

Kombucha à base de Hibiscus sabdariffa L: avaliação tecnológica para produção de uma nova bebida**Kombucha based Hibiscus sabdariffa L: technological assessment for the production of a new beverage**

DOI:10.34117/bjdv6n1-264

Recebimento dos originais: 30/11/2019

Aceitação para publicação: 24/01/2020

Jaqueline B. Januário

Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá

Instituição: Universidade Estadual de Maringá

Endereço: Av. Colombo, 5790, zona 7, Maringá – PR, Brasil

E-mail: jaque0013@hotmail.com

Bianca Reis Moreira

Mestranda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá

Instituição: Universidade Estadual de Maringá

Endereço: Av. Colombo, 5790, zona 7, Maringá – PR, Brasil

E-mail: b.reismoreira1@gmail.com

Carolina M. Paraiso

Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá

Instituição: Universidade Estadual de Maringá

Endereço: Av. Colombo, 5790, zona 7, Maringá – PR, Brasil

E-mail: carolina.moser@gmail.com

Amanda Gouveia Mizuta

Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Maringá

Instituição: Universidade Estadual de Maringá

Endereço: Av. Colombo, 5790, zona 7, Maringá – PR, Brasil

E-mail: amandagmizuta@gmail.com

Grasiele S. Madrona

eDoutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá

Instituição: Universidade Estadual de Maringá

Endereço: Av. Colombo, 5790, zona 7, Maringá – PR, Brasil

E-mail: gsmadrona@uem.br

RESUMO

O Kombucha é uma bebida resultante da fermentação de chá com açúcar por bactérias e leveduras presentes em uma membrana celulósica denominada de SCOBY. O objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar uma bebida Kombucha à base de chá de Hibisco. Os parâmetros de processo (tempo, temperatura e quantidade de SCOBY) foram determinados utilizando-se um planejamento experimental. Foi avaliada a capacidade antioxidante (DPPH, compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas). Também, foram realizadas as análises (pH, acidez, sólidos solúveis totais e cor instrumental). Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente por meio da Análise de Variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). A melhor formulação foi definida levando em consideração o teor antioxidante (DPPH), sendo esta a condição dos parâmetros mínimos para as três variáveis do planejamento: tempo de 2 dias; temperatura de 18

° C e quantidade de SCOBY de 10 g/L, tal formulação resultou em um produto mais ácido (0,203 % ac. Cítrico), em média com 14 °Brix e avermelhado ($a^* = 16$). Assim, os parâmetros avaliados foram viáveis para obtenção uma bebida fermentada (Kombucha de hibisco) com alto teor antioxidante.

Palavras-chave: Chá, hibisco, antocianinas, fermentação, bebida fermentada.

ABSTRACT

Kombucha is a beverage resulting from the fermentation of tea with sugar by bacteria and yeasts present in a cellulosic membrane called SCOBY. The objective of the work was to develop and evaluate a Kombucha drink based on Hibiscus tea. The process parameters (time, temperature and quantity of SCOBY) were determined using an experimental design. The antioxidant capacity (DPPH, phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins) was evaluated. Also, analyzes (pH, acidity, total soluble solids and instrumental color) were performed. The results obtained were treated statistically by means of Analysis of Variance (ANOVA) and compared by the Tukey test with a significance level of 5% ($p \leq 0.05$). The best formulation was defined taking into account the antioxidant content (DPPH), this being the condition of the minimum parameters for the three planning variables: time of 2 days; temperature of 18 ° C and quantity of SCOBY of 10 g / L, this formulation resulted in a more acidic product (0.203% ac. Citric), on average with 14 °Brix and reddish ($a^* = 16$). Thus, the parameters evaluated were feasible to obtain a fermented drink (Kombucha hibiscus) with a high antioxidant content.

Key words: Tea, hibiscus, anthocyanins, fermentation, fermented drink.

1 INTRODUÇÃO

O Kombucha é uma bebida refrescante resultante da fermentação do chá preto açucarado por bactérias e leveduras (SANTOS, 2016; DUFRESNE e FARNWORTH, 2000). A bebida é consumida em todo o mundo por suas propriedades refrescantes e benéficas à saúde humana. Nas últimas décadas foram realizados importantes estudos sobre o Kombucha, os quais alegaram que a bebida pode reduzir o risco para vários tipos de câncer e doenças cardiovasculares, promover funções hepáticas e estimular o sistema imunológico. Os relatórios existentes sugeriram que os efeitos protetores do chá kombucha são tão bons quanto os do chá preto (JAYABALAN et al, 2014).

Os benefícios provenientes dos compostos bioativos de produtos naturais tem despertado interesse da indústria, e dentre eles destaca-se o hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.), que é rico em antocianinas e outros compostos fenólicos responsáveis pelo caráter antioxidante, apresentando um alto potencial para ser utilizado como planta medicinal e alimento funcional (GUINDANI et al., 2014; MACIEL et al., 2012).

Hibiscus sabdariffa L. é uma planta herbácea do gênero *Hibiscus* da família Malvaceae, cultivada em ambientes tropicais e subtropicais. Devido à sua cor vermelha profunda, aroma e sabor ácido único, os cálices de hibisco têm sido utilizados mundialmente na produção de alimentos, bebidas e produtos farmacêuticos (MONTEIRO et al., 2017). O hibisco se apresenta como um incremento viável para a indústria de alimentos, podendo ser utilizado como insumo na indústria de

bebidas e ingredientes industriais para o desenvolvimento de alimentos com características benéficas a saúde (SANTOS et al., 2013).

As propriedades da bebida Kombucha podem variar de acordo com os parâmetros de processos utilizados. Além dos tradicionais substratos, como o chá preto e o chá verde, existe a possibilidade de utilização de substratos alternativos para produção do Kombucha. O teor de antioxidantes da bebida depende do tempo de fermentação, tipo de chá utilizado e dos microrganismos presentes. A fermentação possibilita uma maior atividade antioxidante que chá não fermentado, isto está associado ao conteúdo de polifenóis, e ácido ascórbico da bebida fermentada (JAYABALAN et al, 2014).

A influência do calor sobre os constituintes bioquímicos e as propriedades sequestradoras de radicais livres do chá de Kombucha foi verificado por Jayabalan et al (2008), constatando que a temperatura de fermentação pode alterar significativamente o teor de compostos antioxidantes presentes no produto.

Existe uma grande variação na microbiota da cultura Kombucha devido à origem do inócuo. A produção e concentração dos compostos presentes no produto final também podem ser influenciadas pela temperatura, composição, bem como o tempo de fermentação (SANTOS, BARBOSA, LACERDA, 2017).

Assim, de acordo com o modo de fabricação as bebidas podem apresentar características muito distintas, sendo, de extrema importância padronizar os parâmetros de processos para produção do Kombucha. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo padronizar os parâmetros de processo da bebida Kombucha à base de hibisco e avaliar seus compostos bioativos, assim como suas características físico-químicas.

2 METODOLOGIA

2.1 PROCESSAMENTO DA BEBIDA

A cultura de microrganismos (SCOBYS – Figura 1) foi obtida através de doação de um produtor regional localizado na cidade de Maringá – PR.

Figura 1. SCOBYS obtidos a partir da fermentação do chá preto.



Por se tratar de uma cultura selvagem, a qual não se conhece os microrganismos e suas respectivas quantidades presentes, novas culturas foram replicadas a partir da cultura mãe e essas foram submetidas às mesmas condições (tempo de fermentação e de concentração de chá de hibisco) a fim de gerar culturas filhas com o mesmo perfil microbiológico. Os novos SCOBYs originados durante essa fermentação, foram as culturas utilizadas para os testes de padronização.

Para a fabricação da bebida Kombucha, primeiro foi preparado o chá de hibisco. A infusão ocorreu durante 20 minutos utilizando 5 gramas de hibisco e 70 g de açúcar em 1000 mL de água. O substrato tradicional para a fermentação do Kombucha contém de 5 – 8 % de sacarose (JAYABALAN et al., 2014). Então, foi realizada pasteurização (80°C/ 25 min).

O conteúdo foi transferido para um béquer de 1000 mL, e então feito à adição do SCOBY, juntamente com 10% (100 mL) de bebida kombucha previamente fermentado. Esse líquido fermentado, o qual foi adicionado com o chá de hibisco teve fermentação nas condições de (25 ° C / 72 h). O recipiente foi protegido com papel toalha e vedado com uma fita. A incubação ocorreu em diferentes temperaturas, tempo e concentração de SCOBY (18 – 30 ° C; 2 – 6 dias; 10 – 24 g, respectivamente). A bebida remanescente foi filtrada e armazenada sob congelamento. As amostras foram descongeladas para análises posteriores.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS CHÁS

As análises de pH, acidez e sólidos solúveis totais foram realizadas segundo metodologia descrita pelo IAL (2008). Todas as análises foram realizadas em triplicata. A cor foi avaliada por meio de um colorímetro portátil Minolta® CR400, com esfera de integração e ângulo de visão de 30, ou seja, iluminação d/3 e iluminante D65. O sistema utilizado foi o CIEL*a*b*, onde foram medidas as coordenadas: L*, representando a luminosidade em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco); a* que representa uma escala de tonalidade variando de vermelho (0 + a) a verde (0 – a) e b* que representa uma escala de amarelo (0 + b) a azul (0 - b). Todas as determinações foram feitas em triplicata.

2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE - DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL)

A reação de degradação do DPPH foi analisada de acordo com a metodologia descrita por (THAIPONG et al, 2006). Foi preparada uma solução de DPPH em metanol de concentração. Os extratos foram misturados a solução de DPPH e a absorbância foi lida a 515 nm, no espectro de luz UV, após ter sido deixado a reação ocorrer por 1 hora. A atividade antioxidante foi calculada pela equação 1:

$$\% \text{ DPPH} = (1 - (\text{Absorbância amostra } t=0 / \text{Absorbância amostras } t) \times 100 \quad (1)$$

2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando (125 µL) do extrato de cada amostra, (125 µL) de Folin-Ciocalteu (50% com água deionizada) e (2250 µL) de Carbonato de sódio (Na₂CO₃). Depois de um repouso de 30 min no escuro, a leitura foi realizada em espectrofotômetro UV/Vis a 725 nm. A amostra (Branco) foi preparada da mesma maneira substituindo o extrato pelo solvente (água). Os resultados obtidos foram expressos em mg de EAG (equivalentes a ácido gálico) (SINGLETON& ROSSI, 1965).

2.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES E ANTOCIANINAS

Para a determinação do teor total de flavonoides e antocianinas foi utilizada metodologia descrita por Lees & Francis (1972). O conteúdo total de flavonoides foi expresso em mg equivalente de quercitina.100 g⁻¹ de hibisco e o teor total de antocianinas em mg equivalente de cianidina-3-glucosídeo.100 g⁻¹ de hibisco, conforme as equações (2) e (3), respectivamente.

$$\text{Total flavonoides (TF)} = \frac{\text{Abs}_{374 \text{ nm}} \times \text{fator de diluição}}{76,6} \quad (2)$$

$$\text{Total antocianinas (TA)} = \frac{A_{525 \text{ nm}} \times \text{fator de diluição}}{98,2} \quad (3)$$

2.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DOS DADOS

Para determinar os parâmetros de processo foi utilizado o planejamento fatorial 2³ com 3 repetições no ponto. A bebida foi padronizada em função das respostas das quais tinham diferença significativa pela análise estatística. No planejamento experimental foram estudados os parâmetros tempo de fermentação (X1= 2, 4 e 6 dias), temperatura (X2= 18, e 24 °C) e quantidade de SCOBY (X3= 17, 24, 10 g/L), sendo avaliado por meio de superfície de resposta e como variável resposta foi considerado o valor de atividade antioxidante- DPPH (programa STATISTIC 7.0).

Para determinar a relação entre as condições de fermentação (tempo, temperatura e quantidade de SCOBY), foi empregado o Design Box-Behnken (BBD). As variáveis foram ajustadas a equação do modelo polinomial de segunda ordem (Equação 4) que descreve a relação entre as respostas e as variáveis independentes.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Equação 4})$$

Y: variável de resposta; Xi e Xj: variáveis independentes; β_0 : coeficiente constante; β_i : coeficiente linear; β_{ii} : coeficiente quadrático e β_{ij} : produto dos coeficientes.

Ainda foi utilizada em algumas análises a ANOVA e teste de Tukey a nível de 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os resultados dos parâmetros de processo obtidos utilizando o planejamento experimental para variável resposta DPPH são apresentados na Tabela 1, onde os intervalos do planejamento experimental foram definidos de acordo com a literatura e por meio de testes preliminares, variando-se tempo, temperatura e concentração de microrganismos para a fermentação do Kombucha no chá de hibisco. Foi verificado que o tempo de fermentação menor que 2 dias não dava origem à bebida (apresentava o mesmo sabor do chá sem fermentar) enquanto que um tempo maior que 6 dias resultava em uma bebida com sabor extremamente ácido. Dessa forma, o intervalo de fermentação foi definido como sendo mínimo de 2 dias e máximo de 6 dias. A temperatura e a quantidade de SCOBYs foram determinadas de acordo com Jayabalan et al (2014). O intervalo para o SCOBY foi 1,0 a 2,4 % e a temperatura foi de 18 a 30 ° C. As respostas para determinar esses parâmetros de processo foram: atividade antioxidante (DPPH, compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas), pH e acidez. Essas são as características de interesse e que podem variar em decorrência do modo fabricação.

Tabela 1. Planejamento Experimental da análise de DPPH.

Ensaio	X1: Tempo (dias)	X2: Temperatura (°C)	X3: SCOBY (g/L)	DPPH (%)
1	2	18	10	80,083 ^{ab} ± 2,692
2	6	18	10	83,285 ^a ± 0,254
3	2	30	10	78,963 ^{ab} ± 7,155
4	6	30	10	63,016 ^{de} ± 2,525
5	2	18	24	62,760 ^e ± 2,469
6	6	18	24	69,164 ^{bcd} ± 3,161
7	2	30	24	68,684 ^{bcd} ± 2,959

8	6	30	24	75,985 ^{abcd} ± 3,228
9	4	24	17	87,800 ^a ± 0,508
10	4	24	17	78,258 ^{acb} ± 4,053
11	4	24	17	65,642 ^{cde} ± 10,368

Médias acompanhadas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

O método envolvendo a captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) é uma determinação *in vitro* do potencial antioxidante de um alimento. Na reação de oxidação e redução entre o DPPH e a espécie antioxidante, o elétron desemparelhado do nitrogênio se emparelha com o elétron cedido por um radical hidrogênio fornecido por um composto antioxidante (BOROSKI et al, 2015).

As amostras 2, 3, 9 e 10 apresentam um maior ($p \leq 0,05$) potencial de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1- picrilhidrazila) do que as demais.

A equação polinomial de segunda ordem (4) descreve a relação entre as variáveis dependentes e independentes, sendo que as variáveis não significativas foram removidas das equações. Em relação aos termos quadráticos houve interações significativas para o tempo de fermentação (X1), temperatura (X2), quantidade de SCOBY (X3) ($p < 0,05$). A variável quantidade de SCOBY apresentou um efeito negativo indicando que o aumento da quantidade de SCOBY diminui a atividade antioxidante, como descrita na equação 5.

$$Y = (-3,41419) X3 + (3,1260) X1X3 + (4,08662) X2X3 \text{ (Equação 5)}$$

As Superfícies de resposta para interações entre três variáveis independentes (tempo, temperatura e quantidade de SCOBY) sobre a atividade antioxidante pelo método do DPPH estão apresentadas nas figuras 2 e 3.

Figura 2. Interação entre a quantidade de SCOBY e tempo de fermentação.

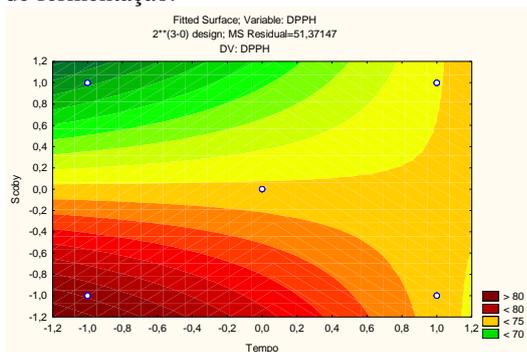
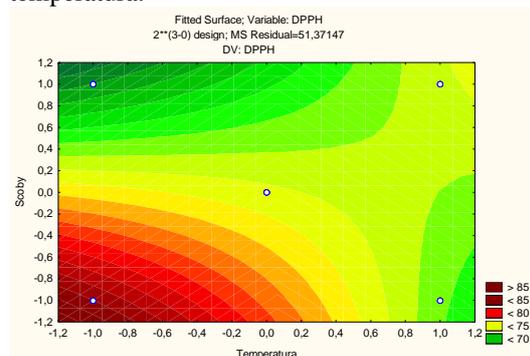


Figura 3. Interação entre a quantidade de SCOBY e temperatura.



Com as superfícies de resposta foi possível analisar as melhores condições de preparação da bebida para se obter maior poder teor de antioxidante. Em relação a interação entre a quantidade de SCOBY e tempo de fermentação a melhor região da superfície está localizada nos pontos onde se tem a menor quantidade de SCOBY e o menor tempo. O mesmo que acontece para interação entre a quantidade de SCOBY e temperatura. Assim, a melhor formulação levando em conta o teor antioxidante seria a com os parâmetros no mínimo para as três variáveis do planejamento (tempo de 2 dias; temperatura de 18°C e quantidade de SCOBY de 10 g/L). Consta-se que quanto maior a quantidade de SCOBY, a solução fica mais saturada pelos possíveis produtos da fermentação interferindo negativamente na ação antioxidante do chá.

Na tabela 2 estão apresentados os resultados para Compostos fenólicos (mg EAG/ g chá), flavonoides (mg EQ/g) e antocianinas (mgCy-3-glu/ g).

Tabela 2. Compostos fenólicos (mg EAG/ g), flavonoides (mg EQ/g) e antocianinas (mgCy-3-glu/ g).

Amostra	Compostos fenólicos	Flavonoides	Antocianinas
	(mg EAG/ g)	(mg EQ/g)	(mgCy-3-glu/ g)
1	17,633 ^a ± 1,765	18,712 ^a ± 5,552	23,252 ^a ± 9,530
2	17,422 ^a ± 0,767	27,850 ^a ± 21,114	24,270 ^a ± 0,588
3	20,922 ^a ± 6,464	16,536 ^a ± 7,537	24,101 ^a ± 8,402
4	20,811 ^a ± 0,707	22,846 ^a ± 11,324	24,949 ^a ± 11,566
5	20,144 ^a ± 6,365	21,323 ^a ± 5,435	30,889 ^a ± 5,1507
6	18,378 ^a ± 1,750	15,0130 ^a ± 7,833	20,621 ^a ± 12,810
7	18,033 ^a ± 0,865	17,842 ^a ± 4,899	18,669 ^a ± 3,855
8	20,333 ^a ± 0,351	20,888 ^a ± 8,8301	26,986 ^a ± 14,571
9	21,878 ^a ± 0,685	14,796 ^a ± 6,170	17,991 ^a ± 11,389
10	22,800 ^a ± 1,202	14,143 ^a ± 10,491	23,252 ^a ± 6,075
11	21,844 ^a ± 0,509	17,842 ^a ± 1,643	22,234 ^a ± 7,893

Médias acompanhadas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Compostos fenólicos são chamados de antioxidantes de alto nível devido à sua capacidade para eliminar as espécies de radicais livres e ativos de oxigênio, como oxigênio, radicais livres superóxido e radicais hidroxila (JAYABALAN et al., 2008).

Não houve diferenças significativas entre as amostras analisadas, para Compostos fenólicos (mg EAG/ g), flavonoides (mg EQ/g) e antocianinas (mgCy-3-glu/ g), o que indica que a variação de tempo, temperatura e quantidade de SCOBY, não interfere diretamente no teor dos compostos antioxidantes. Apresentando quantidades iguais ($p=0,05$) estatisticamente, provavelmente por apresentarem a mesma concentração do chá, o qual é o maior responsável pela quantidade de antioxidantes.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS BEBIDAS KOMBUCHA

Os resultados obtidos da caracterização das bebidas desenvolvidas, de para acidez (% ácido cítrico), pH e teor de sólidos solúveis (°Brix) estão apresentadas na Tabela 3.

A uma dada temperatura, a acidez ou a alcalinidade de uma solução é indicada pelo valor do pH, ou seja, pela atividade do íon hidrogênio (IAL, 2008). Estatisticamente não houve diferenças significativas ($p \leq 0,05$) de pH para as bebidas formuladas. Em média, apresentaram valor de pH igual a 2,982.

Tabela 3. Resultados para acidez (% ácido cítrico), pH e teor de sólidos solúveis (°Brix)

Amostra	Acidez (%ácido cítrico)	pH	Teor de sólidos solúveis (°brix)
1	0,203 ^g ± 0,004	3,173 ^a ± 0,015	14,133 ^{ef} ± 0,057
2	0,523 ^{de} ± 0,004	2,883 ^a ± 0,041	12,233 ^g ± 0,116
3	0,376 ^f ± 0,004	3,030 ^a ± 0,044	14,967 ^d ± 0,058
4	1,182 ^a ± 0,052	3,223 ^a ± 0,077	18,467 ^b ± 0,058
5	0,303 ^f ± 0,013	3,107 ^a ± 0,015	15,167 ^d ± 0,289
6	0,600 ^{cd} ± 0,013	2,920 ^a ± 0,017	12,133 ^g ± 0,153
7	0,514 ^e ± 0,004	2,963 ^a ± 0,015	11,600 ^h ± 0,000
8	1,199 ^a ± 0,062	2,743 ^a ± 0,050	22,667 ^a ± 0,058
9	0,706 ^b ± 0,013	2,913 ^a ± 0,006	14,400 ^e ± 0,173
10	0,636 ^{bc} ± 0,032	2,923 ^a ± 0,032	16,100 ^c ± 0,000
11	0,670 ^{bc} ± 0,019	2,923 ^a ± 0,025	14,033 ^f ± 0,058

Médias acompanhadas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Para a acidez (% ácido cítrico), verificou-se uma grande variação entre as amostras, sendo as amostras 4 e 8 as mais ácidas (1,182 e 1,199), enquanto que a amostra 1 foi a menos ácida 0,203. Mostrando que o tempo, temperatura e quantidade de SCOBY influenciam nesses resultados, já que a amostra 8 foi fabricada com os parâmetros máximos e a amostra 1 com os parâmetros mínimos.

O teor de sólidos solúveis totais é explicado pela concentração de açúcares. A redução no teor de água é acompanhada pela maior concentração de açúcares, em consequência, maior concentração também de sólidos solúveis totais (SANTOS, 2013). O teor de sólidos solúveis, expressos em ° Brix, apresentou diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as formulações, sendo a amostra 8 a com maior valor 22,667. Como nesse trabalho as concentrações de hibisco nas bebidas eram iguais, e dessa forma, mesmas concentrações de açúcares, esperava-se, não haver diferenças entre as amostras. Entretanto a amostra 8 foi produzida com os parâmetros máximos (6 dias, 30 ° C e 24 g de SCOBY). Como durante a fermentação são produzidos gases e acontece a respiração, acredita-se que houve evaporação de parte da amostra, pois o sistema, por mais que fosse vedado, apresenta a possibilidade de perdas para o ambiente externo.

3.2 RESULTADOS DA COR DAS FORMULAÇÕES DE KOMBUCHA

Os resultados do parâmetro de cor L*, a* e b* dos chás estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados para cor parâmetros de cor L*, a* e b*

Amostra	L*	a*	b*
1	24,257 ^a ± 1,000	16,100 ^{ab} ± 0,675	11,983 ^a ± 1,036
2	22,493 ^a ± 0,197	16,370 ^a ± 0,165	12,237 ^a ± 0,166
3	23,513 ^a ± 0,419	16,620 ^a ± 0,413	13,103 ^a ± 0,360
4	22,196 ^a ± 0,915	15,940 ^{ab} ± 0,884	11,167 ^{ab} ± 0,951
5	23,110 ^a ± 0,661	16,810 ^a ± 0,356	12,930 ^a ± 0,666
6	23,680 ^a ± 0,792	15,517 ^{ab} ± 0,635	10,920 ^{ab} ± 1,367
7	24,190 ^a ± 0,767	16,507 ^a ± 0,479	12,930 ^a ± 0,710
8	24,963 ^a ± 2,765	13,753 ^b ± 1,901	8,083 ^b ± 2,468
9	22,253 ^a ± 0,612	16,187 ^{ab} ± 0,344	11,427 ^a ± 0,379
10	23,003 ^a ± 0,546	15,810 ^{ab} ± 1,300	11,400 ^a ± 1,290
11	15,973 ^a ± 11,672	15,747 ^{ab} ± 0,352	11,080 ^{ab} ± 0,366

Médias acompanhadas de letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Todas as bebidas apresentaram medidas iguais para o parâmetro L^* ($p=0,05$). O parâmetro L^* vai de 0 a 100, em que valores mais próximos de 100 indicam que a amostra é mais clara e valores mais perto de 0 indicam que a amostra é mais escura.

O parâmetro a^* (componente vermelho-verde) indica a cor vermelha para o a^* positivo e a cor verde para a^* negativo. As amostras apresentaram todos valores positivos, indicando que a cor estava mais próxima do vermelho do que para o verde, devido a própria cor do chá base, que é vermelho, consequências do alto conteúdo de antocianinas presentes no hibisco.

O parâmetro b^* (componente amarelo-azul), quando positivo representa a cor amarela e quando negativo, representa a cor azul. As bebidas tiveram valores positivos para esse parâmetro, entretanto foram valores baixos.

4 CONCLUSÃO

A melhor formulação levando em conta o teor antioxidante seria a formulação obtida com os parâmetros mínimos para as três variáveis do planejamento (tempo de 2 dias; temperatura de 18 °C e quantidade de SCOBY de 10 g/L). Com os resultados obtidos pelo planejamento experimental, foi possível analisar as melhores condições de preparação da bebida com o intuito de conseguir um maior poder antioxidante. Em relação à interação entre a quantidade de SCOBY e tempo de fermentação a melhor região da superfície está localizada nos pontos onde se tem a menor quantidade de SCOBY e o menor tempo. O mesmo que acontece para interação entre a quantidade de SCOBY e temperatura.

Por fim, o Kombucha obtido na região ótima apresentou maiores teores de atividade antioxidante, sendo um produto mais ácido (0,203 % ac. Cítrico), em média com 14 °Brix e maior tendência a cor vermelha ($a^*=16$). Estudos futuros devem ser realizados para avaliar as características sensoriais e de estabilidade do produto.

REFERÊNCIAS

BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E. M.; SANTOS, J. M. T.; ROSA M. R.; QUINÁIA, S. P.; TORRES, Y. R.; SANTA, H. S. D.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTALOTUFO, L. V.; FERREIRA, P. M. P.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. *Química Nova*, v.32, n.2, p.296-302, 2009.

DUFRESNE, C; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*. v 33, p 409-421, 2000.

GUINDANI, M.; TONET, F.; KUHN, F.; DAL MAGRO, J.; DALCANTON, F.; FIORI, M. A.; MELLO, V. Estudo do processo de extração dos compostos fenólicos e antocianinas totais do *Hibiscus Sabdariffa*. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 2014.

GRYGORCZYK, A. ; LESSCHAEVE, I. ; CORREDIG, M.; DUIZER L. Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to conventional profiling. *Food Quality and Preference*. V. 27 p. 215–222, 2013.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. Métodos Físico-químicos para análise de alimentos. 1 ed. digital. p. 98-99; p. 105; 2008.

JAYABALAN, R.; MALBASÃ, R.V; LONCAR, E.S; VITAS, J.S.; SATHISHKUMAR, M.A Review on Kombucha Tea—Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* Vol.13, 2014.

JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; THANGARAJ, P.; SATHISHKUMAR, M. ; BINUPRIYA, A.R.; SWAMINATHAN, K.; YUN, S.E. Preservation of Kombucha Tea—Effect of Temperature on Tea Components and Free Radical Scavenging Properties. *Agric. Food Chem*, 56 (19), pp 9064–9071, 2008.

Lees, D. H., & Francis, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. *Hortscience*, 7, 83–84. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302263142>, 1972

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Evaluation of the alcoholic extract of hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) as a protective antibacterial and antioxidant component. 2012.

MCSWEENEY MB, SISOPHA A, T' IEN C, RECTOR M, DUIZER LM. Comparing preferred attribute elicitation to trained panelists' evaluations using a novel food product. *J Sens Stud*. 2017; 32: e 12300.

MONTEIRO, M. J. P.; COSTA, A. I. A. ; FLIEDEL, G.; CISSÉ, M.; BECHOFF, A.; PALLET, D.; TOMLINS, K.; PINHATO, M. M. Chemical-sensory properties and consumer preference of hibiscus beverages produced by improved industrial processes. *Food Chemistry*. 2017.

REISS, J. - Paper Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *LebensmUntersForch* (1994).

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SANTOS, B. S; BARRETTO, L.C.O; SANTOS, J. A.B; SILVA, G.F. Obtention, freeze-drying and characterization of lemon grass (*cymbopogon citratus* d.c.) and hibiscus (*hibiscus sabdariffa* l.) Extracts. *Revista GEINTEC – ISSN: 2237-0722. São Cristóvão/SE – 2013.*

SANTOS, M. J. Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração- Dissertação de Mestrado- Universidade Nova de Lisboa. 2016.

SANTOS, W. C. R. ; BARBOSA, C.D; LACERDA, I. A. C. CARACTERIZAÇÃO DE KOMBUCHA DE CHÁ PRETO. 69ª Reunião Anual da SBPC - 16 a 22 de julho de 2017 - UFMG - Belo Horizonte/MG 5.07.01 - Ciência e Tecnologia de Alimentos / Ciência de Alimentos, 2017.

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

THAIPONG K, BOONPRAKOB U, CROSBY K, CISNEROS-ZEVALLOS L, HAWKINS BYRNE D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal.*; 19, p. 669–75, 2006.