

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

MAGALI FELIX CLEMENTE

**Desenvolvimento e impressão 3D de balas mastigáveis fortificadas com
bioativo contra sintomas de tensão pré-menstrual**

**SÃO PAULO
2024**

MAGALI FELIX CLEMENTE

**Desenvolvimento e impressão 3D de balas mastigáveis fortificadas com
bioativo contra sintomas de tensão pré-menstrual**

Versão Original

Trabalho de Conclusão do Curso de
Engenharia Química da Escola Politécnica
da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Cecilia
Tadini

Co-orientadora: Dra. Fernanda Thaís Vieira
Rubio

SÃO PAULO
2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação Serviço de Biblioteca e Documentação Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo

CLEMENTE, M. F. Desenvolvimento e impressão 3D de balas mastigáveis fortificadas com bioativo contra sintomas de tensão pré-menstrual/ Magali Felix Clemente; co-orientadora, Fernanda Thaís Vieira Rubio; orientadora, Carmen Cecilia Tadini- São Paulo, 2024.

47p.

Trabalho de Conclusão de Curso - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1.Balas mastigáveis 2.Impressão 3D 3.Síndrome pré-menstrual

I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química

Nome: CLEMENTE, Magali Felix

Título: Desenvolvimento e impressão 3D de balas mastigáveis fortificadas com bioativo contra sintomas de tensão pré-menstrual

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo

Aprovado em 19 de abril de 2024.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Carmen Cecilia Tadini

Instituição: Escola Politécnica- Universidade de São Paulo

Dr. Renan Gusmão Tivanello

Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Universidade de São Paulo

RESUMO

Nos últimos anos, tem-se observado a inserção de tecnologias das áreas de mecânica e de manufatura no ramo alimentício, como é o caso da impressão 3D. A chegada dessa tecnologia pode ser entendida como uma oportunidade de ampliação da produção de alimentos funcionais que têm apresentado bastante procura por parte dos consumidores. A impressão 3D ainda apresenta alguns desafios, já que as chamadas ‘tintas’ alimentícias devem apresentar propriedades reológicas e textura bem determinadas, entretanto pode representar uma solução para fortificação de matrizes alimentícias com compostos bioativos, como é o caso dos compostos fenólicos do *Vitex agnus-castus*. O vitex apresenta propriedades fitoterápicas sendo indicado para atenuação dos sintomas da tensão pré-menstrual. Neste contexto, o objetivo deste projeto foi desenvolver e produzir balas mastigáveis fabricadas por impressão 3D e fortificadas com compostos bioativos do *Vitex agnus-castus*. Duas tintas alimentícias, sendo uma com gelatina e outra sem, foram produzidas e caracterizadas quanto ao comportamento reológico e à liberação de água. O extrato do vitex foi obtido do fruto seco e encapsulado pela técnica de *spray-drying*. Os resultados mostraram que a formulação com gelatina apresentou melhor comportamento tixotrópico e melhor performance na impressão 3D por extrusão. Ademais, o extrato encapsulado do vitex apresentou 44,7 mg EAG/g de fruto seco e a encapsulação permitiu que cerca de 50% dos compostos fenólicos do vitex fossem preservados no pó por, pelo menos, 28 dias. Ademais, fortificou-se a tinta alimentícia contendo gelatina em sua composição e produziu-se balas mastigáveis por impressão 3D a 37 °C com preenchimento de 80% e velocidade de impressão de 6mm/s. As balas mastigáveis foram analisadas física e visualmente e apresentaram umidade de 81,3%, atividade de água de 0,995 e concentração de compostos fenólicos de 2,9 mg EAG/g bala mastigável com tempo de meia-vida de 86,6 dias. Elas mantiveram alto teor de compostos fenólicos durante a armazenagem de 28 dias (perda de apenas 20%), além de aparência atrativa e textura macia, elástica e não pegajosa características do produto. Assim, o projeto apresentou avanços científicos na utilização de novas tecnologias na área de alimentos funcionais com intuito de ajudar mulheres com tensão pré menstrual.

Palavras-chave: Reologia, textura, compostos fenólicos, alimento funcional.

ABSTRACT

In recent years, technologies from mechanical and manufacturing areas have been introduced into the food sector, such as 3D printing. The arrival of this technology can be understood as an opportunity to expand the production of functional foods, which are highly sought after by consumers, in order to acquire more natural products with benefits for the human health. The 3D printing still presents some challenges, as the printable inks must have rheological and well determined texture, however it can represent a solution for fortifying food matrices with bioactive compounds that are unstable under industrial processing conditions, such as the phenolic compounds from *Vitex agnus-castus*. The vitex presents phytotherapeutic properties and it's indicated for alleviating the symptoms of premenstrual syndrome. In this context, the objective of this project was to develop and produce chewable candies manufactured by 3D printing and fortified with bioactive compounds from *Vitex agnus-castus*. Two inks, one with gelatin and other without it, were produced and defined in terms of rheological behavior and water release. The vitex extract was obtained from the dried fruit and it was encapsulated using the spray-drying technique. The results showed that the gelatin formulation presented better thixotropic behavior and better 3D printing performance. Furthermore, the encapsulated vitex extract showed 44.7 mg EAG/g of dried fruit and the encapsulation allowed the preservation of around 50% of the phenolic compounds in the vitex powder for at least 28 days. Moreover, the gelatin's ink was fortified and gummies were produced by 3D printing at 37 °C with 80% filling and printing speed of 6mm/s. The chewable candies were analyzed physical and visually and they presented 81.3% of moisture, 0.995 of water activity and a concentration of phenolic compounds of 2.9 mgEAG/g gummy with half-life time of 86.6 days. They preserved a high content of phenolic compounds during a storage period of 28 days (loss of only 20%), they also showed an attractive appearance and a soft, springy and non-sticky texture during this period. Thus, the project presented scientific advances in the use of new technologies in the functional foods area with the aim of helping women with premenstrual syndrome.

Key-words: Rheology, texture, phenolic compounds, functional foods.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1 BALAS MASTIGÁVEIS	6
2.2 ENCAPSULAÇÃO DOS BIOATIVOS DO <i>Vitex agnus-castus</i>	7
2.3 IMPRESSÃO 3D DE ALIMENTOS	9
3. OBJETIVOS	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1 Material	10
4.2 Métodos	11
4.2.1 Etapa 1- Determinação da formulação base para as balas mastigáveis	11
4.2.2 Etapa 2 - Encapsulação dos extratos do <i>Vitex agnus-castus</i>	16
4.2.3 Etapa 3 - Produção das balas mastigáveis com o bioativo por impressão 3D	19
4.2.4 Análise estatística	21
5. RESULTADOS	21
5.1 Formulação base das balas mastigáveis	21
5.2 Análise reológica das formulações base	23
5.3 Impressão 3D das balas mastigáveis	31
5.4 Quantificação de compostos fenólicos totais do extrato de vitex	32
5.5 Análise de estabilidade do pó de vitex	33
5.6 Produção das balas mastigáveis com o bioativo por impressão 3D	35
5.7 Medidas de pH e °Brix da formulação fortificada	35
5.8 Análise de estabilidade das balas mastigáveis fortificadas	36
5.8.1 Atividade de água, umidade e sinérese	36
5.8.2 Quantificação de compostos fenólicos	38
5.8.3 Análise visual	39
5.8.4 Análise do perfil de textura	40
6. CONCLUSÕES	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1. INTRODUÇÃO

Na última década, a tecnologia de impressão 3D, também conhecida como prototipagem rápida, tem crescido rapidamente e conquistado áreas para além da mecânica, sendo considerada uma das tendências inovadoras da tecnologia de fabricação digital da revolução industrial 4.0 (FERNANDES et al., 2023). Na área alimentícia, a prototipagem rápida permite a incorporação de uma grande gama de ingredientes, a personalização de produtos conforme a necessidade do consumidor e a possibilidade de fabricar produtos com múltiplas texturas, cores e sabores gerando aparência atrativa (VIEIRA et al., 2020).

Entretanto, entre os maiores desafios da impressão 3D de alimentos está a formulação, já que as chamadas “tintas” alimentícias devem apresentar propriedades reológicas e textura bem determinadas. Nesse sentido, é desejável que o material possa ser facilmente extrudado pelo estreito bico da impressora e então recupere rapidamente a viscosidade e a resistência mecânica necessários para suportar a próxima camada a ser extrudada (HERRADA-MANCHÓN et al., 2020).

Nesse contexto, as balas mastigáveis podem representar um modelo alimentício propício para estudar as propriedades reológicas e de textura na impressão 3D, pois refletem facilmente os atributos de textura como mastigabilidade e elasticidade (MALAGHINI et al., 2022).

Além disso, esse meio de fabricação está intrinsecamente relacionado à produção de alimentos funcionais, já que possibilita a inserção de ingredientes instáveis em condições industriais de processamento, como os compostos bioativos. Dessa forma, a impressão 3D surge como um meio para inserção dos compostos bioativos do Vitex *agnus-castus* em alimentos. Esse fruto de origem mediterrânea apresenta compostos fenólicos que reduzem os sintomas da tensão pré-menstrual (PMS- Premenstrual Syndrome) e regulam o ciclo menstrual com eficácia cientificamente comprovada (BARRIENTOS et al., 2021; VAN DIE et al., 2013).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BALAS MASTIGÁVEIS

Nos últimos anos, observa-se uma maior busca por alimentos mais saudáveis, naturais e com benefícios para a saúde humana, já que os consumidores estão cada vez mais conscientes da influência da alimentação no desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis e da importância de uma alimentação nutritiva para a saúde (RIVERO et al., 2020).

Nesse sentido, as balas mastigáveis apresentam uma oportunidade para a incorporação de componentes funcionais e com redução de açúcar dado que atraem a atenção de consumidores de todas as faixas etárias devido à particular textura e à diversidade de cores e sabores, sendo um dos produtos que mais cresce na indústria de confeitaria (CONSTANTINO, GARCIA-ROJAS, 2023).

A formulação das balas mastigáveis comumente apresenta como ingredientes principais um agente gelificante (gelatina, pectina e amido), açúcares e água, além de poder conter ácidos, aromas, corantes e outros ingredientes para completar sua composição (GUNES et al., 2022; TIREKI, SUMNU, SAHIN, 2021; CIŽAUSKAITĖ et al., 2019).

Os agentes gelificantes são responsáveis por garantir a textura característica das balas mastigáveis. A gelatina é bastante utilizada para garantir a formação de um gel elástico (responsável pela mastigabilidade) (GUNES et al., 2022). Já o amido garante a base para o gel, entretanto precisa ser utilizado juntamente com outros agentes gelificantes já que não garante um sistema estável após a gelificação, ou seja apresenta retrogradação da estrutura do gel (TIREKI, SUMNU, SAHIN, 2021). Já a pectina apresenta uma alternativa à gelatina na formulação de produtos veganos. Ademais, estudos indicam que o uso da pectina realça o sabor e o dulçor do gel, porém torna a estrutura mais quebradiça (RENALDI et al., 2022).

A maioria das balas mastigáveis apresenta alto teor de açúcares, como sacarose e xarope de glicose, a fim de garantir a doçura, além de estabilizar a rede de gelatina em água, levando a uma maior rigidez do gel (GE et al., 2021). Entretanto, segundo Palachum et al. (2023), o alto teor de açúcar das balas de goma tradicionais pode ser alterado por meio da utilização de adoçantes naturais alternativos. Outrossim, Ly et al. (2008) determinaram que o xilitol e o manitol podem

ser utilizados como alternativas ao açúcar na formulação de balas mastigáveis e ainda previnem a formação de cáries dentárias.

2.2 ENCAPSULAÇÃO DOS BIOATIVOS DO *Vitex agnus-castus*

A planta *Vitex agnus-castus* é um arbusto da família Verbenaceae que cresce em leitos de riachos e nas margens dos rios principalmente na Europa Mediterrânea e na Ásia Central (MURRAY, 2020). Essa planta, também conhecida como “Árvore da Castidade” e “Pimenta de Monge” apresenta flores de cor lilás e frutos pequenos de cor marrom a preto, conforme ilustrado na Figura 1 (PERINI; ISAIA, 2007). Estes apresentam sabor picante e amargo e aroma semelhante à pimenta do reino, devido a altas concentrações de compostos fenólicos (ECHALAR-BARRIENTOS, 2017).

Figura 1- (A) Flor da *Vitex agnus castus*. (B) Frutos da *Vitex agnus castus*.



Fonte: Murray, 2020.

Entre os compostos fenólicos presentes nos frutos do vitex, estão os iridóides, flavonóides e cetosteróides, que garantem propriedades fitoterápicas ao fruto (ZAHID et al., 2016). Já na época da Grécia Antiga, o fruto maduro do vitex era utilizado no tratamento de problemas menstruais, dor, inchaço, inflamação, dores de cabeça, reumatismo e disfunção sexual (LATOUI et al., 2012). Nas últimas décadas, estudos clínicos confirmaram a eficácia dos extratos de vitex no tratamento da tensão pré-menstrual (PMS- Premenstrual Syndrome), de forma que, em 1998, a

Comissão E alemã (conselho consultivo científico do Instituto Federal de Medicamentos e Dispositivos Médicos) aprovou seu uso em irregularidades no ciclo menstrual, perturbações pré-menstruais e mastodinia (PERINI; ISAIA, 2007).

A PMS geralmente afeta as mulheres de 10 a 14 dias antes da menstruação até poucos dias após o início da menstruação e é caracterizada pela ocorrência cíclica de sintomas físicos (como dores de cabeça e abdominais, tontura, edema e mastalgia), comportamentais e psicológicos (como ansiedade, sentimento de depressão, agitação e agressividade) (VERKAIK et al., 2017). No estudo realizado por Petta et al. (2010), ao entrevistar 1053 brasileiras entre 18 e 40 anos cerca de 60% das entrevistadas afirmaram, no momento da entrevista, ter PMS.

Por isso, alguns estudos foram realizados com objetivo de analisar a eficácia do *Vitex agnus-castus* na diminuição dos sintomas da PMS. No ensaio clínico de Schellenberg (2001), 170 mulheres com PMS (porém com ciclo regular de 28 dias) foram divididas em dois grupos, um com tratamento com 20 mg de extrato de vitex por dia e outro com placebo, e foram avaliadas durante três ciclos menstruais. Ao final do estudo observou-se uma melhora dos sintomas em 50% das mulheres tratadas com o extrato e de 24% das mulheres que usaram placebo. Já o estudo de Prilepskaya et al. (2006) foi realizado com 109 mulheres sendo administrados 4 mg de extrato de vitex (na forma BNO 1095) uma vez ao dia. Ao final dos três ciclos menstruais de estudo, verificou-se uma resposta positiva para tratamento em 67,8% das participantes. Assim, o extrato de vitex se mostrou bastante efetivo no tratamento de PMS de moderada a severa, indicando o fitoterápico como medicina herbácea segura sendo recomendado pela Comissão E alemã nas dosagens diárias de 30-40mg na forma de fruto seco (PERINI; ISAIA, 2007) (ZAHID et al., 2016).

Apesar dos benefícios conferidos pelo consumo do extrato do vitex, o mesmo apresenta gosto amargo (SOUTO et al., 2020), o que pode dificultar o seu consumo ou mesmo a sua aplicação. Para contornar este problema a encapsulação do extrato representa uma opção viável.

A técnica de microencapsulação permite que partículas sólidas ou gotas de líquidos sejam revestidas por filme protetor de forma a reduzir a volatilidade e a reatividade dos compostos fenólicos bioativos, mantendo-os preservados mesmo após a extração dos mesmos, além de atenuar gostos fortes como amargor e picância (ECHALAR-BARRIENTOS, 2017). Existem vários métodos para realizar a

microencapsulação, mas em geral todos eles envolvem a dispersão do agente a ser encapsulado em uma solução polimérica, depositando a solução sobre um carreador, e a solidificação da mistura para formação das micropartículas (BRASILEIRO, 2011). Barrientos et al. (2020) produziram micropartículas de *Vitex agnus-castus* utilizando o método de *spray drying*. Para isso, os compostos bioativos foram extraídos do fruto utilizando etanol 60%*m/m* a 60°C por 12h e o extrato concentrado foi misturado com a goma arábica (carreador). A solução foi então atomizada utilizando o equipamento de atomização. O processo alcançou rendimento de 68% e retenção de 80% dos compostos fenólicos, além da perda de apenas 10% dos compostos fenólicos em 60 dias de análise.

2.3 IMPRESSÃO 3D DE ALIMENTOS

A impressão 3D de alimentos geralmente envolve as etapas de criação do modelo computacional 3D do alimento (CAD), preparação das ‘tintas’ alimentícias com propriedades necessárias para a impressão, carregamento do material em cartuchos ou seringas a serem inseridos na impressora, execução da impressão e, caso necessário, pós-processamento do alimento para melhorar textura ou sabor (WASSEM; TAHIRA; MAJEED, 2023).

Essa técnica já foi estudada para produção de diversos alimentos como biscoitos (VIEIRA et al., 2020), snacks (JO et al., 2021), barras proteicas (ZHU et al., 2021), balas duras (KIM et al., 2021), bifes à base de proteína de soja texturizada (CHEN; ZHANG; BHANDARI, 2021) e snacks ricos em proteína (ZHU et al., 2022), além de *gummies* formuladas com medicamentos voltados para condições específicas de saúde (HERRADA-MANCHÓN et al., 2020).

Herrada-Manchón et al. (2020) desenvolveram formulações de ‘tintas’ alimentícias para impressão 3D de balas mastigáveis com a incorporação do medicamento ranitidina, utilizado no tratamento de úlcera péptica e refluxo gastroesofágico em crianças. Os pesquisadores utilizaram formulações com gelatina, gomas xantana e carragena, e variaram a presença de amido de milho ou não, além disso compararam a inserção do medicamento ou não, além de variar o preenchimento em 65 e 80% das figuras. Assim, observaram que a inserção do medicamento não afetou o comportamento reológico das ‘tintas’ e a adição de amido

de milho garantiu melhor sustentação e resistência mecânica da ‘tinta’. Por fim, com ambas as formulações e preenchimentos foram obtidos resultados satisfatórios.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e produzir balas mastigáveis fabricadas por impressão 3D e fortificadas com compostos bioativos do *Vitex agnus-castus*, voltadas para mulheres que apresentam sintomas da tensão pré-menstrual. Para se atingir o objetivo, o trabalho teve como etapas: desenvolver uma formulação de bala mastigável que seja adequada para impressão 3D usando amido de milho, pectina e gelatina em sua base; realizar o estudo reológico das formulações para determinar as condições de impressão 3D; fazer a microencapsulação dos bioativos do vitex por meio da técnica de *spray-drying*; verificar a estabilidade do extrato do vitex encapsulado por um período de 28 dias; fazer a impressão 3D das formulações-base de balas mastigáveis e das balas mastigáveis com bioativos do vitex; realizar o estudo das características das balas mastigáveis fortificadas e de sua estabilidade pelo período de 28 dias.

Assim, o trabalho busca contribuir para o desenvolvimento tecnológico, para a pesquisa e a inovação estando estritamente ligado ao nono objetivo sustentável (indicador 9.5) da Agenda 2030 da ONU.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

O amido de milho utilizado na produção das tintas alimentícias foi doado pela empresa Cargill (AMILOGILL 2100, Campinas, Brasil) e a pectina, pela empresa CP Kelco (GENU LM-102 AS, Limeira, Brasil), enquanto a gelatina foi cedida da empresa MasterSense (RousselotSimogel 250 H 8, fabricado pela Rousselot). O aroma e o corante naturais utilizados são da marca BräuFlavors (São Paulo, Brasil), o adoçante líquido foi obtido da Steviafarma industrial S/A (Maringá, Brasil) e o ácido cítrico da Synth (Diadema, Brasil).

Os frutos maduros e secos de vitex foram obtidos da empresa Chás do Mundo (Portugal). Também foram utilizados goma arábica, ácido gálico e carbonato

de sódio que foram obtidos da empresa Êxodo Científica (São Paulo, Brasil), além do etanol absoluto da empresa Dinâmica (Diadema, Brasil).

4.2 Metodologia

A metodologia proposta no projeto pode ser separada em três etapas principais:

- 1- Determinação da formulação base para as balas mastigáveis;
- 2- Encapsulação dos extratos do *Vitex agnus-castus*;
- 3- Produção das balas mastigáveis com o bioativo por impressão 3D.

4.2.1 Etapa 1- Determinação da formulação base para as balas mastigáveis

A formulação base foi determinada com concentrações de cada componente baseadas nas formulações propostas por Herrada-Manchón et al. (2020), entretanto, substituindo as gomas xantana e carragena por pectina como hidrocolóide, além de adicionar ácido cítrico na formulação para conferir um gosto levemente ácido às balas mastigáveis. Ademais, foram estudadas duas formulações sendo uma com gelatina em sua composição e outra sem, conforme apresentado no Quadro 1 abaixo.

Quadro 1- Formulações estudadas para 100 g de bala mastigável.

Componentes [g]	F1	F2
Amido de milho	5,00	10,00
Gelatina	8,00	0,00
Pectina	2,25	5,25
Adoçante líquido	1,11	1,11
Ácido cítrico	1,00	1,00
Aroma de morango	0,50	0,50
Corante de beterraba	0,50	0,50
Água purificada	81,64	81,64

4.2.1.1 Análise de umidade dos componentes da formulação

As análises de umidade foram realizadas em amostras de amido de milho, gelatina e pectina. A umidade foi determinada de acordo com a A.O.A.C (1996). Isto é, inicialmente, o cadinho de porcelana foi submetido à temperatura de 105 °C por 3 h e transferido ao dessecador para esfriar e, então, foi pesado. Em seguida, foi colocado 1 g de amostra no cadinho e o sistema foi pesado e submetido à secagem por 24 h, resfriamento e pesagem conforme descrito. Por fim, a umidade foi calculada pela Equação 1 abaixo, onde W1 refere-se à massa da amostra (em gramas) antes da secagem e W2, à massa após a secagem. A análise foi realizada em triplicata.

$$Umidade (\%) = \frac{(W1-W2) \cdot 100}{W1} \quad (1)$$

4.2.1.2 Preparo das “tintas” alimentícias

Esta etapa foi realizada com base no procedimento proposto por Herrada-Manchón et al. (2020) e Ge et al. (2021). Primeiramente, a gelatina e a pectina foram hidratadas com água purificada, já com o adoçante líquido, em banho a 90 °C até completa dissolução. Em seguida, a mistura foi resfriada em banho em temperatura ambiente até atingir a faixa de temperatura de 30 a 40 °C e o amido foi adicionado aos poucos até sua completa incorporação.

Posteriormente, os outros componentes da formulação (ácido cítrico, aroma e corante naturais) foram adicionados à mistura. A formulação foi mantida em banho aquecido, a 90 °C e sob agitação mecânica a 1000 rpm, por 30 min, para possibilitar a completa geleificação da mistura. Durante este tempo, o béquer se manteve coberto com papel alumínio para prevenir a perda de água. As formulações foram armazenadas em seringas de 10 mL, em refrigerador, a 4 °C, por 24 h.

Figura 2- Preparo das tintas alimentícias.

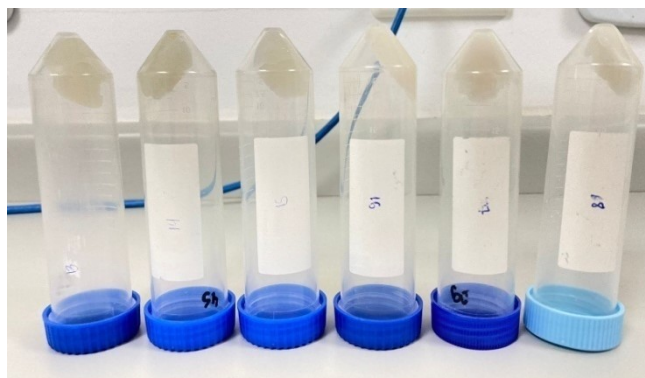


Fonte: Autoria própria.

4.2.1.3 Medida da sinérese

A sinérese foi determinada gravimetricamente conforme descrito por Maniglia et al. (2020). Após as 24 h sob refrigeração, amostras de 1,5 g de cada uma das formulações foram centrifugadas a 1500 g por 15 min e a sinérese foi medida como a quantidade de água liberada (g água/100 g de gel). A análise foi realizada em triplicata.

Figura 3- Tubos de ensaio com as formulações após o ensaio de sinérese.



Fonte: Autoria própria.

4.2.1.4 Análise reológica

A análise reológica foi realizada em colaboração com o Laboratório de Microestrutura e Ecoeficiência de Materiais do Departamento de Engenharia de Construção Civil da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Para isso, foi utilizado um reômetro (TA instruments, AR 2000, USA) em temperaturas de 23 e 37 °C. A análise foi dividida em duas etapas sendo uma de caracterização do material e a segunda de tixotropia.

A caracterização foi realizada com a geometria de placas paralelas de diâmetro de 40 mm e espaçamento de 0,5 mm. Nessa configuração, primeiramente, foram feitas as curvas de fluxo de cada amostra em dois ciclos aumentando e diminuindo a taxa de frequência em rampa de 0,01 a 100 s⁻¹ em um período de 120 s. Assim, obteve-se a determinação do tipo de fluido, da viscosidade aparente das formulações e observou-se a área de histerese entre as curvas ascendentes e descendentes que explica a recuperação das propriedades do material, a qual foi melhor observada na posterior análise de tixotropia.

Em seguida, foi realizada uma varredura de tensão na faixa de deformação de 0,01 a 100% em frequência fixa de 1 Hz (teste LAOS- “large amplitude oscillatory shear”), a fim de determinar a região de viscoelasticidade linear dos materiais (LVR) e estudar as propriedades reológicas dos géis na região viscoelástica linear, mensurando os valores do módulo de armazenamento/elástico (G') e do módulo de perda/viscosidade (G'').

A partir da LVR, determinou-se a deformação constante para realização da análise de varredura de frequência (conhecida como SAOS- “small-amplitude oscillatory shear”). Nesse caso, também foram determinados os módulos G' e G'' variando a frequência angular de 0,1 a 10 rad/s.

A tixotropia foi medida através de testes de recuperação de cisalhamento em 3 etapas, sendo elas de baixa taxa de cisalhamento, alta taxa de cisalhamento e baixa taxa de cisalhamento, mimetizando a taxa de cisalhamento dentro da seringa da impressora, na agulha de impressão e na mesa da impressora, respectivamente.

Assim, as taxas de cisalhamento foram calculadas com as condições de impressão, conforme a expressão de máxima taxa de cisalhamento em uma geometria tubular de Steffe (1996), apresentada pela Equação 2 abaixo.

$$\gamma = \left(\frac{3n+1}{4n} \right) \frac{4 \cdot v}{R} \quad (2)$$

Onde n é o índice de comportamento do fluxo (obtido da curva de fluxo), v é a velocidade de impressão e R é o raio da geometria (seringa ou agulha).

Os intervalos de baixa taxa de cisalhamento tiveram duração de 40s enquanto o de alta taxa de cisalhamento perdurou por 120s.

4.2.1.5 Impressão 3D

As balas mastigáveis foram impressas utilizando uma impressora 3D do tipo de extrusão com seringa (GenesisII, 3DBS, Brasil) no formato de coração com as dimensões de 13,38 mm de largura, 13,17 mm de profundidade e 3,00 mm de altura. O desenho em 3D foi feito no software NX 10 (Siemens) e fatiado (ou seja, convertido em instruções para a impressora 3D) por meio do software Slic3r.

O controle da impressora 3D foi realizado a partir de um computador por meio do software software Pronterface. A velocidade de movimentação do bocal foi de $6 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ com padrão de preenchimento retilíneo. A temperatura da mesa de impressão foi mantida a 10°C . A altura de cada camada foi fixada em 0,30 mm e foram testados preenchimentos de 65 e 80% das figuras (HERRADA-MANCHÓN et al., 2020).

Figura 4- Impressora 3D utilizada na manufatura das balas mastigáveis.



Fonte: Autoria própria.

4.2.2 Etapa 2 - Encapsulação dos extratos do *Vitex agnus-castus*

4.2.2.1 Preparo dos extratos

O extrato em pó do vitex (*Vitex agnus-castus*) foi preparado com base nas condições propostas por Barrientos et al. (2021). Para isso, além dos frutos, foi utilizada goma arábica como carreador no processo de *spray-drying*.

Primeiramente, os frutos do vitex foram triturados e peneirados. Dessa forma, os compostos bioativos foram extraídos do pó do vitex em proporção 1,5:10 em massa de pó para solução hidroalcoólica 60%. A extração foi realizada na incubadora shaker refrigerada (SL-223, Solab Científica, Brasil) a 125 rpm e 60 °C por 12 h. Em seguida, o material sólido foi removido por centrifugação e o sobrenadante resultante foi misturado com o carreador (goma arábica) na concentração de 5 g/100 g de extrato.

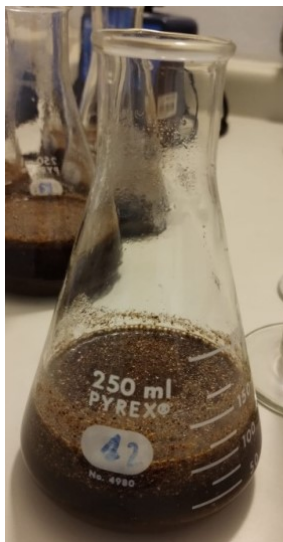
Figura 5- (A) Frutos secos do *Vitex agnus castus*. (B) Frutos após moagem.



Fonte: Autoria própria.

O extrato obtido a partir dos frutos de vitex apresentou coloração castanha bastante escura como pode ser observado na Figura 6.

Figura 6- Extrato líquido de Vitex.



A atomização foi realizada em *spray dryer* (Buchi, B-290, Alemanha) a 160 °C conforme descrito por Barrientos et al. (2021). Durante a secagem a mistura foi constantemente homogeneizada sob agitação magnética. O pó foi coletado no ciclone do equipamento, embalado a vácuo e armazenado em embalagem laminada, sob proteção da luz, a -18 °C até etapas posteriores. Na Figura 7 nota-se que o pó obtido apresenta coloração castanho bastante mais clara que o extrato líquido.

Figura 7- Pó de Vitex após a encapsulação.



4.2.2.2 Quantificação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi quantificado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, proposto por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999). As amostras foram preparadas sem a presença de luz a fim de evitar degradação de reagentes e compostos.

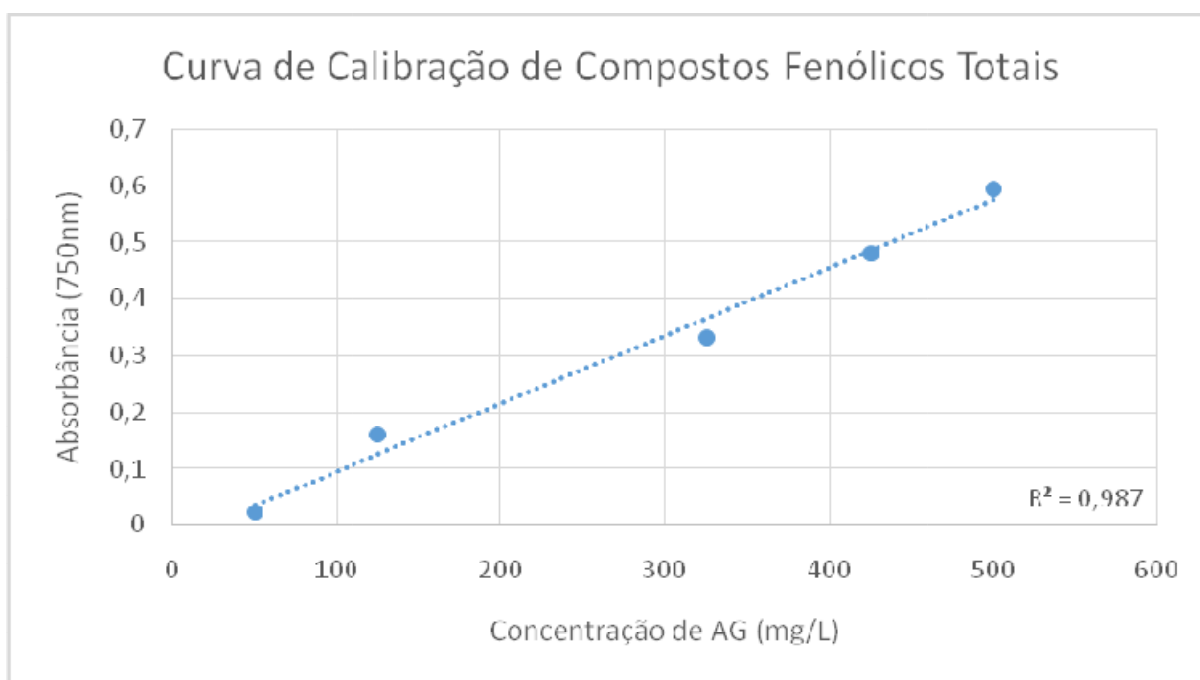
A partir do extrato líquido de vitex, foram feitas as diluições de 1:20 e 1:50 em etanol 60%. Para a reação, colocou-se 0,250 mL da solução diluída, 2 mL de água

destilada e 0,250 mL do reagente de Folin-Ciocalteu em um tubo de ensaio com tampa. Após 3 minutos à temperatura ambiente, foram adicionados 0,250 mL de solução saturada de carbonato de sódio anidro 15%. Os tubos foram colocados em banho-maria a 37 °C durante 30 min para reação, então foi medida a absorbância a 750 nm em espectrofotômetro (SPECTROstar Nano, BMG Labtech). O branco para calibração no espectrofotômetro foi preparado seguindo o mesmo procedimento, entretanto, ao invés de 0,250mL da solução com vitex foi utilizado etanol 60%. As análises foram realizadas em triplicatas.

Os resultados, em absorbância, foram substituídos na equação linear (Equação 3) obtida pela curva padrão de ácido gálico (Figura 8) construída na faixa de 50-500 mg de ácido gálico por litro, e foram, então, expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG).

$$y = 0,001x - 0,024 \quad (3)$$

Figura 8: Curva padrão de Ácido Gálico para quantificação de compostos fenólicos totais.



Fonte: Autoria própria.

4.2.2.3 Análise de estabilidade do pó

A estabilidade do pó foi avaliada nos períodos 0, 14 e 28 dias, quanto aos compostos fenólicos totais presentes nas partículas, a umidade e a atividade de água. Para isto, as partículas produzidas após atomização foram divididas igualmente em frascos de vidro com capacidade para 5 g e foram armazenadas em dessecador com solução saturada de $MgCl_2$ (umidade relativa de 33%) e em temperatura de 25 °C sob proteção de luz (SOUZA et al., 2014).

A umidade do pó de vitex foi determinada de acordo com a A.O.A.C (1996), conforme descrito anteriormente. A atividade de água foi determinada em analisador Aqualab (Decagon Devices Inc., USA) a 25 °C após estabilização das amostras nesta temperatura.

A fim de quantificar os compostos fenólicos totais do pó de vitex, realizou-se uma extração, conforme proposto por Echalar-Barrientos (2017). Para isso, em um balão volumétrico de 10 mL foram colocados 10 mg do pó de vitex e 3 mL de água destilada e o volume foi completado com etanol absoluto. A solução foi homogeneizada e filtrada com filtro de 45 μm . Esta então foi utilizada no lugar das soluções de vitex, seguindo o mesmo procedimento já descrito. Analogamente, o branco para calibração no espectrofotômetro foi preparado seguindo o mesmo procedimento, entretanto, ao invés de 0,250 mL da solução com vitex foi preparada uma solução com 10 mg de goma arábica e 3 mL de água destilada num balão volumétrico de 10 mL sendo o volume completado com etanol absoluto.

4.2.3 Etapa 3 - Produção das balas mastigáveis com o bioativo por impressão 3D

A formulação base de balas mastigáveis que, ao final da Etapa 1, apresentou melhores características reológicas e estrutura 3D com melhor definição foi a escolhida para a fortificação. Nesta etapa do projeto, o extrato de *Vitex agnus-castus* encapsulado foi adicionado à formulação de bala mastigável na proporção de 1 g/100 g.

4.2.3.1 Medidas de pH e °Brix

As medidas de pH e °Brix foram realizadas com as tintas alimentícias a 25°C antes da gelificação, seguindo a metodologia proposta por Ge et al. (2021). O °Brix foi medido em triplicata utilizando o refratômetro de bancada (ATR, Schmidt+Haensch). Para as medidas de pH, a formulação foi diluída em água deionizada em proporção 1:1 (m/m) e analisada em triplicata no pHmetro (Tec-3MP, TECNAL).

4.2.3.2 Impressão 3D

A impressão 3D das balas mastigáveis fortificadas foi realizada conforme anteriormente descrito no tópico 4.2.1.5, nas mesmas condições da formulação base.

4.2.3.3 Caracterização das balas fortificadas e avaliação da estabilidade

Logo após a impressão das balas fortificadas, as amostras foram armazenadas em embalagens plásticas, em proteção da luz sob refrigeração com temperatura constante de 4 °C (SAKULNARMRAT; KONCZAK, 2022).

A caracterização das balas fortificadas e a avaliação da estabilidade das mesmas foram realizadas no dia 0 e a cada 7 dias pelo período de 28 dias, e foram avaliados o aspecto visual, a umidade, atividade de água, sinérese, textura e concentração dos compostos bioativos retidos.

A umidade, a atividade de água e a sinérese foram realizadas conforme descrito anteriormente nos tópicos 4.2.1.1 e 4.2.1.2.

A concentração dos compostos bioativos retidos foi mensurada comparando as amostras com uma amostra da mesma formulação sem adição de vitex. Para a extração dos compostos retidos nas balas mastigáveis, primeiramente, as balas foram maceradas e dissolvidas em etanol 60% na proporção de 1:2 (m/v). A dispersão foi então centrifugada (a 4 °C, 5000 rpm por 10 min) e o sobrenadante resultante foi separado. O processo foi repetido quatro vezes, até que os resíduos da bala mastigável se mostrassem esbranquiçados e o sobrenadante, sem coloração adicional. O sobrenadante resultante foi filtrado (com filtro de 45 µm) e analisado quanto à concentração de compostos fenólicos. O processo para desenvolvimento da reação foi análogo ao realizado com o pó do vitex, entretanto, antes da medição

da absorvância, as amostras foram novamente centrifugadas a 4°C e 5000 rpm por 10 minutos. Com os resultados obtidos, foi calculado o tempo de meia vida dos compostos ($t_{1/2}$), com base nas Equações (4) e (5) para reações de cinética de primeira ordem, onde os parâmetros C_0 refere-se à concentração inicial, C_t à concentração do composto no tempo t (em dias) e k à taxa de reação constante.

$$-\ln \frac{C_t}{C_0} = kt \quad (4)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (5)$$

Os testes de compressão para análise do perfil de textura (Texture Profile Analysis, “TPA”) foram realizados em texturômetro (Stable Micro Systems, TA-XT2i, UK). Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente e as tintas, mantidas sob refrigeração (18 °C), foram expostas à temperatura ambiente até atingir essa temperatura, antes do início do teste. Um probe cilíndrico de 35 mm de diâmetro foi utilizado para comprimir as balas mastigáveis. A TPA consistiu de dois ciclos de compressão e descompressão, separados por um intervalo de 10 s, limitando-se a uma deformação de até 75% da altura da bala mastigável conforme proposto por Renaldi et al. (2022). Foram avaliados os parâmetros de dureza, adesividade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade.

4.2.4 Análise estatística

As medidas de umidade, atividade de água, compostos fenólicos e textura foram realizadas em triplicata e analisadas usando o software Statistica (Versão 13.5.0.17) por meio de análise de variância simples (one-way ANOVA) e teste post hoc de Tukey. Uma diferença foi considerada estatisticamente significativa quando $P \leq 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Formulação base das balas mastigáveis

O Quadro 2 apresenta os resultados da análise de umidade dos componentes da formulação base.

Quadro 2- Umidade dos componentes da formulação base.

Ingrediente	Umidade [g/ 100 g]
Amido de milho	12,23±0,16
Gelatina	11,87±0,06
Pectina	4,75±0,04

Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas)

Observou-se valores de umidade bastante significativos nos ingredientes da formulação, dessa forma, compensou-se estes valores da massa total de água que era adicionada à formulação, obtendo assim, composições ajustadas das formulações base expressas no Quadro 3.

Quadro 3- Composição ajustada com umidade dos componentes.

Componentes [g]	F1'	F2'
Amido de milho	5,61	11,22
Gelatina	8,95	0,00
Pectina	2,36	5,50
Adoçante líquido	1,11	1,11
Ácido cítrico	1,00	1,00
Aroma de morango	0,50	0,50
Corante de beterraba	0,50	0,50
Água purificada	79,97	80,17
Total	100,00	100,00

A sinérese ou liberação de água é um fenômeno que pode comprometer a integridade e a estabilidade das balas mastigáveis impressas, além de tornar o produto visualmente desagradável (QIU et al., 2023). Usualmente, o açúcar, além de garantir o dulçor, desempenha papel importante como agente aglutinante em balas mastigáveis, evitando alta sinérese (MARINGKA et al., 2024). Entretanto, na

presente análise, não se observou perda de água, atribuindo à gelatina e à pectina a função de reter a água na formulação.

5.2 Análise reológica das formulações base

A determinação das propriedades reológicas das tintas alimentícias é de extrema importância para entender o desempenho destas durante a impressão, isto é, sua capacidade de ser extrudada pelo pequeno diâmetro da agulha da impressora e ainda assim, garantir a estabilidade estrutural do objeto impresso (ZHOU et al., 2023). Dessa forma, foram feitas as curvas de fluxo a 23 e 37 °C com a formulação com gelatina, entretanto a essas temperaturas observou-se escorregamento entre as placas durante o ensaio com a formulação sem gelatina, assim, optou-se por realizar as análises reológicas a 70 °C com essa formulação. As curvas de escoamento para o aumento e a diminuição gradual da deformação sobre cada fluido a diferentes temperaturas são apresentadas nas Figuras 9 e 10.

Figura 9- Curvas de fluxo das formulações base a 23, 37 e 70 °C- 1º ciclo.

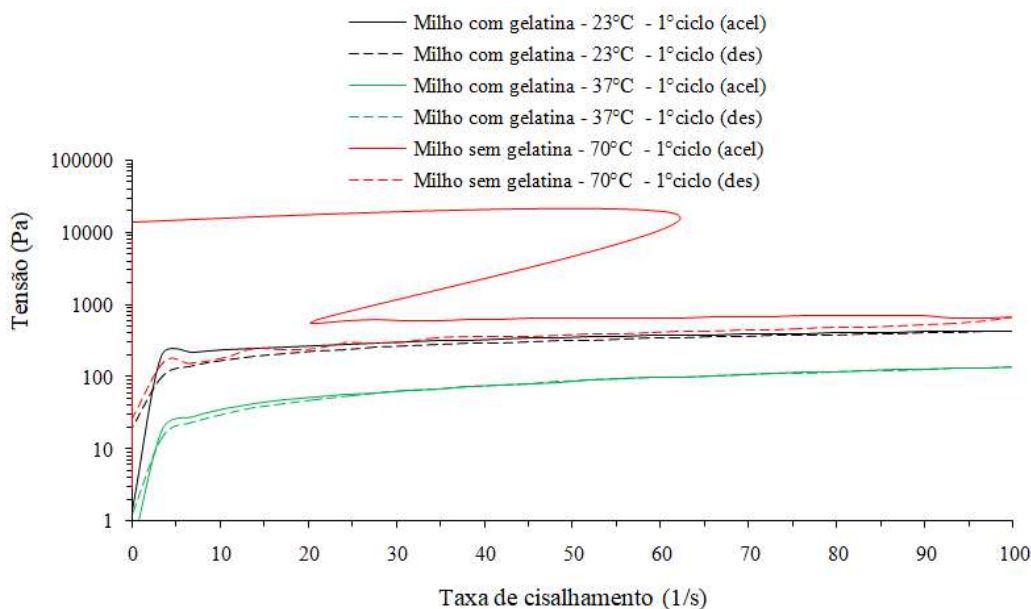
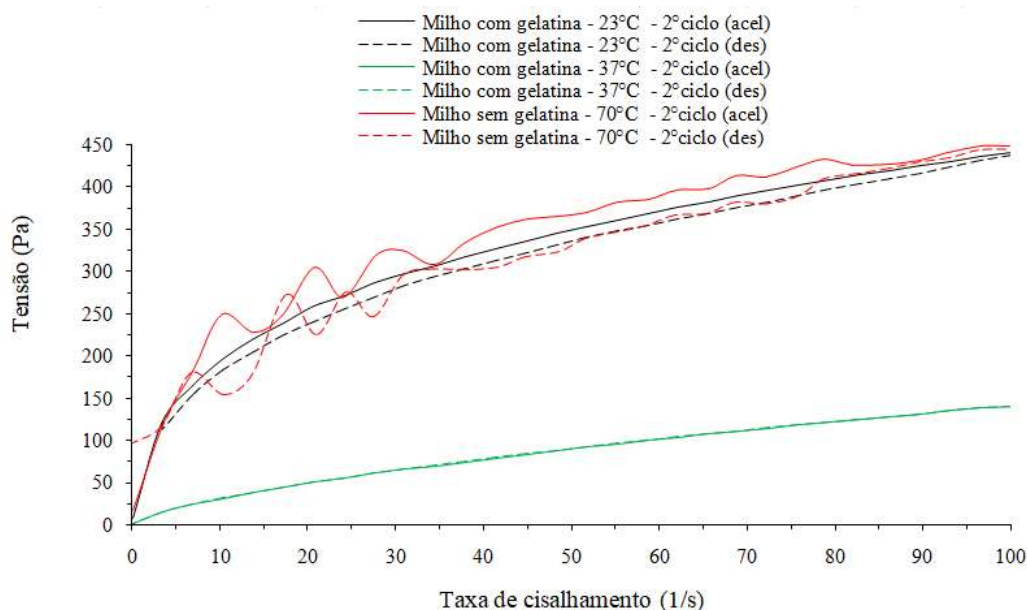


Figura 10- Curvas de fluxo das formulações base a 23, 37 e 70 °C- 2° ciclo.



A partir das curvas é possível notar que há uma diferença na tensão de cisalhamento em relação a curva ascendente com a curva descendente. Esse fenômeno resultante da quebra do gel é conhecido como histerese e pode ser quantificado como a área entre as curvas de fluxo (MATHIAS et al., 2013). Os valores de histerese das formulações estudadas estão apresentados no Quadro 4 abaixo.

Ademais, na Figura 9, observou-se que a curva da formulação com gelatina a 37 °C apresentou menor inclinação que as outras condições analisadas o que indica que esta apresenta menor resistência ao escoamento, visto que foi necessária uma força menor para que essa formulação sofresse a mesma deformação que as demais.

Quadro 4- Áreas de histerese das curvas de fluxo das formulações base estudadas.

	1° Ciclo	2° Ciclo
Com gelatina a 23°C	3384,34	1415,08
Com gelatina a 37°C	130,83	-27,59
Sem gelatina a 70°C	616898,80	2534,25

Analisando as Figuras 9 e 10 e a Quadro 4, nota-se que, em ambos os ciclos, as amostras com gelatina a 23 °C e sem gelatina a 70 °C apresentaram

consideráveis valores de histerese, o que não é observado na amostra com gelatina a 37 °C. Quanto menor a histerese, menor é o tempo de recuperação do material perante a diminuição da taxa de cisalhamento. Segundo Herrada-Machón et al. (2023), em geral, fluídos de rápida recuperação são mais adequados à impressão 3D já que esta aplicação exige controle preciso sobre o fluxo e a forma do material.

Os resultados da análise da viscosidade aparente em função da taxa de deformação foram expressos nas Figuras 11 e 12 abaixo.

Figura 11- Curvas de viscosidade aparente das formulações base a 23, 37 e 70 °C- 1º ciclo.

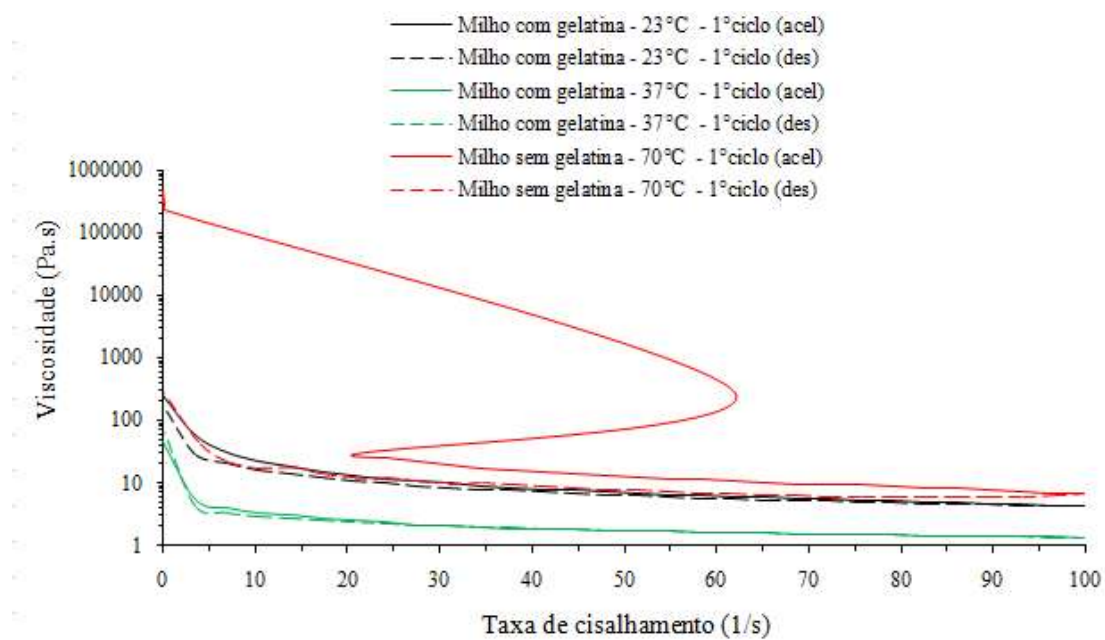
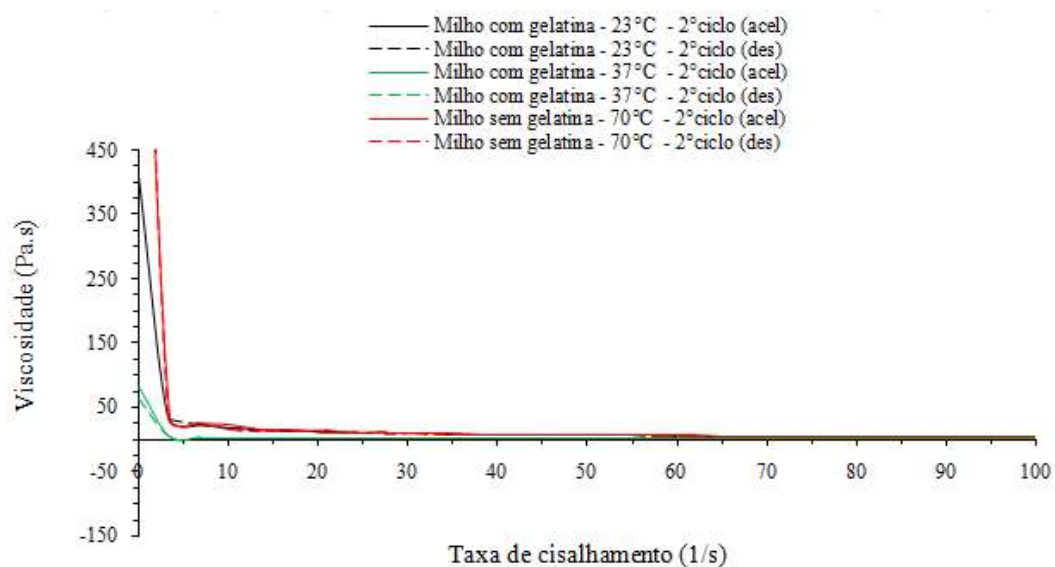


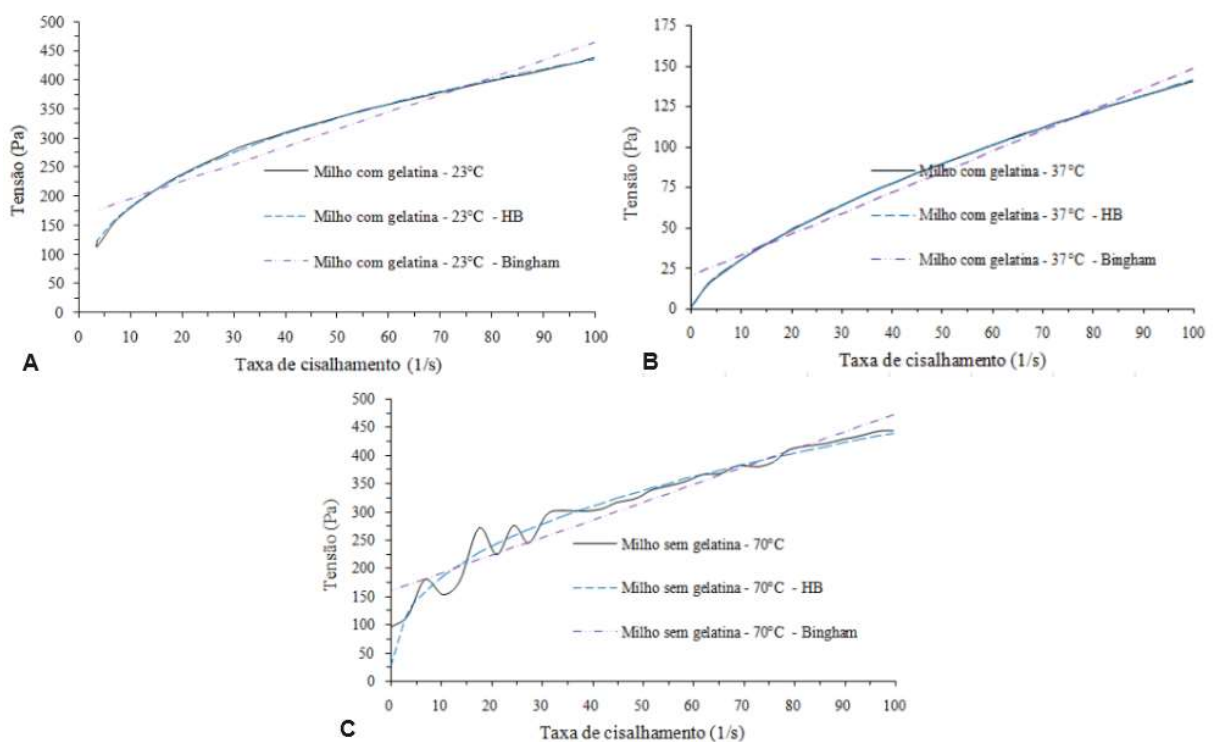
Figura 12- Curvas de viscosidade aparente das formulações a 23, 37 e 70 °C- 2º ciclo.



Com exceção da formulação sem gelatina no primeiro ciclo, as amostras apresentaram decaimento da viscosidade com aumento da taxa de cisalhamento e recuperação da viscosidade inicial com a diminuição da taxa de cisalhamento. Essa é uma propriedade desejada na impressão 3D já que deseja-se uma baixa viscosidade ao passar pelo bico da impressora (alta taxa de cisalhamento), porém uma recuperação da viscosidade mais alta na mesa da impressora (baixa taxa de cisalhamento).

Ademais, para cada condição os dados foram ajustados aos modelos reológicos de Bingham, e de Herschel-Bulkley conforme expresso na Figura 13. Os valores para o coeficiente de determinação (R^2) e para os parâmetros de cada modelo analisado estão expressos no Quadro 5 abaixo.

Figura 13- Ajuste dos modelos reológicos (A) Formulação com gelatina a 23°C (B) Formulação com gelatina a 37°C (C) Formulação sem gelatina a 70°C.



Quadro 5 - Parâmetros das formulações estimados para os diferentes modelos reológicos.

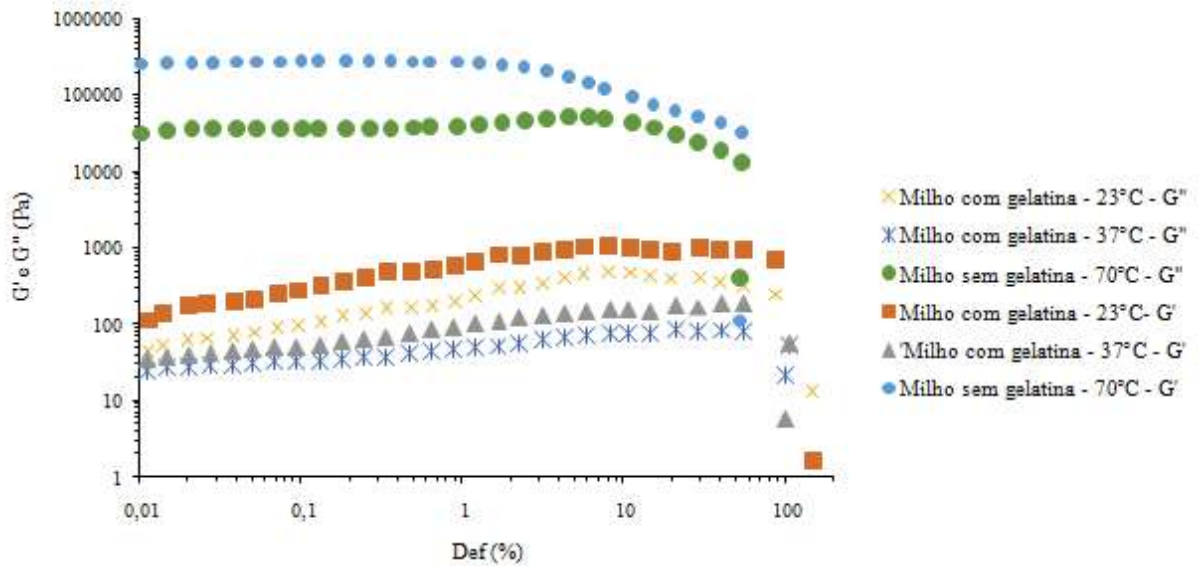
Formulação com gelatina a 23°C					
Modelo	Equação	σ_0 [Pa]	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²
Bingham	$\sigma = \sigma_0 + K\gamma$	165,48	2,98	-	0,94
Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_0 + K\gamma^n$	7,94	70,65	0,39	0,99
Formulação com gelatina a 37°C					
Modelo	Equação	σ_0 [Pa]	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²
Bingham	$\sigma = \sigma_0 + K\gamma$	20,65	1,28	-	0,98
Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_0 + K\gamma^n$	0,10	6,86	0,66	1,00
Formulação sem gelatina a 70°C					
Modelo	Equação	σ_0 [Pa]	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²
Bingham	$\sigma = \sigma_0 + K\gamma$	160,50	3,13	-	0,93
Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_0 + K\gamma^n$	0,11	76,64	0,38	0,96

Com base nos resultados obtidos, é possível notar que, no modelo de Herschel-Bulkley, a formulação com gelatina a 37 °C e sem gelatina a 70 °C apresentam valores de tensão de escoamento (σ_0) praticamente nulos, enquanto apresentam valores do coeficiente de consistência (K) maiores que zero e índices de comportamento (n) entre zero e um, indicando que estes materiais são pseudoplásticos.

Por outro lado, a formulação com gelatina a 23 °C apresenta valor considerável de tensão de escoamento, indicando que é necessário aplicar essa tensão para que o fluido atinja fluxo, de forma que, abaixo desse valor, o material exibe características sólidas, sendo, portanto, considerado um plástico de Herschel-Bulkley (STEFFE, 1996).

O teste LAOS permite a investigação da resposta viscoelástica não linear em fluidos complexos (ZHONG et al., 2024). Os valores dos módulos G' e G'' obtidos nesse teste foram expressos na Figura 14.

Figura 14- Módulos G' e G'' obtidos pelo teste LAOS.



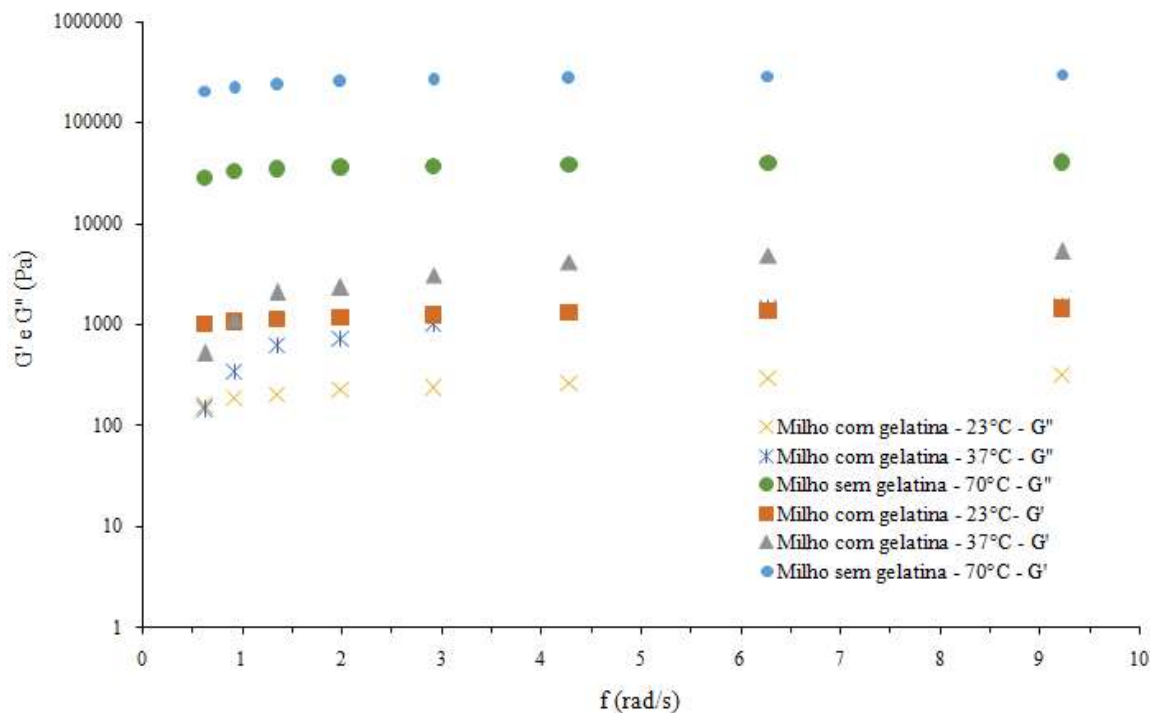
A partir das curvas obtidas é possível identificar a região de viscoelasticidade linear dos materiais (LVR), ou seja, a região em que a deformação aplicada não destrói a estrutura da amostra. O limite da LVR foi determinado pela deformação em que o valor de G' deixa de ser constante, que no caso, identificou-se ser de aproximadamente 0,13% para as amostras com gelatina e de 1% para as amostras sem gelatina. Observou-se que na LVR todas as amostras apresentaram G' maior que G'' , indicando predominância de um comportamento de material viscoelástico sólido. Ademais, notou-se que, em taxas de deformação próximas da máxima atingida, obteve-se menores valores de G' indicando quebra da rede de gel.

O comportamento obtido mostrou-se similar ao observado por Zhong et al. (2024) na análise reológica de tintas de impressão 3D produzidas com amido em pó de gema de ovo. Assim como na literatura, observou-se um pequeno aumento do valor de G'' (com aumento da deformação) anterior ao seu decaimento. Segundo esses pesquisadores, esse aumento da deformação acabou gerando uma taxa de formação de rede de gel maior que sua taxa de cisalhamento, entretanto, com o aumento da deformação, esta última superou a taxa de formação, gerando queda do valor de G'' .

O teste de SAOS é importante para se entender melhor a estrutura interna do material e seu comportamento em função do tempo em uma região de deformação não destrutiva, de forma que as altas frequências representam a extrusão enquanto as baixas frequências reproduzem o comportamento do material já em descanso

(HERRADA-MANCHÓN et al., 2023). Dessa forma, fixou-se a deformação em 0,1%, já que nessa taxa todas as amostras estariam na LVR. Os valores dos módulos G' e G'' obtidos neste teste estão expressos na Figura 15.

Figura 15- Módulos G' e G'' obtidos pelo teste SAOS.



A partir da Figura 15, é possível notar que todas as formulações analisadas apresentam valores de G' maiores que de G'' indicando que as formulações apresentam propriedades reológicas e comportamento típico de gel fraco, igualmente identificado por Herrada-Manchón et al. (2020).

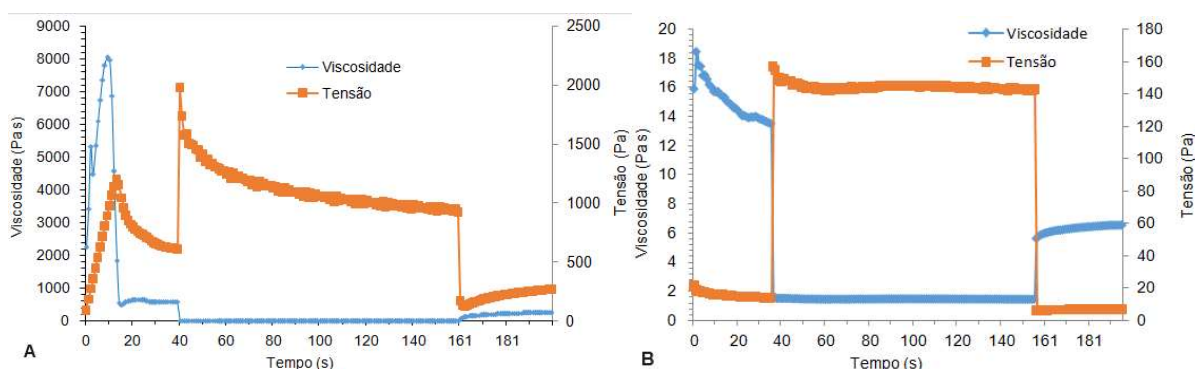
Conforme previsto na metodologia, o ensaio de tixotropia foi realizado com taxa de cisalhamento calculadas com os valores do índice de comportamento (n) obtidos pela caracterização dos fluidos (expressos no Quadro 5) e pelas condições de impressão (velocidade de impressão de 6 mm/s, diâmetro da seringa de 14,31 mm e diâmetro da agulha de 0,70 mm). Os parâmetros aplicados à Equação 3 estão expressos no Quadro 6 abaixo.

Quadro 6- Parâmetros utilizados para o cálculo da taxa de cisalhamento do ensaio de tixotropia.

Condição	Formulação	v (mm/s)	n	R (mm)	γ (s^{-1})
Baixo cisalhamento	com gelatina a 23°C	6	0,39	7,16	4,66
	com gelatina a 37°C	6	0,66	7,16	3,78
	sem gelatina a 70°C	6	0,38	7,16	4,72
Alto cisalhamento	com gelatina a 23°C	6	0,39	0,35	95,35
	com gelatina a 37°C	6	0,66	0,35	77,51
	sem gelatina a 70°C	6	0,38	0,35	96,70

Com base nestes resultados, foram escolhidos os limites máximo e mínimo de $1s^{-1}$ e de $100s^{-1}$ no ensaio de avaliação da tixotropia da formulação, respectivamente. Esse ensaio não foi possível de ser realizado com a formulação sem gelatina devido ao escorregamento das placas. A Figura 16 expressa a resposta da tensão das formulações às taxas de cisalhamento determinadas.

Figura 16- Teste de recuperação de cisalhamento para avaliação de tixotropia (A) Formulação com gelatina a 23°C (B) Formulação com gelatina a 37 °C



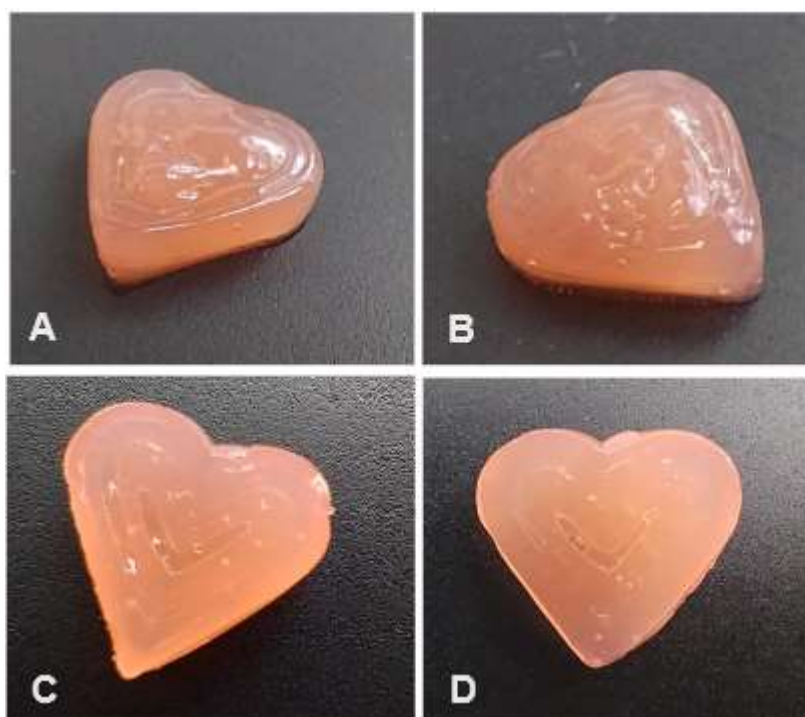
Como pode ser observado na Figura 16, o teste de tixotropia em três etapas expôs o comportamento tixotrópico das formulações com gelatina, com recuperação da sua estrutura, pelo valor da viscosidade próxima da apresentada inicialmente após o intervalo de alta taxa de cisalhamento. Em particular, a formulação com gelatina a 37 °C mostrou uma maior recuperação de viscosidade com alteração da

taxa de cisalhamento, assim como tendência de aumento da viscosidade com o tempo ao final dos 200s do teste, indicando propensão a recuperar a viscosidade inicial. Este resultado obtido é bastante similar ao resultado obtido por Herrada-Manchón et al. (2020) e pelo apresentado por Paxton et al. (2017), o qual garante que a recuperação da viscosidade original é uma característica essencial para tintas de impressão 3D já que é um indicativo de que a aplicação da alta taxa de cisalhamento não causa mudanças permanentes no material.

5.3 Impressão 3D das balas mastigáveis

Com base nos dados reológicos, foram determinadas as temperaturas de impressão de 37 °C para a formulação com gelatina e de 70 °C para a formulação sem gelatina. Entretanto, devido à dificuldade de se atingir e manter em temperatura alta como 70 °C, optou-se por testar os preenchimentos de 65 e 80% utilizando a formulação com gelatina e seguir o estudo somente com essa formulação. As formulações estão apresentadas na Figura 17 abaixo.

Figura 17- *Gummy* com 65% de preenchimento (A e C) e com 80% (B e D).



Os resultados obtidos em ambos os casos se mostraram bastante similares. Entretanto, com o preenchimento de 80%, foi mais fácil retirar a forma da mesa de

impressão sem danificar a estrutura. Em ambos os casos, após o término da impressão, aguardou-se alguns minutos para que a temperatura da bala mastigável diminuísse e fosse garantida sua completa solidificação. Posteriormente, todas as amostras puderam ser facilmente manipuladas sem interferência em sua estrutura.

Portanto, a formulação com gelatina em sua composição foi selecionada para seguir para a etapa de fortificação e as condições de impressão utilizadas foram: temperatura de 37 °C e preenchimento da estrutura de 80%.

Durante e após a impressão, notou-se que as amostras obtidas apresentaram pequeno desvio da geometria alvo, evidenciado pela superfície irregular e o aspecto de “inchaço”. Esse fenômeno, conhecido como ‘*die swell*’ também foi percebido por Liu et al. (2018) e caracteriza a expansão que fluidos com fortes propriedades viscoelásticas podem sofrer ao passarem por bico da impressora e serem submetidos a uma força de cisalhamento menor que a exercida pela parede da agulha de impressão.

5.4 Quantificação de compostos fenólicos totais do extrato de vitex

A partir das diluições, obteve-se que o teor de compostos fenólicos totais presentes no extrato líquido é de 47,3±2,4 mg EAG/g de fruto seco, quantidade bastante significativa.

Echalar-Barrientos (2017), realizou a extração de compostos fenólicos dos frutos secos de vitex nas mesmas condições empregadas e obteve um teor quase 3 vezes maior que o obtido no presente estudo. Acredita-se que essa diferença possa ser decorrente das diferentes origens dos frutos de vitex e da possível diferença de tempo e armazenagem do produto antes da compra. Sarikurkcü et al. (2009) também quantificaram o teor de fenólicos dos extratos obtidos a partir dos frutos de vitex, porém, empregaram a técnica de extração Soxhlet por 5 horas com 250 mL do solvente, que poderia ser água ou metanol obtendo, respectivamente, 112,46 e 46,50 mg EAG por grama de fruto seco. Portanto, pode-se dizer que o teor de fenólicos obtido está condizente com o encontrado na literatura.

5.5 Análise de estabilidade do pó de vitex

O teor de compostos fenólicos foi determinado logo após a produção do pó e a retenção desses compostos bioativos foi calculada pela Equação 6, conforme proposto por Echalar-Barrientos (2017). Os resultados foram expressos no Quadro 7.

$$\text{Retenção} = \frac{\text{Teor de fenólicos no pó}}{\text{Teor de fenólicos no extrato líquido}} \times 100 \quad (6)$$

Quadro 7- Teor de compostos fenólicos e retenção destes no pó obtido por spray-dryer.

	Teor de compostos fenólicos totais (mg EAG/g de fruto seco)	Retenção
Pó dia 0	44,68	94,38%

Observou-se que a retenção dos compostos fenólicos obtida foi bastante alta, tendo a perda de compostos fenólicos explicadas pela exposição à luz e à alta temperatura (160 °C) no processo de atomização. Nas mesmas condições, Echalar-Barrientos (2017) obteve uma retenção de 81%, o que é bastante inferior à encontrada no presente estudo, porém obteve um teor de fenólicos de 45,4 mg EAG/g amostra em base seca, o que é bastante próximo do obtido.

Os resultados de compostos fenólicos totais, umidade e atividade de água do pó estão expressos no Quadro 8.

Quadro 8- Caracterização do pó de vitex quanto a teor de compostos fenólicos, umidade e atividade de água ao longo da estocagem de 28 dias.

	Dia 0	Dia 14	Dia 28
Teor de fenólicos totais (mgEAG/g de fruto seco)	44,68±5,34 ^a	22,73±1,69 ^b	23,85±1,44 ^b
Umidade (%)	7,09±0,07 ^c	9,38±0,18 ^b	10,30±0,23 ^a
Atividade de água	0,19±0,01 ^c	0,42±0,01 ^b	0,45±0,01 ^a

Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Diferentes letras na mesma linha diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

Analisando o teor de compostos fenólicos totais, nota-se que o valor obtido no dia 0 difere significativamente dos demais ($P \leq 0,05$), de forma que do dia 0 ao dia 14 houve uma perda nas partículas dos compostos fenólicos de quase 50%, enquanto que do dia 14 ao dia 28 de avaliação, o teor de fenólicos se manteve constante. A perda destes compostos pode estar relacionada com o ganho de umidade pelas partículas, até que a umidade relativa do meio em que as partículas estavam armazenadas se mantivesse constante. Como os compostos fenólicos são solúveis em água, os mesmos podem ter migrado da partícula para o filme de água formado em volta da mesma e, com isso, se tornaram mais suscetíveis à degradação. A estabilidade dos compostos bioativos de vitex produzido nas mesmas condições por Echalar-Barrientos (2017) se mostrou estável durante a estocagem a 25 °C e 32,8% UR por 60 dias, apresentando perdas de apenas 0,76% nesse período.

Analisando os valores obtidos para atividade de água e para umidade, observa-se que os valores de cada parâmetro são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) entre si. Acredita-se que isto tenha ocorrido, provavelmente, devido a desestabilização das amostras até que o equilíbrio com o ambiente fosse atingido e esses aumentos nas taxas de umidade e atividade de água podem estar relacionados, já que as amostras absorveram parte da água disponível no ambiente, o que também foi observado por Echalar-Barrientos (2017).

Mesmo assim, os valores obtidos para atividade de água (0,19-0,45) são considerados baixos e suficientes para evitar a proliferação de microrganismos e para manter a estabilidade física do produto. Estes valores também estão em concordância com o que foi encontrado por Echalar-Barrientos (2017), entre 0,30 e 0,44. O intervalo dos valores de umidade obtidos é maior que os valores de umidade referentes a pós secos especificados na indústria alimentícia, isto é, de 3 a 4% (KARACA et al., 2015; ECHALAR-BARRIENTOS, 2017). Entretanto, os valores estão próximos aos encontrados por Echalar-Barrientos (2017), 3,4-7,1%, podendo ser explicado pela higroscopicidade intrínseca do vitex estudada pela autora.

Baixos valores de umidade e atividade de água são desejáveis para produtos em pó, como o extrato encapsulado, uma vez que previnem aglomeração das partículas e “caking”, melhorando sua dispersão (RUBIO et al., 2022).

5.6 Produção das balas mastigáveis com o bioativo por impressão 3D

A Figura 18 exibe o processo de impressão da bala mastigável com pó de vitex e a bala mastigável resultante. Comparando visualmente com a bala mastigável sem adição de vitex, é possível notar que a adição do composto gerou um pequeno escurecimento na coloração da amostra.

Figura 18- (A) Produção da bala mastigável por impressão 3D (B) Bala mastigável fortificada (C) Bala mastigável controle.



Ademais, o *gummy* produzido apresentou características estruturais idênticas ao observado no produzido com a formulação base, de forma que, alguns minutos após a impressão, a bala apresentou sustentação estável e pode ser facilmente manuseada como observado na Figura 19.

Figura 19- Manuseio da bala mastigável produzida minutos após a impressão 3D.



5.7 Medidas de pH e °Brix da formulação fortificada

O Quadro 9 apresenta os dados de pH e o teor de sólidos solúveis da formulação com pó de vitex.

Quadro 9- Caracterização da formulação com vitex.

pH	3,92±0,01
Teor de sólidos solúveis [°Brix]	27,11±0,07

Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas)

De acordo com Ge et al. (2021), em formulações de gummies, o teor de sólidos solúveis geralmente varia de 74 a 80 °Brix, enquanto o pH varia de 3 a 5. Comparando com os valores obtidos, nota-se que o valor de pH está contido no intervalo esperado. A condição ácida é importante para a formação da rede de gel e, consequentemente, melhorar a consistência e textura dos *gummies* (GE et al.,2021). Por outro lado, a divergência observada no índice de refração está relacionada aos componentes da formulação, já que na literatura tomou-se como referência balas mastigáveis com grandes quantidades de sacarose e xarope de glicose em sua composição, os quais são definitivos no valor do teor de sólidos solúveis.

5.8 Análise de estabilidade das balas mastigáveis fortificadas

5.8.1 Atividade de água, umidade e sinérese

A atividade de água e a umidade das balas mastigáveis ao longo dos 28 dias de estocagem foram expressas no Quadro 10.

Quadro 10- Caracterização das balas mastigáveis em relação à atividade de água e à umidade ao longo da estocagem.

	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Atividade de água	0,995 ^b ±0,001	0,994 ^b ±0,001	0,995 ^b ±0,001	0,998 ^a ±0,001	0,995 ^b ±0,001
Umidade (%)	80,29 ^b ±0,73	81,63 ^a ±0,10	81,65 ^a ±0,20	81,45 ^a ±0,22	81,53 ^a ±0,09

Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Diferentes letras na mesma linha diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

Analisando os valores apresentados no Quadro 10, nota-se que a atividade de água das balas mastigáveis se manteve estável longo dos dias, não havendo

diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os valores apresentados, com exceção do valor obtido no dia 21, a qual apresentou um aumento da atividade de água que acredita-se que seja proveniente, provavelmente, de erros no preparo da amostra.

Comparando os resultados obtidos com os apresentados por Maringka et al. (2024) que desenvolveram *gummies* com polidextrose, isomalto-oligossacarídeos, fruto-oligossacarídeos e xilitol como substitutos do açúcar, a atividade de água em ambos os casos foi bastante alta, sendo de 0,73 a 0,85 para o estudo de Maringka et al. (2024) e de 0,99 para o presente estudo. Acredita-se que isso se deva à ausência de açúcar ou xaropes nas composições. Ademais, segundo os autores, a quantidade de umectante de baixo peso molecular, em especial o xilitol, é inversamente proporcional à atividade de água mensurada, sendo mais um fator que pode explicar a maior atividade de água verificada no presente estudo, já que esta apresenta menor quantidade de xilitol (usou-se 1,1 g no presente estudo enquanto que Maringka et. al usaram 42 g de xilitol).

Observando os valores de umidade das balas mastigáveis, nota-se que apenas a taxa de umidade do dia 0 difere significativamente ($P \leq 0,05$) das demais. Assim, pode se dizer que houve um pequeno incremento da umidade da amostra nos primeiros 7 dias, entretanto esta se manteve estável no restante do período de análise, sugerindo que, durante a primeira semana após a sua produção, as amostras estavam se adaptando ao ambiente até que a estabilização fosse alcançada.

Em relação à umidade, Hartel et al. (2018) mostraram que teores de umidade entre 50 e 60% são os desejáveis para *gummies*. Entretanto, no presente estudo, obteve-se valores acima do esperado, acredita-se que devido a presença de grande quantidade de água e ingredientes de base aquosa (aroma, corante e adoçante líquido) na composição.

A sinérese é um indicador importante da tendência do amido à se deteriorar (KARIN, NORZIAH, SEOW, 2000). Ademais, obteve-se que não houve liberação de água pelas amostras durante o período de 28 dias e, portanto, assume-se que não houve deterioração do amido presente na formulação.

5.8.2 Quantificação de compostos fenólicos

O teor dos compostos fenólicos ao longo do tempo das balas mastigáveis produzidas por impressão 3D pode ser observado no Quadro 11.

Quadro 11- Teor de fenólicos totais (mg EAG/g de *gummy*) ao longo da estocagem das balas mastigáveis.

	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Controle	1,39 ^a ±0,09	1,31 ^{ab} ±0,12	1,30 ^{ab} ±0,07	1,13 ^b ±0,09	1,09 ^b ±0,07
Vitex	2,89 ^a ±0,13	2,43 ^b ±0,09	2,63 ^{ab} ±0,21	2,39 ^b ±0,07	2,31 ^b ±0,09

Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Diferentes letras na mesma linha diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

Os resultados apresentados no Quadro 11 indicam que o teor de compostos fenólicos promovido pela adição de vitex 1% m/m é bastante relevante já que representa mais de 50% do teor de compostos fenólicos total nas balas mastigáveis sendo o restante atribuído aos compostos fenólicos presentes no corante natural de beterraba.

Ademais, observa-se que as formulações sem vitex e com vitex apresentaram perda de compostos fenólicos de 21,58% e 20,07%, respectivamente, os quais são valores bastante próximos. Esta convergência poderia indicar que os compostos bioativos degradados são exclusivos do corante natural, entretanto não é possível assumir essa conclusão já que na própria análise de estabilidade do pó de vitex, observou-se uma grande perda de fenólicos deste.

Nesse sentido, nota-se que a formulação sem o vitex apresenta uma queda do teor de compostos fenólicos controlada, de forma que os valores dos dia 7 e 14 não diferem significativamente ($P \leq 0,05$) nem da amostra do dia 0 nem das amostras dos dia 21 e 28, sendo estas últimas significativamente diferentes do primeiro dado da análise. Por outro lado, esse comportamento não é repetido na formulação com vitex, pois a amostra do dia 7 se mostrou significativamente diferente da obtida no primeiro dia, distintivamente do observado na amostra do dia 14 que se mostrou igual às amostras do dia 0 e dia 21. Assim, como os compostos fenólicos não podem ter sido gerados espontaneamente, acredita-se que houve uma falha na metodologia de extração no dia 7, de modo que os compostos fenólicos encapsulados não tenham sido extraídos totalmente, acarretando em erros na quantificação.

Finalmente, calculou-se o tempo de meia-vida dos compostos fenólicos nas balas mastigáveis com vitex. Obteve-se uma taxa de reação (k) de 0,008 dias⁻¹ e um tempo de meia vida de 86,64 dias. Dessa forma, é possível garantir a ingestão dos compostos fenólicos dos *gummies* desde que sejam consumidos dentro desse período.

5.8.3 Análise visual

A Figura 20 mostra a estrutura das balas mastigáveis com vitex produzidas por impressão 3D ao longo de 28 dias.

Figura 20- Fotografias das balas mastigáveis produzidas por impressão 3D ao longo de 28 dias de estocagem.



Primeiramente, nota-se que as balas mastigáveis produzidas apresentam certa variação de formato devido, principalmente, ao fenômeno de '*die-swell*' observado durante a impressão.

Ademais, observa-se que, visualmente a coloração das amostras se manteve estável, assim como a definição de suas formas exteriores. Entretanto, é possível observar que as amostras foram perdendo brilho com o passar do tempo, tornando-se mais opacas ao final do período de análise.

5.8.4 Análise do perfil de textura

Os valores dos atributos obtidos a partir dos ensaios de TPA estão expressos no Quadro 12.

Quadro 12- TPA das balas mastigáveis produzidas por impressão 3D.

	Dureza (N)	Coesividade	Elasticidade (mm)	Mastigabilidade (mJ)	Adesividade (mJ)
Dia 0	1,86 ^c ±0,11	0,87 ^a ±0,01	2,24 ^a ±0,01	3,64 ^c ±0,22	0,08 ^c ±0,02
Dia 7	3,20 ^{ab} ±0,57	0,82 ^b ±0,02	2,25 ^a ±0,00	5,87 ^{ab} ±0,88	0,18 ^{ab} ±0,03
Dia 14	2,58 ^{abc} ±0,11	0,81 ^b ±0,00	2,25 ^a ±0,00	4,72 ^{bc} ±0,20	0,21 ^a ±0,02
Dia 21	3,69 ^a ±0,77	0,85 ^{ab} ±0,03	2,25 ^a ±0,00	7,03 ^a ±1,42	0,12 ^{bc} ±0,05
Dia 28	2,48 ^{bc} ±0,07	0,86 ^{ab} ±0,02	2,24 ^a ±0,00	4,76 ^{bc} ±0,14	0,13 ^{abc} ±0,01

Média ± desvio padrão (n = 3 replicadas). Diferentes letras na mesma coluna diferem significativamente entre si ($P \leq 0,05$).

A dureza corresponde à resistência da estrutura do gel sob pressão e está diretamente relacionada com a força máxima necessária para distorcer os *gummies* na primeira mordida (Renaldi et al., 2022). Analisando os valores obtidos para dureza, expressos no Quadro 12, é possível perceber que estes sofrem grande variação ao longo do intervalo de tempo de análise sendo significativamente diferentes entre si ($P \leq 0,05$). Do dia 0 ao dia 7, observa-se aumento considerável (72%) da dureza das balas mastigáveis que pode estar relacionado com a estruturação do gel que foi desestabilizado durante a impressão no dia 0.

Os valores obtidos para a dureza no presente estudo estão em concordância com os valores obtidos por Teixeira-Lemos, et al. (2021) de 1,91 a 6,52N para *gummies* produzidos com suco de laranja e mel, mas bastante inferiores (equivalente à metade do valor) aos encontrados por Abinaya, Sharmila, Priya et al. (2023) para *gummies* produzidos com excedente de cebola. De acordo com Gunes et al. (2022), quanto menor a quantidade de água e maior quantidade de hidrocolóide na composição da bala mastigável, maior é a dureza desta. Assim, acredita-se que a divergência encontrada entre os valores da literatura seja, principalmente, decorrente da diferença da quantidade de água das formulações, já que as formulações do presente estudo e de Teixeira-Lemos, et al. (2021) apresentam em torno de 80% de componentes líquidos, enquanto que na formulação de Abinaya, Sharmila, Priya et al. (2023) este valor não chega a 60%.

A coesividade está associada à capacidade do material a resistir a uma segunda deformação em relação à resistência apresentada sob a primeira deformação (Texture Technologies, 2024). As amostras analisadas apresentaram valores de coesividade acima de 0,80 indicando pouca mudança de forma após o primeiro ciclo de compressão. Os valores obtidos se assemelham ao intervalo de 0,87 a 0,89 relatado por Yusof et al. (2019) para *gummies* de lichia com gelatina.

Elasticidade é a capacidade do produto de se recuperar fisicamente após ser submetido a uma deformação, sendo inversamente proporcional à dureza (MARINGKA et al., 2024). A partir dos valores expressos no Quadro 13, pode-se assumir que a elasticidade das amostras se manteve constante ao longo do período de análise, apresentando valores iguais estatisticamente ($P \leq 0,05$), e que estas apresentam boa elasticidade, já que após a primeira compressão, as amostras recuperam quase 100% de sua estrutura inicial.

O produto da dureza, da coesividade e da elasticidade corresponde à mastigabilidade, ou seja, a força necessária na mastigação para quebrar o alimento antes de engolir (YUSOF et al., 2019). Analisando os valores de mastigabilidade obtidos no Quadro 12, nota-se que estes apresentam baixa estabilidade, apresentando diferenças significativas ($P \leq 0,05$), a qual é decorrente das variabilidades do atributo de dureza.

Por fim, a adesividade representa o trabalho necessário para separar o alimento do probe de compressão, em termos populares, é uma forma de quantificar

quão pegajoso o produto é (STEFFE,1992). Observou-se que os valores de adesividade obtidos são da ordem centesimal, indicando que as amostras não grudam facilmente no probe de compressão, o que é bastante interessante do ponto de vista comercial, já que espera-se que o *gummy* não mele a mão do consumidor pois isso poderia gerar incômodo.

Embora os valores da maioria dos parâmetros não tenham apresentado linearidade, acredita-se que a baixa estabilidade no restante dos dias pode estar relacionada com a variabilidade dos formatos das amostras, conforme identificado na análise visual, além da configuração interna dos *gummies* e da quantidade de ar dentro dela, já que as balas mastigáveis não são totalmente maciças (apresentam preenchimento de 80%).

6. CONCLUSÕES

A formulação de bala mastigável com gelatina, pectina e amido de milho se mostrou adequada para a impressão 3D e para fortificação com vitex. Nos ensaios de reologia, identificou-se que essa formulação a 37 °C apresentou baixa resistência ao escoamento e rápida recuperação da viscosidade original com mudanças bruscas na taxa de cisalhamento, características essenciais para tintas de impressão 3D.

A microencapsulação dos bioativos do vitex por meio da técnica de *spray-drying* garantiu retenção de cerca de 94% dos compostos fenólicos presentes no extrato líquido do vitex e preservou cerca de 50% desse teor ao longo de 28 dias de análise. Ademais, durante esse período obteve-se baixos valores de umidade (7,09-10,30%) e atividade de água (0,19-0,45) que preveniram proliferação de microorganismos e aglomeração de partículas, importantes para integridade física do produto.

A produção das balas mastigáveis por impressão 3D teve ótima performance, resultando em *gummies* estruturalmente estáveis e de aparência atrativa e apetitosa, os quais puderam ser fortificados com vitex 1%/m. As balas mastigáveis fortificadas apresentaram sinérese nula e atividade de água e umidade praticamente constantes ao longo de 28 dias, indicando estabilidade. Ademais, nesse mesmo intervalo de tempo, os *gummies* preservaram 80% do teor de compostos fenólicos garantindo um tempo de meia-vida de 86,6 dias ao produto.

No período de análise de estabilidade, as balas mastigáveis também mantiveram sua aparência e textura características. Em relação à textura, foram examinados os parâmetros de dureza, coesividade, elasticidade, mastigabilidade e adesividade que se mostraram em concordância com os valores encontrados na literatura. Em particular, destaca-se os altos valores de elasticidade encontrada ao longo dos dias e os baixos valores de adesividade de ordem centesimal que caracterizam, respectivamente, a recuperação da estrutura do gummie após ser submetido a uma força e o aspecto não-pegajoso deste que eram esperados para o produto.

Portanto, foi possível produzir uma formulação apropriada para impressão 3D, capaz de ser fortificada e que apresentasse boa estabilidade física após a produção. Também foi possível extrair compostos fenólicos do *Vitex agnus-castus*, encapsulá-los e aplicá-los como ingrediente funcional em gummies para atenuar sintomas da síndrome pré-menstrual.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABINAYA, K., SHARMILA, K., PRIYA, S. et al. Valorization of surplus onion for the development and characterization of antioxidant-rich gummies. **Food Hydrocolloids for Health** **3**, e.100130, 2023.
- AL-MUSLIMAWI, A. et al. Simulation of viscoelastic and viscoelastoplastic die-swell flows. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v.191, p. 45–56, 2013.
- A.O.A.C. Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington: AOAC International, 1996.
- BARRIENTOS M. A. E., MAEDA J. M.K, CHAVES I.E, et al. Production of vitex (*Vitex agnus-castus* L.) extract in powder form using spray-drying: Potential for the production of functional foods. **Journal of Food Process Preserv**, v. 45, p. 15333, 2021.
- BITENCOURT, B. S., et al. Mineral bioaccessibility in 3D printed gels based on milk/starch/κ-carrageenan for dysphagic people. **Food Research International**, v.170, e. 113010, 2023.
- BRASILEIRO, J. S. L. **Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas**. Dissertação (Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2011.
- CASTANHA, N. et al. Properties and possible applications of ozone-modified potato starch. **Food Research International**, v. 116, p. 1192–1201, 1 fev. 2019.
- CHEN, Y.; ZHANG, M.; BHANDARI, B. 3D Printing of Steak-Like Foods Based on Textured Soybean Protein. **Foods**, 26 ago. 2021.

ČIŽAUSKAITĖ, U. et al. Natural Ingredients-Based Gummy Bear Composition Designed According to Texture Analysis and Sensory Evaluation In Vivo. **Molecules**, v. 24, 2019.

CONSTANTINO, A. B. T. GARCIA-ROJAS, E. E. Microencapsulation of beta-carotene by complex coacervation using amaranth carboxymethyl starch and lactoferrin for application in gummy candies. **Food Hydrocolloids**, v. 139, 2023.

ECHALAR-BARRIENTOS, M. A. **Obtenção, caracterização, encapsulação e aplicação do extrato de vitex (*Vitex agnus castus* L.)** 2017. 127 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

FERNANDES, A.C.S. et al. Gummies candy enriched with Konjac glucomannan reduces hunger intensity and waist circumference of overweight individuals. **International Journal of Biological Macromolecules**, V.226, p. 72–76, 2023.

FERNANDES A. S. et al, Bigels as potential inks for extrusion-based 3d food printing: Effect of oleogel fraction on physical characterization and printability. **Food Hydrocolloids**, v. 144, e.108986, 26 jun. 2023.

GE, H. et al. Effects of hydrocolloids, acids and nutrients on gelatin network in gummies. **Food Hydrocolloids**, v. 113, 2021.

GRANATA, P. et al. Drug-loaded vegan gummies for personalized dosing of simethicone: A feasibility study of semi-solid extrusion-based 3D printing of pectin-based low-calorie drug gummies. **International Journal of Pharmaceuticals**, v. 651, 15 fev. 2024.

GUNES, R. et al. Soft confectionery products: Quality parameters, interactions with processing and ingredients. **Food Chemistry**, v. 385, p. 132735, 15 ago. 2022.

HARTEL, R. W., JOACHIM, H., ELBE, V., & HOFBERGER, R.. Confectionery science and technology. **Springer**. 2018.

HERRADA-MANCHÓN, H. et al. 3D printed gummies: Personalized drug dosage in a safe and appealing way. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 587, p. 119687, 25 set. 2020.

HERRADA-MANCHÓN, H., FERNÁNDEZ, M. A., AGUILAR, E. Essential Guide to Hydrogel Rheology in Extrusion 3D Printing: How to Measure It and Why It Matters? **Gels**, 2023, 9, 517. <https://doi.org/10.3390/gels9070517>.

JO, G. H. et al. Post-processing and printability evaluation of red ginseng snacks for three-dimensional (3D) printing. **Food Bioscience**, v. 42, p. 101094, 1 ago. 2021.

KARACA, A. C.; GUZEL, O.; AK, M. M. Effects of processing conditions and formulation on spray drying of sour cherry juice concentrate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 2, p. 449–455, 2016.

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. K.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v.71, p. 9-36, 2000.

KIM, H. B. et al. Optimization of extrusion process for 3D hard candy manufacture. **Journal of Manufacturing Processes**, v. 71, p. 580–588, 1 nov. 2021

LATOUI, M., et al. Extraction of phenolic compounds from *Vitex agnus-castus* L. **Food and bioproducts processing**, v.90, p. 748-754, 2012.

LIN, Q. et al. Rheology and 3D printing characteristics of heat-inducible pea protein-carrageenan-glycyrrhizic acid emulsions as edible inks. **Food Hydrocolloids**, v.147, part B, fev. 2024.

LIU, Z. et al. Linking rheology and printability of a multicomponent gel system of carrageenan-xanthan-starch in extrusion based additive manufacturing. **Food Hydrocolloids**, v.87, p. 413-424, 2019.

LIU, Z. Creation of internal structure of mashed potato construct by 3D printing and its textural properties. **Food Research International**, v. 111, p. 534-543, 2018.

LY, N. A. K. et al. Xylitol gummy bear snacks: A school-based randomized clinical trial. **BMC Oral Health**, jul. 2008.

MALAGHINI, C. M. E. et al. Impressão 3D de Alimentos: Utilização de farinha de inseto como fonte alternativa de proteínas em produtos de cereais. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Editora Científica Digital** v. 6 p. 248. 2022.

MARQUES, B. C.; RAYO-MENDEZ, L. M.; TADINI, C. C. Applying the concept of state diagram on the stability analysis of an NSP-rich ingredient extracted from overripe bananas (*Musa cavendishii* var. Nanicão). **Food Chemistry**, v. 367, p. 130639, 15 jan. 2022.

MARINGKA, C. T., et al. Development of gummy candy with polydextrose, isomaltoligosaccharides, fructo-oligosaccharides, and xylitol as sugar replacers. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 35, e.100881, 2024.

MATHIAS, T. R. S. et al. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 12-20, Campinas, jan./mar. 2013.

MURRAY, M. T. 128 - *Vitex agnus castus* (Chaste Tree), **Textbook of Natural Medicine (Fifth Edition)**, Churchill Livingstone, p. 955-958, 2020.

MUTLU, C., et al. Production of a minimally processed jelly candy for children using honey instead of sugar. **LWT**, v.93, p. 499–505, 2018.

PALACHUM, W. KLANGBUD, W. K. CHISTI, Y. Novel nutritionally-enriched gummy jelly infused with nipa palm vinegar powder and nipa palm syrup as functional food ingredients. **Heliyon**, v.9, 2023.

PAXTON, N. et al. Proposal to assess printability of bioinks for extrusion-based bioprinting and evaluation of rheological properties governing bioprintability. **Biofabrication**, v.9, 2017.
PERINI, S., ISAIA, C.F. Estudo de Revisão da Eficácia Clínica do *Vitex agnus-castus* na Saúde Feminina. **Revista Fitos**, v.2, jun. 2007.

PETTA, C. A. et al. Premenstrual syndrome as reported by Brazilian women. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v.108, p. 40-43, 2010.

PRILEPSKAYA, V.N.; LEDINA, A.V.; TAGIYEVA, A.V.; REVAZOVA, F.S. *Vitex agnus castus*: Successful treatment of moderate to severe premenstrual syndrome. *Maturitas*, v.55, p.55-63, 2006.

QIU, L.Q., et al. Investigation of 3D printing of apple and edible rose blends as a dysphagia food. **Food Hydrocolloids**, v.135.2023.

RENALDI, G. et al. Physicochemical, textural, and sensory qualities of pectin/gelatin gummy jelly incorporated with *Garcinia atroviridis* and its consumer acceptability. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 28, 2022.

RIVERO, R. et al, Development of healthy gummy jellies containing honey and propolis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.100, p 1030-1037, fev. 2020.

RUBIO, F.T.V. et al. Investigation on brewer's spent yeast as a bio-vehicle for encapsulation of natural colorants from pumpkin (*Cucurbita moschata*) peels. **Food and Function**, v. 13, p. 10096-10109, 2022.

SAKULNARMRAT, K.; KONCZAK, I. Encapsulation of *Melodorum fruticosum* Lour. anthocyanin-rich extract and its incorporation into model food. **LWT**, v. 153, p. 112546, 1 jan. 2022.

SARIKURKCU, C. et al. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, v. 47, n. 10, p. 2479–2483, 2009.

SCHELLENBERG, R. Treatment for the premenstrual syndrome with *Agnus Castus* fruit extract: prospective, randomised, placebo controlled study. **British Medical Journal: BMJ**, v.322, p.134-137, 2001.

SINGLETON, V.L; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOUTO, E. B et al. *Vitex agnus-castus* L.: Main features and nutraceutical perspectives. **Forests**, v. 11, p. 761, 2020.

SOUZA, V. B. DE et al. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, v. 164, p. 380–386, 1 dez. 2014.

STEFFE, J. F. Rheological methods in food process engineering. 2nd ed. Freeman Press: Michigan, 1996. 418 p.

TAGAMI, T. et al. 3D printing of gummy drug formulations composed of gelatin and an HPMC- based hydrogel for pediatric use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 594, p. 120118, 1 fev. 2021.

TEXTURE TECHNOLOGIES CORP. AND STABLE MICRO SYSTEMS. **TPA Measurements**. 2024. Disponível em:<<https://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis#tpa-measurements>>. Acesso em 06 de abr. de 2024.

TEIXEIRA-LEMO, E., et al. Development and characterization of healthy gummy jellies containing natural fruits. **De Gruyter, Open Agriculture**, v.6, p. 466–478, 2021.

TIREKI, S., SUMNU, G., SAHIN, S. Correlation between physical and sensorial properties of gummy confections with different formulations during storage. **Journal Food Science Technology**, v.58, p. 3397-3408, set. 2021.

VAN DIE, M. D., BURGER, H. G., TEEDE, H. J., & BONE, K. M. Vitex agnus castus extracts for female reproductive disorders: A systematic review of clinical trials. **Planta Medica**, v.79(7), p. 562–575. 2013.

VERGARA, L. P., et al. Red *pitanga* chewable candies: physicochemical, microbiological, and sensory characterization. **Food Science and Technology**, v42, e08121, Campinas, 2022.

VERKAİK, S. et al. The treatment of premenstrual syndrome with preparations of *Vitex agnus castus*: a systematic review and meta-analysis. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, p 150-166, ago. 2017.

VIEIRA, M. V. et al. 3D printed functional cookies fortified with *Arthrospira platensis*: Evaluation of its antioxidant potential and physical-chemical characterization. **Food Hydrocolloids**, v. 107, p. 105893, 1 out. 2020.

WANG, R. et al. Phase separation and gelation of gelatin-glucose syrup mixtures and gummy confections: Effects of moisture content, sugars, citric acid, and citrates. **Food Hydrocolloids**, v. 153, ago. 2024.

WASSEM, M.; TAHIR, A. U.; MAJEED, Y.; Printing the future of food: The physics perspective on 3D food printing. **Food Physics**, v.1, 17 ago. 2023.

YU, J. et al. Development of soy protein isolate emulsion gels as extrusion-based 3D food printing inks: Effect of polysaccharides incorporation. **Food Hydrocolloids**, v. 131, 2022.

YUSOF, N., et al. Texture profile analysis (TPA) of the jelly dessert prepared from halal gelatin extracted using high pressure processing (HPP). **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v.15, n. 4, p. 604–608, 2019.

ZAHD, H. et al. Phytopharmacological Review on Vitex agnus-castus: A Potential Medicinal Plant. **Chinese Herbal Medicines**, v. 8, p. 24-29, 2016.

ZHONG, Y. et al. Egg yolk powder-starch gel as novel ink for food 3D printing: Rheological properties, microstructure and application. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.91, 2024.

ZHOU, L. et al. Effect of peach gum polysaccharide on the rheological and 3D printing properties of gelatin-based functional gummy candy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, part 5, 2023.

ZHU, S. et al. How macroscopic structure of 3D printed protein bars filled with chocolate influences instrumental and sensory texture. **LWT**, v. 151, 1 nov. 2021.

ZHU, S. et al. Creating protein-rich snack foods using binder jet 3D printing. **Journal of Food Engineering**, v. 332, p. 111124, 1 nov. 2022.