

(11) Número de Publicação: **PT 106983 B**

(51) Classificação Internacional:
A23F 3/06 (2006.01) **A23F 3/40** (2006.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2013.06.03**

(30) Prioridade(s): **2014.06.01 PT 1000044593F**

(43) Data de publicação do pedido: **2014.12.03**

(45) Data e BPI da concessão: **2017.10.25**
211/2017

(73) Titular(es):

ANA CATARINA BECO PINTO REIS
RUA 24 DE JUNHO, Nº 85, 1º ANDAR 3620-358
MOIMENTA DA BEIRA PT

(72) Inventor(es):

ANA CATARINA BECO PINTO REIS PT

(74) Mandatário:

ELSA MARIA BRUNO GUILHERME
RUA VICTOR CORDON, Nº 14 - 3º 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **MÉTODO DE PRODUÇÃO DE CHÁ DE VINHO DO PORTO SOB FORMA DE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS**

(57) Resumo:

ESTA INVENÇÃO DESCREVE UM MÉTODO DE PRODUÇÃO DE CHÁ DE VINHO DO PORTO, RECORRENDO A PARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE DIÂMETRO INFERIOR A 3 MM. O MÉTODO DE PRODUÇÃO TEM VÁRIAS ETAPAS. INICIALMENTE, A PRODUÇÃO DAS PARTÍCULAS É FEITA PELO MÉTODO DE EXTRUSÃO/GELIFICAÇÃO EXTERNA E COMPREENDE A FORMAÇÃO DE SOLUÇÃO AQUOSA DE ALGINATO COM, O VINHO DO PORTO SEGUITA DA EXTRUSÃO E GELIFICAÇÃO DO POLÍMERO POR RETICULAÇÃO COM OS IÓES DE CÁLCIO. SEGUROU-A A FASE DE ISOLAMENTO E SECAGEM. AS PARTÍCULAS GELIFICADAS SÃO ISOLADAS ATRAVÉS DE FILTRAÇÃO E SECAS POR LIOFILIZAÇÃO. POSTERIORMENTE, SEGUROU-A UM PROCESSO DE MACERAÇÃO COM O VINHO DO PORTO. FINALMENTE, AS PARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO O VINHO DO PORTO SÃO ACONDICIONADAS EM SAQUETAS.

RESUMO

"PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CHÁ DE VINHO DO PORTO"

Esta invenção descreve um método de produção de chá de, por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, recorrendo a partículas poliméricas de diâmetro inferior a 3 mm. O método de produção tem várias etapas. Inicialmente, a produção das partículas é feita pelo método de extrusão/gelificação externa e compreende a formação de solução aquosa de alginato com, mas não limitada, o Vinho do Porto seguida da extrusão e gelificação do polímero por reticulação com os iões de cálcio. Segue-se a fase de isolamento e secagem. As partículas gelificadas são isoladas através de filtração e secas por liofilização. Posteriormente, segue-se um processo de maceração com, mas não limitado, o Vinho do Porto. Finalmente, as partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto são acondicionadas em saquetas.

DESCRIÇÃO

"PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CHÁ DE VINHO DO PORTO"

Campo da Invenção

A presente invenção descreve um método de produção de chá de, por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, recorrendo a partículas poliméricas de diâmetro inferior a 3 mm. A produção das partículas é feita pelo método de extrusão/gelificação externa, método vulgarmente aplicado na indústria farmacêutica, e compreende a formação de solução aquosa de alginato com, mas não limitada, o Vinho do Porto seguida da extrusão e gelificação do polímero por reticulação com os iões de cálcio. As partículas gelificadas são isoladas através de filtração e secas por liofilização. Posteriormente, segue-se um processo de maceração com, mas não limitado, o Vinho do Porto. Finalmente, as partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto são acondicionadas em saquetas de 2 g. Estas saquetas poderão ser comercializadas individualmente ou em embalagens de 20 unidades cada.

Antecedentes da Invenção

A primeira encapsulação de substâncias em partículas foi atribuída a Barret Green do National Cash Register Corporation nos anos 50. O processo original

envolia a gelatina e o agente de cross-linking, o gluturaldeído. Desde então, a encapsulação tem atraído um vasto interesse nas diversas indústrias, inclusive a alimentar, e o seu desenvolvimento tem também fomentado a exploração de novos produtos.

As vantagens da encapsulação relacionam-se com a possibilidade de conversão de produtos líquidos em pó, com o aumento da estabilidade dos produtos, de segurança (exemplo redução flamabilidade de compostos voláteis como acontece com os aromas), alteração de caracteres nos produtos alimentares tais como cor, sabor ou mesmo na alteração da velocidade de libertação das substâncias, entre outras.

A encapsulação de substâncias com fins alimentares envolve a formação de partículas poliméricas designadamente macro-, micro- e nanopartículas. As macropartículas são partículas sólidas e esféricas de diâmetro superior a 1 mm. As micropartículas e nanopartículas são pequenas partículas sólidas e esféricas com um diâmetro que varia entre 1 e 1000 μm e 1 nm e 1000 nm, respectivamente. Estas últimas subdividem-se em microcápsulas e nanocápsulas, sendo estas sistemas reservatório contendo o agente encapsulado revestido por polímeros de espessuras variáveis que constituem a membrana da cápsula; e em microsferas e nanosferas, sistemas matriciais nos quais o agente encapsulado se encontra uniformemente disperso e/ou dissolvido numa rede polimérica. As microsferas e nanosferas podem ser homogéneas ou heterogéneas conforme o agente encapsulado se

encontre no estado molecular (dissolvido) ou na forma de partículas (suspenso).

O método ideal de encapsulação deve ser simples, reproduzível, rápido, fácil de transpor à escala industrial e pouco dependente das características de solubilidade da substância a encapsular e do material imobilizante.

Durante estas três últimas décadas têm surgido muitos métodos de preparação de partículas poliméricas tais como secagem por pulverização e com elevadas temperaturas (spray-drying), congelação do material de revestimento fundido numa corrente de ar frio (spray-chilling), revestimento em leito fluido (fluid bed coating), fusão e injeção (melt-injection), extrusão, emulsificação, coacervação, complexação, liofilização (freeze-drying), etc. Estes métodos são geralmente classificados em duas grandes classes, consoante a formação das partículas envolve ou não reacções de polimerização de monómeros em polímeros ou a partir de macromoléculas ou de polímeros pré-formados [1].

Nesta área de investigação e desenvolvimento têm sido aplicados inúmeros polímeros sintéticos tais como polialquilcianoacrilatos (PACA), ácido poli-L-glicólico (PLGA) ou polianidridos e seus derivados. Não obstante o seu interesse tecnológico, aspectos relacionados com toxicologia têm limitado a sua aplicação. Em alternativa, têm sido aplicados polímeros origem natural. O uso de polisaccáridos têm surgido aqui com um particular interesse devido às suas propriedades biocompatíveis, biodegradáveis, facilidade de aquisição e baixo custo. Até à presente data,

entre os vários polímeros naturais utilizados na encapsulação de produtos encontramos: polissacáridos (alginato, quitina, quitosano e quitosano modificado, dextrano e dextrano modificado, dextrinas e maltodextrinas, pectinas e pectinas modificadas, agar, agarose, κ e λ -carragenanos, glucomanano de konjac, sulfato de condroítina, gomas (gelana, xantana, arábica, etc.), amido e amido modificado, celulose e seus derivados). Neste campo, o alginato (especialmente sob a forma de sal sódico) tem vindo a demonstrar inúmeras vantagens tecnológicas como, por exemplo, a possibilidade de reacção de encapsulação sem necessidade de calor como sucede, por exemplo, com a agarose, agar e o carragenano.

Alginato é o termo utilizado para descrever sais do ácido algínico mas também pode ser aplicado aos respectivos derivados. Em algumas publicações surge ainda o termo algina em vez de alginato.

O alginato é de um polissacárido de origem natural, biodegradável e biocompatível proveniente de algas castanhas [2] vulgarmente utilizado desde a década dos anos 80. Na realidade, as primeiras partículas de alginato foram publicadas nos anos 80 e continham células pancreáticas [3]. Segundo a autoridade reguladora dos E.U.A., Administração de Fármacos e Alimentos (Food and Drug Administration), este polissacárido é considerado uma substância não tóxica e normalmente referenciado como seguro (generally regarded as safe, GRAS). Quimicamente, o alginato é composto por dois tipos de ácido urónico: ácido gulurônico (G) e manurônico (M). O tipo de organização

varia ao longo da cadeia de alginato. Deste modo, são possíveis as seguintes combinações heteropoliméricas com resíduos organizados da seguinte forma MGMG-MGM ou homopoliméricas com os resíduos dispostos GGGGGG e MMM-MMM [4].

O teor em resíduos G e M influencia significativamente as características do alginato. A solubilidade aquosa do alginato depende dos catiões presentes em solução e do pH da solução. Por exemplo, os sais de cálcio e magnésio não são solúveis em água contrariamente ao sal sódico. Outro aspecto igualmente importante é referente à viscosidade, sendo que esta varia ao longo das estações do ano e geralmente aumenta com a própria maturação da planta. Está ainda descrito que existe uma relação proporcional entre a viscosidade e conteúdo em resíduos G de alginato.

O alginato gelifica na presença de iões divalentes tais como o ião cálcio e em menor extensão com o magnésio [2]. A gelificação depende do ião divalente, sendo normalmente observada a seguinte tendência: $Mg^{2+} \ll Ca^{2+} < Zn^{2+} < Sr^{2+} < Ba^{2+}$. O ião cálcio é o mais utilizado devido à sua fácil acessibilidade e de ser considerado clinicamente seguro. Estruturalmente, os iões de cálcio encontram-se localizados em cavidades electronegativas, conduzindo a uma estrutura referenciada na literatura com o termo modelo de caixa de ovos (egg-box model) [5][6]. Preferencialmente e à temperatura ambiente, os iões de cálcio ligam-se aos resíduos G de alginato e de uma forma cooperativa [7]. A razão esquiométrica entre o cálcio e o resíduo G em dímeros

ou polímeros está estimada em 1:4 a 1:2, respectivamente. O tamanho da unidade cooperativa tem sido reportado com mais de 20 monómeros [8]. Geralmente, um elevado conteúdo em resíduos G e unidades homopoliméricas resultam numa elevada interacção entre alginato-cálcio e consequente formação de um gel forte [9]. Porém, está igualmente descrito que alginatos ricos em resíduos G podem conduzir a uma gelificação prematura do polímero dando origem a partículas de maior dimensão, mais porosas e com uma distribuição de tamanhos com elevado índice de polidispersividade [10]. Pelo contrário, alginatos com elevado conteúdo em resíduos M, por via de regra, originaram partículas de menor dimensão e com maior elasticidade.

Em termos económicos, o alginato é de fácil obtenção e economicamente vantajoso. Durante as últimas décadas, apareceram no mercado muitos fornecedores de alginato e a qualidade do polímero tem vindo significativamente a melhorar.

Em termos de encapsulação de produtos alimentares, o alginato tem sido vastamente como agente espessante, estabilizante ou gelificante [11]. Foram já várias as substâncias que têm sido encapsuladas em partículas de alginato como, por exemplo, enzimas [12][13], leveduras como por exemplo Y235 [14][15] ou leveduras tolerantes ao sal[16], agentes emulsivos [17], vitamina A, ácido fólico e ferro para a fortificação do arroz, etc.

Por exemplo, uma das aplicações do alginato nos produtos alimentares relaciona-se com a clarificação dos sumos de fruta. Neste caso foi observado que a encapsulação

de enzimas (pectinametilesterases do tomate) em partículas de alginato conduziu a uma melhoria significativa do aspecto do sumo após 2 meses e quando conservado a 4°C [12].

Uma outra aplicação do alginato relaciona-se com a imobilização de leveduras para fermentação alcoólica [15].

As vantagens da utilização do alginato e dos métodos de produção de partículas de alginato são várias. Especificamente, o método descrito na presente invenção é designado de extrusão/gelificação externa porque a fonte de cálcio é adicionada à reacção numa fase posterior à formação da partículas que se forma por extrusão. Neste método, o cálcio que gelifica com o alginato localiza-se à superfície da partícula originando uma rede polimérica mais densa quando comparada com a concentração de cálcio no núcleo da partícula como acontece com o método de gelificação interna [18]. Porém, este método de gelificação externa demonstrou, pelo menos, três desvantagens inerentes; a primeira incidia na incapacidade de redução de tamanho, uma vez que este se encontrava limitado pelo diâmetro da agulha e condicionado pela viscosidade da solução do polímero. Na realidade eram difíceis de produzir micropartículas de diâmetros inferiores a 500 µm. A segunda desvantagem residia no obstáculo da transposição à escala industrial, uma vez que para uma produção em larga escala seriam necessárias várias agulhas a funcionar simultaneamente. Finalmente, as micropartículas apresentavam uma forma disforme do tipo lágrima (teardrop-shaped) devido as enormes forças de impacto com o banho de

gelificação.

Neste sentido surgiram várias técnicas que tentaram resolver o primeiro problema tais como: o recurso a múltiplas agulhas, electrostáticas, vibracionais, propulsão da gota através de um fluxo de ar concêntrico e injectores de jacto (jet cutters) líquidos.

Especificamente, o material para proceder à extrusão poderá ser uma pipeta, seringa, agulha com vibração, pulverização com injectores (spraying nozzle), jacto (jet cutter), disco de atomização (atomizing disk), fluxo de ar coaxial (coaxial air-flow) ou mesmo através de campos eléctricos [19]. Com os métodos anteriores produzem-se geralmente partículas, macro- ou micropartículas com tamanhos compreendidos entre 0,2 a 5 mm, dependendo do material a utilizar como extrusor e da viscoelasticidade da solução de alginato. Além disso, o método de co-extrusão poderá ainda preparar macro- ou micropartículas com o núcleo lipofílico.

Num estudo realizado por Prusse [20] foram aplicadas diferentes tecnologias de extrusão com o objectivo de produção de macropartículas. Cada uma das tecnologias estudadas conduziu à formação de microesferas com 800 µm de diâmetro e com soluções de alginato pouco viscosas (até 2%, m/v). Com outros métodos tais como electrostáticos, jacto (jet cutter) ou coaxial foi ainda possível obter uma distribuição de tamanhos monodispersa. Contudo, a forma das microesferas obtidas pelo método coaxial não foi esférica. Os rendimentos foram relativamente baixos com os métodos coaxial e electrostático. A tecnologia por vibração, por

sua vez, conduziu a um rendimento de 50 vezes superior. Por fim, o método jacto (jet cutter) poderá ser aplicado à escala laboratório ou industrial.

Um outro estudo igualmente interessante foi publicado em 2005 onde o tamanho das partículas de alginato através do método de extrusão/gelificação externa foi sujeito a uma optimização através de um sistema dispositivo microfluídos que utilizou uma micro-agulha de silicone. Com esta opção foi possível obter partículas de alginato de cálcio com um tamanho compreendido entre 50-200 μm e com uma distribuição de tamanho monodispersa [21].

Além disso, alguns dos problemas mencionados anteriormente com a tecnologia de extrusão foram ultrapassados com métodos de polimerização e emulsificação/gelificação. Surgiram alternativas como a produção de emulsão do polímero/óleo por arrefecimento [22] ou produção de emulsões do tipo óleo/polímero e por extrusão numa solução de cloreto de cálcio. O primeiro procedimento envolvia elevadas temperaturas e o segundo procedimento, o tamanho da partícula não era facilmente controlado e as partículas agregavam antes de gelificarem convenientemente.

Em termos de produtos alimentares e método de extrusão, a patente US 3,650,766 [11] descreve um método de extrusão de uma solução de alginato aplicada a produtos alimentares, especificamente, frutas, vegetais (exemplo cebola), carne, lacticínios ou peixe mas não faz qualquer referência a bebidas alcoólicas ou, especificamente, ao Vinho do Porto. Além disso, em nenhuma circunstância é

referida a aplicação do método de extrusão para produção de chá.

Pela mesma altura surgiu uma outra patente [23] que refere aplicações similares à patente US 3,650, 766 mas, mais uma vez, esta patente [23] não refere em qualquer circunstância a sua aplicabilidade para bebidas, em especial, para o chá.

A patente US 4,190,676 refere a aplicação do método de extrusão com alginato de cálcio e derivados da pectina apenas para confecção de gelados [24]. Em nenhuma circunstância é feita referência a chás.

A patente PT72939 [25] descreve a produção de fibras de alginato de cálcio insolúveis sob corte elevado, à temperatura ambiente. Este método inclui a reacção de uma solução aquosa de algina (1 a 1,5%) com uma segunda solução aquosa de catiões metálicos bivalentes ou trivalentes (catiões em excesso de forma a precipitar o algina). O metal foi, de preferência, o cálcio. Neste último caso, cálcio encontrava-se a 3 a 5%. As fibras resultantes revelaram ser estáveis ao calor, ao cisalhamento e ácido, mimetizaram as fibras naturais do alimento em termos de textura e podem aplicados como agentes espessantes de muitos produtos alimentares processados (corantes, óleos, molhos, essências, etc.). O rendimento da reacção foi bom, especificamente, de 1 g de algina produz cerca de 20 a 30 g de fibras, sendo 20 a 25% de água.

Mais tarde, em 1992, Lommi e colaboradores patentearam um método de imobilização de leveduras em partículas de DEAE-celulose e compararam este método com o método do

alginato apenas em termos teóricos [15].

A patente US 5,464,629 refere a preparação de partículas hidrogéis de alginato com lipossomas para imobilização de fármacos. Em nenhuma circunstância é feita referência a chás ou Vinho do Porto.

A patente US 5,624,685 [26] descreve um método de preparação de material para reparação vascular (meio de contraste para raios-X) com a utilização do alginato de cálcio. Em nenhuma circunstância é feita referência a encapsulação de uma bebida para produzir chás. Na patente anterior foram utilizados 10 mL de alginato a 2% extruídos através de uma seringa de 25G (0,32 mm de diâmetro) para uma solução de cloreto de cálcio a 0,1M. Após extrusão, a solução de alginato ficou em contacto com o cloreto de cálcio durante 3 min e foi posteriormente incubada com uma solução salina. As partículas poliméricas apresentaram um diâmetro de 74 µm.

Em 1998 foi publicada uma patente que incluía a produção de produtos alimentares, frutos e vegetais, baseados em géis de alginato ou pectina através de processos de extrusão. Em nenhuma circunstância é feita referência a chás.

A patente CN103503997 [27] é a única patente, a nosso conhecimento, que contempla a utilização do alginato em chá. Porém, a função do alginato não é como agente imobilizante mas sim como um excipiente com provável função de agente espessante.

Em todos documentos acima referidos não é feita qualquer referência a uma das etapas de produção de chá e

que inclua a encapsulação do Vinho do Porto em macropartículas de alginato de cálcio através do método de extrusão/gelificação externa.

No que respeita a publicações sobre a forma de artigos não é feita qualquer referência a aplicação deste método a chás.

Apresentação da Invenção

A presente invenção descreve um método para produção de chá de, como por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, que incluiu a produção inicial de partículas poliméricas de diâmetro inferior a 3 mm. A produção das partículas é feita pelo método de extrusão/gelificação externa e compreende a formação de solução aquosa de alginato com o Vinho do Porto seguida da extrusão e gelificação do polímero por reticulação com os iões de cálcio. As partículas gelificadas são isoladas através de filtração e secas por liofilização. Posteriormente, segue-se um processo de maceração com o Vinho do Porto. Finalmente, as partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto são acondicionadas em saquetas de 2 g. Estas saquetas poderão ser comercializadas individualmente ou em embalagens de 20 unidades cada.

As macropartículas de alginato de diâmetro inferior a 3 mm, contendo Vinho do Porto, destinam-se consumo.

Como exemplo ilustrativo mas não limitativo da presente invenção descreve-se um novo método de produção.

Sumário da Invenção

A presente invenção descreve um método de produção de chá de, como por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, em partículas poliméricas de diâmetro inferior a 3 mm. A produção das partículas é feita pelo método de extrusão/gelificação externa e compreende a formação de solução aquosa de alginato com o Vinho do Porto seguida da extrusão e gelificação do polímero por reticulação com soluções de cálcio. As partículas gelificadas são isoladas através de filtração e secas por liofilização. Posteriormente, segue-se um processo de maceração com o Vinho do Porto. Finalmente, as partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto são secas e acondicionadas em saquetas de 2 g. Estas saquetas poderão ser comercializadas individualmente ou em embalagens de 20 unidades cada.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção descreve um método de produção de chá, como por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, em partículas poliméricas de diâmetro inferior a 3 mm. A produção das partículas é feita pelo método de extrusão/gelificação externa e compreende a formação de solução aquosa de alginato com o Vinho do Porto seguida da extrusão e gelificação do polímero por reticulação com soluções de cálcio.

iões de cálcio. Baseado no seu peso molecular (alginato de sódio 216 g/mol e cloreto decálcio 110,98 g/mol), a quantidade de cálcio utilizada na presente invenção permite a conversão completa do alginato de sódio em alginato de cálcio. As partículas gelificadas são isoladas através de filtração e secas por liofilização. Posteriormente, segue-se um processo de maceração com o Vinho do Porto. Finalmente, as partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto são secas ao ar e acondicionadas em saquetas de 2 g. Estas saquetas poderão ser comercializadas individualmente ou em embalagens de 20 unidades cada. Para preparar o chá, basta colocar uma saqueta em 200 mL de água fervida e manter a infusão durante, pelo menos, 5 minutos.

Constitui objecto do invento um método de produção de chá de Vinho do Porto, de acordo com os seguinte passos:

- a) formação de uma suspensão aquosa, em gamas adequadas de composição, temperatura, velocidade de agitação mecânica e a partir da mistura entre o polímero imobilizante e o Vinho do Porto; e
- b) extrusão através de uma agulha da suspensão anterior para uma solução aquosa de cloreto de cálcio contendo iões divalentes livres capazes de provocar a gelificação do polímero imobilizante; e
- c) isolamento das partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto encapsulado através de filtração; e
- d) liofilização das partículas poliméricas contendo

Vinho do Porto durante um período de tempo, temperatura e pressão adequados; e

- e) maceração das partículas poliméricas secas contendo Vinho do Porto com o mesmo produto, em gama de composição, agitação, temperatura e períodos de tempo adequados.

De preferência, o passo a) anteriormente referido é realizado através dos seguintes sub-passos:

a.1) dissolução do agente imobilizante em água destilada, em concentrações adequadas de composição, sob agitação magnética e segundo condições operacionais pré-determinadas de tempo, velocidade de agitação e temperatura;

a.2) adição do Vinho do Porto à solução aquosa do agente imobilizante, em concentrações adequadas de composição, sob agitação manual lenta e segundo condições operacionais pré-determinadas de temperatura;

De preferência, o passo b) anteriormente referido é realizado através dos seguintes sub-passos:

b.1) introdução de uma solução aquosa de cloreto de cálcio num reactor, em estado líquido, em concentrações adequadas de composição e segundo

condições operacionais pré-determinadas de temperatura;

- b.2) extrusão através de uma agulha de diâmetro, como por exemplo mas não limitado a 0,81 mm (21 gauge), da solução aquosa contendo o agente imobilizante e o Vinho do Porto para o reactor contendo o cloreto de cálcio em condições operacionais pré-determinadas de tempo, velocidade de agitação e temperatura.
- c) isolamento das partículas poliméricas resultantes através de filtração com um papel de filtro de porosidade mínima de 2.5 µm, a temperatura e pressão pré-determinados.

De preferência, o passo d) anteriormente referido é realizado através dos seguintes sub-passos:

- d.1) congelação das partículas poliméricas isoladas e contendo Vinho do Porto, durante um período mínimo de 24 horas a -20°C.
- d.2) transferência das partículas poliméricas contendo Vinho do Porto congeladas para o liofilizador em condições operacionais pré-determinadas de tempo e temperatura;
- d.3) liofilização das partículas poliméricas contendo Vinho do Porto durante um período mínimo de 24 h, em condições operacionais pré-determinadas de

pressão e temperatura;

De preferência, o passo e) anteriormente referido é realizado através dos seguintes sub-passos:

- e.1) a agitação a uma velocidade determinada das partículas poliméricas secas contendo Vinho do Porto com uma solução de Vinho do Porto, em condições pré-determinadas de concentração, tempo e temperatura seguida de um processo de secagem à temperatura ambiente em condições operacionais pré-determinadas de temperatura e tempo.
- e. 2) acondicionamento das partículas poliméricas contendo Vinho do Porto em saquetas individuais, com um peso médio de 2 gramas.

Num modelo de realização preferido, mas não limitado, o Vinho do Porto, destinado a consumo.

No modelo de realização especialmente preferido o Vinho do Porto é tinto jovem, podendo ser aplicado a Porto Branco ou outras categorias de Vinho do Porto que compreendam diferentes processos de produção e envelhecimento ou outros vinhos fortificados.

O polímero de acordo com o invento é linear, não ramificado, de natureza hidrofílica e de origem natural.

De preferência, o polímero linear, não ramificado,

de natureza hidrofílica e de origem natural, é seleccionado de entre oligossacáridos ou polissacáridos, tais como ácido algínico e seus derivados, quitina, quitosano e quitosano modificado, dextrano e dextrano modificado, dextrinas e maltodextrinas, pectinas e pectinas modificadas, agar, agarose, κ - e λ -carragenanos, glucomanano de konjac, sulfato de condroítina, goma xantana, goma arábica, goma gelana, amido e amido modificado, celulose e seus derivados.

Com maior preferência, o referido polímero é alginato sob a forma de sal sódico.

De preferência, o referido ião divalente que causa a gelificação do polímero é cálcio sob a forma de cloreto.

Parte experimental

Na preparação da solução aquosa de alginato a composição em massa/volume é, preferencialmente, de 1,5 a 3%, em especial cerca de 2%.

De acordo com a invenção, utiliza-se normalmente uma solução de cloreto de cálcio a 0,05M. A razão em volume entre a solução de alginato e a solução de cálcio é de 1 mL de alginato para 20 mL de cloreto de cálcio.

De acordo com a invenção, utiliza-se uma razão em volume (v/v) de Vinho do Porto/alginate de 1:5; 1,5:5; 2:5, 2,5:5; 3:5; 3,5:5; 4:5; 4,5:5; 1:1, preferencialmente, de

3,5:5.

No acondicionamento das partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto, isoladas, secas e maceradas, adiciona-se um corante castanho HT (E155), em gama de composição adequadas. Nesta fase foram testadas várias concentrações de corante para 2 gramas de produto (2,5, 5, 7,5, 10 e 12,5 mg) em 200 mL de água fervida. Após infusão procedeu-se à avaliação dos caracteres organolépticos e observou-se que a composição de corante castanho HT deverá estar compreendida entre 7,5 a 12,5 mg, preferencialmente, 10 mg.

A temperatura de operação situa-se normalmente abaixo dos 40°C, em especial, abaixo dos 25°C, podendo esta variar ou manter-se constante durante o processo ou mesmo ser reduzida para 4°C, ou menos, no caso das fases de repouso e liofilização.

O tempo de dissolução do polímero situa-se preferencialmente entre 4 e 12 horas, em especial, entre 6 e 8 horas, sob agitação magnética, de preferência, a entre 50-200 rpm.

O tempo de gelificação situa-se normalmente entre 5 minutos e 1 hora, de preferência cerca de 15 minutos a uma agitação mecânica a 100-800 rpm, de preferência, cerca de 400 rpm.

Os recipientes utilizados durante todo o processo têm uma capacidade mínima de 300 mL, vantajosamente de pelo menos 600 mL.

Exemplos

Existem vários métodos para a encapsulação [28] [1] mas a maioria dos métodos envolve polímeros sintéticos como agente imobilizante e solventes orgânicos como dissolventes do material a encapsular. A presente invenção descreve um método para encapsulação de Vinho do Porto em partículas produzidas a partir de um polímero natural.

Exemplo de Preparação

Dissolve-se alginato (1 g) em 50 mL de água destilada sob agitação magnética (50-200 rpm) durante 6-8 horas à temperatura ambiente. Adiciona-se, lentamente, o Vinho do Porto à solução de alginato.

Prepara-se uma solução de cloreto de cálcio a 0,05M, à temperatura ambiente, recorrendo a uma agitação mecânica a 400 rpm durante um período de 15 minutos.

Extrui-se a solução de alginato contendo o Vinho do Porto através de uma agulha de diâmetro, como por exemplo mas não limitado a 0,81 mm (21 gauge) para a solução de cloreto de cálcio contida no reactor em agitação mecânica contínua de 400 rpm, durante um período de 15 minutos à temperatura

ambiente. Em consequência ocorre a gelificação do alginato através da reticulação com os iões de cálcio e reacção encontra-se descrita em seguida.



De seguida, segue-se o isolamento das partículas poliméricas resultantes através de filtração contendo papel de filtro de porosidade mínima de 2,5 µm, a temperatura e pressão pré-determinados e congelação das partículas poliméricas isoladas e contendo Vinho do Porto, durante um período mínimo de 24 horas a -20°C.

Posteriormente, decorre a liofilização das partículas poliméricas contendo Vinho do Porto durante um período mínimo de 24 h, em condições operacionais pré-determinadas de pressão e temperatura

Finalmente, procede-se à agitação a uma velocidade determinada das partículas poliméricas secas contendo Vinho do Porto com uma solução de Vinho do Porto, em condições pré-determinadas de concentração (mistura física 1:1), tempo (1 a 3 dias) e temperatura (temperatura ambiente) seguida de um processo de secagem (1 a 5 dias, preferencialmente 3 dias) à temperatura ambiente em condições operacionais pré-determinadas de temperatura e tempo seguida do acondicionamento das partículas poliméricas contendo Vinho do Porto em saquetas individuais, com um peso médio de 2 gramas.

Avaliação do tamanho das partículas poliméricas

O tamanho das partículas poliméricas foi avaliado com auxílio de uma lupa.

Teste de Eficiência de encapsulação

Com o objectivo da determinação da eficiência de encapsulação, procede-se quantificação do Vinho do Porto presente no sobrenadante (não encapsulado) através de um método espectrofotométrico com um comprimento de onda (λ) de 203 nm. É calculada a razão percentual entre a quantidade total de Vinho do Porto presente no sobrenadante e a quantidade adicionada no início da produção das partículas poliméricas. A este valor é designado de eficiência de encapsulação.

Teste de rendimento

Com o objectivo da determinação do rendimento da reacção, procede-se à pesagem das partículas poliméricas isoladas e secas e calcula-se a razão percentual baseada no peso inicial de todos os reagentes. A este valor é designado de rendimento de reacção.

Avaliação dos caracteres organolépticos

Com o objectivo da caracterização dos principais caracteres organolépticos, as formulações foram sujeitas a testes sensoriais com voluntários ($n=3$). O estudo foi duplamente cego e incluía a avaliação preliminar da cor, cheiro e sabor. Foi atribuída a seguinte escala: muito mau

(1), mau (2), agradável (3), muito agradável (4) e excelente (5).

Resultados

O tamanho das partículas poliméricas hidratadas, após preparação e contendo o Vinho do Porto encapsulado, foi inferior a 3 mm.

De seguida, a primeira variável em estudo foi a concentração em Vinho do Porto. Todos os restantes parâmetros foram constantes, especificamente, concentração de alginato (2%, m/v), cloreto de cálcio (0,05M) e a razão alginato:cálcio (1:20, v/v). Observou-se que em termos de cheiro, a razão em volume entre o alginato e o Vinho do Porto deverá ser preferencialmente 3,5:5, conforme se demonstra na Tabela 1. Em termos de eficiência de encapsulação, os resultados encontram-se descritos em seguida na Tabela 2. Observou-se nesta situação que a eficiência de encapsulação varia com razão em volume entre o alginato e o Vinho do Porto. A eficiência de encapsulação obtida é, de cerca, 86%.

O rendimento de produção foi de 100% para todas as formulações em teste.

Nesta primeira fase e analisando os dados anteriores, optou-se em prosseguir os restantes estudos com a razão em volume entre alginato e o Vinho do Porto de 3,5:5.

Tabela 1. Avaliação do cheiro das formulações iniciais: muito mau (1), mau (2), agradável (3), muito agradável (4)

e excelente (5) (n=3). *Partículas não esféricas

Formulações (lote)	Parâmetro em estudo Razão Alginato/Vinho do Porto (v/v)	Valor médio ± Desvio do Padrão
1	1:5	1,3 ± 0,6
2	1,5:5	1,3 ± 0,6
3	2:5	2,3 ± 0,6
4	2,5:5	3,3 ± 0,6
5	3:5	3,0 ± 0,0
6	3,5:5	3,7 ± 0,6
7	4:5	2,7 ± 1,15*
8	4,5:5	2,0 ± 1,0*
9	5:5	1,3 ± 0,6*
10	7,5:5	1,3 ± 0,6*

Tabela 2. Avaliação da eficiência de encapsulação (EE) das formulações iniciais (n=3).

Formulações (lote)	Parâmetro em estudo Razão Alginato/Vinho do Porto (v/v)	Valor médio ± Desvio Padrão
1	1:5	85,4 ± 5,40
2	1,5:5	80,5 ± 0,16
3	2:5	80,9 ± 0,7
4	2,5:5	82,1 ± 2,3
5	3:5	85,8 ± 1,4
6	3,5:5	85,6 ± 1,5
7	4:5	85,7 ± 2,4
8	4,5:5	85,3 ± 1,9
9	5:5	85,2 ± 0,6
10	7,5:5	83,7 ± 2,6

Posteriormente, foi avaliado o sabor e detectou-se pouco ou nenhum sabor nas formulações em teste. Foram adoptadas estratégias adicionais que incluíram:

- 1) aumento da quantidade de chá por saqueta (de 2 para 3

g); e

2) maceração das partículas poliméricas contendo o Vinho do Porto encapsulado com Vinho do Porto em gamas de composição, agitação, temperatura e tempo adequados.

Paralelamente foi realizado um estudo relativamente à quantidade de corante alimentar (castanho HT, E155) a utilizar na mesma formulação. Foram sujeitas a teste várias concentrações: 2,5, 5, 7,5, 10 e 12,5 mg para um peso de produto compreendido entre 1,5 a 2 g.

Segundo a legislação portuguesa, o corante alimentar diazóico (E155), castanho HT, é frequentemente utilizado na indústria alimentar a uma concentração máxima de 50 mg/L[29] em bebidas e 290 mg/kg nos restantes alimentos [30]. Porém, a concentração deste corante em bebidas poderá ascender aos 70 mg/L, como acontece com a legislação australiana.

O castanho HT é constituído, em especial, por 4,4'-(2,4-di-hidroxi-5-hidroximetil-1,3-fenileno-bisazo)di(naftaleno-1-sulfonato) dissódico e outras matérias corantes. O castanho HT é descrito na forma de sal de sódio. São também autorizados os sais de potássio e de cálcio.

Nesta invenção, a concentração de corante utilizada no chá não ultrapassa a dose máxima recomendada.

Desta fase de estudo observou-se ainda que o aumento da quantidade de chá por saqueta não conferiu sabor à formulação. Pelo contrário, o processo de maceração

conduziu a um aumento significativo do sabor da mesma.

Posteriormente foram adoptadas diferentes formas de maceração:

2.1. Encapsulação de Vinho do Porto após remoção do teor alcoólico por destilação a pressão reduzida seguida de maceração com Vinho do Porto (sem destilação) em agitação magnética, à temperatura e tempo pré-determinados.

2.2. Encapsulação de Vinho do Porto após remoção do teor alcoólico por destilação a pressão reduzida seguida de maceração com Vinho do Porto com destilação em agitação magnética, à temperatura e tempo pré-determinados.

2.3. Encapsulação de Vinho do Porto seguida de maceração com Vinho do Porto com destilação em agitação magnética, à temperatura e tempo pré-determinados.

2.4. Encapsulação de Vinho do Porto seguida de maceração com Vinho do Porto em agitação magnética, à temperatura e tempo pré-determinados.

Na avaliação do sabor foram recrutados 4 voluntários para este teste. O ensaio foi duplamente cego. Desta análise observou-se que a maceração com Vinho do Porto sem destilação (com álcool) melhora substancialmente o sabor do chá. A presença de álcool no Vinho do Porto inicialmente encapsulado melhora ligeiramente o sabor do chá resultante.

REFERÊNCIAS

1. REIS CP, NEUFELD RJ, RIBEIRO AJ, VEIGA F. NANOENCAPSULATION I. METHODS FOR PREPARATION OF DRUG-LOADED POLYMERIC NANOPARTICLES. *NANOMEDICINE NANOTECHNOLOGY, BIOL. MED.* [INTERNET]. 2(1), 8-21 (2006).
2. ASLANI P, KENNEDY RA. STUDIES ON DIFFUSION IN ALGINATE GELS. I. EFFECT OF CROSS-LINKING WITH CALCIUM OR ZINC IONS ON DIFFUSION OF ACETAMINOPHEN. *J. CONTROL. REL.* [INTERNET]. 42(1), 75-82 (1996).
3. LIM F, SUN AM. MICROENCAPSULATED ISLETS AS BIOARTIFICIAL ENDOCRINE PANCREAS. *SCIENCE* (80-.). 210, 908-910 (1980).
4. GACESA P. ALGINATES. *CARBOHYDR. POLYM.* [INTERNET]. 8, 161-182 (1988).
5. PEREZ S. MOLECULAR BASIS OF CA²⁺-INDUCED GELATION IN ALGINATES AND PECTINS: THE EGG-BOX MODEL REVISITED. *BIOMACROMOLECULES* [INTERNET]. 2, 1089-1096 (2001).
6. LI L, FANG Y, VREEKER R, APPELQVIST I. REEXAMINING THE EGG-BOX MODEL IN CALCIUM-ALGINATE GELS WITH X-RAY DIFFRACTION. *BIOMACROMOLECULES* [INTERNET]. 8(2), 464-468 (2006).
7. GOMBOTZ WR, WEE SF. PROTEIN RELEASE FROM ALGINATE MATRICES. *ADV. DRUG DELIV. REV.* [INTERNET]. 31, 267-285 (1998).
8. WALSH PK, ISDELL F V, NOONE SM, O'DONOVAN MG, MALONE DM. GROWTH PATTERNS OF SACCHAROMYCES CEREVIAE MICROCOLONIES IN ALGINATE AND CARRAGEENAN GEL PARTICLES: EFFECT OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF GELS. *ENZ.*

MICROB. TECHNOL. [INTERNET]. 18, 366-372 (1996).

9. JOHN FREEDMAN. GEL FORMING ALGINATE PRODUCTS AND METHOD OF PRODUCING THE SAME. (1967).

10. PONCELET D. PRODUCTION OF ALGINATE BEADS BY EMULSIFICATION/INTERNAL GELATION. ANN. NEW YORK ACAD. SCI. [INTERNET]. 944, 74-82 (2001).

11. SMADAR Y. EXTRUDED FOOD PRODUCTS AND METHOD OF PRODUCING SAME. (1972).

12. BOGRA P, KUMAR A, KUHAR K, PANWAR S SR. IMMOBILIZATION OF TOMATO (LYCOPERSICON ESCULENTUM) PECTINMETHYLESTERASE IN CALCIUM ALGINATE BEADS AND ITS APPLICATION IN FRUIT JUICE CLARIFICATION. BIOTECHNOL. LETT. [INTERNET]. 35(11), 1895-900 (2013).

13. SRIVASTAVA A, KAR R. APPLICATION OF IMMOBILIZED TANNASE FROM ASPERGILLUS NIGER FOR THE REMOVAL OF TANNIN FROM MYROBALAN JUICE. INDIAN J. MICROBIOL. [INTERNET]. 50(SUPPL 1), 46-51 (2010).

14. SONG H, YU W, GAO M, LIU X, MA X. MICROENCAPSULATED PROBIOTICS USING EMULSIFICATION TECHNIQUE COUPLED WITH INTERNAL OR EXTERNAL GELATION PROCESS. CARBOHYDR. POLYM. [INTERNET]. 96(1), 181-9 (2013).

15. HEIKKI LOMMI JA. METHOD USING IMMOBILIZED YEAST TO PRODUCE ETHANOL AND ALCOHOLIC BEVERAGES. (1992).

16. VAN DER SLUIS C, STOFFELEN CJ, CASTELEIN SJ, ET AL. IMMOBILIZED SALT-TOLERANT YEASTS: APPLICATION OF A NEW POLYETHYLENE-OXIDE SUPPORT IN A CONTINUOUS STIRRED-TANK REACTOR FOR FLAVOUR PRODUCTION. J. BIOTECHNOL. [INTERNET]. 88(2), 129-39 (2001).

17. SONG S, WANG Z, QIAN Y, ZHANG L, LUO E. THE RELEASE RATE OF CURCUMIN FROM CALCIUM ALGINATE BEADS REGULATED BY

- FOOD EMULSIFIERS. J. AGRIC. FOOD CHEM. [INTERNET]. 60(17), 4388-95 (2012).
18. LIU XD, YU WY, ZHANG Y, ET AL. CHARACTERIZATION OF STRUCTURE AND DIFFUSION BEHAVIOUR OF CA-ALGINATE BEADS PREPARED WITH EXTERNAL OR INTERNAL CALCIUM SOURCES. J. MICROENCAPSUL. [INTERNET]. 19(6), 775-782 (2002).
19. LI YO. DEVELOPMENT OF MICROENCAPSULATION-BASED TECHNOLOGIES FOR MICRONUTRIENT FORTIFICATION IN STAPLE FOODS FOR DEVELOPING COUNTRIES. (2009).
20. PRÜSSE U, BILANCETTI L, BUČKO M, ET AL. COMPARISON OF DIFFERENT TECHNOLOGIES FOR ALGINATE BEADS PRODUCTION. CHEM. PAP. [INTERNET]. 62(4), 364-374 (2008).
21. SUGIURA S, ODA T, IZUMIDA Y, ET AL. SIZE CONTROL OF CALCIUM ALGINATE BEADS CONTAINING LIVING CELLS USING MICRO-NOZZLE ARRAY. BIOMATERIALS [INTERNET]. 26(16), 3327-31 (2005).
22. LACROIX C, PAQUIN C, ARNAUD J-P. BATCH FERMENTATION WITH ENTRAPPED GROWING CELLS OF LACTOBACILLUS CASEI; OPTIMIZATION OF RHEOLOGICAL PROPERTIES OF THE ENTRAPMENT GEL MATRIX. APPL. MICROBIOL. BIOTECHNOL. 32, 403-408 (1990).
23. FISCHER LG. METHOD OF FORMING AN ADHERENT COATING ON FOODS. (1972).
24. GORINGER H, KELLY TR, RIES D, SILBERZHAN H. COMPOSITE FRUIT GEL AND ICE CONFECTION. (1980).
25. YONGKEUN J, J DW, H KA. PROCESS FOR PREPARING CALCIUM ALGINATE FIBRES. (1981).
26. TAKAHASHI T, NAKAMURA H, KATSUYA GOTO. HIGH POLYMER GEL AND VASCULAR LESION EMBOLIZING MATERIAL COMPRISING THE SAME. (1997).

27. JIALI L, LIU W. PREPARATION METHOD OF FUZHUAN TEA AND MILK TEA BEVERAGE, AND METHOD FOR PREPARING CONCENTRATED MILK TEA AND POWDER BASED ON BEVERAGE. (2014).
28. REIS CP, NEUFELD RJ, VILELA S, RIBEIRO AJ, VEIGA F. REVIEW AND CURRENT STATUS OF EMULSION/DISPERSION TECHNOLOGY USING AN INTERNAL GELATION PROCESS FOR THE DESIGN OF ALGINATE PARTICLES. *J. MICROENCAPSUL.* [INTERNET]. 23(3), 245-57 (2006).
29. DECRETO-LEI N.O 193/2000, DR [INTERNET]. DECRETO-LEI N.O 193/2000 18 AGOSTO. (2000). AVAILABLE FROM: <HTTP://WWW.DRE.PT/CGI/DR1S.EXE?T=DR&CAP=1-1200&DOC=20002364&V02=&V01=2&V03=1900-01-01&V04=3000-12-21&V05=&V06=&V07=&V08=&V09=&V10=&V11='DECRETO-LEI'&V12=193/2000&V13=&V14=&V15=&SORT=0&SUBMIT=PESQUISAR.>
30. SUPPLEMENTARY FOOD COLOURS REPORT [INTERNET]. AVAILABLE FROM: <HTTP://WWW.FOODSTANDARDS.GOV.AU/SCIENCE/MONITORING/SURVEILLANCE/PAGES/SUPPLEMENTARYFOODCOL5571.ASPX.>

REIVINDICAÇÕES

1. Método de produção de chá com, por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, **caracterizado por** partículas poliméricas de diâmetro inferior a 3 mm e inclui os seguintes passos:

- a.1) formação de uma suspensão aquosa, em gamas adequadas de composição, temperatura, velocidade de agitação mecânica e a partir da mistura entre o polímero imobilizante e o Vinho do Porto, mas não limitada a este vinho;
- a.2) extrusão da suspensão anterior para uma solução aquosa de cloreto de cálcio contendo iões divalentes livres capazes de provocar a gelificação do polímero imobilizante;
- a.3) isolamento das partículas poliméricas resultantes através de filtração com papel de filtro de porosidade mínima de 2,5 µm, a temperatura e pressão pré-determinados;
- a.4) congelação das partículas poliméricas isoladas e contendo Vinho do Porto, durante um período mínimo de 24 horas a -20°C e liofilização durante um período mínimo de 24 h, em condições operacionais pré-determinadas de pressão e temperatura;
- a.5) maceração com, por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto e que inclui a agitação a uma velocidade determinada das partículas poliméricas secas contendo Vinho do Porto com uma solução de Vinho do Porto (mistura física 1:1), em condições pré-determinadas de concentração, tempo e temperatura seguida de um processo de secagem à temperatura ambiente em condições operacionais pré-determinadas de temperatura e tempo; e

a.6) As partículas gelificadas com, por exemplo mas não limitado a, Vinho do Porto, são acondicionadas em saquetas de 2 g.

2. Método de acordo com reivindicação 1, **caracterizado por** incluir, mas não limitado a, Vinho do Porto, destinado a consumo.

3. Método de acordo com as reivindicações 1 e 2, **caracterizado por** incluir Vinho do Porto tinto jovem, podendo ser aplicado a Porto Branco ou outras categorias de Vinho do Porto que compreendam diferentes processos de produção e envelhecimento ou outros vinhos fortificados.

4. Método de acordo com a reinvindicação 1 **caracterizado por** incluir um polímero linear, não ramificado, de natureza hidrofílica e de origem natural.

5. Método de acordo com as reinvindicações 1 e 4 **caracterizado por** incluir um polímero linear, não ramificado, de natureza hidrofílica e de origem natural, seleccionado de entre oligossacáridos ou polissacáridos, tais como ácido algínico e seus derivados, quitina, quitosano e quitosano modificado, dextrano e dextrano modificado, dextrinas e maltodextrinas, pectinas e pectinas modificadas, agar, agarose, κ - e λ -carragenanos, glucomanano de konjac, sulfato de condroítina, goma xantana, goma arábica, goma gelana, amido e amido modificado, celulose e seus derivados.

6. Método de acordo com a reinvindicação 5 **caracterizado por** incluir alginato como polímero imobilizante sob a forma de sal sódico.

7. Método de acordo com a reinvindicação 1 **caracterizado por** incluir cloreto de cálcio como ião divalente que causa a gelificação do polímero.

Lisboa, quinta-feira, 18 de Setembro de 2014