



INPI INSTITUTO
NACIONAL
DA PROPRIEDADE
INDUSTRIAL
Assinado
Digitalmente

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102018069747-1

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102018069747-1

(22) Data do Depósito: 26/09/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 07/04/2020

(51) Classificação Internacional: A23P 10/30; A23P 10/35; A23L 3/46; A23L 33/105; A23G 1/32.

(52) Classificação CPC: A23P 10/30; A23P 10/35; A23L 3/46; A23L 33/105; A23G 1/32; A23G 2200/04; A23V 2250/2116.

(54) Título: PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE FRUTOS DE VITEX, COMPOSIÇÃO ALIMENTÍCIA E SEU USO

(73) Titular: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 63025530000104. Endereço: RUA DA REITORIA, 374 - BUTANTÃ, São Paulo, SP, BRASIL(BR), 05508-220, Brasileira; INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - ITAL, Órgão Público. CGC/CPF: 46384400002605. Endereço: AVENIDA BRASIL, 2880, Campinas, SP, BRASIL(BR), 13070-178, Brasileira

(72) Inventor: CARMEN SILVIA FÁVARO TRINDADE; MARIANA ALEJANDRA ECHALAR BARRIENTOS; CHRISTIANNE ELISABETE DA COSTA RODRIGUES; ISABELA ELIAS CHAVES; JULIANA MAYUMI KOKETSU MAEDA; JULIANA PERALTA; VALDECIR LUCCAS.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 26/09/2018, observadas as condições legais

Expedida em: 20/08/2024

Assinado digitalmente por:
Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

**PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE FRUTOS DE
VITEX, COMPOSIÇÃO ALIMENTÍCIA E SEU USO**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção se insere no campo da Engenharia de Alimentos e descreve o desenvolvimento de um ingrediente funcional com o intuito de aliviar os sintomas da tensão pré-menstrual das mulheres, para ser aplicado na indústria de alimentos, especificamente na área de alimentos funcionais, nutracêuticos e de suplementos. Este ingrediente funcional é uma composição alimentícia compreendendo o extrato rico em compostos fenólicos dos frutos de vitex, concentrado e encapsulado por *spray dryer* e posteriormente por *spray chilling*, incorporado no chocolate meio amargo.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] Vitex (*Vitex agnus castus* L.) é um arbusto original do mediterrâneo, com flores lilás e frutos pequenos de cor marrom a preto (MAIA; SOARES; JUNIOR, 2001). Estes frutos possuem aroma e sabor semelhantes à pimenta do reino (BARROS et al., 2010) e, por essa razão, foram utilizados na culinária de alguns países.

[003] Ainda, dos frutos maduros e secos se produz um extrato que é utilizado como fitoterápico. Atualmente, o extrato dos frutos de vitex é comercializado como medicamento fitoterápico para mulheres na forma de cápsulas ou tintura (extrato alcoólico), principalmente na Europa e Estados Unidos, sendo os seus principais propósitos: amenizar os sintomas da menopausa, regular o ciclo menstrual, atenuar os sintomas da tensão pré-menstrual (TPM) e enxaqueca menstrual, sendo que existem diversos estudos comprovando cientificamente a sua eficácia no tratamento dos sintomas da

TPM (VAN DIE et al., 2013).

[004] A tensão pré-menstrual (TPM) é uma síndrome que acomete 80% das mulheres na idade reprodutiva, na qual ocorrem alterações de comportamento, emocionais e físicas, nos 5-10 dias anteriores à fase lútea do ciclo menstrual (MORTOLA, 1994). Entre os sintomas mais relevantes estão: depressão, irritabilidade, ansiedade, confusão, mastalgia (dor nos seios), fadiga, retenção de líquidos e dor de cabeça (MORTOLA, 1994). As mulheres frequentemente utilizam medicina complementar e alternativa para tratar os 'problemas femininos', como vitaminas, ervas, minerais, dietas, exercícios, entre outros (FUGH-BERMAN; KRONENBERG, 2003). Segundo uma pesquisa realizada nos Estados Unidos, 80% das mulheres preferem uma intervenção não farmacêutica, como vitaminas ou suplementos, para o tratamento da TPM (JANG; KIM; CHOI, 2014).

[005] Na tentativa de identificar quais os produtos funcionais disponíveis para a TPM no mercado, foi feita uma busca por produtos para o alívio da TPM e se encontrou, em geral, no mercado brasileiro uma grande variedade de suplementos, a maioria na forma de cápsulas, de magnésio, óleo de primula, óleo de borragem e vitaminas do complexo B, especialmente a vitamina B6. Também foi encontrado, porém em menor quantidade de produtos/marcas, óleo, sementes e farinha de linhaça. Encontra-se, em menor quantidade ainda, suplementos a base de vitex, na forma de cápsulas ou tinturas, sendo a marca Tenag a mais conhecida.

[006] No mercado alemão e dos Estados Unidos também se encontraram produtos a base dos mesmos princípios ativos, no entanto, foi encontrada repetidamente a recomendação de

suplementos a base de vitex. No mercado europeu existem duas marcas bastante conhecidas, com as quais foram feitos estudos clínicos. A tintura, conhecida como *Agnolyt* que contém 9 gramas do fruto em cada 100 mL de solução padronizada e a dose indicada é de 40 gotas com algum líquido pela manhã e as cápsulas da marca *Zeller* que contém 175 mg do pó, com recomendação de uma cápsula por dia.

[007] Em geral, na busca de suplementos fitoterápicos são encontrados produtos à base principalmente de óleo de prímula (*Evening primrose oil*), black cohosh (*Cimicifuga racemosa*), melissa (*Melissa officinalis*), ginkgo (*Ginkgo biloba*), maca (*Lepidium meyenii*), ou mistura de vários princípios ativos combinados. Contudo, em *websites* que mostram fundamentos médicos, os fitoterápicos a base do extrato dos frutos de vitex foram os mais mencionados, junto com a vitamina B6 e o magnésio. Em uma revisão de literatura científica realizada anteriormente para o óleo de prímula, melissa, *black cohosh* e *ginkgo*, não foram encontrados estudos que demonstrem sua efetividade para atenuar os sintomas da TPM, sendo portanto um uso apenas tradicional. No estudo de Budeiri, Po e Dornan (1996,) o óleo de prímula não defiriu com o placebo para aliviar os sintomas da TPM.

[008] Três produtos se destacaram pela sua inovação, um spray anti estresse e anti TPM à base de Passiflora 5%, Capim Cidreira 5% e Piridoxina (vitamina B6) encontrado no Brasil; um creme com progesterona usado para a TPM e menopausa; e um pão de forma funcional (*nutribread*) que contém em sua formulação óleo de prímula e estrogênios de plantas, uma fatia corresponde a um quinto da dose diária recomendada de óleo de prímula, ambos produtos encontrados

nos Estados Unidos.

[009] Além disso, foi feita uma busca específica por chocolates para aliviar os sintomas da TPM. Foram encontrados dois chocolates, um no mercado brasileiro e outro no canadense. O chocolate encontrado no Brasil denominado *Activeslim TPM* é feito com 50% cacau, óleo de prímula (500 mg) e hidrolisado de proteína de leite (*Lactium* 150 mg), ainda, não contém glúten nem lactose. Como mencionado anteriormente, o efeito do óleo de prímula não só não está comprovado, como não diferiu do placebo no estudo realizado por Budeiri, Po e Dornan (1996). O chocolate canadense da marca *Jamieson Smart* foi lançado no mercado em 2007 e atualmente, a sua venda foi descontinuada, não sendo possível identificar o motivo. O princípio ativo deste chocolate foi a base de salgueiro branco (*Salix alba*), hidrolisado de caseína, alcachofra e vitex. Portanto, verificou-se que a elaboração de produtos funcionais que combatam os sintomas da TPM é um mercado a ser amplamente explorado e com muito potencial.

[010] Considerando que as mulheres, geralmente, (I) são as responsáveis por comprar os alimentos no supermercado, (II) são mais conscientes dos benefícios dos alimentos, (III) se informam sobre os benefícios dos fitoterápicos, (IV) preocupam-se mais com o bem-estar, (V) não têm produtos funcionais (ou têm muito poucos) direcionados a elas; a elaboração de produtos funcionais visando como público-alvo, as mulheres, é interessante.

[011] Uma diferença marcante entre os homens e as mulheres é a presença mensal dos sintomas da tensão pré-menstrual (TPM), os quais são indesejados pelas mudanças

físicas e emocionais que causam. Portanto, a elaboração de um produto funcional para mulheres na idade reprodutiva que tenha a capacidade de atenuar ou aliviar os sintomas da TPM é promissora. Levando em consideração que um dos sintomas da TPM é a ansiedade por comer chocolate e que chocolates com alto teor de cacau trazem benefícios à saúde, a incorporação de um ingrediente funcional para combater os sintomas da TPM em chocolate pode ter efeito sinérgico.

[012] A despeito de suas propriedades benéficas, o desenvolvimento de alimentos funcionais que contenham o extrato dos frutos de vitex representa um enorme desafio, principalmente devido à sensação de ardência e amargor que este fruto causa. Além disso, os flavonoides extraídos do fruto ficariam suscetíveis à degradação por oxidação. Para atenuar estes problemas, uma das propostas da presente invenção foi a encapsulação do extrato dos frutos de vitex de forma que seus compostos bioativos fiquem protegidos da degradação por oxidação e sejam liberados após a passagem pela boca.

[013] Ainda, ressalta-se a eficácia e segurança da utilização do extrato dos frutos de vitex contra os sintomas da TPM, havendo um respaldo científico. A eficácia do extrato etanoico dos frutos de vitex foi verificada em diferentes estudos clínicos, a seguir serão mencionados apenas alguns dos mais relevantes. Três estudos trabalharam com o extrato ZE 440 (60% etanol) da empresa alemã Zeller. Ressalta-se que este extrato ZE 440 segue a indicação do HMPC, correspondendo a um extrato seco com relação de 6-12:1, extraído a partir de um solvente 60% etanol m/m, sendo que um tablete de 20 mg corresponde a 180 mg da droga, o que é recomendado (EMA,

2011).

[014] No primeiro estudo realizado por Berger et al. (2000), foi fornecido um tablete diário de 20 mg a 50 mulheres com idade ($31,3 \pm 7,7$ anos) e peso ($58,9 \pm 6,9$ kg) similares que sofriam de TPM durante três ciclos menstruais. No entanto, as pacientes foram estudadas durante 8 ciclos, os primeiros dois ciclos foram considerados referência, nos três seguintes foi realizado o tratamento e os últimos três ciclos foram analisados para verificar se o efeito prevaleceu após o tratamento. Os resultados mostraram que o extrato de vitex reduziu a intensidade dos sintomas da TPM em 42,5% em comparação com a referência (primeiros dois ciclos) ($p < 0,001$) e a quantidade de dias que as mulheres sofreram os sintomas de 7,5 para 6. Após o tratamento, os sintomas apareceram gradualmente, sendo que depois de três ciclos havia prevalecido uma redução de 20% ($p < 0,001$).

[015] Já o segundo estudo comparou o mesmo extrato ZE440 (20 mg diários) com placebo em um ensaio randomizado duplo-cego com 170 mulheres (86 ativas e 84 placebos) com TPM durante três ciclos menstruais. Os resultados mostraram diferença significativa com o placebo ($p < 0,001$), havendo uma redução da intensidade dos sintomas (irritabilidade, raiva, dor de cabeça, dor nos seios, entre outros) em 52 e 24 % para o tratamento com vitex e placebo, respectivamente. Durante o ensaio, sete mulheres reportaram efeitos colaterais não graves (4 vitex e 3 placebo), concluindo assim que o extrato de vitex tem diferença significativa com o placebo e é bem tolerado (SCHELLENBERG, 2001).

[016] O terceiro estudo avaliou a relação dose-efeito do extrato, sendo divididos os pacientes em quatro

grupos (placebo, 8 mg, 20 mg e 30 mg). Neste, foi realizado um teste duplo-cego com 162 mulheres entre os 18-45 anos de idade por três ciclos. Os resultados mostraram que todas as doses foram bem toleradas, que não houve diferença significativa entre o placebo e o tratamento de 8 mg, nem entre os tratamentos de 20 e 30 mg, portanto a dose preferencial deve ser de 20 mg ZE 440 (SCHELLENBERG et al., 2012).

ESTADO DA TÉCNICA

[017] O uso do extrato de *Vitex agnus castus* para o alívio dos sintomas da TPM está comprovado por vários estudos, conforme mostrado anteriormente. Atualmente, é difundido o uso fitoterápico dos frutos de vitex na forma de tabletes ou do extrato etanólico, não sendo encontrado em suplementos, alimentos funcionais, nem nutracêuticos. Provavelmente, devido à falta de conhecimento das propriedades do fruto, assim como a sua difícil aplicação como ingrediente funcional pelo seu gosto amargo e sensação picante.

[018] Durante o estudo realizado com o extrato deste fitoterápico, percebeu-se a falta de trabalhos científicos explorando este fitoterápico como um possível ingrediente funcional. Não foi encontrado nenhum trabalho sobre a encapsulação nem a sua aplicação, nem se quer foi encontrada a composição centesimal do fruto, esta foi obtida durante a caracterização do fruto durante o presente estudo. Assim, percebe-se que até o momento não foi aplicado em alimentos, nem utilizado como um ingrediente funcional, provavelmente pela dificuldade de aplicação, em razão da prévia extração, além do gosto amargo, picante e sua baixa solubilidade. Esses

empecilhos industriais foram resolvidos com a dupla encapsulação, detalhada neste documento. Foram encontrados trabalhos publicados sobre a caracterização dos compostos fenólicos e terpenos, e muitos trabalhos sobre a sua eficiência em atenuar os sintomas da TPM.

[019] As partículas obtidas por secagem de spray dryer obtiveram bons resultados de estabilidade, no entanto, apresentaram alta higroscopicidade e gosto residual amargo. Assim, para garantir o desenvolvimento de um ingrediente funcional para ser incorporado em diferentes matrizes alimentícias sem afetar sensorialmente o produto, as partículas obtidas por spray dryer foram re-encapsuladas ou recobertas por *spray chilling*.

[020] As partículas obtidas pela encapsulação por *spray dryer* seguida pela re-encapsulação por *spray chilling* apresentaram diferença significativa entre o pó microencapsulado (SDCH) e o pó misturado mecanicamente (LSDCH) para o sabor amargo e a sensação de picância, dessa forma, percebe-se que a microencapsulação do extrato de vitex por *spray dryer+spray chilling* mostrou-se suficiente para mascarar ou diminuir a sensação de ardência e o amargor.

[021] Quando comparadas as partículas obtidas pelo *spray dryer* (SD) e *spray dryer* e posterior re-encapsulação por *spray chilling* (SDCH), verifica-se que tanto para os pós quanto para os chocolates, as provadoras sentiram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao amargor e à picância entre os métodos, sendo as partículas ou o chocolate produzido apenas por *spray dryer* os que apresentaram maior amargor e/ou picância, verificando portanto, que o recobrimento ou a re-encapsulação foi efetiva para mascarar

o sabor característico do extrato de vitex.

[022] A incorporação das partículas em chocolate meio amargo não foi ao acaso, esta aplicação foi proposta por três motivos: I) O chocolate traz benefícios a saúde, ele é fonte de magnésio, mineral importante para regular o bom funcionamento do corpo e conhecido por atenuar alguns sintomas da TPM como retenção de líquidos e dor nos seios, e é rico em compostos fenólicos, aproximadamente 6-8 % de massa em base seca da semente de cacau são compostos fenólicos (EFRAIM et al., 2011, sendo que a (-)-epicatequina representa 35 % do conteúdo total dos compostos fenólicos (EFRAIM et al., 2011); II). Devido a suas propriedades antioxidantes, o cacau e também os seus derivados têm efeito protetor para os neurônios, reduz a fadiga mental, melhora cognição e o humor (SCHOLEY; OWEN, 2013). O chocolate também reduz a ansiedade e a depressão, provavelmente pela produção de serotonina, um neurotransmissor com ação calmante (LATIF, 2013); III) Pela ansiedade que as mulheres sentem por comer descontroladamente (*craving*) chocolate e doces no período pré-menstrual, ou seja, na TPM, podendo até ser considerado um sintoma (MICHENER et al., 1999). Mesmo que também seja por doces, existe uma preferência por chocolate, pode ser pelos seus efeitos benéficos e/ou também pelas suas características sensoriais únicas, como o aroma, a textura e o derretimento deste na boca (ZELLNER et al., 2004). Assim, a escolha deste produto foi visando o feito sinérgico entre os benefícios dos frutos de vitex e do chocolate meio amargo.

[023] Um dos grandes diferenciais desta proposta é a utilização da técnica de microencapsulação para mascarar o gosto amargo/picante e proteger os compostos bioativos de

degradação. Outro grande diferencial é a certeza de estar propondo um ingrediente funcional que apresenta eficácia comprovada.

[024] Assim, a presente invenção surge como uma opção inesperada para aliviar os sintomas da TPM ao propor um produto combinando o extrato de frutos Vitex, encapsulado utilizando as técnicas de *spray drying* e *spray chilling* para mascarar a sensação picante e o gosto amargo do produto, em chocolate meio amargo, dessa forma, apresentando um efeito sinérgico entre o extrato e o chocolate.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[025] A presente invenção tem por objetivo propor uma composição alimentícia compreendendo microcápsulas de frutos de vitex, encapsuladas por *spray drying* e posteriormente por *spray chilling*, incorporados no chocolate meio amargo, com o intuito de aliviar os sintomas da tensão pré-menstrual das mulheres. Sabe-se que os chocolates ricos em cacau trazem benefícios à saúde e são muito consumidos durante a TPM. Portanto, a incorporação do extrato dos frutos de vitex neste produto representa uma inovação na área de alimentos ao propor uma sinergia de efeitos benéficos aos sintomas da TPM.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[026] Para obter uma total e completa visualização do objetivo desta invenção, são apresentadas as figuras nas quais se faz referências, conforme segue.

[027] A FIG. 1 mostra imagens do fruto de vitex desidratado, onde em (A) representa antes de ser moído e em (B) o pó obtido após a trituração;

[028] A FIG. 2 mostra o gráfico da distribuição

granulométrica do fruto de vitex e do pó obtido da sua moagem;

[029] A FIG. 3 mostra gráficos da cinética de extração de compostos fenólicos dos frutos de vitex a 25, 45 e 60 °C com solvente hidroalcoólico 60 % etanol;

[030] A FIG. 4 mostra a aparência dos pós obtidos por *spray drying* com goma arábica, onde T1 representa o extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2 representa o extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3 representa o extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4 representa o extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5 representa o extrato seco a 130 °C com 15% de GA; e T6 representa o extrato seco a 160 °C com 15% de GA;

[031] A FIG. 5 mostra os pós obtidos do extrato concentrado de vitex por *spray dryer* sem carreador a 130 °C e 160 °C, onde S.130 representa o extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160 representa o extrato seco a 160 °C sem adição de GA;

[032] A FIG. 6 mostra o gráfico da interação dos componentes do extrato dos frutos de *Vitex agnus castus L.* com o agente carreador goma arábica pela espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), onde T4 representa o extrato seco a 160 °C com 10% de GA; S.160 representa o extrato seco a 160 °C sem adição de GA; e GA representa a goma arábica pura;

[033] A FIG. 7 mostra o gráfico da distribuição volumétrica de tamanho de partícula das micropartículas à base do extrato dos frutos de vitex (*Vitex agnus castus L.*), onde, T1 representa o extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2 representa o extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3 representa

o extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4 representa o extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5 representa o extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6 representa o extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130 representa o extrato seco a 130 °C sem adição de GA; e S.160 representa o extrato seco a 160 °C sem adição de GA.

[034] A FIG. 8 mostra micrografias obtidas por microscopia de varredura das micropartículas do extrato dos frutos de vitex (*Vitex agnus castus* L.) com goma arábica como carreador, onde T1 representa o extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2 representa o extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3 representa o extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4 representa o extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5 representa o extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6 representa o extrato seco a 160 °C com 15% de GA;

[035] A FIG. 9 mostra os pós produzidos por *spray chilling*, nas concentrações de 5%, 10% e 15% dos pós produzidos no *spray dryer*.

[036] A FIG. 10 mostra os gráficos da distribuição do tamanho de partículas nas concentrações 5%, 10% e 15% de pós produzidos no *dryer* no início (dia 0 - esquerda) e após 120 dias de armazenamento (direita);

[037] A FIG. 11 mostra microscopias em diferentes aumentos (à esquerda x500 e à direita x100) das partículas nas concentrações 5%, 10% e 15% de partículas do *dryer*;

[038] A FIG. 12 mostra um gráfico da estabilidade dos compostos fenólicos totais nas concentrações 5%, 10% e 15% durante o armazenamento.

[039] A FIG. 13 mostra um gráfico da estabilidade da casticina nas concentrações 5%, 10% e 15% de partículas

do dryer durante o armazenamento.

[040] A FIG. 14 mostra um fluxograma do processo de elaboração do chocolate;

[041] A FIG. 15 mostra chocolates meio amargos: controle, adicionado com vitex encapsulado (SD e CH) e vitex livre (LSD e LCH);

[042] A FIG. 16 mostra o fluxograma geral desde a pré-extração do fruto de vitex, até a aplicação de seu extrato em chocolates.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[043] A presente invenção refere-se a um processo para a preparação de microcápsulas de frutos de vitex que serão utilizadas em uma composição alimentícia compreendendo frutos de vitex, encapsulados por *spray dryer* e posteriormente *spray chilling*, incorporados no chocolate meio amargo, com o intuito de aliviar os sintomas da tensão pré-menstrual das mulheres. O referido processo compreende as seguintes etapas:

(a) obtenção, otimização e concentração dos extratos de frutos de vitex;

(b) secagem por *spray dryer*; e

(c) encapsulação por *spray chilling*.

[044] No processo de *spray dryer*, foi utilizado como agente carreador a goma arábica, no entanto poderiam ter sido utilizados outros polissacarídeos, como a maltodextrina, goma guar, goma carragena, carboximetilcelulose, amidos nativos ou modificados (por exemplo amido amisol, amido Hi Cap, amido N-Zorbit, etc).

[045] No processo de *spray chilling*, foi utilizado como encapsulante a gordura vegetal hidrogenada com ponto de

fusão aproximadamente de 45 °C, pois é uma gordura muito utilizada na fabricação de chocolates, já que é barata e tem um ponto de fusão médio, ideal para derreter na boca, evitando assim problemas na hora de fabricar o produto, pois está dentro do regulatório da ANVISA. No entanto, poderiam ter sido utilizadas outras gorduras, como manteiga de cacau, gordura de palma, óleo de coco, cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, gorduras em geral.

Caracterização do fruto de vitex

[046] Para aumentar a eficiência de extração, o fruto foi triturado em liquidificador, para aumentar a área superficial, assim, as partículas moídas do fruto também foram caracterizadas em relação à distribuição granulométrica e diâmetro médio.

[047] A fruta desidratada e o pó obtido da sua moagem podem ser observados nas FIGs. 1A e 1B, respectivamente. As distribuições granulométricas do fruto de vitex desidratado e do pó obtido da sua moagem estão apresentadas na FIG. 2.

[048] Pode ser observado que 84% dos frutos desidratados apresentaram diâmetros médios maiores que 1,651 mm, logo o material em estudo pode ser considerado de tamanho homogêneo. As frações coletadas com diâmetros inferiores a 1,651 mm, correspondentes a 16 % dos frutos, consistiam de partes dos frutos. A presença desses fragmentos pode ser explicada pelo fato de ser um fruto desidratado, que pode ter sofrido dano mecânico no próprio processamento como também durante o transporte, ocasionando a partição do mesmo. Em relação ao pó obtido da moagem do fruto, pode-se observar uma distribuição normal, sendo que a maior parte das

partículas (59%) tem diâmetro médio entre 0,503 - 0,711 mm. A partir deste dado pode ser observado que o processo de trituração foi feito apropriadamente, pois é insignificante a quantidade que permaneceu com diâmetro maior a 1,651 mm, como observado na FIG. 11.

[049] A relação entre a área superficial do pó e a área superficial do fruto desidratado é de 3,6, isto quer dizer que pelo processamento de moagem, aumentou em 3,6 vezes a área superficial de contato entre o solvente (etanol 60 %) e o soluto (fruto de vitex moído), lembrando que quanto maior a área de contato, maior o rendimento de extração.

[050] Também foi determinada a composição centesimal do fruto em duplicata, a Tabela 1 apresenta os resultados.

Tabela 1. Composição centesimal dos frutos de vitex (*Vitex agnus castus* L).

Análise	Resultado em % em base seca
Matéria seca	91,19 ± 0,02
Cinzas	4,38 ± 0,03
Proteína bruta	10,3 ± 0,3
Fibra bruta	49,47 ± 0,08
Lipídeos	5,52 ± 0,01
Carboidratos	30,3 ± 0,4

[051] Observa-se que os frutos de vitex por estarem desidratados contém um alto teor de matéria seca e são ricos em fibras e carboidratos, apresentando um teor médio de proteínas e baixo de lipídeos.

Extração dos compostos fenólicos

[052] A extração dos frutos de vitex também foi estudada, a escolha do solvente foi feita seguindo a Agência

de Medicina Europeia (EMA) (2010), que estabeleceu que os fitoterápicos dos frutos de vitex devem ser extraídos a partir de solvente hidroalcoólicos com 60 % (m/m) etanol. Assim, com a finalidade de que o extrato preparado esteja dentro do estabelecido pela EMA, optou-se por utilizar o solvente com 60 % de etanol (m/m) o qual apresentou teor de $0,62 \pm 0,04$ mg Equivalente de Ácido Gálico/mL extrato (teor de compostos fenólicos) (a 45 C por 1 hora). Mas, as condições de processo, temperatura e tempo de extração, foram estudadas, segundo a Tabela 2.

Tabela 2. Variáveis e condições estudadas na extração de fenólicos dos frutos de vitex.

Variáveis	Condições estudadas
Temperatura (°C)	25, 45 e 60
Tempo de contato (horas)	2, 6, 12 e 24

[053] Uma vez determinado o solvente, foi avaliada a cinética de extração em três temperaturas, os resultados estão apresentados na FIG. 3. A fim de entender melhor a diferença na extração nessas três condições, para o solvente 60% etanol, foram determinadas a constante dielétrica, a viscosidade dinâmica e a densidade nas três temperaturas de extração estudadas, os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Constante dielétrica, viscosidade dinâmica e densidade da solução 60% de etanol nas condições estudadas da cinética de extração.

Temperatura de extração (°C)	Constante Dielétrica	Viscosidade dinâmica (mPA.s)	Densidade (g/cm ³)
25	45,45	$2,324 \pm 0,004^A$	$0,8935 \pm 0,0001^A$
45	42,43	$1,320 \pm 0,003^B$	$0,8738 \pm 0,0001^B$

60	39,72	0,917 ± 0,005 ^c	0,8614 ± 0,0001 ^c
----	-------	----------------------------	------------------------------

* Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si (p<0,05).

[054] Em relação ao efeito da temperatura, tem-se que a solubilidade das substâncias geralmente aumenta com o aumento deste parâmetro, ou seja, aumenta a taxa de transfusão dos fenólicos. O efeito da temperatura teve o resultado esperado, como mostrado nos resultados apresentados na FIG. 3, ou seja, quanto maior a temperatura de processo, maior o teor de fenólicos extraído.

[055] Observa-se que, de maneira geral, para as três condições de temperatura avaliadas, a condição de equilíbrio foi alcançada após 12 horas de extração. Assim, determinou-se que a condição ótima para obtenção de extrato mais concentrado em compostos fenólicos foi de 60 °C por 12 horas.

Obtenção do extrato concentrado nas condições otimizadas

[056] O extrato otimizado foi preparado da seguinte forma: razão sólido-solvente 1,5:10; solvente: solução etanólica 60 % (m/m), binômio tempo-temperatura de 12h-60 °C e sob agitação mecânica constante. Após a extração, a mistura foi centrifugada a 4 °C por 5 min a 2935 g e o sobrenadante (extrato etanólico) foi coletado.

[057] O extrato etanólico foi concentrado em rota-evaporador a 45 °C até a evaporação total do etanol (redução de 60% do volume inicial aproximadamente por 30 min). Mesmo após essa primeira etapa de concentração, o teor de sólidos totais presentes no extrato aquoso ainda era baixo, desta forma, a fim de aumentar o teor de sólidos totais, o extrato

foi concentrado novamente a 45 °C até reduzir 50% do volume, aproximadamente por 45 min, em outras palavras 20% do extrato etanólico. O extrato etanólico e concentrado foram caracterizados em relação ao teor de fenólicos totais, casticina, umidade, sólidos totais (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização dos extratos produzidos em relação ao teor de fenólicos, casticina, umidade, sólidos totais e pH.

Extrato	Teor de fenólicos totais (mg EAG/g extrato em BS)	Teor de casticina (mg casticina/g extrato em BS)	Umidade (g/ 100g em BU)	Sólidos Totais (g/ 100g em BU)
Etanólico	132 ± 9 ^A	2,162 ± 0,002 ^A	98,6 ± 0,4 ^A	1,4
Concentrado	81 ± 2 ^B	1,295 ± 0,001 ^B	92,7 ± 0,9 ^B	7,3

* Onde EAG = Equivalente de Ácido Gálico; BS = Base seca; BU = Base úmida. *Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si (p<0,05).

Obtenção das micropartículas (microencapsulação dupla)

[058] A obtenção das micropartículas que apresentaram os melhores resultados nas análises sensoriais foi elaborada em duas etapas. Inicialmente, um extrato rico em compostos fenólicos, obtido a partir dos frutos maduros e secos de vitex, foi seco por spray dryer, utilizando goma arábica como material de parede. Posteriormente, essas partículas foram re-encapsuladas pelo método de spray chilling, a seguir a descrição mais detalhada.

Por spray dryer

[059] Inicialmente, o extrato foi adicionado de agente carreador goma arábica (GA) em concentrações de 0, 5,

10 e 15 g GA /100 g do extrato concentrado) para ser atomizado em *spray-dryer* com temperatura de ar de entrada de 130 e 160 °C. A secagem foi realizada em *spray-dryer* operando com vazão de ar comprimido de 40 L/min no bico e velocidade do ar de secagem de 2,5 m/s. A solução foi bombeada até o bico injetor do equipamento com uma vazão de 10 mL/min.

[060] Ressalta-se que as condições acima descritas foram escolhidas em função da experiência e dos resultados obtidos, no entanto, estas podem variar. Deve ser usada uma temperatura acima de 100 °C (em alturas baixas), pois a evaporação da água no nível do mar (pressão de 1 atm) ocorre a 100 °C. Portanto, para garantir uma eficiência de encapsulação e secagem, menor diâmetro de partículas e menor umidade residual, recomenda-se utilizar temperaturas acima de 100 °C. Deve se evitar utilizar temperaturas muito altas, pois mesmo ocorrendo a evaporação instantânea da água, ou seja, a energia na forma de calor, foi utilizada como calor latente da água, mantendo a temperatura da partícula inferior aos 100 °C, pois, quanto mais alta a temperatura, maior gasto de energia e maior a chance de degradar compostos bioativos sensíveis ao calor.

[061] A Tabela 5 apresenta os oito tratamentos estudados, cujos processos de secagem foram realizados em duplicata.

Tabela 5. Ensaio para secagem do extrato líquido de vitex mostrando as variáveis testadas.

Tratamento	Concentração do agente carreador (g goma arábica/100g do extrato concentrado)	Temperatura de entrada do ar de secagem (°C)
S. 130	0	130

S. 160	0	160
T1	5	130
T2	5	160
T3	10	130
T4	10	160
T5	15	130
T6	15	160

[062] Os pós obtidos foram caracterizados em relação à atividade de água, umidade, densidade aparente, teor de fenólicos totais e casticina, estabilidade ao longo do tempo em relação à casticina e aos compostos fenólicos, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), higroscopicidade. Já as microesferas foram caracterizadas em relação à morfologia, tamanho e distribuição.

[063] O extrato concentrado dos frutos de vitex foi seco por *spray dryer* com três concentrações de carreador goma arábica (5, 10 e 15 % m/m) e duas temperaturas de ar de entrada (130 e 160 °C), a FIG. 4 mostra os seis tratamentos.

[064] Pode-se observar na FIG. 4 que os pós apresentaram coloração castanha, igual ao extrato, sendo que a medida que a porcentagem de goma arábica aumenta, mais claro ficou o pó. Em geral, observa-se que os pós obtidos a 160 °C são mais claros do que os obtidos a 130°C. Nota-se que os pós apresentam as características esperadas, com fluidez e presença de alguns agregados fáceis de separar.

[065] A FIG. 5 mostra os pós obtidos do extrato concentrado de vitex por *spray dryer* sem carreador a 130 e 160 °C, neste caso em comparação com os pós obtidos com carreador observa-se maior formação de agregados, porém,

também de fácil desagregação.

Rendimento dos processos de secagem e retenção dos compostos fenólicos e casticina após a secagem

[066] O rendimento dos processos de secagem aplicados e a retenção dos compostos fenólicos e a casticina nos processos de secagem estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Rendimento de processo de secagem, retenção dos compostos fenólicos e da casticina do extrato dos frutos de vitex (*Vitex agnus castus* L.) secos por *spray drying* e por liofilização.

Tratamento	Rendimento de processo (%)	Retenção dos compostos fenólicos (%)	Retenção da casticina (%)
T1	68 ± 2 ^B	79 ± 2 ^B	85 ± 5 ^{A,B}
T2	67,4 ± 0,5 ^B	81 ± 6 ^B	77 ± 17 ^{A,B}
T3	64 ± 10 ^B	78 ± 18 ^B	78 ± 1 ^B
T4	68 ± 17 ^B	67 ± 8 ^B	83 ± 1 ^B
T5	48 ± 3 ^B	81 ± 2 ^B	80 ± 4 ^B
T6	65 ± 18 ^B	80 ± 9 ^B	77 ± 8 ^B
S. 130	20 ± 4 ^C	95 ± 3 ^A	97 ± 2 ^A
S. 160	19 ± 3 ^C	84 ± 3 ^B	94 ± 2 ^A

* Média ± desvio padrão (n = 2 replicadas). Diferentes letras na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras (p < 0.05). Onde, T1: extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2: extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3: extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4: extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5: extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6: extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130: extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160: extrato seco a 160 °C sem adição de GA.

[067] Os processos de secagem pelo *spray-dryer* sem a utilização de carreador (S.130 e S.160) apresentaram rendimentos de processo muito baixos, provavelmente devido à queima das partículas na parede do equipamento pela falta de proteção do carreador, levando à grande perda do material. No entanto, em relação à retenção dos compostos fenólicos estes valores foram altos (80 - 95 %), observando-se diferença significativa ($p < 0,05$) na temperatura de ar de entrada, sendo que a temperatura maior (160 °C) teve uma retenção menor, efeito esperado, pois geralmente os compostos fenólicos são susceptíveis às altas temperaturas. Contudo, parece que o flavonol casticina é resistente às altas temperaturas, pois não apresentou diferença significativa entre as duas temperaturas de ar de entrada tendo uma retenção alta (94 - 97 %) nem com o extrato liofilizado (95 %) que não emprega altas temperaturas.

[068] Por outro lado, os processos de secagem por *spray dryer* onde se utilizou carreador (T1-T6) não diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si, tanto para o rendimento de processo quanto para a retenção de fenólicos e casticina. Obtendo-se valores intermediários de rendimento de processo na faixa de 48 - 68 %, retenção dos compostos fenólicos na faixa de 67 - 81 % e da casticina na faixa de 77 - 85 %, sendo, com exceção dos tratamentos T1 e T2 para a retenção da casticina, inferiores ao extrato liofilizado. Em relação aos tratamentos sem carreador, estes apresentaram um rendimento de processo maior, retenção de fenólicos menor que S.130 e igual que S.160. Já em relação à casticina, os tratamentos com 5% de GA apresentaram uma retenção maior, porém não diferem significativamente dos demais tratamentos.

Estabilidade dos compostos bioativos durante a estocagem

[069] Durante a estocagem dos pós a 25 °C e 38% de umidade relativa, foram quantificados os teores de fenólicos totais e casticina durante 120 dias de todas as partículas (*spray drying* e *spray chilling*) e do extrato líquido. As Tabelas 7 e 8 apresentam os valores obtidos para os compostos fenólicos totais e a casticina das amostras durante a estocagem, respectivamente. A Tabela 9 apresenta as porcentagens da perda total nas partículas dos compostos fenólicos após 60 dias e da casticina após 120 dias.

Tabela 61. Quantificação de fenólicos totais (mg EAG / g amostra em base seca) durante a estocagem (25 °C e 32,8% UR).

Tratamentos	Estocagem em dias							
	0	7	15	30	60	90	120	
T1	41,7 ± 0,2 ^{dB}	39,8 ± 0,6 ^{cdB}	40 ± 2 ^{CB}	39 ± 3 ^{dB}	38 ± 1 ^{deB}	50 ± 1 ^{CA}	53 ± 1 ^{bA}	
T2	45,4 ± 0,4 ^{dB}	44,8 ± 0,8 ^{CB}	42 ± 4 ^{CB}	45 ± 3 ^{dB}	44 ± 3 ^{dB}	55,3 ± 0,7 ^{CA}	53,1 ± 0,2 ^{bA}	
T3	32,4 ± 0,6 ^{eBC}	31,7 ± 0,1 ^{deBC}	31,6 ± 0,1 ^{cdBC}	28 ± 2 ^{ec}	29 ± 3 ^{edfc}	35 ± 1 ^{dB}	40 ± 2 ^{bCA}	
T4	23 ± 2 ^{FD}	30 ± 1 ^{efBC}	33 ± 3 ^{cdAB}	27 ± 2 ^{ecD}	28 ± 2 ^{defBCD}	36 ± 1 ^{dA}	37,5 ± 0,7 ^{bCA}	
T5	22 ± 1 ^{FB}	23 ± 1 ^{efAB}	23 ± 3 ^{dAB}	21 ± 2 ^{efB}	19 ± 2 ^{FB}	27 ± 2 ^{dA}	26,7 ± 0,7 ^{CA}	
T6	20,5 ± 0,7 ^{FBC}	21,5 ± 0,7 ^{FB}	20,5 ± 0,4 ^{dB}	19,2 ± 0,8 ^{fC}	22 ± 1 ^{efB}	27,9 ± 0,9 ^{dA}	28,3 ± 0,3 ^{CA}	
S. 130	96 ± 8 ^{bA}	102 ± 9 ^{aA}	100 ± 10 ^{aA}	90 ± 4 ^{abA}	102 ± 6 ^{aA}	90 ± 6 ^{bA}	100 ± 17 ^{aA}	
S. 160	84 ± 1 ^{CB}	94 ± 4 ^{abAB}	84 ± 4 ^{bB}	83 ± 2 ^{bB}	82 ± 9 ^{bCB}	91 ± 9 ^{bAB}	104 ± 3 ^{aA}	

* Média ± desvio padrão (n = 6 replicadas). Diferentes letras minúsculas na mesma coluna e diferentes letras maiúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (p < 0.05). Onde, T1: extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2: extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3: extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4: extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5: extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6: extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130: extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160: extrato seco a 160 °C sem adição de GA; Liof: extrato concentrado liofilizado por 48 horas; Extrato conc.: extrato concentrado de vitex.

Tabela 7. Quantificação da casticina (mg casticina/ g amostra em base seca) durante a estocagem (25 °C e 32,8% UR).

Tratamentos	Estocagem em dias							
	0	7	15	30	60	90	120	
T1	0,67 ± 0,03 ^{dA}	0,62 ± 0,06 ^{cA}	0,61 ± 0,03 ^{bA}	0,59 ± 0,05 ^{dA}	0,58 ± 0,04 ^{dA}	0,58 ± 0,03 ^{dA}	0,57 ± 0,02 ^{cA}	
T2	0,6 ± 0,1 ^{dA}	0,56 ± 0,09 ^{cA}	0,56 ± 0,09 ^{bA}	0,58 ± 0,09 ^{dA}	0,6 ± 0,1 ^{deA}	0,55 ± 0,09 ^{deA}	0,57 ± 0,09 ^{cA}	
T3	0,42 ± 0,02 ^{deA}	0,38 ± 0,02 ^{cA}	0,38 ± 0,02 ^{bA}	0,40 ± 0,02 ^{dA}	0,39 ± 0,02 ^{defA}	0,39 ± 0,01 ^{deA}	0,39 ± 0,01 ^{cA}	
T4	0,45 ± 0,02 ^{deA}	0,43 ± 0,02 ^{cA}	0,42 ± 0,01 ^{bA}	0,42 ± 0,02 ^{dA}	0,43 ± 0,01 ^{defA}	0,42 ± 0,02 ^{deA}	0,43 ± 0,01 ^{cA}	
T5	0,30 ± 0,02 ^{eA}	0,28 ± 0,01 ^{cA}	0,27 ± 0,01 ^{bA}	0,26 ± 0,01 ^{dA}	0,30 ± 0,03 ^{fA}	0,28 ± 0,03 ^{eA}	0,28 ± 0,01 ^{cA}	
T6	0,26 ± 0,01 ^{eA}	0,26 ± 0,01 ^{cA}	0,26 ± 0,01 ^{bA}	0,25 ± 0,01 ^{dA}	0,27 ± 0,01 ^{efA}	0,25 ± 0,01 ^{deA}	0,27 ± 0,01 ^{cA}	
S. 130	1,60 ± 0,04 ^{cA}	1,2 ± 0,1 ^{bB}	1,31 ± 0,02 ^{bB}	1,29 ± 0,01 ^{bcbB}	1,5 ± 0,1 ^{bA}	1,57 ± 0,04 ^{bA}	1,53 ± 0,04 ^{bA}	
S. 160	3,0 ± 0,1 ^{aAB}	3,5 ± 0,5 ^{aAB}	3,8 ± 0,9 ^{aA}	2,8 ± 0,3 ^{aAB}	2,8 ± 0,1 ^{aAB}	2,6 ± 0,2 ^{aAB}	2,1 ± 0,6 ^{aB}	

* Média ± desvio padrão (n = 6 replicadas). Diferentes letras minúsculas na mesma coluna e diferentes letras maiúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras ($p < 0.05$). Onde, T1: extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2: extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3: extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4: extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5: extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6: extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130: extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160: extrato seco a 160 °C sem adição de GA; Liof: extrato concentrado liofilizado por 48 horas; Ex. conc.: extrato concentrado de vitex.

Tabela 8. Porcentagem de perda nas partículas dos compostos fenólicos e da casticina durante a estocagem em 60 e 120 dias.

Tratamentos	Fenólicos (%)	Casticina (%)
T1	11,71	14,93
T2	0,76	5,00
T3	1,72	7,14
T4	2,55	4,44
T5	6,19	5,62
T6	7,92	0,33
S130	5,87	3,49
S160	2,49	30,01

* Onde T1: extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2: extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3: extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4: extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5: extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6: extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130: extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160: extrato seco a 160 °C sem adição de GA; Liof: extrato concentrado liofilizado por 48 horas; Ex. conc.: extrato concentrado de vitex.

[070] Observa-se na Tabela 8 que os pós sem carreador (S.130 e S.160) no início apresentaram teores de compostos fenólicos 5 vezes maiores que os tratamentos com 15 % de GA e 10%/160 °C, 3 vezes maior que o tratamento 10%/130 °C, e 2 vezes maior que os tratamentos com 5% de GA. Já no final da estocagem (120 dias) observa-se que os pós produzidos sem carreador e o extrato líquido apresentaram teores maiores de fenólicos, aproximadamente 4, 2,5 e 2 vezes maior que os tratamentos com 15, 10 e 5 % de GA, respectivamente, sendo a faixa de teor de fenólicos obtida

entre 26,7 e 104 mg EAG / g amostra em base seca (T5 e S.130, respectivamente).

[071] Observando o comportamento dos pós produzidos com carreador, nota-se que o efeito da diluição pela concentração de carreador utilizada se manteve praticamente durante toda a estocagem, sendo os pós produzidos com 5% de adição de carreador (T1 e T2) os que apresentaram maior teor de compostos fenólicos ($41,7 \pm 0,2$ e $45,4 \pm 0,4$ mg EAG/g amostra em base seca, respectivamente), sendo iguais estatisticamente aos tratamentos com 10 % de GA (T3 e T4) nos tempos 15, 60 e 120 dias. Por outro lado, não houve diferença significativa entre os tratamentos com 10 e 15 % de GA durante a estocagem, sendo o tratamento T3 (130 °C/ 10 % GA), o qual em alguns tempos apresentou maior teor de fenólicos.

[072] Assim, pode-se notar que os compostos bioativos do extrato dos frutos de vitex foram estáveis. O processo de secagem por *spray dryer* obteve resultados positivos. A secagem em geral facilita o manuseio, o transporte, a aplicação e o armazenamento dos produtos. Os resultados mostraram que a encapsulação deste extrato deve ser feita pela maior estabilidade microbiológica e facilidade de manuseio dos pós do que pela proteção dos compostos bioativos à degradação por oxidação, se mantidos os pós nas condições de estocagem (25 °C e 32,8% UR). O tratamento T2 (160 °C/ 5 % de GA) apresentou os melhores resultados, pois apresentou bom rendimento de processo e boa retenção dos compostos fenólicos totais, maior retenção de casticina, maiores teores de compostos fenólicos totais e casticina e boa estabilidade durante todo o tempo de estocagem dos compostos bioativos. Portanto, foi o tratamento T2 que foi re-encapsulado ou recoberto usando a técnica de *spray chilling*.

Caracterização dos pós obtidos

[073] A Tabela 9 apresenta os resultados da caracterização dos pós, ou seja, a densidade, a atividade de água e a umidade no início e após 120 dias dos pós armazenados em ambiente com umidade controlada (38 % UR), e a higroscopicidade.

Tabela 9. Caracterização dos pós obtidos pelos processos de secagem em spray-dryer e por liofilização do extrato dos frutos de vitex (*Vitex agnus castus* L.).

Tratamento	Densidade aparente (g/L)	Atividade de água (dia 0)	Atividade de água (dia 120)	Umidade (%) (dia zero)	Umidade (%) (dia 120)	Higroscopicidade (g água absorvida/100g amostra)
T1	376 ± 16 ^B	0,30 ± 0,01 ^{Ba}	0,45 ± 0,01 ^{Bb}	4,1 ± 0,1 ^{Bc}	7,1 ± 0,3 ^{Bd}	1,4 ± 0,1 ^E
T2	254 ± 89^C	0,30 ± 0,02^{Ba}	0,44 ± 0,02^{Bb}	3,4 ± 0,1^{Bc}	7,1 ± 0,2^{Bd}	1,64 ± 0,09^F
T3	433 ± 16 ^B	0,30 ± 0,01 ^{Ba}	0,49 ± 0,01 ^{ABb}	4,9 ± 0,2 ^{Bc}	7,1 ± 0,1 ^{Bd}	3,4 ± 0,2 ^D
T4	193 ± 16 ^C	0,29 ± 0,03 ^{Ba}	0,50 ± 0,01 ^{Bb}	4,5 ± 0,8 ^{Bc}	7,9 ± 0,3 ^{Ad}	5,0 ± 0,4 ^D
T5	323 ± 28 ^B	0,28 ± 0,02 ^{Ba}	0,52 ± 0,01 ^{Bb}	4,7 ± 0,7 ^{Bc}	8,4 ± 0,4 ^{Ad}	4,1 ± 0,3 ^D
T6	219 ± 28 ^C	0,29 ± 0,07 ^{ABa}	0,54 ± 0,01 ^{Bb}	5 ± 1 ^{ABC}	8,1 ± 0,2 ^{Ad}	6 ± 1 ^C
S. 130	--	0,32 ± 0,03 ^{AB}	--	5,6 ± 0,2 ^{AB}	--	8,5 ± 0,7 ^{A,C}
S. 160	--	0,39 ± 0,04 ^A	--	5,9 ± 0,2 ^{AB}	--	7,9 ± 0,8 ^{B,C}
Goma arábica	492 ± 13 ^B	--	--	--	--	10 ± 1 ^A

* Média ± desvio padrão (n = 6 replicadas). Diferentes letras minúsculas na mesma coluna e diferentes letras maiúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (p < 0.05). Símbolo "--" significa que não foi possível realizar a determinação dessa amostra. Onde, T1: extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2: extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3: extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4: extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5: extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6: extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130: extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160: extrato seco a 160 °C sem adição de GA.

Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

[074] A interação dos componentes ativos do extrato dos frutos de vitex presente nos pós com a goma arábica foi avaliada pela espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), a FIG. 6 mostra as interações do tratamento 4, como modelo, pois todos os tratamentos tiveram comportamento similar, mudando apenas as intensidades dos picos. A linha azul corresponde ao carreador goma arábica puro, a linha preta corresponde às partículas do extrato vitex puro seco por *spray drying* com temperatura de ar de entrada de 160 °C (S.160) e a linha vermelha ao tratamento 4.

[075] Observando o espectro da goma arábica, linha azul, verifica-se que apresenta uma banda larga típica da absorção de deformação axial da ligação OH ($3300-2500\text{ cm}^{-1}$) em 3328 cm^{-1} . As bandas em 1599 cm^{-1} e 1416 cm^{-1} provavelmente ocorrem devido às vibrações do ânion carboxilato COO^- , deformação assimétrica e simétrica, respectivamente. As bandas em 1280 cm^{-1} e 1016 cm^{-1} ocorrem devido ao estiramento entre a ligação simples CO. O espectro obtido da goma arábica foi similar ao obtido por Espinosa-Andrews et al. (2010).

[076] No espectro do tratamento S. 160, linha preta, que corresponde ao extrato puro de vitex, observa-se que a ligação OH ($3300-2500\text{ cm}^{-1}$) em 3275 cm^{-1} é bem forte, devido à presença dos compostos fenólicos e álcoois. Já o pico em 2926 cm^{-1} ocorre devido ao estiramento da ligação do alceno (CH). Os picos em 1695 e 1031 cm^{-1} ocorrem devido às vibrações das ligações aromáticas C=O e C-H, respectivamente. Os picos em 1593 , 1269 e 770 cm^{-1} correspondem às vibrações da ligação

aromática C=C. O pico em 1514 cm^{-1} e 1379 cm^{-1} devido ao estiramento da ligação do O-H do ácido carboxílico e à ligação C-H, respectivamente. Os resultados obtidos foram muito similares aos apresentados por Sahib et al. (2016).

Tamanho e distribuição de tamanho das micropartículas

[077] A Tabela 10 apresenta os valores dos diâmetros médios volumétricos das micropartículas obtidas pela secagem por *spray dryer*.

Tabela 20. Valores dos diâmetros médios volumétricos das micropartículas obtidas pela secagem por *spray dryer*.

Tratamento	Diâmetro médio volumétrico (μm)
T1	8,9 \pm 0,4 ^B
T2	25,4 \pm 0,2 ^A
T3	9,7 \pm 0,4 ^B
T4	28,5 \pm 0,2 ^A
T5	28,2 \pm 0,3 ^A
T6	20,8 \pm 0,3 ^A
S. 130	9 \pm 0,3 ^B
S. 160	10,2 \pm 0,3 ^B

* Onde T1: extrato seco a 130 °C com 5% de GA; T2: extrato seco a 160 °C com 5% de GA; T3: extrato seco a 130 °C com 10% de GA; T4: extrato seco a 160 °C com 10% de GA; T5: extrato seco a 130 °C com 15% de GA; T6: extrato seco a 160 °C com 15% de GA; S.130: extrato seco a 130 °C sem adição de GA; S.160: extrato seco a 160 °C sem adição de GA.

[078] Com relação ao diâmetro médio volumétrico, observam-se dois grupos com faixas de valores diferentes, os tratamentos T1, T3, S.130 e S.160 apresentam valores na faixa de 8,9–10,2 μm e os outros tratamentos (T2, T4, T5 e T6)

apresentam diâmetro médio volumétrico na faixa de 20 - 30 μm , valores esperados para microesferas produzidas no *spray dryer*, não apresentando uma tendência clara. Essa variação entre os tratamentos pode ser explicada pela quantidade de carreador adicionado, pois quanto maior o conteúdo de sólidos totais, maior a viscosidade e o tamanho da gota, ou seja, maior o tamanho da partícula formada. De acordo com Gong et al. (2007), os pós obtidos pelo processo de *spray dryer* têm micropartículas pequenas, com tamanho inferior a 50 μm , estando os valores obtidos para todos os tratamentos dentro desta faixa.

[079] A FIG. 7 apresenta a distribuição volumétrica do tamanho das micropartículas produzidas no *spray dryer*.

[080] Observa-se que a distribuição do tamanho de partícula para todos os tratamentos é monomodal, apresentando um máximo na faixa dos 20 - 23 μm , a distribuição não é muito larga variando, em geral, na faixa de valores de 5 - 44 μm . Observa-se comportamento similar entre os tratamentos, sendo que as micropartículas obtidas pela secagem sem carreador (S.130 e S. 160) apresentam maior número de partículas com diâmetro volumétrico maior. Estes resultados são importantes, uma vez que quanto menores as partículas, menor a possibilidade de interferirem negativamente na textura do alimento ao qual serão incorporadas. A variação da distribuição do tamanho de partícula obtido está de acordo com os obtidos por Tonon et al. (2009) e Ferrari et al. (2012) que variavam entre 0,1 - 41 μm e 0,1 - 41,4 μm , respectivamente. No entanto, estes autores reportaram uma distribuição bimodal.

Morfologia

[081] A FIG. 8 mostra as micrografias dos pós obtidos com o carreador goma arábica (T1 - T6) com aumento 3000 vezes, com exceção do T4 que está com aumento de 1000 vezes.

Avaliação do potencial da encapsulação em mascarar ou atenuar a sensação de ardência e o amargor

[082] Inicialmente foi realizada uma seleção de provadoras a partir de um teste de ordenação, seguindo a metodologia proposta por Ferreira et al. (2000), foi realizada a seleção até conseguir pelo menos 15 provadoras para cada atributo.

[083] Foram apresentadas 3 amostras às julgadoras, os pós obtidos com 5, 10, 15% de goma arábica (T2, T4 e T6, respectivamente) de maneira casual. A julgadora recebeu duas vezes as amostras, sendo que, na primeira vez teve que ordenar as amostras de modo crescente em relação ao atributo amargor e na segunda vez, em relação à sensação de ardência.

[084] As amostras foram servidas em bandejas, dentro de copinhos plásticos de 50 mL, junto com uma bolacha de água e sal e um copo de água. Foi orientado às provadoras para que limpassem o palato entre a degustação de cada amostra.

[085] Visando provar a eficiência do processo de microencapsulação por *spray dryer* em mascarar ou atenuar o amargor e a sensação de ardência causada pelo extrato, foram realizados dois testes de comparação pareada (bicaudal), segundo Meilgaard et. al (1999). No primeiro teste, as provadoras previamente selecionadas em função de sua acuidade na percepção da sensação picante (15 provadoras) e amargor (18 provadoras) compararam as seguintes amostras: i)

amostra contendo o material encapsulado em pó; ii) amostra contendo o extrato seco e os agentes encapsulantes (exatamente na mesma proporção em que estes aparecem nas partículas) misturados mecanicamente e em pó. O tratamento T6 (160 °C/ 15 % GA) foi escolhido para avaliação do potencial da encapsulação em mascarar ou atenuar a sensação de ardência e o amargor devido a: (I) apresentar maior quantidade de carreador adicionado, podendo mascarar o gosto desagradável do extrato de vitex mais facilmente; (II) apresentar, junto com o T5 (130 °C/ 15 % GA), melhor estabilidade ao armazenamento em diferentes umidades relativas; (III) apresentar bom rendimento de processo e boa retenção dos compostos fenólicos totais e casticina; (IV) porque o extrato atomizado sem carreador a 160 °C apresentou melhor estabilidade durante a estocagem do que o seu análogo a 130 °C.

[086] O segundo teste foi realizado com as mesmas provadoras, só que desta vez foram avaliados os chocolates, assim as provadoras receberam as seguintes amostras: i) chocolate meio amargo adicionado do material encapsulado (tratamento 6); ii) chocolate meio amargo contendo o extrato seco (S.160) e goma arábica (exatamente na mesma proporção em que estes aparecem no tratamento 6) misturados mecanicamente.

[087] As amostras foram servidas em bandejas, dentro de copinhos plásticos de 50 mL codificados, junto com um copo de água e bolacha de água e sal, para que os provadores limpassem o palato entre a degustação de cada amostra.

[088] Para o amargor e a sensação de picância, os

resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o pó microencapsulado e o pó misturado mecanicamente, ou seja, a microencapsulação do extrato de vitex por *spray dryer* com 15 % de goma arábica não foi suficiente para mascarar ou atenuar a sensação de ardência e o amargor. Quando avaliados os chocolates meio amargos para a sensação de ardência, as amostras com o extrato de vitex livre e encapsulado não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), porém, para o amargor, o chocolate que continha o vitex na forma encapsulada mostrou ser mais amargo do que o chocolate com vitex na forma livre, em outras palavras, a encapsulação nas condições testadas não foi suficiente para mascarar o sabor do vitex.

[089] Assim, foi realizada uma avaliação dos resultados obtidos em relação à secagem do extrato dos frutos de vitex, a caracterização das micropartículas obtidas, rendimento de processos e de retenção dos compostos fenólicos e da casticina e estabilidade dos compostos fenólicos e casticina. Nesta avaliação foi possível perceber que a etapa de secagem é essencial para garantir a industrialização e aplicação do extrato de vitex como ingrediente funcional, primeiro porque a aplicação de um extrato hidro-alcólico em alimentos é muito limitante pelo conteúdo de álcool presente, por estar líquido e pelo sabor residual que o mesmo deixaria. A apresentação deste ingrediente funcional em pó garante a sua industrialização e aplicação em diversos alimentos pela praticidade na sua aplicação, além das vantagens em relação à estabilidade microbiológica e oxidativa. Nas condições estudadas, observou-se que o tratamento T2 (160 °C/ 5 % de GA) apresentou os melhores resultados, pois apresentou bom

rendimento de processo e boa retenção dos compostos fenólicos totais, maior retenção de casticina, maiores teores de compostos fenólicos totais e casticina e boa estabilidade durante todo o tempo de estocagem dos compostos bioativos. Contudo, a encapsulação por *spray dryer* do extrato de vitex com goma arábica até uma concentração de 15 % (m/m) não foi efetiva para mascarar o sabor picante e amargo característico do extrato dos frutos de vitex. Assim, para garantir o desenvolvimento de um ingrediente funcional para ser incorporado em diferentes matrizes alimentícias sem afetar sensorialmente o produto; o tratamento T2 foi re-encapsulado ou recoberto utilizando-se a técnica de *spray chilling*.

Por *spray chilling*:

[090] Foi obtido o extrato dos frutos do vitex, em seguida, este foi adicionado de goma arábica (5g de goma arábica/100 g extrato) e foi atomizado por *spray dryer* com temperatura de ar de entrada de 160 °C. Em seguida, as partículas foram misturadas em concentrações de 5, 10 e 15% (m/m) com 50g de gordura vegetal hidrogenada, fundida em banho-maria a 60 °C previamente. Posteriormente, a mistura foi atomizada em câmara com ar de entrada a uma temperatura de 13 °C, pelo processo do *spray chilling*. Ressalta-se que 15 % foi o máximo possível a se introduzir na matriz gordurosa nas condições estudadas. Em geral, quanto maior teor de ativo melhor, pois será necessário aplicar menor quantidade de partículas, evitando assim, efeitos sensoriais negativos nos alimentos a serem incorporados.

Caracterização das partículas lipídicas

[091] As partículas obtidas nos três tratamentos propostos (em duplicata) foram acondicionadas em temperatura

ambiente com 38% UR para a análise do conteúdo de água, atividade de água, tamanho de partícula, microscopia eletrônica de varredura, estabilidade dos compostos fenólicos e casticina durante 120 dias. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

[092] Na FIG. 9, apresentam-se as partículas lipídicas obtidas; em geral, verificou-se que quanto menor o teor de extrato na formulação inicial, mais claro o pó produzido, isso porque a gordura utilizada é branca quando sólida. Ainda na FIG. 9 verifica-se a formação de alguns aglomerados nos pós.

Umidade e atividade de água

[093] Por outra parte, na Tabela 11 pode-se observar a influência da concentração do extrato nos pós em relação ao conteúdo de água e atividade de água.

Tabela 11. Valores de umidade e atividade de água para os pós produzidos com diferentes concentrações de partículas produzidas no dryer (5%, 10% e 15%), logo após sua produção (dia 0) e após 120 dias de estocagem.

Parâmetro \ Amostra	5%	10%	15%
Conteúdo de água (dia 0)	1,30 ± 0,29 ^{Aa}	1,38 ± 0,18 ^{Aa}	1,66 ± 0,20 ^{Aa}
Conteúdo de água (dia 120)	2,83 ± 0,05 ^{Ba}	2,43 ± 0,77 ^{Ba}	2,20 ± 0,62 ^{Ba}
Atividade de água (dia 0)	0,57 ± 0,01 ^{Aa}	0,45 ± 0,01 ^{Bb}	0,386 ± 0,003 ^{Bc}
Atividade de água (dia 120)	0,53 9± 0,005 ^{Bb}	0,58 ± 0,02 ^{Aa}	0,423 ± 0,002 ^{Ac}

*Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05).

[094] Comparando-se os valores no início (dia 0) e após 120 de estocagem, percebe-se um aumento significativo

no valor do conteúdo de água para todos os tratamentos estudados, o que é um resultado esperado, uma vez que as amostras foram armazenadas durante 120 dias em um ambiente a 38% UR, assim, estas absorveram umidade do ambiente. Para atividade de água verificou-se também uma diferença significativa para todos os tratamentos, sendo que, o tratamento 5% apresentou uma redução significativa em seu valor e para os tratamentos 10% e 15% houve um aumento significativo nesse valor.

[095] Todavia, do ponto de vista tecnológico, as variações no conteúdo de água e no valor de atividade de água podem ser consideradas desprezíveis, já que valores de umidade de 2% podem ser considerados baixíssimos e atividade abaixo de 0,6 garante estabilidade microbiológica aos pós e taxa de oxidação reduzida.

Tamanho de partícula, distribuição granulométrica e morfologia

[096] A análise do tamanho de partícula é importante, pois a depender do seu tamanho, as partículas podem influenciar negativamente nas características sensoriais de um alimento, em especial em sua textura. Na FIG. 10 pode-se observar os gráficos referentes ao tamanho (diâmetro) das partículas nas diferentes concentrações (5%, 10% e 15% de partículas produzidas no spray dryer) e, em diferentes tempos de estocagem (dia 0 e dia 120).

[097] Da FIG. 10, pode-se notar que, no início do processo, todos os tratamentos, em diferentes concentrações (5, 10 e 15% de partículas produzidas no spray dryer), apresentaram maior quantidade de amostra no valor de diâmetro de 109,822 μm . Após 120 dias, foi feita novamente a análise

a fim de verificar a estabilidade do tamanho das partículas em relação as condições de estocagem. O diâmetro obtido em maior quantidade, para partículas com tratamento referente a 5% de partículas do spray dryer, foi entre 261,95 µm e 302,79 µm, e para os tratamentos 10% e 15% o valor médio obtido foi de 302,79 µm. Estes resultados mostram que entre os 3 tratamentos não houve diferença no tamanho de partícula, indicando que a variação na concentração referente as partículas do spray chiller (5%, 10% e 15%) não promoveu alterações no tamanho final. No entanto, o aumento do tamanho da partícula não é desejável.

[098] A microscopia eletrônica de varredura (MEV) fornece uma melhor visualização da morfologia e da estrutura das partículas em estudo, como pode-se observar na FIG. 11, a microestrutura de superfície das partículas nas concentrações de 5%, 10% e 15% de partículas do spray dryer, respectivamente.

[099] Na FIG. 11 pode-se observar que, independente da concentração de extrato utilizada, as partículas apresentaram sua morfologia em formato esférico, decorrente do processo de atomização. Além do formato esférico das partículas, verifica-se também superfícies contínuas, ocorrência esta que pode ser atribuída ao fato de que o processo de atomização por *spray chilling* não envolve evaporação de solventes.

Estabilidade dos compostos fenólicos totais e da casticina encapsulados

[100] O teor dos compostos fenólicos e da casticina das partículas ao longo do tempo podem ser observados nas Tabelas 12 e 13, e melhor visualizado nas FIGs. 12 e 13,

respectivamente.

Tabela 12. Teor de compostos fenólicos totais nas partículas ao longo do tempo em diferentes concentrações de extrato.

Dias	5%	10%	15%
0	5,7 ± 0,7 Ba	5,6 ± 1,1 Aa	6,5 ± 0,4 Aa
15	2,6 ± 0,1 Cbc	4,5 ± 0,4 Bb	6,0 ± 0,3 Aab
30	2,6 ± 0,2 Cbc	4,6 ± 0,1 Bb	5,7 ± 0,7 Aab
60	2,5 ± 0,4 Cbc	3,4 ± 0,5 Bc	5,2 ± 0,4 Ab
90	2,1 ± 0,5 Cc	4,2 ± 0,4 Bbc	5,3 ± 1,0 Ab
120	2,7 ± 0,6 Cbc	4,4 ± 0,6 Bbc	6,0 ± 0,2 Aab

* Média ± desvio padrão (n = 6 replicadas). Letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05).

[101] A partir dos valores obtidos durante o armazenamento, como mostra a Tabela 12 e como pode também ser visualizado na FIG. 12, verificou-se que todos os tratamentos apresentaram uma redução no teor de compostos fenólicos entre os dias 0 e 15 de estocagem.

[102] Para os tratamentos com 5% e 10% de extrato essa redução foi significativa, diminuindo seu valor quase a metade do tempo inicial no tratamento 5%, e, a partir do dia 15, apesar das oscilações nos teores, já não houve mais diferença significativa até o final da estocagem. Já o tratamento 15% não apresentou diferença significativa em nenhum tempo do armazenamento, sugerindo ter uma boa estabilidade, além de apresentar maiores teores de compostos fenólicos durante todo o tempo de armazenamento, o que já é esperado uma vez que este tratamento é o que possui maior

concentração de extrato.

Tabela 13. Teor de casticina das partículas ao longo do tempo em diferentes concentrações de extrato.

Dias	5%	10%	15%
0	21,0 ± 6,0 ^{Ba}	32,5 ± 14,5 ^{Ba}	47,0 ± 5,1 ^{Aa}
15	19,5 ± 2,5 ^{Bab}	34,7 ± 9,4 ^{Ba}	45,6 ± 11,7 ^{Aa}
30	14,9 ± 2,4 ^{Cab}	30,4 ± 3,7 ^{Ba}	51,9 ± 3,0 ^{Aa}
60	13,4 ± 3,1 ^{Bbc}	33,0 ± 5,1 ^{Aa}	41,1 ± 12,5 ^{Aa}
90	11,9 ± 2,9 ^{Cc}	29,6 ± 2,8 ^{Ba}	44,7 ± 5,9 ^{Aa}
120	14,9 ± 3,3 ^{Bbc}	32,5 ± 3,6 ^{Aa}	39,1 ± 15,6 ^{Aa}

* Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Letras maiúsculas iguais na mesma fileira e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05).

[103] A partir da Tabela 13 e da FIG. 13 percebe-se que em todos os tempos analisados, o teor de casticina foi maior para 15%, em seguida 10% e por fim 5%, como já esperado devido a própria concentração de cada tratamento.

[104] Em relação ao tempo de estabilidade, pode-se notar que para o tratamento 5%, o teor de casticina manteve-se até o dia 15 e a partir desse tempo houve redução significativa no seu valor. Já o tratamento 10% manteve-se sem diferença significativa até o dia 30, e então apresentou um aumento significativo. Porém, como não é possível ser gerada casticina espontaneamente, sugere-se que houve algum erro durante a análise. Para o tratamento 15% não houve diferença significativa em nenhum dos tempos de armazenamento, da mesma forma que ocorreu para os compostos fenólicos, sugerindo uma boa estabilidade.

[105] A partir dos resultados obtidos na

caracterização das partículas lipídicas, observou-se que o tratamento realizado com 15 % de partículas obtidas previamente no *spray dryer* tiveram melhores resultados, por: (I) apresentar maiores teores de compostos fenólicos e casticina, precisando utilizar menor quantidade de partículas, evitando assim possíveis efeitos na textura do chocolate e (II) ter uma boa (a melhor) estabilidade dos compostos fenólicos e casticina, não apresentando diferença significativa durante o armazenamento, além de durante todo o tempo de armazenamento. Assim, as partículas lipídicas obtidas com 15 % de partículas obtidas por *spray drying* foram aplicadas no chocolate meio amargo.

Aplicação das micropartículas

[106] A fim de verificar a aplicabilidade das partículas obtidas, foi desenvolvido um chocolate meio amargo. Nos chocolates com as partículas produzidas no *spray dryer* (tratamento T6) foram incorporados 2 % (m/m) e com as partículas do *spray dryer* + *spray chiller* (tratamento com 15 %) 8% (m/m), no entanto, os dois tratamentos tinham a mesma concentração do extrato dos frutos de vitex (0,5 %).

[107] Ainda, a fim de verificar se a encapsulação foi capaz de mascarar o sabor do extrato de vitex, foram produzidos chocolates meio amargo com a aplicação do extrato dos frutos de vitex na forma livre para o *spray dryer* (LSD) *spray dryer* + *spray chiller* (LSDCH), amostra contendo o extrato atomizado sem carreador (S.160) e goma arábica, exatamente na mesma proporção em que estes aparecem nas partículas (T6)(SD), misturados mecanicamente e amostra contendo o extrato atomizado sem carreador (S.160), goma arábica e gordura, exatamente na mesma proporção em que estes

aparecem nas partículas (15%) (SDCH), misturados mecanicamente. Como controle foi produzido chocolate meio amargo sem adição de vitex.

[108] Neste caso foram utilizadas as concentrações de 2 a 10%, preferencialmente 8% de vitex, visto que um maior teor poderia causar problemas tecnológicos e sensoriais nos chocolates produzidos com adição das partículas spray dryer + spray chiller, pois 8 % (m/m) já é um valor alto.

Produção do chocolate meio amargo

[109] O chocolate foi desenvolvido nas instalações do Cereal Chocotec do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) em Campinas-SP. Foi elaborada uma formulação para o desenvolvimento dos chocolates no ITAL, contendo: açúcar (47%), massa de cacau (43%), manteiga de cacau (10%), emulsificantes lecitina de soja (0,3%) e poliglicerol poliricinoleato (PGPR) (0,2%) e as partículas livres e encapsuladas (2,5% da massa do chocolate preparado). Esta formulação é apenas um modelo, poderiam ter sido utilizadas outras receitas.

[110] As etapas empregadas para a elaboração do chocolate estão descritas no fluxograma da FIG. 14, sendo que as micropartículas foram incorporadas terminando a etapa da temperagem.

[111] Os cuidados que foram tomados durante a produção do chocolate foram: (I) o refino foi feito para obter partículas com tamanho na faixa de 20 - 25 μm , (II) a conchagem foi promovida em três etapas, inicialmente a conchagem seca por 15 min a 65 °C, em seguida foi adicionada a manteiga de cacau e realizada a conchagem plástica por 20 horas a 65 °C. Após esse período foram adicionados os

emulsificantes e esperado mais 4 horas a 65 °C na concha (conchagem úmida), (III) a temperagem foi realizada até atingir temperaturas de 28 °C, sendo adicionado imediatamente as partículas, misturado e feita a moldagem, (IV) o resfriamento foi realizado em túnel de ar frio com perfil de temperatura: temperaturas de entrada - meio - saída de 18 -11 - 18 °C.

[112] Após a produção dos chocolates, estes foram avaliados microbiologicamente seguindo as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, mostrando a ausência de coliformes totais e salmonela em 25 g da amostra de cada batelada produzida (2 bateladas). Finalmente, os chocolates foram caracterizados em relação à pH, cor, atividade de água e aceitação sensorial. Adicionalmente, foi quantificado o teor de casticina e compostos fenólicos nos chocolates e também foi avaliada a estabilidade desses compostos ao longo de 60 dias, nos tempos 0, 7, 15, 30, 45 e 60 dias.

Caracterização do chocolate meio amargo controle (C), adicionado de vitex na forma livre (LSD e LSDCH) e encapsulada por spray dryer (SD) e por spray dryer + spray chiller (SDCH)

[113] A FIG. 15 apresenta os cinco chocolates produzidos: controle, adicionado de vitex encapsulado por spray dryer (SD) e por spray dryer + spray chiller (SDCH) e vitex livre (LSD e LSDCH).

[114] Observam-se algumas diferenças na cor, sendo o chocolate SD mais claro, no entanto, todas as cores estão dentro do esperado pelos consumidores. Pode se observar que os chocolates produzidos com as partículas do chiller, livres

e encapsuladas, apresentaram grandes falhas visuais na superfície. Provavelmente pelo alto teor (8%) de partículas adicionadas e por serem de gordura, assim, deverá ser repensado e testado se esse teor é o mais adequado tecnologicamente. Contudo, ressalta-se que não foi observado o efeito *fat bloom*, que ocorre na recristalização da gordura, formando manchas brancas na superfície, defeito tecnológico.

[115] A Tabela 14 apresenta os dados da atividade de água, pH e os parâmetros de cor do chocolate controle, adicionado com as micropartículas de vitex livre e encapsulado.

Tabela 14. Caracterização do chocolate meio amargo controle, adicionado de vitex na forma livre e encapsulada pelo processo de spray dryer em relação à atividade de água, pH e cor.

Chocolate	Atividade de água	pH	L*	a*	b*
Controle	0,31 ± 0,01 ^A	5,82	20 ± 1 ^A	7,8 ± 0,4 ^B	6,8 ± 0,6 ^B
SD	0,27 ± 0,03 ^A	5,50	22,3 ± 0,4 ^A	9,5 ± 0,2 ^A	9,9 ± 0,4 ^A
LSD	0,29 ± 0,02 ^A	5,61	19,9 ± 0,6 ^A	7,9 ± 0,4 ^B	7,0 ± 0,1 ^B

*Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05). LSD - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de Spray dryer; SD - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray dryer.

[116] Observa-se na Tabela 14 que os chocolates meio amargo produzidos, controle (sem adição de vitex), vitex encapsulado por spray dryer (SD) (adição de 2,5 % (m/m) do tratamento T6- extrato de vitex adicionado com 15 % (m/m) de

goma arábica atomizado a 160 °C) e vitex livre LSD (adição de 2,5% de uma mistura mecânica de extrato de vitex atomizado a 160 °C puro e goma arábica, na mesma proporção de T6), não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si nos parâmetros de atividade de água, pH e o parâmetro L^* de cor.

[117] Os valores da atividade de água foram baixos (0,27 - 0,31) como era esperado, pois o chocolate meio amargo é um produto sólido, sem adição de água na sua formulação. Já os valores de pH variaram entre 5,50 - 5,82, estando de acordo com o esperado. Em relação aos parâmetros de cor, observa-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na luminosidade (L^*), ou seja, todas as amostras apresentaram a mesma claridade. Em relação à tonalidade (parâmetros a^* e b^*) observa-se que o chocolate com o extrato de vitex livre e o controle não apresentaram diferença significativa, porém, o chocolate com o extrato de vitex encapsulado apresentou maiores valores destes parâmetros, ou seja, o chocolate produzido foi mais amarelo (b^*) e vermelho (a^*), do que o controle e o chocolate com vitex na forma livre.

Estabilidade da casticina e os compostos fenólicos ao longo do tempo nos chocolates

[118] O teor dos compostos fenólicos e da casticina ao longo do tempo dos chocolates produzidos podem ser observados nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 153. Teor de compostos fenólicos (mg EAG/ g chocolate) ao longo do tempo nos chocolates controle e adicionados de vitex na forma livre e encapsulada, armazenados por 60 dias.

Amostra	0 dias	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
Controle	7,8 ± 0,1 ^{Aa}	7,1 ± 0,6 ^{Aa}	8,0 ± 0,4 ^{Ab}	4,3 ± 0,1 ^{Ba}	4,7 ± 0,7 ^{Bca}	3 ± 1 ^{Ca}

SD	8,1 ± 0,5 ^{Ba}	6,2 ± 0,3 ^{Ba}	9,4 ± 0,8 ^{Aa}	4,1 ± 0,2 ^{Ca}	4,1 ± 0,6 ^{Ca}	2,0 ± 0,5 ^{Da}
LSD	8,2 ± 0,3 ^{Ba}	6,4 ± 0,6 ^{Ba}	10,5 ± 0,4 ^{Aa}	4,3 ± 0,3 ^{Ca}	4,5 ± 0,4 ^{Ca}	3 ± 1 ^{Da}
SDCH	7,8 ± 1,2 ^{Aab}	6,5 ± 1,0 ^{Ab}	8,3 ± 0,6 ^{Aa}	3,0 ± 1,0 ^{Bcd}	4,4 ± 0,4 ^{Ac}	2,2 ± 0,7 ^{Ad}
LSDCH	7,4 ± 0,5 ^{Ab}	6,0 ± 0,8 ^{Ac}	8,5 ± 1,0 ^{Aa}	4,6 ± 0,3 ^{Ad}	4,6 ± 0,07 ^{Ad}	2,2 ± 0,3 ^{Ae}

* Média ± desvio padrão (n = 6 replicadas). Letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05). LSD - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de Spray dryer; SD - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray dryer; LSDCH - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de spray dryer + spray chiller; SDCH - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica de spray drying e posteriormente por spray chilling.

[119] Foi possível observar que, durante a estocagem dos chocolates a 22°C, os compostos fenólicos foram se degradando ao longo dos 60 dias, reduzindo até menos da metade do teor de fenólicos quando comparado ao tempo inicial, para todos os tratamentos. Verificou-se também que não houve diferença significativa no teor de fenólicos quando comparados os 3 tratamentos entre si, indicando que a adição de vitex na forma livre e encapsulada não teve tanto efeito em relação aos fenólicos totais, possivelmente porque o teor adicionado foi pequeno em relação aos compostos fenólicos presentes nos chocolates. Todos apresentaram diferença significativa em relação ao tempo de armazenamento. Todos os chocolates mantiveram seu teor de fenólicos até o dia 15,

então este reduziu pela metade aproximadamente e manteve-se constante até o final da estocagem. É interessante ressaltar que, no dia 15 da estabilidade, para todos os tratamentos houve um aumento no teor de compostos fenólicos, como estes compostos não podem ser gerados espontaneamente, acredita-se que houve erros durante a análise.

[120] Desta análise pode-se concluir que os teores de compostos fenólicos de todos os chocolates meio amargo produzidos apresentaram uma baixa estabilidade durante os 60 dias, e a adição de vitex mostrou-se insignificante em relação a esses compostos. A baixa estabilidade percebida muito provavelmente está relacionada à embalagem utilizada, a qual foi inadequada, pois era somente a barra de chocolate envolta em papel chumbo para evitar a oxidação.

Tabela 16. Teor de casticina (μg casticina/ g chocolate) ao longo do tempo dos chocolates adicionados de vitex na forma livre e encapsulada.

Amostra	0 dias	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
SD	8,3 \pm 0,1 ^{Aa}	6,6 \pm 0,1 ^{Ba}	5,6 \pm 0,9 ^{Ca}	6,2 \pm 0,1 ^{BCa}	5,8 \pm 0,5 ^{Ca}	5,5 \pm 0,2 ^{Cab}
LSD	6,3 \pm 0,7 ^{Ab}	4,6 \pm 0,3 ^{Bb}	4,2 \pm 0,2 ^{Bb}	4,7 \pm 0,7 ^{Bb}	5,5 \pm 0,2 ^{Ba}	5,0 \pm 0,4 ^{Bb}
SDCH	7,6 \pm 0,6 ^{Aa}	6,9 \pm 0,3 ^{Aa}	5,5 \pm 0,4 ^{Aa}	6,1 \pm 0,6 ^{Aa}	5,4 \pm 0,4 ^{Aa}	5,7 \pm 0,5 ^{Aa}
LSDCH	5,6 \pm 0,2 ^{Ab}	5,0 \pm 0,2 ^{Ab}	4,9 \pm 0,2 ^{Aab}	4,6 \pm 0,5 ^{Ab}	5,3 \pm 0,8 ^{Aa}	5,1 \pm 0,4 ^{Ab}

* Média \pm desvio padrão (n = 3 replicadas). Letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05). LSD - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de Spray dryer; SD - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray dryer; LSDCH -

Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de spray dryer + spray chiller; SDCH - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray drying e posteriormente por spray chilling.

[121] Na Tabela 16 observa-se a estabilidade da casticina nos chocolates produzidos. Ressalta-se que foram realizadas tentativas de quantificação da casticina no chocolate controle no início, aos 30 e 60 dias, e em nenhuma das vezes foi possível quantificá-la, pois a casticina é um flavonoide que não faz parte dos compostos do chocolate e ao longo do tempo não ocorreu nenhuma degradação de algum composto que interferisse na leitura no HPLC da casticina a 256 nm.

[122] Em relação à casticina, observou-se que os teores de casticina dos chocolates produzidos com as partículas apenas do dryer (SD e LSD) apresentaram uma perda significativa ($p < 0,05$) do teor de casticina nos primeiros 7 dias, após esse período o teor da casticina permaneceu estável. Por outro lado, os chocolates com adição de partículas lipídicas (SDCH e LSDCH), apesar de ter valores inferiores de casticina, apresentaram boa estabilidade, não variando significativamente ($p < 0,05$) ao longo do tempo. No entanto, observa-se que no final dos 60 dias, os chocolates adicionados de vitex na forma encapsulada (SD e SDCH) não apresentaram diferença significativa entre si, contudo apresentaram valores maiores significativamente aos seus homólogos livres, demonstrando a importância da encapsulação dos compostos bioativos.

Aceitação sensorial dos chocolates

[123] A análise sensorial dos chocolates obtidos foi realizada em cabines individuais, de acordo com a metodologia descrita por Meilgaard et al. (1999), por 122 provadoras. Inicialmente, entregou-se o termo de livre consentimento e um questionário de consumo para poder conhecer o perfil das participantes. Na continuação, as amostras foram apresentadas em copos plásticos de 50 mL, foi servido um copo de água e bolacha de água e sal, para que os participantes limpassem o palato entre cada amostra. A aceitação dos produtos foi avaliada usando uma escala hedônica de 9 pontos (1 - "desgostei muitíssimo" e 9 - "gostei muitíssimo") para os atributos de sabor, textura, cor, aroma e aceitabilidade geral. Ainda, foi perguntado sobre a intenção de compra do produto (1 - "Decididamente não compraria" e 5 - "Decididamente compraria"). Cento e vinte e duas provadoras do sexo feminino, não treinadas, participaram do teste.

[124] A avaliação da aceitação sensorial dos chocolates produzidos foi realizada por 122 mulheres, através do questionário de consumidor preenchido pelas provadoras. Sabe-se que dessas 122 mulheres, 88 % tinham entre 18 - 25 anos, 44% preferem chocolate ao leite e 42% chocolate meio amargo, 60% consome chocolate semanalmente e 63% gosta muito de chocolate meio amargo. Foi perguntado se realizavam alguma atividade para atenuar os sintomas da TPM e se consumiriam algum produto funcional para atenuar ou combater esses sintomas, 49% respondeu que não fazem nada específico, 33% responderam que fazem exercício físico e 16% tomam remédios, no entanto, 97% respondeu que consumiria um produto funcional que combatesse ou atenuasse os sintomas da

TPM, mostrando a viabilidade de lançamento de um produto funcional com tais características.

[125] A Tabela 17 apresenta as médias das notas da avaliação sensorial dos três chocolates produzidos: controle e adicionado de vitex na forma encapsulada e livre.

Tabela 17. Notas da avaliação sensorial dos chocolates produzidos: controle, adicionados de vitex na forma encapsulada e livre.

	Sabor	Aroma	Textura	Cor	Aceitação Geral	Intenção de compra
Controle	8 ± 1 ^A	8 ± 1 ^A	8 ± 1 ^A	8 ± 1 ^A	8 ± 1 ^A	5 ± 1 ^A
SD	6 ± 2 ^C	7 ± 1 ^A	8 ± 1 ^B	8 ± 1 ^A	7 ± 2 ^B	3 ± 1 ^C
LSD	7 ± 2 ^B	8 ± 1 ^A	7 ± 2 ^C	8 ± 1 ^A	7 ± 2 ^B	4 ± 1 ^B
SDCH	7 ± 2 ^B	7 ± 1 ^A	8 ± 1 ^B	8 ± 1 ^A	7 ± 2 ^B	4 ± 1 ^B
LSDCH	7 ± 2 ^B	7 ± 1 ^A	7 ± 2 ^B	8 ± 1 ^A	7 ± 2 ^B	4 ± 1 ^B

* Média ± desvio padrão (n = 122 replicadas). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si (p<0,05). LSD - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de spray drying; SD - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray drying; LSDCH - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de spray dryer + spray chiller; SDCH - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray drying e posteriormente por spray chilling.

[126] Observa-se que todas as notas foram maiores ou igual a 6 (gostei pouco), mostrando, portanto, que em geral os chocolates foram bem aceitos. O chocolate controle teve as maiores médias para todos os atributos (8 ± 1 -

gostei muito) e certamente comprariam este chocolate. Em relação aos atributos aroma e cor, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os chocolates, por outro lado, para os atributos sabor, aceitação geral e intenção de compra, apresentaram diferença significativa em relação ao controle.

[127] Portanto, no caso de chocolate meio amargo a adição de vitex na forma livre ou encapsulada teve resultados muito similares. Este resultado deve ser atribuído ao fato que o sabor do extrato de vitex combinou com o sabor característico do chocolate meio amargo. Como conclusão, a incorporação do extrato de vitex como ingrediente funcional foi bem aceita sensorialmente, possibilitando a produção de um alimento funcional, com potencial para aliviar ou atenuar os sintomas da TPM.

Avaliação do potencial da encapsulação em mascarar ou atenuar a sensação de ardência e o amargor e comparação entre os dois métodos

[128] A avaliação do potencial das encapsulações em mascarar ou atenuar a sensação de ardência, o amargor e a comparação dos dois métodos foi dividida em três grupos de amostras. As provadoras previamente selecionadas, em função de sua acuidade na percepção da sensação picante (15 provadoras) e amargor (18 provadoras) compararam os seguintes grupos de amostras para os pós e para os chocolates: i) amostra contendo o material encapsulado por spray drying e amostra contendo o extrato seco e os agentes encapsulantes utilizados no processo de spray drying (exatamente na mesma proporção em que estes aparecem nas partículas) misturados mecanicamente (SD-LSD). Este ensaio

foi realizado apenas para o tratamento que apresentou os melhores resultados na caracterização geral e maior teor de goma arábica (T6); ii) amostra contendo o material encapsulado por spray dryer + spray chiller e amostra contendo o extrato seco e os agentes encapsulantes utilizados no processo de spray drying e spray chilling (exatamente na mesma proporção em que estes aparecem nas partículas) misturados mecanicamente (SDCH-LSDCH). Este ensaio foi realizado apenas para o tratamento que apresentou os melhores resultados na caracterização geral e maior teor de de extrato de vitex (15 %); iii) as amostras dos processos de encapsulação, ou seja, utilizando os equipamentos spray dryer e spray dryer + spray chiller (SD-SDCH).

[129] As amostras foram servidas em bandejas, dentro de copinhos plásticos de 50 mL codificados, junto com um copo de água e bolacha de água e sal, para que os provadores limpassem o palato entre a degustação de cada amostra.

[130] A Tabela 18 apresenta os resultados obtidos a partir da comparação pareada dos tratamentos, sendo que são apresentadas as quantidades de recrutadoras que acharam a respectiva amostra mais picante ou amarga.

Tabela 18. Resultado da comparação pareada dos tratamentos, sendo que são apresentadas as quantidades de recrutadoras que acharam a respectiva amostra mais picante ou amarga.

		Pós		Chocolate	
		Amargor	Picância	Amargor	Picância
1^a comparação	LSD	11 ^A	10 ^B	4 ^A	7 ^B
	SD	7 ^A	5 ^B	13 ^A	8 ^B

2^a comparação	LSDCH	17 ^A	13 ^A	10 ^A	11 ^B
	SDCH	0 ^B	2 ^B	7 ^A	4 ^B
3^a comparação	SD	18 ^A	13 ^A	16 ^A	13 ^A
	SDCH	0 ^B	2 ^B	1 ^B	2 ^B

- Letras iguais na mesma coluna/par não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$). LSD - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas no processo de Spray drying; SD - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica spray drying; LSDCH - Tratamento com vitex livre, misturado mecanicamente com as matérias primas e as proporções utilizadas nos processos Spray drying + Spray chilling; SDCH - Tratamento com vitex encapsulado pela técnica Spray drying e posteriormente por spray chilling.

[131] Para o amargor e a sensação de picância, os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o pó microencapsulado e o pó misturado mecanicamente, obtido pela microencapsulação por spray drying apenas, ou seja, a microencapsulação do extrato de vitex utilizando o equipamento *spray dryer* com 15 % de goma arábica não foi suficiente para mascarar ou atenuar a sensação de ardência e o amargor. Quando avaliados os chocolates meio amargos para a sensação de ardência, as amostras SD e LSD não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Em outras palavras, a encapsulação nas condições testadas não foi suficiente para mascarar o sabor do vitex.

[132] Já para a encapsulação por *spray drying* seguida pela re-encapsulação por *spray chilling*, a sensação de amargor e a de picância apresentaram diferença significativa entre o pó microencapsulado (SDCH) e o pó

misturado mecanicamente (LSDCH). Dessa forma, percebe-se que a microencapsulação do extrato de vitex por *spray drying* + *spray chilling* mostrou-se suficiente para mascarar ou diminuir a sensação de ardência e o amargor. Em relação à avaliação dos chocolates meio amargos para a sensação de ardência e o amargor a encapsulação por *spray drying* + *spray chilling* não apresentou diferença significativa, isto ocorreu, possivelmente, porque o sabor do chocolate predomina em relação ao do vitex.

[133] Quando comparadas as partículas obtidas pelo *spray drying* (SD) e *spray drying* e posterior re-encapsulação por *spray chilling* (SDCH), verifica-se que tanto para os pós quanto para os chocolates, as recrutadoras sentiram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao amargor e à picância entre os métodos, sendo as partículas ou o chocolate produzido apenas por *spray drying* os que apresentaram maior amargor ou picância, concluindo-se, por tanto, que o recobrimento da partícula ou a sua re-encapsulação foi efetiva para mascarar o sabor característico do extrato de vitex.

[134] Um dos grandes diferenciais desta proposta é a utilização da técnica de microencapsulação para mascarar o gosto amargo/picante e proteger os compostos bioativos de degradação. Outro grande diferencial é a certeza de estar propondo um ingrediente funcional que apresenta a eficácia comprovada e não apresenta contraindicações graves.

[135] Assim, ressalta-se que na presente invenção foram incorporadas as micropartículas em chocolates do tipo meio amargo, porém, nada impede de serem colocadas em outros tipos de chocolates, assim como em outros alimentos, como:

shakes, gominhas, barras de cereal, chocolate quente, iogurte, etc.

[136] Embora a invenção tenha sido amplamente descrita, é óbvio para aqueles versados na técnica que várias alterações e modificações podem ser feitas visando aprimoramento do projeto sem que as referidas alterações não estejam cobertas pelo escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para preparação de microcápsulas de frutos de vitex **caracterizado** pelo fato de compreender as seguintes etapas:

(a) obtenção, otimização e concentração dos extratos de frutos de vitex;

(b) secagem por spray dryer; e

(c) encapsulação por *spray chilling*.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa (a), o extrato de frutos de vitex otimizado ser obtido em uma razão sólido-solvente de 1,5:1,0 com solução etanólica 60% m/m, em binômio tempo - temperatura de 12h - 60 °C, sob agitação mecânica constante.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de após a extração, a mistura ser centrifugada a 4 °C por 5 min a 2935 g, sendo o extrato etanólico coletado.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o extrato etanólico ser concentrado em rota-evaporador a 45 °C até a evaporação total do etanol.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa (b), o extrato ser atomizado em *spray-dryer* com temperatura de ar de entrada de 130 e 160 °C, preferencialmente 160 °C com um agente carreador em concentrações de 5, 10 e 15 % m/m, preferencialmente 5% m/m, e seco com vazão de ar comprimido de 40 L/min no bico e velocidade do ar de secagem de 2,5 m/s.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de na etapa (c), a mistura obtida na secagem por *spray dryer* ser misturada com 50g de um encapsulante, previamente fundido em banho-maria a 60 °C, e atomizada em câmara com ar de entrada a uma temperatura de 13 °C.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de o agente carreador utilizado no processo de *spray dryer* ser selecionado do grupo de polissacarídeos consistindo em maltodextrina, goma arábica, goma guar, goma carragena, carboximetilcelulose, amidos nativos ou modificados, preferencialmente goma arábica.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizadas** pelo fato de o encapsulante utilizado no processo de *spray chilling* ser selecionado do grupo de gorduras consistindo em gordura vegetal hidrogenada, manteiga de cacau, gordura de palma, óleo de coco, cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, preferencialmente gordura vegetal hidrogenada.

9. Composição alimentícia **caracterizada** pelo fato de compreender de 2 a 10 %, preferencialmente 8 %, das microcápsulas de frutos de vitex preparadas pelo processo conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, aplicadas principalmente em chocolates, shakes, gominhas, barras de cereal, chocolate quente, iogurte, preferencialmente chocolate meio amargo.

10. Composição alimentícia, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada** pelo fato de apresentar teor dos compostos fenólicos durante sua estabilidade de $2,2 \pm$

0,7 a 7,8 ± 1,2 mg EAG/g chocolate.

11. Composição alimentícia, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada** pelo fato de apresentar teor de casticina durante sua estabilidade de 5,4 ± 0,4 a 7,6 ± 0,6 µg de casticina/g chocolate.

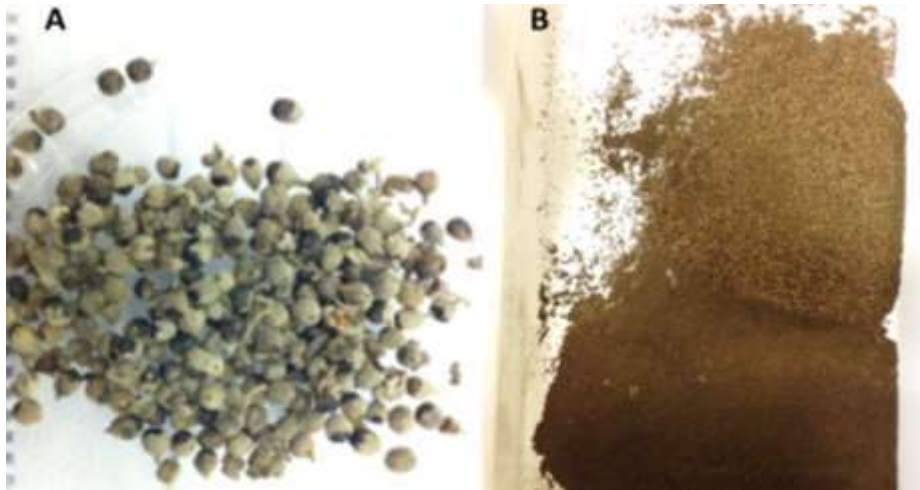


FIG. 1

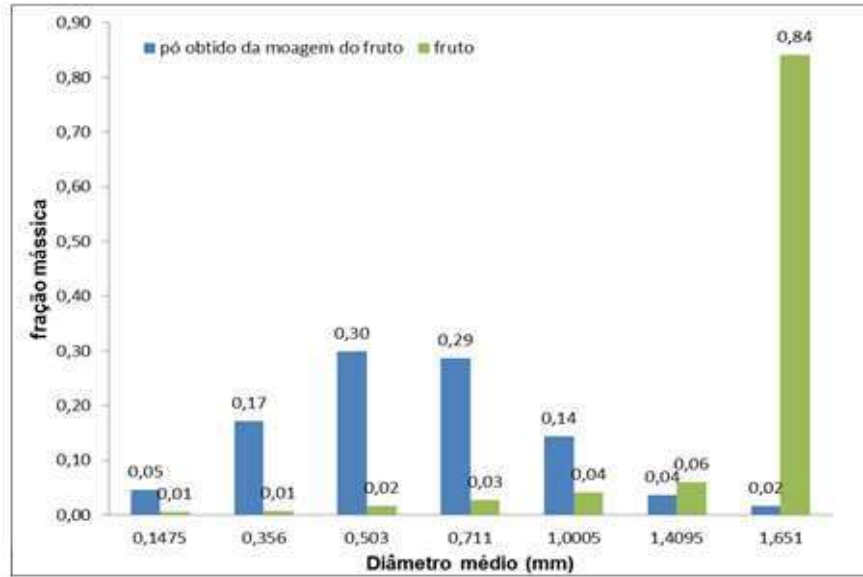


FIG. 2

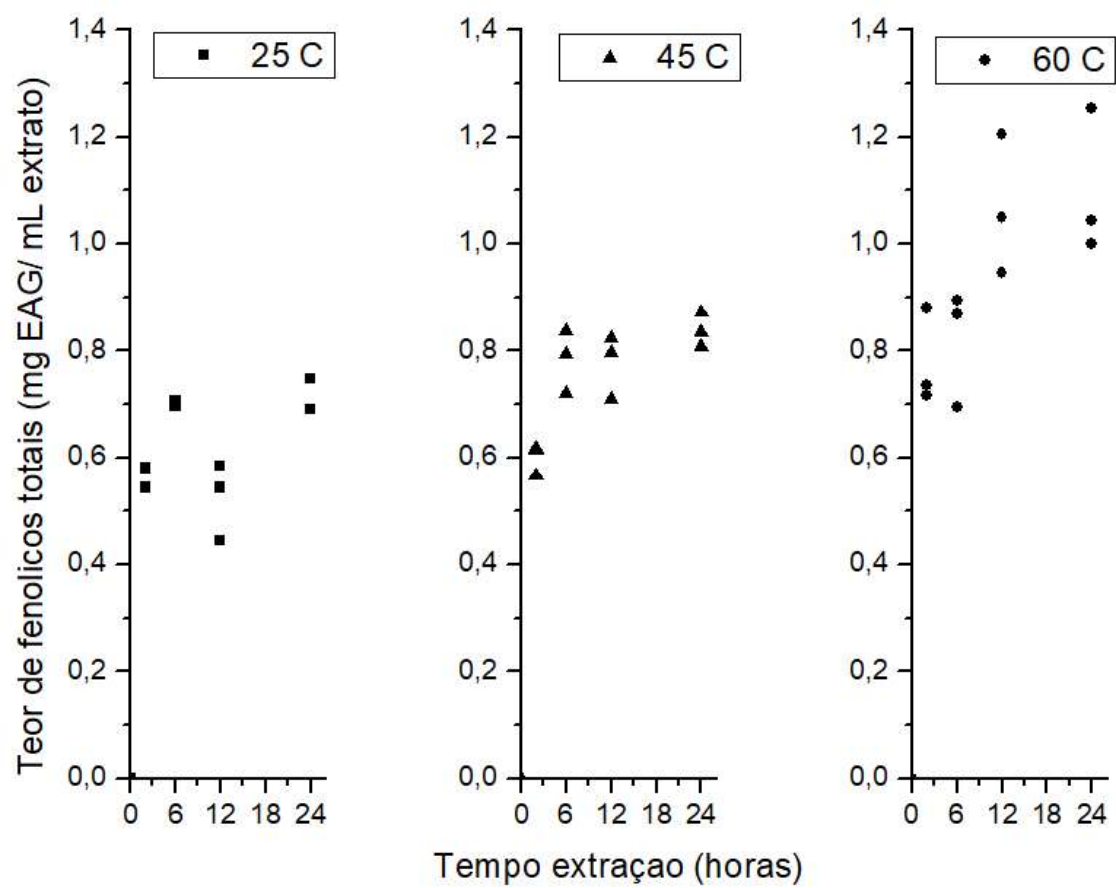


FIG. 3

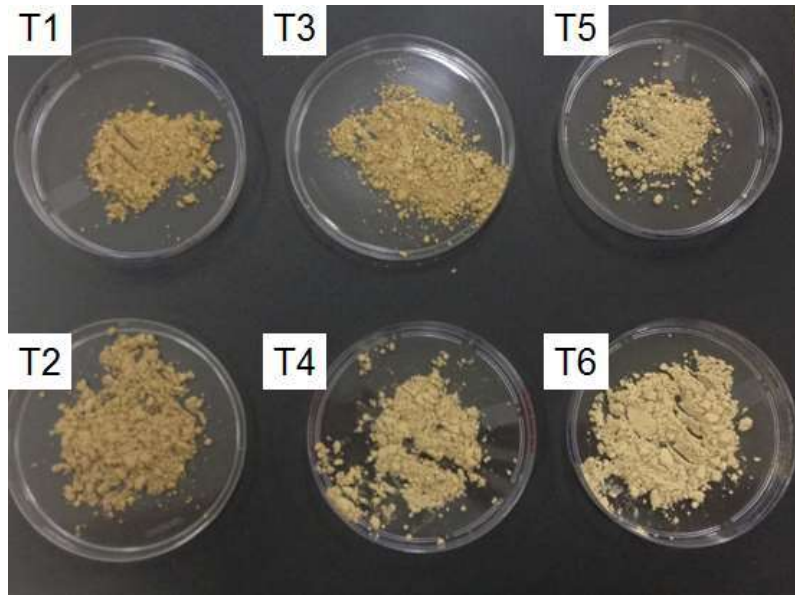


FIG. 4



FIG. 5

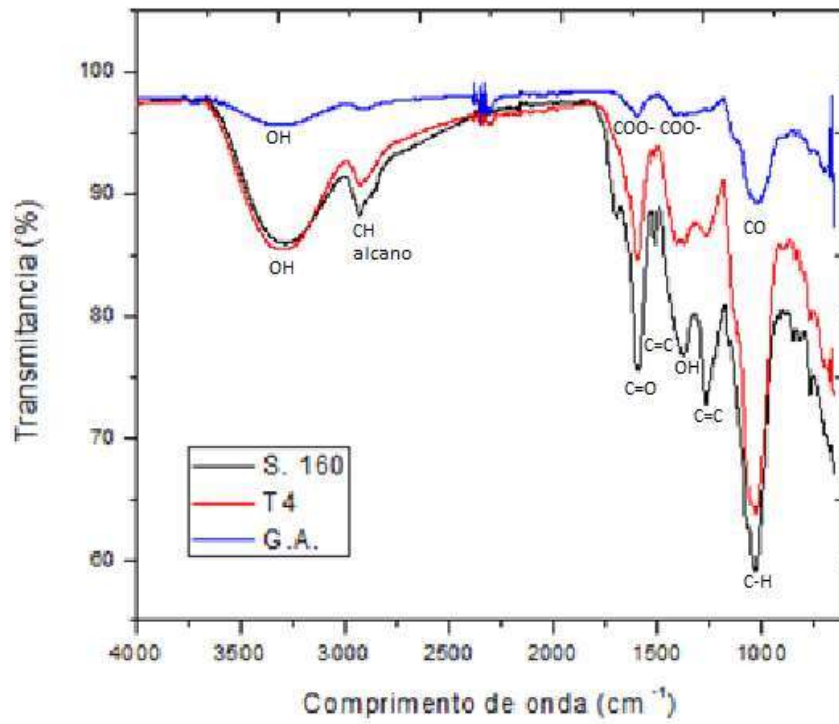


FIG. 6

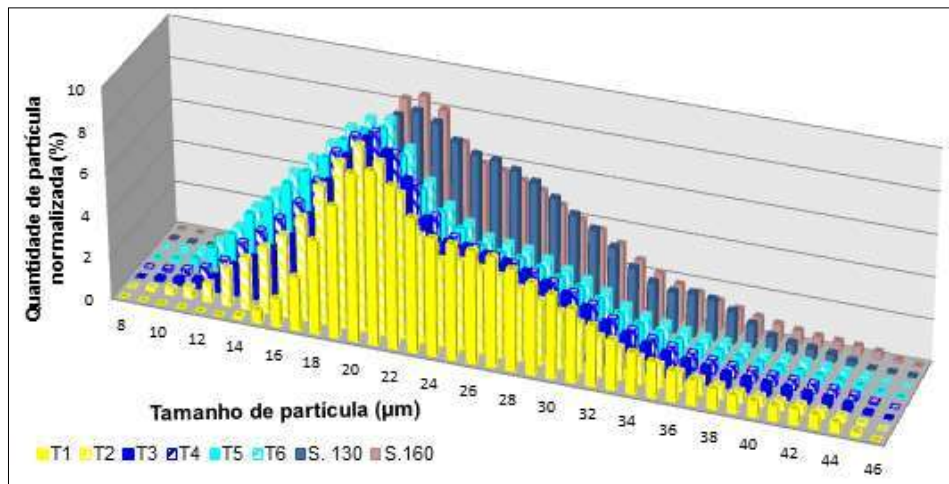


FIG. 7

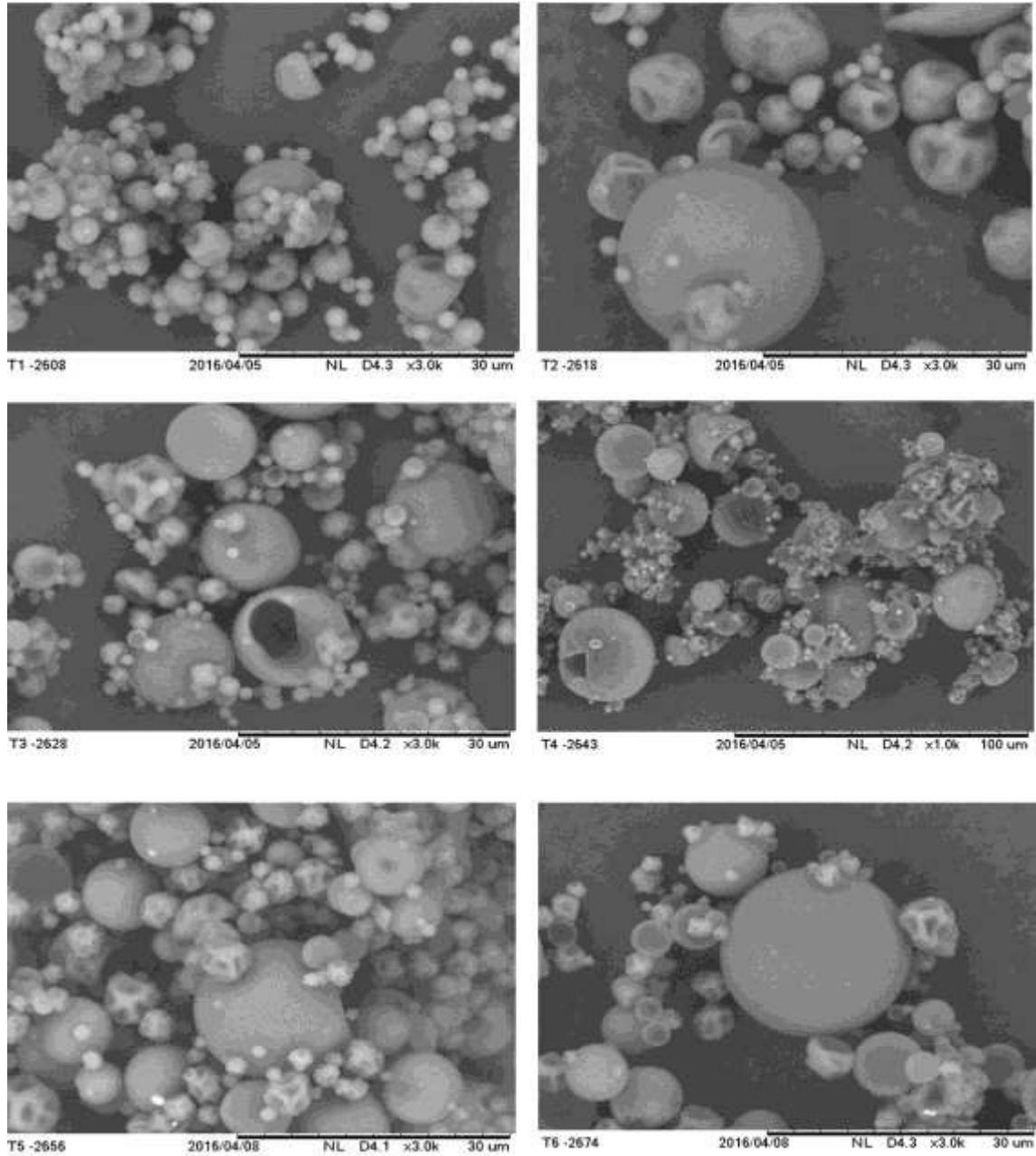


FIG. 8

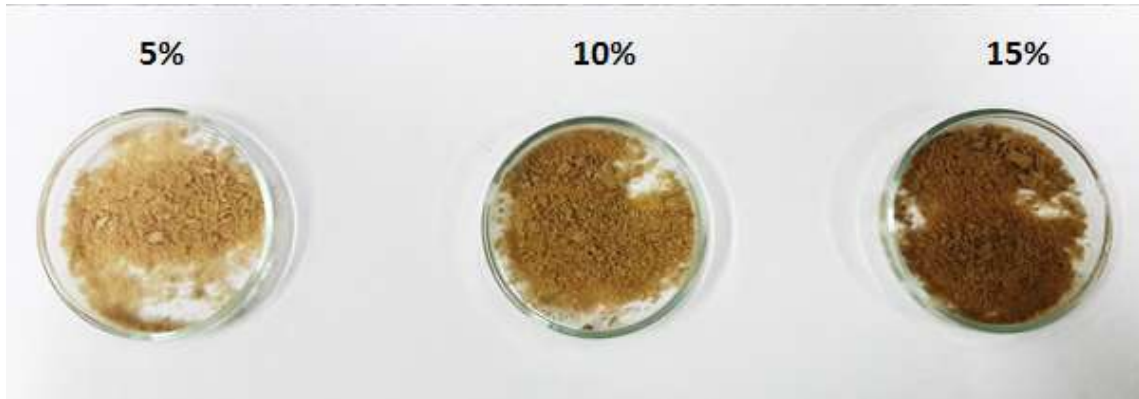


FIG. 9

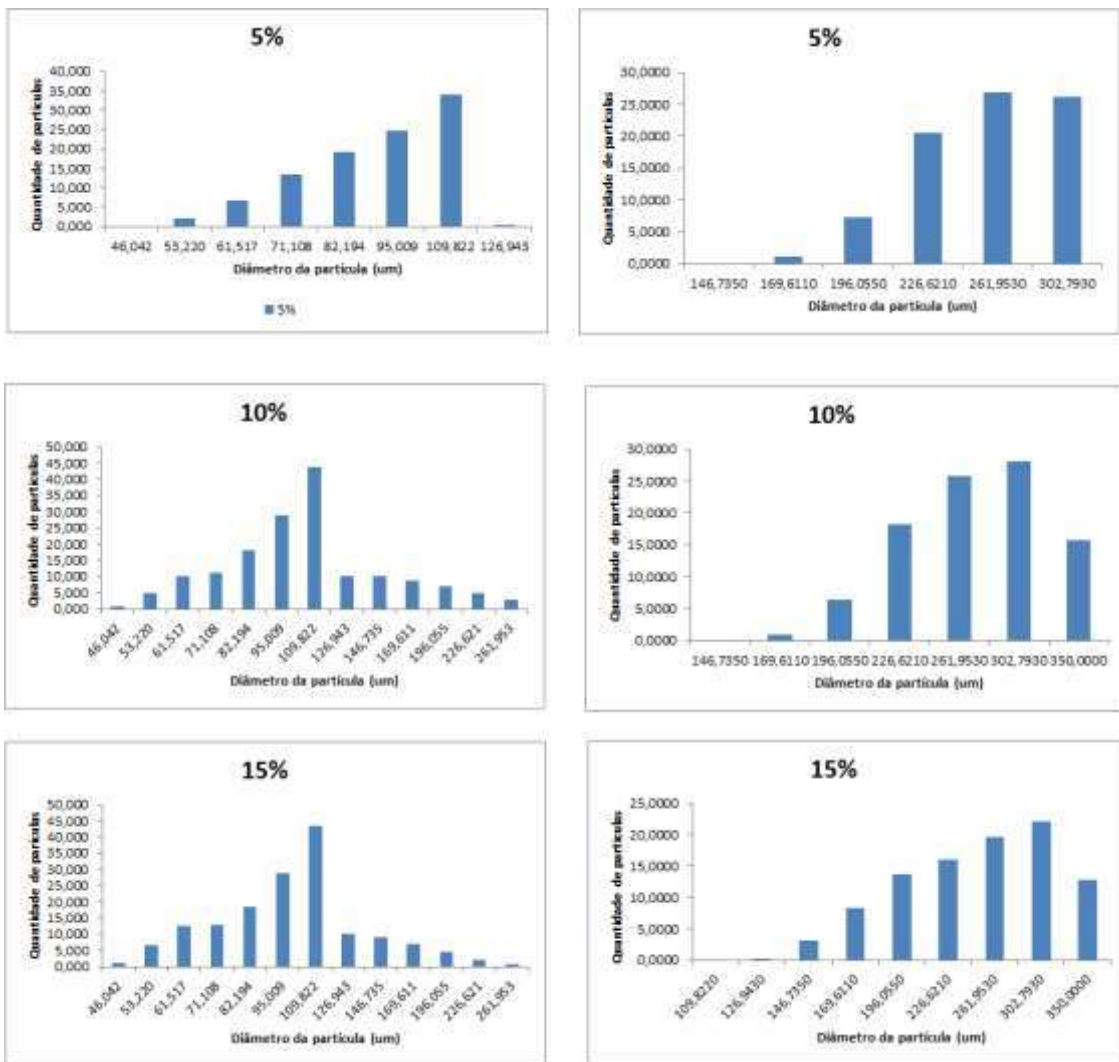


FIG. 10

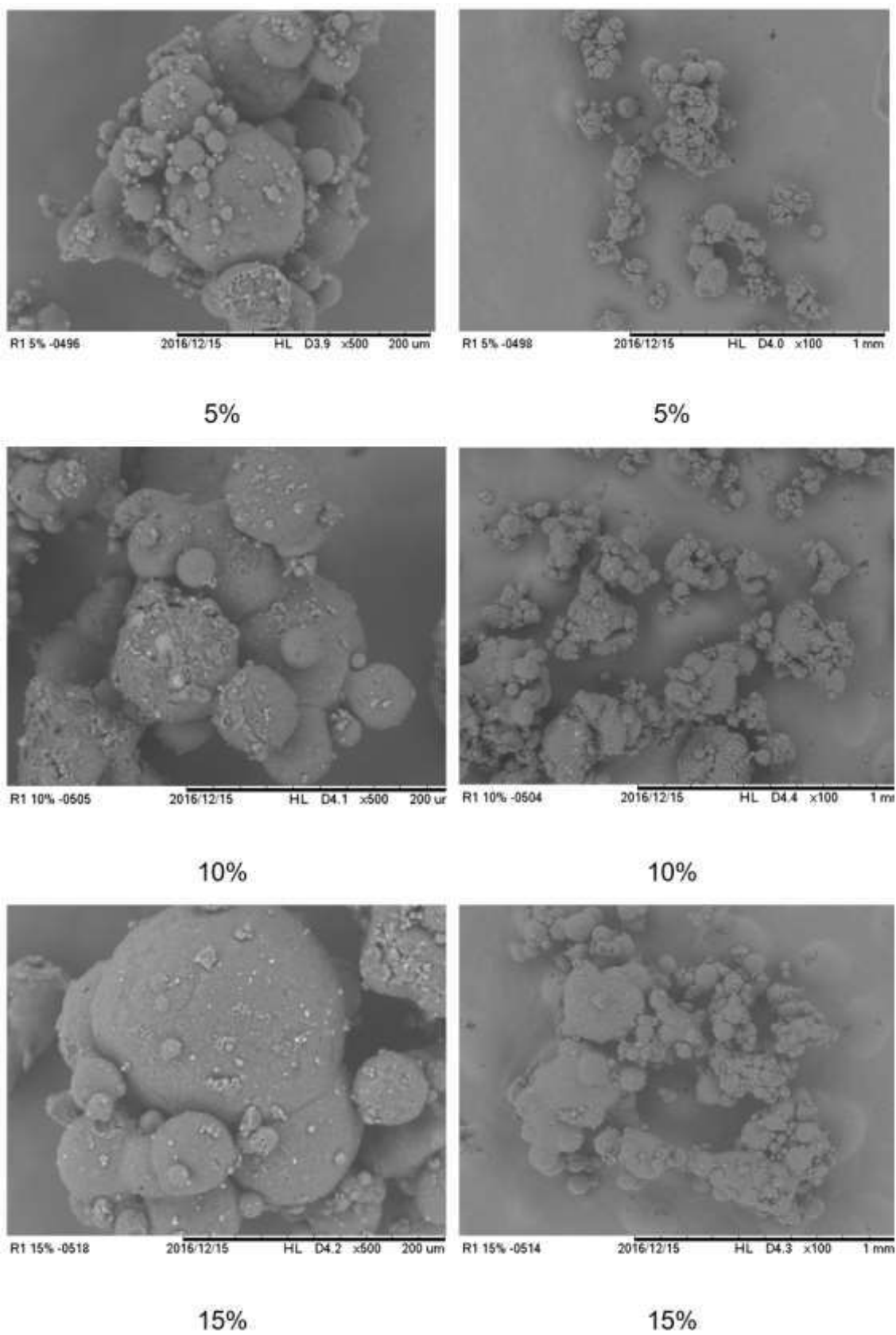


FIG. 11

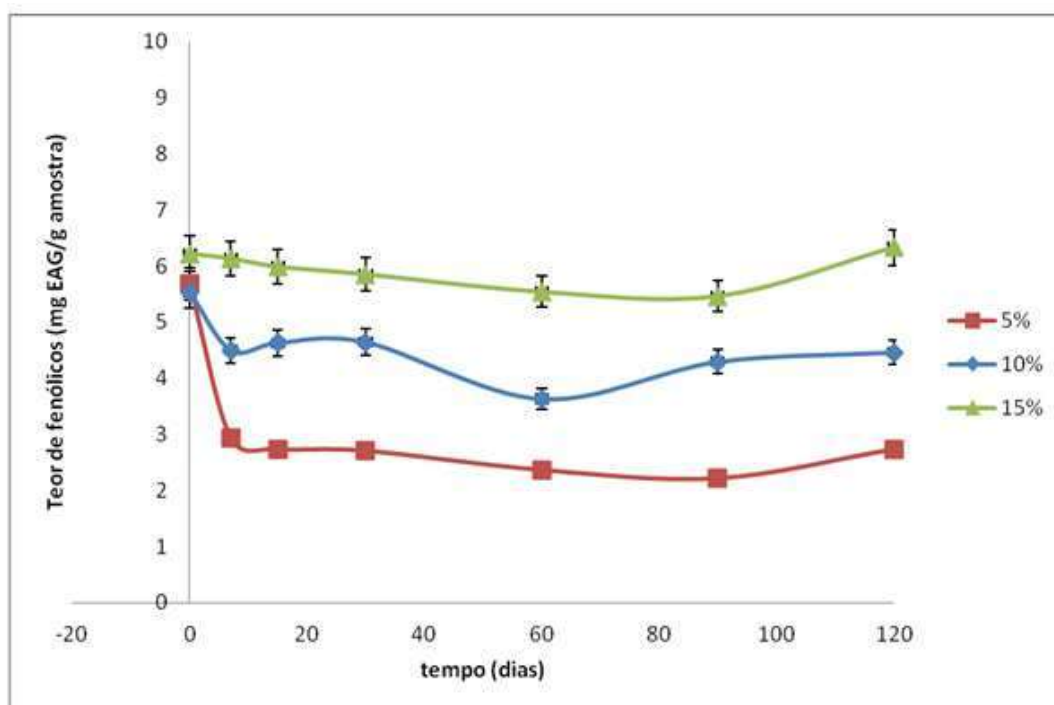


FIG. 12

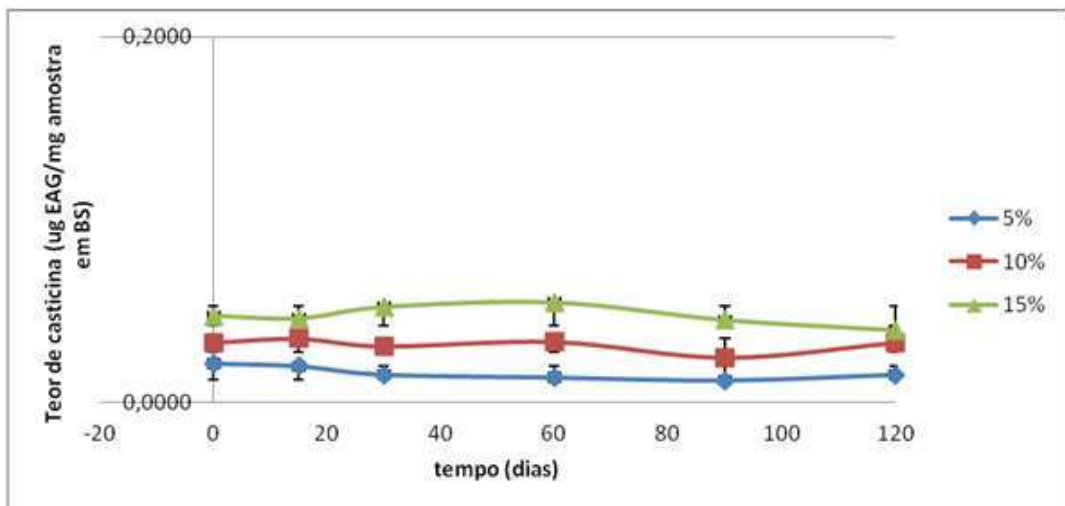


FIG. 13

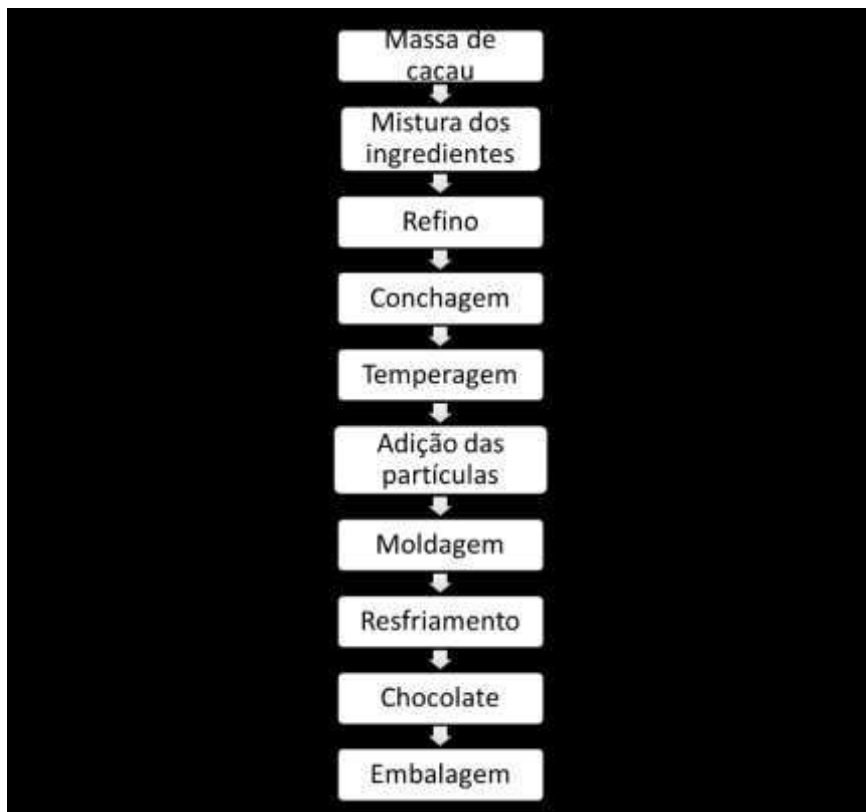


FIG. 14

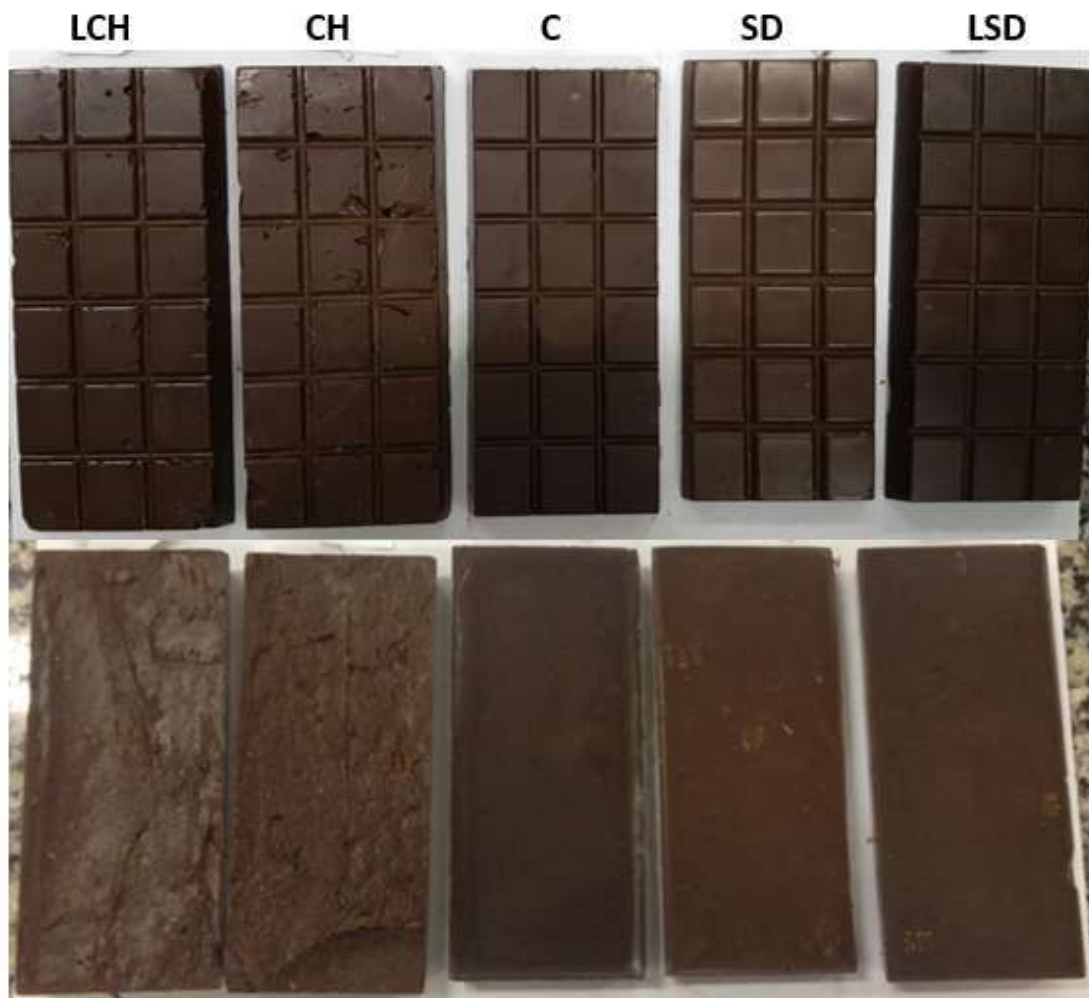


FIG. 15

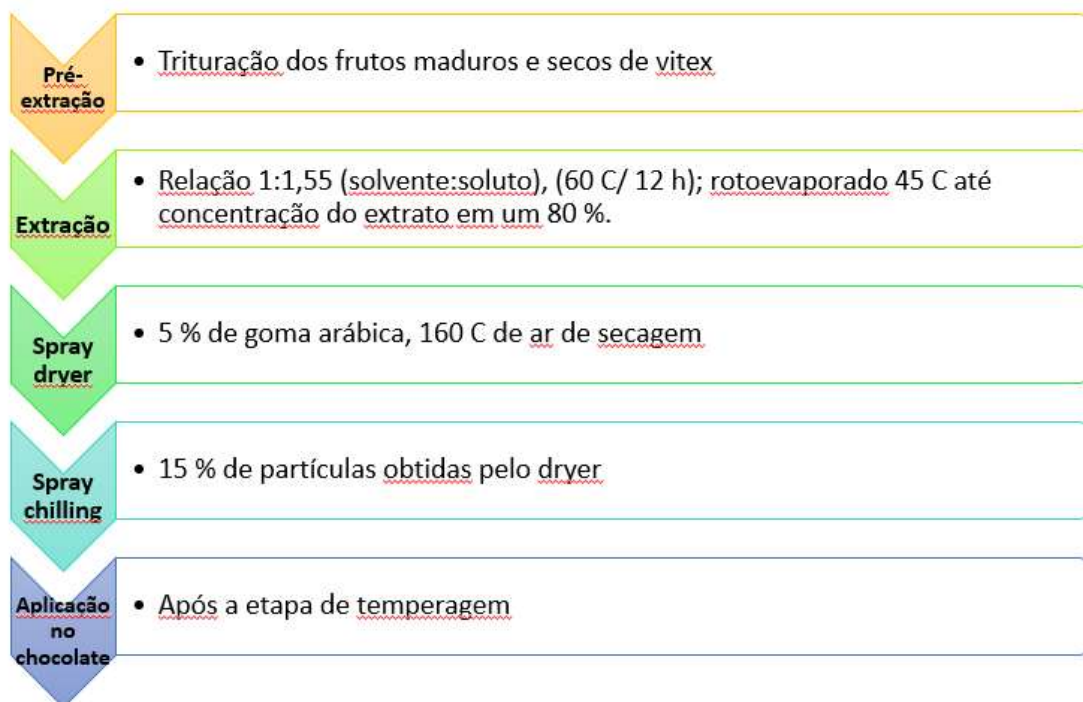


FIG. 16