et al.* (2012) determinaram energias de ativação na faixa de 22 a 26 kJ/mol e 48 kJ/mol, respectivamente, em extratos de hibisco, estando próximas ao chá de hibisco com açúcar orgânico.

Figura 16. Determinação da energia de ativação (E_a) por meio do logaritmo neperiano da constante de degradação térmica pelo inverso da temperatura (K).



Uma vez que E_a independe da concentração dos reagentes, a diminuição do valor da energia de ativação da reação de degradação das antocianinas do chá, cuja concentração de

antocianinas foi cerca de 10 vezes inferior à do extrato, poderia ser atribuída à presença de açúcar orgânico (6,0°Brix). Entretanto, estudos indicam que a adição acima de 20% de açúcares tem efeito protetor sobre as antocianinas pela diminuição de atividade de água, dificultando a mobilidade molecular e levando a um aumento da energia de ativação (NIKKAH et al, 1990; OLIVEIRA, ANTELO, 2020). Deve-se considerar ainda o efeito do pH que, no extrato foi de 2,4, enquanto no chá foi de 3,0-3,2, dado que, em valores mais baixos, favorece a formação do cátion *flavilium* (forma mais estável) das antocianinas causando um possível incremento da energia de ativação para a quebra das ligações. Esse comportamento foi observado por Wu, Yang e Chiang (2018) em extrato de hibisco no qual houve diminuição da energia de ativação com o aumento do pH.

5.2.6. Análise termodinâmica da degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico

Utilizando os dados das constantes cinéticas de degradação (k_d) e da energia de ativação (E_a), obtiveram-se a variação da entalpia de ativação (ΔH), variação da energia livre de Gibbs (ΔG) e variação da entropia (ΔS), estando os valores mostrados na Tabela 14.

Tabela 14. Parâmetros termodinâmicos obtidos para a degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições estudadas.

T (°C)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	ΔG (kJ mol ⁻¹)	ΔS (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
25	42,19	76,7	-115,9
35	42,11	77,4	-114,4
40	42,07	78,6	-116,7

Nota-se que os valores para a entalpia de ativação foram semelhantes para as temperaturas estudadas, apresentando uma leve diminuição com o aumento da temperatura, o que sugere uma diminuição da energia necessária para o rompimento de ligações e formação do estado de transição das antocianinas ao se aumentar a temperatura. Percebe-se, ainda, o sinal positivo da entalpia, indicando uma reação endotérmica com absorção de energia. Esse mesmo comportamento foi observado para o extrato de hibisco na primeira etapa e outros trabalhos (MERCALI et al, 2013, PERON; FRAGA; ANTELO, 2017), além de valores similares de entalpia em extratos de hibisco (CISSE et al, 2009).

A energia livre de Gibbs (diferença entre o estado ativado e dos reagentes) para a degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico teve valores levemente crescentes conforme o aumento da temperatura. O sinal positivo da energia livre indica que a reação de degradação das antocianinas do chá não ocorre espontaneamente. Esse comportamento está de acordo o observado para o extrato de hibisco e com outros trabalhos (OLIVEIRA; ANTELO, 2020; MERCALI ET AL, 2015).

Os valores determinados para a entropia de ativação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico foram negativos, evidenciando que as moléculas em estado de transição se encontram mais organizadas em relação ao início da reação (VIKRAM; RAMESH; PRAPULHA 2005). Os valores encontrados de entropia de ativação para o chá estão relativamente próximos aos determinados para o extrato de hibisco, sendo considerados valores altos (MERCALI et al, 2015; PERON; FRAGA; ANTELO, 2017). Dado que quanto maior o valor da entropia de ativação, mais longe o material se encontra do estado de equilíbrio (GEORGIEVA; ZVEZDOVA; VLAEV, 2012), as moléculas de antocianinas do chá podem ainda estar distantes do equilíbrio termodinâmico e que as reações para formação do complexo ativado podem ser aceleradas mediante aumento da temperatura.

5.2.7. Colorimetria

A fim de avaliar o comportamento da cor no chá de hibisco com açúcar orgânico, foram utilizados os parâmetros L^* , a^* , b^* , C^* , H^* e DE dos espaços de cor Cielab. O parâmetro L^* representa a luminosidade da amostra, variando de 0 (preto) a 100 (branco). O parâmetro a^* situa-se entre $-a^*$ (verde) e $+a^*$ (vermelho), enquanto b^* está compreendido entre $-b^*$ (azul) e $+b^*$ (amarelo). C^* (Chroma) indica a saturação da cor e se relaciona à concentração do corante, sendo que quanto maior o valor da saturação, maior a percepção de brilho ao olho humano (PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013). H^* representa o ângulo de tonalidade (ângulo de 0° (vermelho), 90° (amarelo), 180° (verde), 270° (azul)) (MCGUIRE, 1992). DE é a diferença total de cor das amostras, sendo classificada, quanto a percepção ao humano em pequena distinção de diferença ($DE < 1,5$), percepção distinta ($1,5 > DE > 3,0$), e muito distinta ($DE > 3,0$) (ADEKUNTE et al, 2010).

Todos os parâmetros apresentaram diferença estatisticamente significava ($p < 0,05$) em todas as condições estudadas. Percebe-se pela Tabela 15 e Figura 17, que, a 5°C , houve uma tendência do chá a se tornar mais claro pelo aumento do valor de L^* , e a perder a intensidade da cor vermelha com a diminuição dos valores de a^* e a ficar mais amarela com o aumento

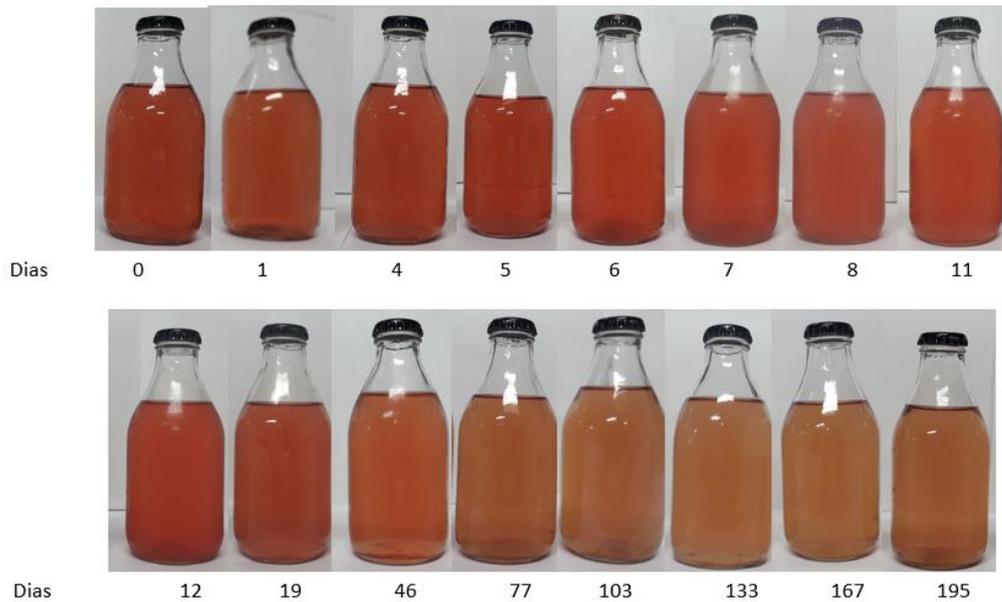
dos valores de b^* . As amostras tiveram ainda uma tendência à perda do brilho como mostra a queda nos valores de C^* , além de se distanciar da cor vermelha e aproximar da amarela como denota o aumento dos valores de H^* . Houve aumento de DE ao longo do tempo, contudo DE foi superior a 1,5 apenas após 103 dias. Notam-se mudanças significativas nos valores dos parâmetros especialmente após 46 dias, tempo já superior ao tempo de meia-vida das antocianinas do chá (35,7 dias).

Tabela 15. Valores de L^* , a^* , b^* , C^* , H^* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 5°C ao longo do armazenamento

Tempo (dias)	5°C					
	L^*	a^*	b^*	C^*	H^*	DE
0	27,93±0,17 ^a	2,99±0,08 ^d	1,59±0,07 ^a	3,39±0,07 ^b	0,49±0,02 ^a	-
1	27,70±0,34 ^a	2,79±0,13 ^d	1,56±0,16 ^a	3,20±0,13 ^b	0,51±0,05 ^a	0,47±0,36 ^a
4	27,64±0,19 ^a	2,96±0,13 ^d	1,52±0,05 ^a	3,33±0,13 ^b	0,48±0,02 ^a	0,48±0,21 ^a
5	27,70±0,13 ^a	2,93±0,16 ^d	1,52±0,11 ^a	3,30±0,19 ^b	0,48±0,01 ^a	0,29±0,02 ^a
6	27,77±0,13 ^a	3,08±0,05 ^d	1,55±0,03 ^a	3,45±0,06 ^b	0,47±0,00 ^a	0,35±0,04 ^a
7	27,93±0,01 ^a	3,03±0,11 ^d	1,58±0,04 ^a	3,42±0,11 ^b	0,48±0,02 ^a	0,26±0,04 ^a
8	27,75±0,21 ^a	3,10±0,18 ^d	1,50±0,06 ^a	3,45±0,18 ^b	0,45±0,02 ^a	0,28±0,04 ^a
11	27,81±0,09 ^a	3,08±0,04 ^d	1,53±0,04 ^a	3,43±0,05 ^b	0,46±0,01 ^a	0,27±0,06 ^a
12	27,93±0,08 ^a	2,92±0,17 ^d	1,53±0,07 ^a	3,30±0,19 ^b	0,48±0,02 ^a	0,25±0,04 ^a
19	27,76±0,10 ^a	2,88±0,22 ^d	1,55±0,07 ^a	3,28±0,21 ^b	0,49±0,02 ^a	0,30±0,17 ^a
46	28,06±0,07 ^a	2,22±0,10 ^c	1,78±0,06 ^b	2,85±0,11 ^a	0,68±0,01 ^b	0,82±0,14 ^b
77	28,25±0,03 ^b	1,80±0,08 ^b	1,90±0,01 ^c	2,61±0,05 ^a	0,81±0,03 ^c	1,28±0,12 ^c
103	28,26±0,10 ^b	1,57±0,07 ^b	2,03±0,04 ^c	2,57±0,04 ^a	0,91±0,03 ^d	1,55±0,10 ^c
133	28,47±0,14 ^b	1,38±0,07 ^a	2,24±0,04 ^d	2,63±0,01 ^a	1,02±0,03 ^e	1,82±0,10 ^d
167	28,33±0,05 ^b	1,18±0,09 ^a	2,17±0,06 ^d	2,47±0,01 ^a	1,07±0,04 ^f	1,94±0,11 ^d
196	28,76±0,17 ^c	1,18±0,04 ^a	2,23±0,06 ^d	2,52±0,04 ^a	1,08±0,03 ^f	2,09±0,13 ^d

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Figura 17. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 5°C.



Na Tabela 16 e Figura 18 encontram-se os dados referentes a 25°C sob abrigo da luz. As amostras tenderam a se tornar mais claras como mostra o aumento de L^* . Houve ainda perda da cor vermelha (diminuição de a^*) e tendência à cor amarela (aumento de b), o que também pode ser observado pelo aumento de H^* . As amostras ainda apresentaram perda de brilho (diminuição de C^*). O cálculo de DE foi superior a 1,5, valor a partir do qual o olho humano consegue ter maior distinção da diferença de cor, a partir do quarto dia, entretanto, DE ficou abaixo de 3,0 durante todo teste.

Tabela 16. Valores de L*, a*, b*, C*, H* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 25°C sob abrigo da luz ao longo do armazenamento.

Tempo (dias)	25°C sem luz					
	L*	a*	b*	C*	H*	DE
0	27,93±0,17 ^a	2,99±0,08 ^g	1,59±0,07 ^a	3,39±0,07 ^a	0,49±0,02 ^a	-
1	28,08±0,07 ^a	2,14±0,13 ^f	1,83±0,06 ^b	2,82±0,13 ^b	0,71±0,01 ^b	0,94±0,16 ^a
4	28,52±0,08 ^b	1,69±0,04 ^e	2,05±0,06 ^b	2,65±0,05 ^b	0,88±0,02 ^c	1,51±0,10 ^b
5	28,71±0,12 ^c	1,36±0,05 ^d	2,14±0,11 ^c	2,54±0,06 ^b	1,00±0,04 ^d	1,89±0,13 ^c
6	28,36±0,20 ^b	1,42±0,05 ^d	2,06±0,11 ^b	2,50±0,10 ^b	0,97±0,02 ^d	1,70±0,13 ^b
7	28,53±0,12 ^b	1,30±0,14 ^d	2,20±0,11 ^c	2,55±0,06 ^b	1,04±0,07 ^d	1,91±0,14 ^c
8	28,21±0,14 ^a	1,43±0,19 ^d	1,94±0,13 ^b	2,41±0,07 ^b	0,93±0,09 ^c	1,62±0,26 ^b
9	28,93±0,03 ^d	1,15±0,14 ^c	2,34±0,05 ^c	2,61±0,07 ^b	1,11±0,05 ^e	2,23±0,14 ^d
10	28,78±0,16 ^c	1,13±0,04 ^c	2,22±0,09 ^c	2,49±0,09 ^b	1,10±0,02 ^e	2,16±0,13 ^d
11	28,46±0,28 ^b	0,65±0,10 ^c	1,53±0,26 ^c	1,66±0,20 ^b	1,17±0,08 ^e	2,15±0,28 ^d
14	28,55±0,19 ^b	0,77±0,11 ^b	2,28±0,12 ^c	2,41±0,12 ^b	1,25±0,04 ^f	2,43±0,10 ^d
19	29,06±0,02 ^d	0,80±0,13 ^b	2,53±0,07 ^d	2,65±0,03 ^b	1,27±0,06 ^f	2,64±0,09 ^e
29	29,16±0,07 ^d	0,70±0,04 ^b	2,53±0,03 ^d	2,63±0,04 ^b	1,30±0,04 ^f	2,77±0,08 ^e
46	29,09±0,04 ^d	0,51±0,07 ^a	2,55±0,06 ^d	2,60±0,05 ^b	1,37±0,02 ^g	2,94±0,07 ^e
77	28,78±0,32 ^c	0,31±0,04 ^a	2,33±0,38 ^c	2,35±0,41 ^b	1,44±0,01 ^g	3,01±0,12 ^e

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Figura 18. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 25°C sob abrigo da luz.



Conforme Tabela 17 e Figura 19, as amostras na condição de 25°C sob o efeito da luz apresentaram uma tendência à perda de brilho, entretanto, com aumento nos primeiros dias de teste, como indicam os valores de L*. Houve uma perda acentuada da cor vermelha já no primeiro dia (diminuição de a*) e tendência ao aumento da cor amarela (aumento de b*) assim como indicado pelo aumento de H*. A diminuição de C* indica que as amostras perderam o brilho ao longo do tempo. DE já no primeiro dia de teste foi superior a 1,5, indicando diferença de cor perceptível a olho nu. Percebe-se que a luz teve forte influência na degradação da cor.

Tabela 17. Valores de L*, a*, b*, C*, H* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 25°C exposta à luz ao longo do armazenamento

Tempo (dias)	25°C exposto à luz					
	L	a	b	C	H	DE
0	27,93±0,17 ^a	2,99±0,08 ^f	1,59±0,07 ^a	3,39±0,07 ^d	0,49±0,02 ^b	-
1	28,50±0,13 ^b	1,42±0,05 ^e	1,94±0,07 ^b	2,40±0,06 ^a	0,94±0,03 ^b	1,73±0,12 ^a
4	29,01±0,03 ^c	0,60±0,04 ^d	2,38±0,05 ^c	2,46±0,04 ^a	1,32±0,02 ^b	2,74±0,08 ^b
5	28,60±0,01 ^b	0,34±0,04 ^c	2,17±0,07 ^c	2,20±0,07 ^a	1,42±0,01 ^b	2,80±0,08 ^b
6	29,35±0,07 ^d	0,35±0,06 ^c	2,76±0,07 ^d	2,78±0,07 ^c	1,45±0,02 ^b	3,23±0,11 ^c
7	29,23±0,11 ^d	0,25±0,09 ^b	2,66±0,08 ^d	2,67±0,09 ^c	1,48±0,03 ^b	3,23±0,09 ^c
8	28,88±0,16 ^c	0,02±0,06 ^b	2,32±0,07 ^c	2,32±0,07 ^a	1,56±1,46 ^b	3,21±0,12 ^c
9	28,94±0,05 ^c	0,04±0,02 ^b	2,46±0,05 ^d	2,46±0,05 ^a	1,56±0,01 ^b	3,24±0,05 ^c
10	28,61±0,38 ^b	0,04±0,10 ^b	2,52±0,12 ^d	2,52±0,12 ^b	1,55±1,45 ^b	3,20±0,08 ^c
14	28,42±0,22 ^b	-0,08±0,03 ^a	2,35±0,16 ^c	2,35±0,16 ^a	-1,54±0,01 ^a	3,20±0,12 ^c
19	28,98±0,25 ^c	-0,07±0,01 ^a	2,61±0,09 ^d	2,61±0,09 ^b	-1,54±0,00 ^a	3,42±0,09 ^c
29	28,64±0,07 ^b	-0,10±0,00 ^a	2,58±0,03 ^d	2,58±0,03 ^b	-1,53±0,00 ^a	3,32±0,03 ^c
46	28,62±0,13 ^b	-0,07±0,03 ^a	2,53±0,05 ^d	2,53±0,05 ^b	-1,54±0,01 ^a	3,27±0,11 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Figura 19. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 25°C expostas à luz.



Na tabela 18 e Figura 20 estão representados os resultados para as amostras a 35°C. As amostras do chá não apresentaram diferença significativa para L* durante o armazenamento. Houve tendência à perda de cor vermelha e a ganho de cor amarela, conforme indicado pela diminuição dos vales de a* e aumento de b*, respectivamente. Houve aumento de H* e diminuição de C* após o primeiro dia, se estabilizando após. Encontrou-se $DE > 1,5$ após o primeiro dia, sugerindo mudança de cor das amostras perceptível a olho nu. A 35°C percebe-se efeito pronunciado na degradação da cor das amostras.

Tabela 18. Valores de L*, a*, b*, C*, H* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 35°C ao longo do armazenamento.

Tempo (dias)	35°C					
	L	a	b	C	H	DE
0	27,93±0,17 ^{ns}	2,99±0,08 ^d	1,59±0,07 ^a	3,39±0,07 ^a	0,49±0,02 ^a	-
1	27,95±0,24 ^{ns}	1,36±0,12 ^c	1,72±0,16 ^a	2,19±0,07 ^b	0,90±0,09 ^b	1,65±0,20 ^a
4	28,38±0,26 ^{ns}	0,70±0,14 ^b	2,25±0,38 ^b	2,35±0,35 ^b	1,27±0,09 ^c	2,44±0,26 ^b
5	28,52±0,35 ^{ns}	0,56±0,11 ^b	2,15±0,15 ^b	2,22±0,13 ^b	1,32±0,06 ^c	2,57±0,27 ^b
6	28,33±0,07 ^{ns}	0,50±0,09 ^b	2,00±0,03 ^b	2,06±0,02 ^b	1,32±0,05 ^c	2,56±0,14 ^b
7	28,49±0,17 ^{ns}	0,51±0,09 ^b	2,19±0,11 ^b	2,24±0,10 ^b	1,34±0,05 ^c	2,62±0,13 ^b
8	28,51±0,32 ^{ns}	0,43±0,06 ^b	2,06±0,09 ^b	2,10±0,09 ^b	1,37±0,03 ^c	2,67±0,15 ^b
9	28,37±0,06 ^{ns}	0,44±0,06 ^b	2,08±0,01 ^b	2,13±0,02 ^b	1,36±0,03 ^c	2,64±0,06 ^b
10	28,34±0,17 ^{ns}	0,38±0,09 ^a	2,22±0,04 ^b	2,25±0,05 ^b	1,40±0,04 ^c	2,71±0,06 ^b
14	28,44±0,31 ^{ns}	0,29±0,05 ^a	2,05±0,05 ^b	2,07±0,04 ^b	1,43±0,03 ^c	2,82±0,13 ^b
19	28,09±0,38 ^{ns}	0,32±0,21 ^a	2,06±0,26 ^b	2,08±0,22 ^b	1,42±0,13 ^c	2,77±0,27 ^b
29	28,31±0,09 ^{ns}	0,18±0,09 ^a	2,23±0,05 ^b	2,24±0,05 ^b	1,49±0,04 ^c	2,92±0,12 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Figura 20. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 35°C.



Os resultados para as amostras de chá a 40°C encontram-se representados na Tabela 19 e Figura 21. As amostras tenderam a tornar-se mais claras (aumento de L*), à perda da cor vermelha (diminuição de a*) e ao incremento da cor amarela (aumento de b*), além da perda do brilho (diminuição de C*) e diminuição da tonalidade (aumento de H*). DE encontrado foi superior a 1,5 já no primeiro dia do teste. Nota-se que a temperatura de 40°C teve forte efeito deteriorante sobre a cor do chá de hibisco com açúcar.

Tabela 19. Valores de L*, a*, b*, C*, H* e DE determinados para chá de hibisco com açúcar orgânico a 40°C ao longo do armazenamento.

Tempo (dias)	40°C					
	L	a	b	C	H	DE
0	27,93±0,17 ^a	2,99±0,08 ^d	1,59±0,07 ^a	3,39±0,07 ^b	0,49±0,02 ^a	-
1	27,91±0,08 ^a	1,45±0,23 ^c	1,51±0,13 ^a	2,10±0,08 ^a	0,80±0,12 ^b	1,56±0,14 ^a
4	28,22±0,12 ^a	0,74±0,11 ^b	1,83±0,12 ^b	1,98±0,08 ^a	1,19±0,07 ^c	2,30±0,07 ^b
5	28,70±0,28 ^b	0,69±0,03 ^b	1,97±0,08 ^b	2,09±0,08 ^a	1,24±0,01 ^c	2,48±0,08 ^b
6	28,55±0,33 ^b	0,61±0,02 ^b	1,96±0,17 ^b	2,05±0,17 ^a	1,27±0,02 ^c	2,54±0,11 ^b
7	28,39±0,19 ^b	0,47±0,02 ^a	1,94±0,12 ^b	1,99±0,11 ^a	1,33±0,02 ^d	2,58±0,12 ^c
8	28,41±0,04 ^b	0,42±0,04 ^a	1,96±0,02 ^b	2,00±0,03 ^a	1,36±0,02 ^d	2,64±0,03 ^c
9	28,22±0,12 ^a	0,37±0,04 ^a	1,96±0,19 ^b	1,99±0,18 ^a	1,39±0,04 ^d	2,68±0,02 ^c
10	28,59±0,29 ^b	0,43±0,08 ^a	2,02±0,20 ^b	2,06±0,18 ^a	1,36±0,06 ^d	2,70±0,13 ^c
14	28,56±0,33 ^b	0,31±0,08 ^a	1,99±0,21 ^b	2,02±0,20 ^a	1,41±0,05 ^d	2,80±0,14 ^c
19	28,40±0,10 ^b	0,42±0,07 ^a	1,88±0,08 ^b	1,93±0,06 ^a	1,35±0,04 ^d	2,63±0,15 ^c
29	28,15±0,18 ^a	0,36±0,05 ^a	1,82±0,11 ^b	1,86±0,10 ^a	1,38±0,04 ^d	2,66±0,06 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Figura 21. Amostras de chá de hibisco com açúcar orgânico ao longo do tempo de armazenamento a 40°C.



5.2.8. Fenólicos Totais

O cálice de *Hibiscus Sabdariffa* L. é rico em compostos polifenólicos, tais como flavonoides, sendo as antocianinas umas das principais representantes desse grupo (MUSA et al., 2021).

O resultado da análise teor de fenólicos totais se encontra na Tabela 20. Os valores dos teores de compostos fenólicos variaram de 3,21 a 4,48 mg AEG/100g, havendo diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento apenas para as amostras à temperatura 25°C expostas à luz nos dias 4, 5 e 46. Entre temperaturas, as amostras divergiram significativamente ($p < 0,05$) apenas nos dias 8 e 10. Conforme se pode observar, não houve uma tendência clara de comportamento quanto aos valores encontrados para todas as temperaturas. A luz não exerceu diferença significativa ($p < 0,05$) nas amostras à temperatura de 25°C.

Tabela 20. Valores de teor de fenólicos totais para o chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições de armazenamento.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C (Luz)	35°C	40°C
0	3,727±0,056 ^{nsNS}	3,727±0,056 ^{nsNS}	3,727±0,056 ^{aNS}	3,727±0,056 ^{bNS}	3,727±0,056 ^{nsNS}
1	3,783±0,049 ^{nsNS}	3,588±0,140 ^{nsNS}	3,647±0,113 ^{aNS}	3,960±0,341 ^{bNS}	3,845±0,558 ^{nsNS}
4	3,737±0,166 ^{nsNS}	3,362±0,230 ^{nsNS}	3,554±0,107 ^{aNS}	3,937±0,421 ^{bNS}	4,093±0,149 ^{nsNS}
5	3,783±0,452 ^{nsNS}	3,570±0,168 ^{nsNS}	3,602±0,187 ^{aNS}	3,297±0,156 ^{aNS}	4,149±0,141 ^{nsNS}
6	4,135±0,305 ^{nsNS}	4,139±0,182 ^{nsNS}	3,636±0,095 ^{aNS}	3,211±0,593 ^{aNS}	3,926±0,202 ^{nsNS}
7	3,848±0,218 ^{nsNS}	3,838±0,168 ^{nsNS}	3,602±0,087 ^{aNS}	3,297±0,601 ^{aNS}	4,263±0,678 ^{nsNS}
8	3,575±0,214 ^{nsA}	3,815±0,217 ^{nsA}	3,758±0,232 ^{aA}	3,445±0,161 ^{aA}	4,482±0,071 ^{nsB}
9	-	3,681±0,099 ^{nsNS}	3,732±0,356 ^{aNS}	3,123±0,673 ^{aNS}	4,319±0,102 ^{nsNS}
10	-	3,616±0,237 ^{nsB}	3,639±0,247 ^{aB}	2,974±0,308 ^{aA}	4,430±0,174 ^{nsC}
11	3,889±0,237 ^{nsNS}	4,102±0,390 ^{nsNS}	-	-	-
12	3,704±0,210 ^{ns}	-	-	-	-
14	-	3,644±0,084 ^{nsNS}	3,873±0,039 ^{bNS}	4,067±0,409 ^{bNS}	4,437±0,206 ^{nsNS}
19	3,852±0,166 ^{nsNS}	3,805±0,210 ^{nsNS}	4,017±0,023 ^{bNS}	4,426±0,173 ^{bNS}	4,126±0,535 ^{nsNS}
29	-	3,875±0,217 ^{nsNS}	3,805±0,210 ^{bNS}	3,933±0,070 ^{bNS}	3,805±0,210 ^{nsNS}
46	3,811±0,299 ^{nsNS}	3,774±0,127 ^{nsNS}	4,113±0,139 ^{bNS}	-	-
77	3,805±0,210 ^{ns}	-	-	-	-
103	3,806±0,209 ^{ns}	-	-	-	-
133	3,820±0,154 ^{ns}	-	-	-	-
167	4,000±0,455 ^{ns}	-	-	-	-
196	3,760±0,097 ^{ns}	-	-	-	-

Valores expressos em mg AEG/100g. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

Castro *et al.* (2020), elaboraram um blend de extrato hibisco e água de coco utilizando concentrações de extrato de hibisco cerca de 13 vezes superiores às do presente trabalho (0,2%(m/v), encontraram teores de compostos fenólicos variando de 95 a 177 mg EAG/g e uma tendência à degradação ao longo de 35 dias a 4°C em garrafas de vidro sob abrigo da luz. Pérez-Ramirez *et al.* (2015) ao elaborarem chá de hibisco adicionado de stevia e ácido cítrico verificaram diminuição das concentrações de compostos fenólicos, assim como Miranda *et al.* (2019) relataram decréscimo nos teores de compostos fenólicos totais para um blend à base de chá de hibisco e suco de laranja sob 7°C por 28 dias. Comportamento semelhante foi observado por Mgaya-Kilima *et al.* (2015) em cujas blendas, variando as proporções de extrato de hibisco e suco de manga, o teor de compostos fenólicos totais teve abrangência de 32,9 a 572,3 mg EAG/100g, sob condições de armazenagem de 4°C e 28°C por 6 meses em garrafas plásticas e de vidro ao abrigo da luz. Entretanto, outros trabalhos não apresentaram variação no teor de compostos fenólicos totais ao longo do armazenamento (MORALES-DE LA PENA *et al.*, 2010; PATTHAMAKANOKPORN *et al.*, 2008). Paraíso *et al.* (2020) ao estudarem o efeito da luz (lâmpadas fluorescentes de 20W) a 25°C por 22 dias sobre a

estabilidade de extratos de hibisco observaram degradação de compostos fenólicos. Tendência semelhante pode ser encontrada em outros trabalhos (COELHO et al., 2020; YU et al., 2022) assim como a não influência significativa da luz (DENG et al, 2022).

Ressalta-se que a determinação de fenólicos totais pelo método de *Folin-Ciocalteu* pode sofrer interferência de substâncias tais como vitamina C, açúcares redutores, proteínas, entre outros (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005). Fatores que também podem afetar a determinação de compostos fenólicos nas plantas são a espécie, tamanho, método de extração e condições de armazenamento (PATTHAMAKANOKPORN et al, 2008)

O teor de compostos fenólicos totais para o chá de hibisco com açúcar orgânico apresentou teores muito baixos em comparação à literatura supracitada, na qual foram empregadas altas concentrações de extrato de hibisco, o que levou, conseqüentemente, a valores elevados de compostos fenólicos totais. Fatores que podem ajudar a explicar a homogeneidade dos teores de compostos fenólicos no presente trabalho, além da própria baixa concentração de hibisco (0,2%(m/v), seriam uma possível ação degradante do oxigênio dissolvido nas amostras ao longo do tempo de armazenamento congeladas (6 meses) (NEMATOLLAHI et al. 2016) e a influência de agentes interferentes no teste de *Folin-Ciocalteu* como açúcares redutores (PRIO; WU; SCHAICH, 2005) resultantes de uma possível hidrólise ácida ao converter sacarose em glicose e frutose (DAMADORAN; FENNEMA; PARKIN, 2010; SCHACHMAN, 2005).

5.2.9. DPPH

Hibiscus Sabdariffa L é fonte de compostos bioativos como antocianinas e outros flavonoides, além de ácidos orgânicos, entre outros, que são responsáveis pela sua atividade antioxidante (ISMAIL et al., 2008; SINGH et al, 2021).

Os resultados da análise de teores de compostos antioxidantes pelo método DPPH estão apresentados na Tabela 21.

As amostras apresentaram valores para capacidade antioxidante ao longo do teste variando de 0,089 a 0,216 μM trolox/g. Trabalhando com extrato de hibisco (30% (m/v)), De Moura (2018) encontrou valor para atividade antioxidante pelo método DPPH de 22,35 EAG/100g, resultado muito superior ao encontrado para chá de hibisco com açúcar orgânico cuja concentração de hibisco (0,2%(m/v) foi inferior.

Nota-se que não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) à temperatura de 5°C ao longo de 196 dias. Nas demais temperaturas, houve diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento com tendência à perda de estabilidade e diminuição da capacidade antioxidante, acumulando perdas de 25,6%, 42,6%, 46,2% e 39,5% nas condições de 25°C, 25°C (luz), 35°C e 40°C, respectivamente. Ao simular um armazenamento a 20°C por 70 dias realizando um teste acelerado a 50°C por 12 dias de em uma bebida de hibisco (2% (m/v)) adicionada de *stevia* e acondicionadas em garrafas de vidro, Perez-Ramírez et al (2015) observaram decréscimo da atividade antioxidante ao longo do tempo (6,2 – 14,4 mg/mL) utilizando metodologia DPPH. Tendência semelhante foi observada por Miranda *et al.* (2019) ao formularem um blend de chá de hibisco e suco de laranja. Tais resultados indicam uma tendência a degradação de compostos antioxidantes ao longo do tempo corroborando com o presente trabalho.

Tabela 21. Valores de teor de capacidade antioxidante pelo método DPPH para o chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições de armazenamento.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C (Luz)	35°C	40°C
0	0,195±0,003 ^{nsNS}	0,195±0,003 ^{cNS}	0,195±0,003 ^{bNS}	0,195±0,003 ^{bNS}	0,195±0,003 ^{bNS}
1	0,187±0,001 ^{nsC}	0,192±0,007 ^{cC}	0,131±0,012 ^{aB}	0,127±0,003 ^{aB}	0,106±0,007 ^{aA}
4	0,187±0,009 ^{nsC}	0,189±0,005 ^{cC}	0,135±0,011 ^{aB}	0,116±0,006 ^{aA}	0,100±0,015 ^{aA}
5	0,197±0,003 ^{nsD}	0,186±0,006 ^{cD}	0,139±0,008 ^{aC}	0,116±0,005 ^{aB}	0,097±0,005 ^{aA}
6	0,198±0,007 ^{nsC}	0,189±0,003 ^{cC}	0,121±0,009 ^{aB}	0,118±0,0115 ^{aB}	0,099±0,009 ^{aA}
7	0,216±0,004 ^{nsC}	0,187±0,009 ^{cB}	0,131±0,008 ^{aA}	0,113±0,012 ^{aA}	0,117±0,012 ^{aA}
8	0,202±0,006 ^{nsB}	0,187±0,006 ^{cB}	0,084±0,059 ^{aA}	0,113±0,003 ^{aA}	0,117±0,001 ^{aA}
9	-	0,164±0,006 ^{bC}	0,121±0,002 ^{aB}	0,107±0,005 ^{aA}	0,107±0,005 ^{aA}
10	-	0,152±0,009 ^{bNS}	0,108±0,019 ^{aNS}	0,115±0,01 ^{aNS}	0,121±0,010 ^{aNS}
11	0,206±0,009 ^{nsB}	0,156±0,0145 ^{bA}	-	-	-
12	0,192±0,014 ^{ns}	-	-	-	-
14	-	0,159±0,009 ^{bB}	0,116±0,002 ^{aA}	0,106±0,014 ^{aA}	0,107±0,011 ^{aA}
19	0,195±0,006 ^{nsB}	0,169±0,005 ^{cB}	0,111±0,005 ^{aA}	0,107±0,015 ^{aA}	0,103±0,023 ^{aA}
29	-	0,089±0,065 ^{bB}	0,115±0,007 ^{aA}	0,105±0,008 ^{aA}	0,118±0,005 ^{aA}
46	0,203±0,001 ^{nsNS}	0,101±0,071 ^{aNS}	0,112±0,005 ^{aNS}	-	-
77	0,205±0,011 ^{nsB}	0,145±0,009 ^{bA}	-	-	-
103	0,130±0,092 ^{ns}	-	-	-	-
133	0,179±0,008 ^{ns}	-	-	-	-
167	0,189±0,003 ^{ns}	-	-	-	-
196	0,120±0,085 ^{ns}	-	-	-	-

Valores expressos em μM trolox/g. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

Comportamento semelhante pôde ser observado entre as temperaturas, onde as concentrações de compostos antioxidantes tenderam a diminuir com o aumento da temperatura. Nota-se que entre as temperaturas de 35°C e 40°C não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na maioria dos dias, apresentando ambas uma perda significativa de compostos antioxidantes nos primeiros 6 dias de armazenamento. Enquanto, à mesma temperatura de 25°C, a presença de luz contribuiu para o decréscimo acentuado dos teores de compostos antioxidantes.

A concentração de hibisco empregada para o chá foi baixa, o que pode explicar as quantidades não relevantes para atividade antioxidantes na bebida. Como observado, a luz teve efeito degradante na capacidade antioxidante a 25°C. Sendo assim, sugere-se o uso de embalagens que protejam a bebida do seu efeito, pois observa-se um rápido declínio nos teores de capacidade antioxidante nos primeiros 6 dias na presença de luz. Temperaturas acima de 35°C contribuem para uma rápida perda de atividade antioxidante, sendo recomendado o armazenamento e transporte a temperaturas inferiores a 25°C, como é indicado pelos resultados do estudo, onde as condições que apresentaram maior retenção da atividade antioxidante pelo método DPPH foram a 5°C e 25°C sob abrigo da luz.

5.2.10. ABTS

Na Tabela 22, estão apresentados os resultados da análise de capacidade antioxidante pelo método ABTS.

Conforme se pode notar, os valores encontrados para a capacidade antioxidante pelo método ABTS variaram de 0,084 a 0,267 μM trolox/g, sendo muito inferiores aos encontrados por De Moura (2018) em extrato de hibisco (30% (m/v)), 30,10 μM trolox/g, e por Castro *et al.* (2020) na determinação do melhor tempo de extração de uma infusão de hibisco (2,3%(m/v)), 86,78 μM trolox/g. Devido à baixa concentração de pó de hibisco empregada na formulação do chá com açúcar orgânico (0,2%(m/v)), esperavam-se baixos valores para capacidade antioxidante pelo método ABTS, o que vem a reforçar os resultados similarmente baixos de capacidade antioxidante determinados pelo método DPPH.

Nota-se que, ao longo do tempo, as amostras diferiram significativamente ($p < 0,05$) para as condições de temperatura de 5°C e 25°C sem exposição à luz, sendo que nessas condições houve uma tendência à degradação dos compostos antioxidantes ao longo do tempo, perda da atividade antioxidante em 35,1% e 39,1%, respectivamente. Esses resultados,

onde a capacidade antioxidante reduziu ao longo do armazenamento pelo método ABTS, concordam com estudos de Perez-Ramírez et al (2015), ao trabalharem com uma bebida de hibisco adicionada de *stevia* em garrafas de vidro sob abrigo da luz, e Mendonça *et al.* (2021), ao desenvolverem bebidas com extrato de folha de hibisco e polpa de cupuaçu armazenadas por 180 dias a 25°C.

Tabela 22. Valores de teor de capacidade antioxidante pelo método ABTS para o chá de hibisco com açúcar orgânico nas condições de armazenamento.

Tempo (dias)	5°C	25°C	25°C (Luz)	35°C	40°C
0	0,151±0,009 ^{bNS}	0,151±0,009 ^{bNS}	0,151±0,008 ^{aNS}	0,151±0,009 ^{nsNS}	0,151±0,009 ^{nsNS}
1	0,157±0,032 ^{bNS}	0,173±0,017 ^{bNS}	0,205±0,015 ^{bNS}	0,188±0,008 ^{nsNS}	0,121±0,022 ^{nsNS}
4	0,159±0,007 ^{bA}	0,158±0,018 ^{bA}	0,189±0,013 ^{bB}	0,192±0,017 ^{nsB}	0,139±0,014 ^{nsA}
5	0,220±0,022 ^{cB}	0,121±0,005 ^{aA}	0,192±0,027 ^{bB}	0,123±0,087 ^{nsB}	0,139±0,022 ^{nsA}
6	0,267±0,010 ^{dB}	0,193±0,039 ^{bA}	0,194±0,017 ^{bA}	0,169±0,011 ^{nsA}	0,187±0,008 ^{nsA}
7	0,245±0,018 ^{cA}	0,151±0,020 ^{bB}	0,193±0,012 ^{bB}	0,170±0,027 ^{nsB}	0,179±0,003 ^{nsB}
8	0,301±0,009 ^{dB}	0,127±0,032 ^{aA}	0,204±0,010 ^{bA}	0,175±0,015 ^{nsA}	0,132±0,093 ^{nsA}
9	-	0,098±0,021 ^{aB}	0,152±0,024 ^{aA}	0,198±0,005 ^{nsA}	0,126±0,002 ^{nsA}
10	-	0,145±0,027 ^{bA}	0,150±0,022 ^{aA}	0,139±0,099 ^{nsB}	0,159±0,025 ^{nsA}
11	0,131±0,040 ^{aNS}	0,108±0,015 ^{aNS}	-	-	-
12	0,152±0,042 ^b	-	-	-	-
14	-	0,116±0,007 ^{aNS}	0,198±0,061 ^{bNS}	0,113±0,026 ^{nsNS}	0,147±0,014 ^{nsNS}
19	0,167±0,049 ^{bNS}	0,084±0,017 ^{aNS}	0,133±0,013 ^{aNS}	0,164±0,008 ^{nsNS}	0,128±0,012 ^{nsNS}
29	-	0,121±0,014 ^{aNS}	0,143±0,016 ^{aNS}	0,167±0,013 ^{nsNS}	0,181±0,035 ^{nsNS}
46	0,200±0,047 ^{cNS}	0,121±0,061 ^{aNS}	0,195±0,018 ^{bNS}	-	-
77	0,163±0,013 ^{bNS}	0,092±0,041 ^{aNS}	-	-	-
103	0,103±0,012 ^a	-	-	-	-
133	0,177±0,024 ^b	-	-	-	-
167	0,120±0,022 ^a	-	-	-	-
196	0,098±0,004 ^a	-	-	-	-

Valores expressos em µM trolox/g. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Ns: não significativo. (-): amostras não retiradas.

A 25°C com exposição à luz, houve diferença significativa entre as amostras ao longo do tempo, porém, não houve uma tendência clara quanto ao comportamento da degradação dos compostos antioxidantes das amostras. Às temperaturas de 35°C e 40°C, as amostras não apresentaram diferença significativa durante o tempo do experimento. Uma possível explicação para a variação dos resultados das amostras na condição de 25°C expostas à luz e para a não variação dos resultados por ABTS para as temperaturas de 35 e 40°C pode ser pelo estado já degradado das amostras dos primeiros dias uma vez que as amostras ficaram

congeladas por cerca de 6 meses e pode ter havido oxidação de compostos antioxidantes pela ação do oxigênio dissolvido na bebida (NEMATOLLAHI et al., 2016).

Entre temperaturas, os resultados do experimento apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para determinação da capacidade antioxidante pelo método ABTS na grande maioria dos dias. As amostras à temperatura de 5°C tiveram menor degradação de compostos antioxidantes em relação ao restante das temperaturas, principalmente nos primeiros oito dias do teste. Quanto às demais condições de temperatura, 25°C sob abrigo da luz, 35°C e 40°C, houve diferença significativa da degradação dos compostos antioxidantes nos primeiros dez dias de experimento entre as temperaturas, porém, não houve uma tendência clara quanto ao comportamento com o incremento da temperatura. A partir do décimo quarto dia já não houve mais diferença significativa entre as temperaturas. Esperava-se que o aumento temperatura tivesse efeito deteriorante sobre compostos antioxidantes, como os polifenóis, sendo as antocianinas os principais polifenóis no hibisco (BOBBIO; MERCADANTE, 2008; XIAOWI et al., 2021).

Considerando o efeito da luz, as amostras a 25°C sob abrigo da luz e a 25°C expostas à luz diferiram significativamente apenas nos dias 5 e 9, sendo que no restante dos dias não houve diferença significativa e, assim, indicando que não houve influência da luz sobre as amostras durante o armazenamento. Esse resultado difere do observado por Coelho *et al.* (2020) ao estudarem da influência da luz LED sobre chá mate e chá verde prontos para beber em garrafas de vidro transparente à temperatura ambiente por duas semanas em que verificaram a degradação de compostos antioxidantes pelo método ABTS. Entretanto, deve-se levar em consideração influência da matriz e os tipos de compostos antioxidantes presentes que podem afetar os resultados das análises.

Os resultados encontrados para a capacidade antioxidante do chá de hibisco com açúcar orgânico pelos métodos DPPH e ABTS apresentaram resultados similares, indicando baixa concentração de compostos antioxidantes. A baixa quantidade de hibisco em pó adicionado visando pH=3,0, assim como uma possível influência deteriorante do oxigênio dissolvido nas amostras congeladas (6 meses).

Os resultados da estabilidade do chá de hibisco com açúcar orgânico indicaram que a adição de cálice de hibisco em pó foi suficiente para manter o pH baixo, o que dispensa a utilização de acidulantes, e que, aliado ao tratamento térmico, garantiu a estabilidade microbiológica da bebida em todas as condições estudadas. Houve aumento da degradação das antocianinas e da cor com o incremento da temperatura, indicando a necessidade da estocagem a temperaturas mais baixas. A luz exerceu forte efeito deteriorante sobre as

antocianinas e a cor, evidenciando a importância do uso de embalagens que confirmam proteção à luz, como de vidro com aditivos de cor ou de plásticos também com proteção à absorção de radiação ou, ainda, cartonadas. A bebida não apresentou quantidades relevantes de compostos antioxidantes.

6. CONCLUSÃO

O extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) apresentou comportamento cinético conforme modelo de 1ª ordem para a degradação das antocianinas, com aumento dos valores da constante cinética de degradação e tempo de redução decimal e, conseqüentemente, diminuição dos valores do tempo de meia-vida, com ao incremento da temperatura.

O coeficiente de temperatura indicou que para intervalos mais baixos de temperatura a velocidade de degradação foi mais afetada. A energia de ativação foi considerada relativamente alta. Valor z alto indica maior resistência térmica à degradação e em relação a microrganismos.

Termodinamicamente, as reações de degradação do extrato de hibisco foram caracterizadas como endotérmica, não-espontânea e com as moléculas em estado de transição estando mais organizadas estruturalmente.

O chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) com açúcar orgânico também apresentou comportamento cinético descrito pelo modelo de 1ª ordem. Os valores da constante cinética e o tempo de redução decimal aumentaram com o aumento da temperatura e presença de luz. O tempo de meia-vida diminuiu com o incremento da temperatura e presença de luz.

A temperatura e a exposição à luz exerceram forte influência deteriorante sobre as antocianinas, chegando-se a seu tempo de meia-vida logo nos primeiros dias de teste para as amostras de 25° expostas à luz e a 35°C e 40°C, o que mostra a necessidade da manutenção da bebida a baixas temperaturas e em embalagens que a protejam do efeito da luz como as cartonadas ou de vidro com adição de pigmentos.

O coeficiente de temperatura indicou maior influência da temperatura na velocidade de degradação das antocianinas em faixas mais baixas de temperatura. A energia de ativação foi inferior ao encontrado para o extrato de hibisco, que pode ser devido à presença de formas menos estáveis das antocianinas em pH maior. Valor z encontrado foi de 39,8°C indicando menor influência da temperatura sobre a degradação das antocianinas que em microrganismos deteriorantes, fator que deve ser levado em consideração a se empregar extratos de hibisco como corantes na indústria de alimentos.

A adição de 0,2% (m/v) de hibisco foi suficiente para garantir baixo pH, inferior a 3,5, ao longo do teste, dispensando o uso de aditivos acidulantes e contribuindo para a estabilidade da cor da bebida, já que a cor antocianinas é altamente influenciada pelo pH do meio. Houve leve aumento do teor de sólidos solúveis, com o teor de acidez total e *ratio* permanecendo

estáveis ao longo do teste. A bebida não apresentou quantidades relevantes de atividade antioxidante e fenólicos totais em todas as condições estudadas.

Os parâmetros termodinâmicos para a reação de degradação das antocianinas do chá de hibisco com açúcar orgânico indicaram caráter endotérmico, não-espontâneo e com as moléculas em estado de transição estando mais organizadas estruturalmente.

7. BIBLIOGRAFIA

ABIR. **Chá pronto para consumo**. Disponível em <<https://abir.org.br/>>.

ADEKUNTE, A. O. et al. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v. 122, p. 500-507, 2010.

AKPAN, G.A. Cytogenetic characteristics and the breeding system in six Hibiscus species. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 315–318, 2000.

ALAKA, O. O.; AINA, J. O.; FALADE, K. O. Effect of storage conditions on the chemical attributes of ogbomoso mango juice. **European Food Research and Technology**, v. 37, n. 6, p. 213-7, 2003.

AL-ZUBAIDY, M. M. I.; KHALIL, R. A. Kinetic and prediction studies of ascorbic acid degradation in normal and concentrate local lemon juice during storage. **Food Chemistry**, v. 101, p. 254–259, 2007.

ANDERSEN, Ø.M.; JORDHEIM, M. The anthocyanins. In: ANDERSEN. M; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2006.

ANDERSEN. M; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2006.

ANKRAH, N. A. et al. Characterization of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *altissima* Wester) accessions in Northern Ghana by agromorphological traits. **Journal of Agricultural Science**, v.10, n. 9, 2018.

AREND, G. D. et al. Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) juice by nanofiltration membrane. **Journal of Food Engineering**, v. 201, p. 36-41, 2017.

ARSLAN, M. et al. Medicinal and therapeutic potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). In MARIOD, A. A.; TAHIR, H. E.; MAHUNU, G. K (Eds). **Roselle (*Hibiscus sabdariffa*): Chemistry, Production, Products, and Utilization**.1.Ed. Elsevier, 2021.

ASCHEMANN-WITZEL, J.; VARELA, P.; PESCHEL, A. O. Consumers' categorization of food ingredients: Do consumers perceive them as 'clean label' producers expect? An exploration with projective mapping. **Food Quality and Preference**, v. 71, p. 117–128, 2019.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Editora Técnica – 2 ed. Brasília-DF. Embrapa, 2012.

BASTOS, A. C. L. M.; RODRIGUES, E. M. S.; SOUZA, J. P. I. **Físico-Química**. Belém: UFPA, 2011.

BAUBLIS, A., SPOMER, A.R.T.; BERBER-JIMENEZ, M.D. Anthocyanin pigments: comparison of extract stability. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 1219–1221, 1994.

BETCHTOLD, T; MUSSAK, R. **Handbook of natural colorants**. John Wiley and Sons, 2009.

BHUSHAN, B. et al. FTIR spectra, antioxidant capacity and degradation kinetics of maize anthocyanin extract under variable process conditions. **Applied Food Research**, v. 3, 2023.

BOBBIO, F. O.; MERCADANTE, A. Z. Anthocyanins in foods: Occurrence and physicochemical properties. In F. O. BOBBIO; A. Z. MERCADANTE (Eds.). **Food colorants: Chemical and functional properties**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 241–276.

BRASIL. RDC N° 277, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 23 set. 2005.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 19, DE 19 DE JUNHO DE 2013. Estabelece o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para refresco, refrigerante, bebida composta, chá pronto para o consumo e soda. **Diário Oficial da União**, 19 jun. 2013.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 47, DE 30 DE AGOSTO DE 2018. Estabelece o regulamento técnico do açúcar, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 6 de set. 2018.

BRASIL. LEI N°10.831, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da União, Brasília**, 24 dez. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. RESOLUÇÃO N° 4, DE 24 DE NOVEMBRO DE 1988. Aprova revisão das tabelas I, III, IV e V referente a aditivos intencionais, bem como os anexos I, II, III e VII, todas do decreto n° 55.871, de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 19 dez. 1988.

BRASIL. PORTARIA N° 123, DE 13 DE MAIO DE 2021 - Estabelece os padrões de identidade e qualidade para bebida composta, chá, refresco, refrigerante, soda e, quando couber, os respectivos preparados sólidos e líquidos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 14 maio. 2021.

CASATI, C.B.; BAEZA, R.; SÁNCHEZ, V. Comparison of the kinetics of monomeric anthocyanins loss and colour changes in thermally treated Blackcurrant, Maqui Berry and Blueberry pulps from Argentina. **Journal of Berry Research**, v. 7, n. 2, p. 85–96, 2017.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CASTRO, J. M. C. et al. Elaboration of a mixed beverage from hibiscus and coconut water: an evaluation of bioactive and sensory properties. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 23, n. 100284, 2020.

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 2011, p. 499–509, 2011.

CHEADLE, L.; KILBY, N. **The book of tea: growing it, making it, drinking it, the history, recipes, and lots more**. 1. Ed. Jacqui Small, 2015.

CHEN, L. et al. Sugar reduction in beverages: Current trends and new perspectives from sensory and health viewpoints. **Food Research International**, v. 162, n. 112076, 2022.

CID-ORTEGA S.; GUERRERO-BELTRÁN, J. A. Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 6859–6869, 2015.

CISSE, M. et al. Impact of the extraction procedure on the kinetics of anthocyanin and colour degradation of roselle extracts during storage. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 1214-1221, 2012.

CISSE, M. et al. Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the Arrhenius, Eyring, and Ball models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6285–6291, 2009.

COELHO, K. Y. et al. Estabilidade da capacidade fenólica e antioxidante total em formulações de chá preto e verde pronto para beber. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. e219108160, 2020.

DA-COSTA-ROCHA, I. et al. *Hibiscus sabdariffa* L.- A phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry**, v. 165, p. 424-443, 2014.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 5 ed. New York: Marcel Dekker, 2010.

DANIŞMAN, G.; ARSLAN, E.; TOKLUCU, A.K. Kinetic analysis of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in grape juice during heating. **Czech Journal of Food Science**, v. 33, p. 103–108, 2015.

DE MOURA, S.C.S.R. **Caracterização, perfil de liberação (in vitro) e aplicação de micropartículas contendo antocianinas do hibisco (*hibiscus sabdariffa* L.), obtidas por gelificação iônica**. Tese (Doutora em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, p. 220, 2018.

DE MOURA, S.C.S.R. et al. Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles. **Food Chemistry**, n. 241, p. 317-327, 2018.

DENG, L.Z. et al. Effects of various storage conditions on total phenolic, carotenoids, antioxidant capacity, and color of dried apricots. **Food Control**, v. 136, 108846, 2022.

DOMINGUEZ-LOPEZ, A, DEMONDETO, G. E.; NAVARRO-GALINDO, S. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. 'Criollo') infusion. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 322–325, 2008.

DYRBY, M.; WESTERGAARD, N.; STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. **Food Chemistry**, v. 72, n. 4, p. 431-437, 2001.

EUROMONITOR, I. Top 10 rtd tea-drinking markets. Disponível em <<https://www.euromonitor.com/article/ranked-top-10-rtd-tea-drinking-markets>>.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.A. Thermal Stability of Selected Natural Red Extracts Used as Food Colorants. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, p. 11–17, 2013.

FISCHER, U.A.; CARLE, R.; KAMMERER, D. R. Thermal stability of anthocyanins and colourless phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) juices and model solutions. **Food Chemistry**, v.138, p. 1800-9, 2013.

FLORES-MARTINEZ, D. et al. Physicochemical parameters, mineral composition, and nutraceutical properties of ready-to-drink flavored-colored commercial teas. **Journal of Chemistry**, v 2018, p. 107, 2018.

FOGLER, H. S. **Elements of chemical reaction engineering**. Prentice Hall, 2016.

GEORGIEVA, V.; ZVEZDOVA, D.; VLAEV, L. Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan. **Chemistry Central Journal**, v. 1, p. 81-91, 2012.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Anthocyanins. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: WROLSTAD, R., (Eds). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons, New York, 2001.

GOMAA, R. B. A.; RASHED, N. M. Post-harvest studies on reducing losses and maintaining quality of packaging Roselle calyxes. **Journal of Sustainable Agricultural Sciences**, v. 42, n. 4, p. 68-86, 2016.

GRADINARU, G. et al. Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. **Food Chemistry**, v. 83, p. 423–436, 2003.

HEIM, J. **Lohas or: the consumption of sustainability**. University of Freiburg, p.7, 2011.

HELDMAN, D. R. Kinetics of food quality attribute retention. **Food Preservation Process Design**, p. 87-110, 2011.

HELLSTROM, J.; MATTILA, P.; KARJALAINEN, R. Stability of anthocyanins in berry juices stored at different temperatures. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, p. 12–19, 2013.

HOLDSWORTH, S. D. Optimization of thermal processing – a review. **Journal of Food Engineering**, v. 4, p. 89-116, 1985.

HORMAN, J. Syrup preparation and syrup room operations. In: STEEN, D.P.; ASHURST, P. R. (Eds). **Carbonated Soft Drinks: Formulation and Manufacture**, Blackwell Publishing, 2006.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins, and related flavilium salts. **Tetrahedron Letters**, v. 39, p. 3005–3012, 1983.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo/SP: Odair Zenebon; Neus Sadocco Pascuet; Paulo Tiglea, 2008. v. 1a Edição Digital.

ISMAIL, A.; IKRAM, E. H. K.; NAZRI, H. S. M. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds – Nutritional composition, protein quality and health benefits. **Food**, v. 2, n. 1. P. 1-16, 2008.

JACKMAN, R.L. et al. Anthocyanins as food colorants – a review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 11, p. 201-247, 1987.

JIANG, T. et al. Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. **Food Chemistry**, v. 274, p. 460-470, 2019.

JULIANI, H.R. Chemistry and quality of hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) for developing the natural-product industry in Senegal. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 2, p. 113–121, 2009.

KECHINSKI, C. P. et al. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 2, p. 173–176, 2010.

KHOO, H.E. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food and Nutrition**, v. 61, n. 1361779, 2017.

KIRCA, A.; CEMEROGLU, B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. **Food Chemistry**, v. 81, p. 583–587, 2003.

KRIFI, B.; MAURICE, M. Degradation of anthocyanins from blood orange juices. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, p. 275-283, 2000.

LEE, J.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. Impact of Juice Processing on Blueberry Anthocyanins and Polyphenolics: Comparison of Two Pretreatments. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 67, n. 5, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principles of biochemistry**. New York: Worth Publishers, 2006.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas**. São Paulo: Ed. Bucher, 2000.

MADI, I.; CASTRO, I.; WALLIS, G. O setor de bebidas não alcoólicas. IN: REGO, R. A.; VIALTA, A.; MADI, I. F. C. (Eds.). **Brasil beverage trends 2020**. Campinas: ITAL, 2016.

MAHUNU, G.K. Breeding, genetic diversity, and safe production of Hibiscus sabdariffa under climate change. In: MARIOD, A. A.; TAHIR, H. E.; MAHUNU, G. K (Eds). **Roselle (Hibiscus sabdariffa): Chemistry, Production, Products, and Utilization**.1.Ed. Elsevier, 2021.

MARANGONI JÚNIOR, L. et al. Thermal degradation kinetics of total anthocyanins in açai pulp and transient processing simulations. **SN Applied Sciences**, v. 2, n. 523, 2020.

MARIOD, A. A.; TAHIR, H. E.; MAHUNU, G. K. Composition of Hibiscus sabdariffa calyx, pigments, vitamins. In: MARIOD, A. A.; TAHIR, H. E.; MAHUNU, G. K (Eds). **Roselle (Hibiscus sabdariffa): Chemistry, Production, Products, and Utilization**.1.Ed. Elsevier, 2021.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In MARKAKIS, P. (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press Inc. 1982, p.163–178.

MATTIOLI, R, et al. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. **Molecules**, v 25, n. 3809, 2020.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, p. 1254–1255, 1992.

MENDONÇA, G. R. et al. Effect of extract or infusion of leaves of the Hibiscus sabdariffa L. in the production and storage of the beverage blends with cupuassu: physico-chemical and sensory acceptance. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 6, p. 2395-2405, 2021.

MERCALI, G. D. et al. Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 853–857, 2013.

MERCALI, G. D. et al. Evaluation of non-thermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice. **Food Chemistry**, v. 171, p. 200-2005, 2015.

MGAYA-KILIMA, B. et al. Physiochemical and antioxidant properties of roselle-mango juice blends; effects of packaging material, storage temperature and time. **Food Science and Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 100-109, 2015.

MIRANDA, R. F. et al. Impact of the addition of Lactobacillus casei and oligofructose on the quality parameters of orange juice and hibiscus tea mixed beverage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, 2019.

MORALES-DE LA PENA, M. et al. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice–soymilk beverage in chilled storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 872–881, 2010.

MUNHOZ, K. A. S. **Estudo da cinética de degradação da cor, ácido ascórbico e consistência ao longo da cadeia de processamento industrial de polpa concentrada de tomate. Dissertação de Mestrado.** Universidade Estadual de Campinas, 2016.

MUSA, A. et. Volatile compounds and phytochemicals of Hibiscus sabdariffa. In: MARIOD, A. A.; TAHIR, H. E.; MAHUNU, G. K (Eds). **Roselle (Hibiscus sabdariffa): Chemistry, Production, Products, and Utilization.**1.Ed. Elsevier, 2021.

NAYAK, B. et al. Thermal Degradation of Anthocyanins from Purple Potato (Cv. Purple Majesty) and Impact on Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 11040–11049, 2011.

NEMATOLLAHI, A. et al. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 21, p. 49–53, 2016.

NETO, R. O. T.; VITALI, A. A. **Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados.** Campinas:ITAL, 1996.

NIKKAH, B. Effect of sugar treatment on stability of anthocyanin pigments in berries. **Journal of Biological Sciences**, v. 7, p. 1412–1417, 2007.

OKAKURA, K. **O livro do chá.** 7. ed. Estação Liberdade, 2022.

OLIVEIRA, L. M.; ANTELO, F. Thermostability of the visual color and anthocyanins from Rio-Grande-Cherry (*Eugenia involucrata* DC). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020.

PARAÍSO, C. M. et al. Hibiscus sabdariffa L. extract: Characterization (FTIR-ATR), storage stability and food application. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 32, n. 1, p. 55-61, 2020.

PATHARE, P.B.; OPARA, U.L.; AL-SAID, F.A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 36-60, 2013.

PATRAS, A. et al. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Food Science and Technology**, v. 21, p. 3-11, 2010.

PATTHAMAKANOKPORN, O. et al. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 241–248, 2008.

PEREIRA BARBOSA, M. et al. Effect of light, food additives and heat on the stability of sorghum 3-deoxyanthocyanins in model beverages. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 56, p. 4746–4755, 2021.

PÉREZ-RAMIREZ, I. F. et al. Effect of stevia and citric acid on the stability of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antidiabetic capacity of a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. **Food Chemistry**, v. 172, p. 185-192, 2015.

PERON, D.V.; FRAGA, S.; ANTELO, F. Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from juçara (*Euterpe edulis* Martius) and “Italia” grapes (*Vitis vinifera* L.), and the effect of heating on the antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 232, p. 836–840, 2017.

PLOTTO, A. et al. Hibiscus: Post-production management for improved market access organisation. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). AGST. 2004.

PRIOR, R. A.; 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.

REGO, R. A. Fatores de influência do mercado. In: REGO, R. A.; VIALTA, A.; MADI, I. F. C. (Eds.). **Brasil beverage trends 2020**. Campinas: ITAL, 2016.

REHMAN, M.A. et al. Study on the storage stability of fruit juice concentrates. **Pakistan Journal of Food Sciences**, v. 24, n. 1, p. 101–107, 2014.

REIN, M. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agricultura e Florestas da Universidade de Helsinki, Universidade de Helsinki. Helsinki, 2005.

REYES, L. F.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **Food Chemistry**, v. 100, p. 885–894, 2007.

ROBERSTON, G.L. **Food Packaging Principles and Practice**. Boca Raton: CRC Press, 2013.

RUBINSKIENE, M. et al. Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. **Food Research International**, v. 38, p. 867–871, 2005.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: **Embrapa**, 2007. (Comunicado Técnico).

SCHACHMAN, M. **The Soft Drinks Companion: A Technical Handbook for the Beverage Industry**. CRC Press, 2005.

SEERAM, N. P.; BOURQUIN, L. D.; NAIR, M. G. Degradation Products of Cyanidin Glycosides from Tart Cherries and Their Bioactivities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 4924-4929, 2001.

SINELA, A. et al. Anthocyanins degradation during storage of Hibiscus sabdariffa extract and evolution of its degradation products. **Food Chemistry**, v. 214, p. 234-241, 2017.

SINGH, M. et al. Extraction and characterization of polyphenolic compounds and potassium hydroxycitrate from Hibiscus sabdariffa. **Future Foods**, v.4, p 100087, 2021.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with hosphomolybdcphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SIPAHLI, S.; MOHANLALL, V.; MELLEM, J. J. Stability and degradation kinetics of crude anthocyanin extracts from *H. sabdariffa*. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 209-215, 2017.

STUMBO, C. R. **Thermobacteriology in food processing**. New York: Academic Press, 1973.

TAYLOR, B. Fruit juice and processing. In: ASHURST, P. R. (Ed). **Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices**, Wiley-Blackwell, 2016.

TETTEH, A.Y. et al. Genetic diversity, variability and characterization of the agromorphological traits of Northern Ghana Roselle (*Hibiscus sabdariffa* var. *altissima*) accessions, **African Journal of Plant Science**, v. 13, n. 6, p. 168-184, 2019.

TURKYILMAZ, M. et al. Effects of various pressing programs and yields on the antioxidant activity, antimicrobial activity, phenolic content and color of pomegranate juices. **Food Chemistry**, v.138, p.1810–1818, 2013.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J.P. **Beverages: technology, chemistry and microbiology**. Chapman and Hall, 1994.

VIALTA, A. Tendencia e inovações para ingredientes em bebidas não alcóolicas. IN: REGO, R. A.; VIALTA, A.; MADI, I. F. C. (Eds.). **Brasil beverage trends 2020**. Campinas: ITAL, 2016.

VIKRAM, V. B.; RAMESH, M. N.; PRAPULHA, S. G. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 31-40, 2005.

VIZZOTTO, M.; CASTILHO, P. M.; PEREIRA, M. C. Compostos Bioativos e Atividade antioxidante em Cálices de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). EMBRAPA ISSN 1806-9185, Pelotas, RS Outubro, 2009.

WANG, Y., HO, C.T. Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8109–8114, 2009.

WILSKA-JESZKA, J. Food colorants. In SIKORSKI, Z. E. (Ed.). **Chemical and functional properties of food components**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 245–274.

WONG, P.K. et al. Physicochemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Nutrition and Food Science**, v. 32, n. 2, p. 68–73, 2002.

WU, H.Y.; YANG, K. M.; CHIANG, P. Y. Roselle Anthocyanins: Antioxidant Properties and Stability to Heat and pH. **Molecules**, v. 23, 2018.

XIAOWEI, H, et al. Conventional and rapid methods for measurement of total bioactive components and antioxidant activity. In: MARIOD, A. A.; TAHIR, H. E.; MAHUNU, G. K (Eds). **Roselle (*Hibiscus sabdariffa*)**: Chemistry, Production, Products, and Utilization.1.Ed. Elsevier, 2021

YU, L. et al. The kinetic behavior of antioxidant activity and the stability of aqueous and organic polyphenol extracts from navel orange peel. **Food Science and Technology**, v. 42, e90621, 2022.