



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL



Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

CARTA PATENTE N.º PI 0314034-2

Patente de Invenção

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

(21) Número do Depósito : PI 0314034-2

(22) Data do Depósito : 07/08/2003

(43) Data da Publicação do Pedido : 18/03/2004

(51) Classificação Internacional : C11B 1/10; C11B 1/06; A23D 9/00; C12P 7/64; A23L 1/30; A23K 1/16; A23C 11/04

(30) Prioridade Unionista : 04/09/2002 EP 02 019908.9

(54) Título : Processo para preparar óleo estável contendo ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa na forma de triacilgliceróis, bem como gêneros alimentícios, composição nutricional e composição cosmética compreendendo o óleo obtido por tal processo.

(73) Titular : Nestec S.A., Sociedade Suíça. Endereço: Avenue Nestle 55, CH-1800 Vevey, Suíça (CH).

(72) Inventor : Raymond Bertholet. Endereço: CH, Vers-Chez-Cochard 11, CH-1807 Blonay, Suíça. Cidadania: Suíça.; Junkuan Wang. Endereço: Chemin Des Abbesses 2B, CH-1027, Suíça. Cidadania: Suíça.; Heribert Johann (J.) Watzke. Endereço: Ch. De La Fontannetaz 21, CH-1009 Pully, Suíça. Cidadania: Austríaca.; John Bruce German. Endereço: Résidence La Bergerie, CH-1072 Forel/Lavaux, Suíça. Cidadania: Canadense.

Prazo de Validade : 10 (dez) anos contados a partir de 04/02/2014, observadas as condições legais.

Expedida em : 4 de Fevereiro de 2014.

Assinado digitalmente por
Liane Elizabeth Caldeira Lage
Diretora de Patentes Substituta

15 de Novembro
REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
de 1889

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**PROCESSO PARA PREPARAR ÓLEO ESTÁVEL CONTENDO ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE CADEIA LONGA NA FORMA DE TRIACILGLICÉROIS, BEM COMO GÊNEROS ALIMENTÍCIOS, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E COMPOSIÇÃO COSMÉTICA COMPREENDENDO O ÓLEO**".

Introdução

A presente invenção refere-se ao campo da preparação de um óleo servindo como um ingrediente que é uma fonte de ácidos graxos essenciais poliinsaturados de cadeia longa (LC-PUFAs) em um gênero alimentício, em um suplemento nutricional, em uma composição cosmética ou farmacêutica .

Estado da Técnica

Um óleo contendo LC-PUFAs tal como por exemplo o ácido araquidônico (ARA), ácido docosaexaenóico (DHA), ácido eicosapentaenóico (EPA) ou ácido dihomogamalinolênico (DHGLA) pode ser obtido de um caldo de fermentação de biomassa. Para obter um óleo da biomassa, métodos de extração com solvente orgânico, por exemplo, hexano, ou com fluido supercrítico, foram empregados. Geralmente, o óleo tem sido extraído de biomassa por percolação da biomassa seca com hexano.

Um tal processo de extração com solvente(s) orgânico(s) é descrito, por exemplo, no WO 9737032, no WO 9743362 ou na publicação Journal of Dispersion Science and Technology, 10, 561 - 579, 1989 "Biotechnological processes for the production of PUFAs".

Esta técnica tem várias desvantagens :

- Durante os estágios de extração com solvente quente ou de destilação do solvente, os LC-PUFAs podem sofrer degradação em contato com oxigênio.

- A remoção completa do solvente contido no óleo ou na biomassa residual requer um tratamento térmico em temperatura elevada.

- Além disso, o solvente, tal como hexano, é capaz de dissolver constituintes de não triacilglicerol da biomassa, o que de fato constitui impurezas.

O óleo bruto obtido após a evaporação do solvente deve também sofrer diversos estágios de refinamento compreendendo desengomamento, neutralização com álcali, descoloração, desengraxamento e desodorização com o auxílio de pelo menos remoção parcial das impurezas. Isto
5 significa que o óleo altamente insaturado é exposto às condições de estimulação de reações físico-químicas que afetam sua qualidade. Por exemplo, os agentes de descoloração criam um sistema de ligações duplas conjugadas e formam produtos de degradação por reação química com os glicérides oxidados.

10 Um processo para extrair biomassa sem nenhum solvente é também conhecido, por exemplo pela EP-A-1178118. De acordo com este processo, o uso de solvente é evitado preparando-se uma suspensão aquosa da biomassa e separando-se uma fase oleosa, contendo o óleo desejado, da fase aquosa, por centrifugação. A fase aquosa contém detritos da
15 parede celular e a quantidade de material solúvel em água obtida da biomassa. Uma desvantagem deste processo é que o óleo bruto obtido é contaminado com quantidades de impurezas, por exemplo lipídeos polares, resíduos de proteínas devido à presença de água. Um tal óleo bruto deve então ser refinado por métodos convencionais para refinar óleos vegetais.

20 O objetivo da presente invenção é evitar as desvantagens da técnica anterior, fornecendo um processo para preparar um óleo estável contendo um ou mais ácidos graxos poliinsaturados derivados de biomassa na forma de triacilgliceróis no estado purificado com uma produção elevada e no qual o óleo sofre degradação mínima.

25 Sumário da Invenção

A presente invenção refere-se a um processo para preparar um óleo estável contendo LC-PUFAs na forma de triacilgliceróis, em particular ácido araquidônico (ARA), ácido dihogamalinolênico (DHGLA), ácido docosahexaenóico (DHA) ou ácido eicosapentaenóico (EPA).

30 O processo é caracterizado pelo fato de que uma ou mais biomassas obtidas da cultura de um microorganismo, especialmente de um fungo ou de uma microalga contendo os ácidos ARA, DHGLA, DHA ou EPA,

são prensadas no estado seco a fim de obter um primeiro óleo prensado e uma massa, e pelo fato de que o óleo desse modo obtido é tratado com um absorvente e pelo fato de que ele é submetido à desodorização sob condições controladas.

5 O óleo desse modo obtido não requer refinamento químico. Tratamento com um absorvente, por exemplo um silicato, e desodorização sob condições suaves são suficientes para obter um óleo purificado e estável que pode ser empregado como um suplemento nutricional.

De acordo com uma modalidade preferida do processo,
10 - a massa prensada é colocada em contato com um óleo portador que entra na composição de um gênero alimentício e a mistura do óleo portador e da massa é prensada a fim de obter um segundo óleo prensado, e

- os óleos prensados são misturados em proporções variáveis a
15 fim de obter uma concentração LC-PUFA que seja apropriada para a aplicação específica. A mistura é então submetida, onde apropriado, a refinamento físico e à desodorização.

Preferivelmente, o óleo não contém mais do que 10% em peso de LC-PUFAs. Como um resultado, o óleo é um lote menos sensível à oxidação durante sua produção, que não é o caso para os óleos contendo LC-PUFAs da técnica anterior .
20

De acordo com um aspecto principal da invenção, é uma vantagem qualitativa crucial ter disponível um óleo novo contendo LC-PUFAs na forma de triacilgliceróis.

25 De acordo com outro aspecto, a invenção refere-se a um gênero alimentício, um produto cosmético ou farmacêutico, um suplemento nutricional ou uma alimentação animal contendo o óleo precedente.

De acordo também com outro aspecto, a invenção refere-se a uma alimentação animal, em particular para animais de estimação, contendo
30 o resíduo de biomassa derivado do processo.

Descrição Detalhada da Invenção

A preparação do óleo é realizada por compressão direta de uma

biomassa contendo LC-PUFAs e produção de um primeiro óleo prensado . A fim de aumentar a produção de LC-PUFA, a massa de biomassa obtida da compressão direta é trazida em contato com um óleo portador e a mistura é submetida à pressão a fim de obter um segundo óleo prensado. Os dois
5 óleos prensados são então misturados em proporções variáveis a fim de obter uma concentração de LC-PUFA que é apropriada para a aplicação específica. A mistura é então submetida, onde apropriado, a refinamento físico e o óleo desejado é desse modo obtido.

O refinamento físico, no contexto da invenção, é alvejado em
10 uma redução nos fosfolipídeos e os ácidos graxos livres e é entendido significar um tratamento de desengomamento sem o uso de ácido e neutralização.

A título de exemplo, foi observado que no caso de uma biomassa contendo ARA, o primeiro óleo prensado foi anteriormente livre da maioria dos ácidos graxos e fosfolipídeos e, conseqüentemente, dependendo do
15 grau desejado de pureza, não requer tratamento de desengomamento.

Por outro lado, no caso de uma biomassa contendo DHA por exemplo, um tal tratamento de desengomamento foi necessário a fim de reduzir, em particular, os fosfolipídeos a fim de obter o grau desejado de pureza .
20

O óleo obtido é adequado para a aplicação em gêneros alimentícios, em particular fórmulas infantis ou para uso como um suplemento nutricional. Ele pode ser empregado em produtos cosméticos ou farmacêuticos. Além disso, o resíduo de biomassa obtido é também um produto do
25 processo que pode ser aprimorado diretamente sem subsequente tratamento, por exemplo como alimentação animal, em particular para animais de estimação.

A preparação de um tal óleo pode ocorrer simplesmente pressionando a biomassa seca. Preferivelmente, o óleo portador é misturado com
30 o resíduo do primeiro pressionamento da biomassa e o óleo é subsequente separados dos sólidos não lipídeos por pressionamento.

A fim de aumentar a produção de LC-PUFA obtido, é preferível

reduzir os tamanhos das partículas da biomassa seca a fim de romper as paredes das células de microorganismos e para desse modo liberar o óleo. É possível, na modalidade preferida, reduzir os tamanhos das partículas da massa prensada a fim de aumentar a área de superfície de contato entre o
5 óleo portador e o resíduo da biomassa. Isto pode ser apropriadamente realizado empregando-se vários métodos, por exemplo:

- a massa de biomassa pode ser moída na presença do óleo portador;
- a massa de biomassa pode ser laminada antes de misturá-la
10 com o óleo portador;
- a massa de biomassa pode ser tratada em pressão elevada na presença do óleo portador, e em seguida o óleo obtido pode ser separado da massa de biomassa por pressionamento e filtração final.
- a biomassa ou massa pode ser tratada com enzimas capazes
15 de degradar as paredes das células.

Porque o portador é um óleo, o óleo obtido após contato com a massa de biomassa tem um conteúdo mínimo de fosfolipídeos, ácidos graxos livres, pigmentos, polímeros e outras substâncias obtidas ou derivadas da biomassa que não são triacilgliceróis. Isto significa que o processo de
20 acordo com a invenção constitui um método seletivo para preparar um óleo purificado estável contendo LC-PUFAs. Não é necessário purificar o óleo insaturado contendo os LC-PUFAs pelos métodos agressivos e incômodos empregados antes da invenção tal como os estágios de desengomamento, neutralização, desengraxamento e descoloração.

25 De acordo com a invenção, os óleos prensados são submetidos, onde apropriado, a uma etapa de refinamento empregando um agente de processamento, por exemplo, um silicato. O tratamento com o agente de processamento pode ser realizado durante contato com o óleo portador ou após a produção do óleo prensado, por exemplo, durante filtração. Final-
30 mente, os óleos são submetidos a um estágio de desodorização, por exemplo por destilação de vapor ou destilação molecular em uma temperatura relativamente baixa. O resultado é que o óleo obtido contém uma quantida-

de particularmente pequena de ácidos trans graxos.

O processo não emprega solvente orgânico e, uma vez que a operação é realizada sob uma camada de nitrogênio e na presença de tocoferóis ou tocotrienóis que estão naturalmente presentes em ou que são
5 adicionados ao óleo portador, os LC-PUFAs são protegidos de degradação oxidativa durante o processo inteiro.

Além da qualidade do óleo obtido, outra vantagem do processo consiste no fato de que o resíduo de biomassa não é contaminado com um solvente orgânico e pode, desse modo, ser diretamente aprimorado, sem
10 subsequente tratamento, por exemplo em alimentação animal, em particular para animais de estimação.

A descrição detalhada do processo que segue é alvejada na preparação de um óleo contendo ARA, um óleo contendo DHA, e um óleo contendo ARA e DHA, considerados a título de exemplos não limitantes. As
15 condições de trabalho para transferir outros LC-PUFAs para um óleo portador de biomassa apropriadas, por exemplo para DHGLA ou EPA, são muito similares.

Na implementação preferida do processo, o óleo é obtido combinando a biomassa por pressionamento seco do óleo e o óleo obtido mistu-
20 rando-se o óleo portador com o resíduo de pressionamento de biomassa seca e separando-se o óleo dos componentes sólidos por pressionamento. Para aumentar o nível de incorporação de LC-PUFA, é desejável romper as células microbianas por tratamentos de pressão elevada, por processos enzimáticos, ou para reduzir os tamanhos das partículas secas de biomassa
25 por moagem ou laminação.

A etapa de moagem empregada pode ser uma das muitas técnicas conhecidas na técnica anterior. Por exemplo, a biomassa pode ser laminada, preferivelmente em baixa temperatura, e em seguida ela pode ser misturada com o óleo portador. Como uma variante, a biomassa pode ser
30 moída na presença do óleo portador. A fim de minimizar tanto quanto possível o dano para os LC-PUFAs, as condições de moagem devem ser suaves. Neste sentido, a moagem da biomassa na presença do óleo portador e sob

uma atmosfera inerte, por exemplo sob uma corrente de nitrogênio, é preferida.

Em seguida, o óleo contendo os LC-PUFAs é separado da massa de biomassa por filtragem ou pressionamento, preferivelmente em pressão elevada, e em seguida uma filtragem final é realizada a fim de remover as partículas finas de resíduo de biomassa.

Foi observado que o nível de incorporação do LC-PUFA aumentou quando o tamanho das partículas de biomassa diminuiu; ele foi > 90% quando por exemplo 90% das partículas tiveram um tamanho < 250 μm .

A título de exemplo, é possível usar um moinho de bola ou um moinho coloidal. Os parâmetros a serem considerados são a duração de moagem, o tamanho das partículas de biomassa, a temperatura de moagem, a relação entre as quantidades de biomassa e de óleo portador.

A duração de moagem tem uma influência sobre o tamanho das partículas e o último é também influenciado pela temperatura de moagem. Conseqüentemente, na prática, é preferível indicar o tamanho das partículas como um parâmetro crucial do estágio de moagem. Desse modo, é desejável que 90% das partículas tenha um tamanho de < 500 μm , preferivelmente que 90% das partículas tenham um tamanho < 300 μm e mais preferivelmente ainda que 90% das partículas tenham um tamanho < 200 μm .

A temperatura de moagem é escolhida em um valor maior do que o ponto de fusão do óleo portador, e é preferivelmente de 20 a 80°C.

A relação em peso escolhida entre a biomassa e o óleo portador determina o conteúdo de LC-PUFA do óleo final. Desse modo, por exemplo, 30 partes de biomassa são escolhidas por 70 partes de óleo portador a fim de obter pelo menos 3,5% de LC-PUFA no óleo convertido.

O óleo empregado como portador pode ser qualquer óleo ou mistura de óleos que podem ser consumidos como alimento humano. Um óleo ou uma mistura entrando na composição do produto que é desejado para enriquecer com PUFA é preferivelmente empregado. Aí pode ser mencionado em particular para uma fórmula infantil rica em óleo de girassol de

ácido oléico (HOSFO), óleo de girassol (SFO), óleo de soja, oleína de palma e um triacilglicerol de cadeia média (MCT, contendo essencialmente triacilgliceróis de C₈-C₁₀ ácidos graxos saturados).

5 O estágio seguinte do processo consiste em separar o resíduo de biomassa desperdiçado por qualquer método habitual tal como, por exemplo, pressionamento, filtragem ou centrifugação. Para esta finalidade, uma prensa operando em pressão elevada é preferivelmente empregada.

10 O óleo obtido deve ser tornado livre de partículas insolúveis finas por filtragem fina. Esta operação pode ser realizada, onde apropriado, expondo-se o óleo a um absorvente mineral como um auxiliar de filtro, por exemplo dicalito.

Finalmente, o óleo filtrado é desodorizado a fim de remover as substâncias voláteis. Isto pode ser realizado por qualquer método conhecido que modere as condições que são empregadas a fim de ser suave sobre os
15 LC-PUFAs. Aí pode ser mencionado, por exemplo, destilação de vapor, preferivelmente sob vácuo, ou destilação molecular.

O óleo obtido pode ser empregado em composições de alimento para consumo humano como ele é ou na forma de uma mistura com outros óleos tais como, por exemplo, um óleo de peixe ou tais como, por exemplo,
20 óleos de salada ou alternativamente na forma de uma emulsão em molhos de salada ou maioneses. Ele pode ser um constituinte de um leite dietético para adolescentes ou adultos, uma fórmula infantil para bebês prematuros, bebês não desmamados de tempo completo ou um leite de continuidade para crianças pequenas.

25 Ele pode ser incorporado em uma composição nutritiva ou suplementar para consumo oral.

Ele pode ser incorporado em uma composição farmacêutica para ingestão oral, enteral ou parenteral, ou para aplicação tópica, dermatológica ou oftalmológica.

30 Ele pode constituir um ingrediente para uma composição cosmética, tópica ou oral.

Finalmente, ele pode constituir um ingrediente para um alimento

para animal de estimação, por exemplo, um alimento seco ou úmido ou um leite.

O resíduo de biomassa, após a separação do óleo, pode ser vantajosamente empregado em alimentação animal, particularmente para animais de estimação.

Exemplos

Os exemplos abaixo ilustram a invenção. Nesse particular, as partes e percentagens são em peso, a menos que de outra maneira estabelecido.

Para determinar o percentual de ácidos graxos livres (FFA), o método IUPAC 2.201 é empregado, para o conteúdo de ARA, o método IUPAC 2.304 é empregado, e para o conteúdo de Fósforo (P), o método NI C12-1976-SSOG é empregado.

Exemplo 1: Pressionamento e uma biomassa contendo ARA com uma prensa hidráulica.

Equipamento:

Prensa Carver RC 106

Material empregado:

Biomassa contendo 34,7% de óleo contendo 39,9% de ácido araquidônico (ARA).

Procedimento:

111 g da biomassa são introduzidos em um cartucho de papelão. O cartucho é introduzido no cilindro da prensa e o todo é aquecido em um forno a 70°C durante 30 minutos.

O pressionamento é então realizado gradualmente aumentando a pressão até uma pressão final de 700 bar. 23,2 g de óleo prensado claro são desse modo recuperados, que corresponde a 60,2% de óleo presente na biomassa.

O conteúdo de ARA, ácido graxo livre (FFA) e Fósforo (P) do óleo prensado é então determinado e ele é comparado com um óleo obtido

após a extração de hexano da mesma biomassa. Os resultados são sumariados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1

	Óleo de pressionamento direto.	Óleo extraído com hexano
% de ARA	39,9	39,9
% de FFA	0,1	0,6
mg/kg P	17	508

O óleo obtido após pressionamento direto tem um conteúdo de ARA similar ao óleo extraído com hexano, porém contém menos impurezas (FFA, P). O óleo prensado não requer refinamento químico ao contrário do óleo convencionalmente extraído com hexano. Um tratamento com um absorvente (agente de processamento) seguido por desodorização torna possível obter um óleo estável tendo um odor neutro.

Exemplo 2: Pressionamento de uma biomassa contendo DHA com uma prensa tarraxa.

Equipamento:

Prensa de tarraxa Komet

Prensa de filtro Seitz

15 Materiais empregados:

Biomassa contendo 50,5% de óleo contendo 39% de ácido docosaenóico (DHA).

Procedimento:

150 kg de biomassa foram prensados na prensa Komet sob as seguintes condições :

fenda: 8 mm, rendimento: 3,75 kg/h

Um óleo turvo é coletado que é filtrado empregando um papel filtro de 20 microns. 46 Kg de um óleo claro são desse modo obtido, o que corresponde a 60,7% de óleo presente na biomassa.

O conteúdo de DHA, ácido graxo livre (FFA) e Fósforo (P) do óleo prensado é então determinado e ele é comparado com um óleo obtido após a extração da mesma biomassa com hexano. Os resultados são suma-

riados na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2

	Óleo de pressionamento direto	Óleo extraído com hexano
% de DHA	39	39
% de FFA	0,7	1,6
mg/kg P	200	630

O óleo obtido após pressionamento direto tem um conteúdo de DHA similar ao óleo extraído com hexano, porém contém menos impurezas (FFA, P). As perdas durante refinamento são menores. Tratamento com um absorvente (agente de processamento) seguido por desodorização torna possível obter um óleo estável tendo um odor neutro.

Exemplo 3: Incorporação do DHA residual da biomassa prensada em oleína de palma.

10 Equipamento:

Moinho colóide Fryma MZ 80

Unidade de Filtragem De Smet minipilot com câmara de 1,4 litros.

Prensa de filtro de 2 l, Seitz

Desodorizador de Laboratório.

15 Materiais empregados:

Biomassa DHA prensada de Exemplo 2, contendo 28,2% de óleo contendo 39% de ácido docosaexaenóico (DHA).

Oleína de palma

Trisyl® (agente de processamento).

20 Procedimento:

1,4 Kg da biomassa prensada como obtido no Exemplo 2 e 2 kg de oleína de palma são introduzidos no recipiente do moinho. A moagem é realizada por passagem direta através do moinho com uma fenda de 10 microns em uma temperatura de 40 a 50°C e a mistura é recuperada. 2,6 kg desta mistura são introduzidos na unidade de filtragem e a filtragem é realizada a 50°C, e então a massa é lavada injetando-se 0,5 kg de oleína de palma. A massa é então prensada até uma pressão de 15 bar. 2 kg de um

óleo ligeiramente turvo são desse modo recuperados, cujo óleo é filtrado sobre a prensa de filtro com um filtro de 1 micron. O conteúdo de fósforo do óleo filtrado, que é até 66 mg/kg, é determinado. O óleo filtrado é submetido a refinamento físico. Com o objetivo de reduzir o conteúdo de fósforo, o óleo é agitado a 85°C durante 20 minutos com 2% de Trisyl®, e em seguida seco a 85°C sob um vácuo de 20 mbar e filtrado. Finalmente, o óleo é desodorizado a 180°C / 1 mbar durante 3 horas. O óleo refinado é analisado a fim de determinar sua pureza (FFA, P) e o nível de incorporação do DHA. Os resultados são sumariados na Tabela 3 abaixo.

10

Tabela 3

% de DHA	4,9
Nível de incorporação de DHA (%)	96,5
% de FFA	0,07
mg/kg de Fósforo	2

Exemplo 4: Refinamento físico da mistura de óleos prensados contendo DHA.

Equipamento:

Reator de vidro de laboratório de 1 litro.

15 Prensa de filtro de 2 litros Seitz

Desodorizador de Laboratório

Materiais empregados:

Trisyl® (agente de processamento)

Procedimento

20 Com o objetivo de obter um óleo refinado com uma concentração de DHA de cerca de 8%, 50 g de óleo prensado como obtido no Exemplo 2 e 500 g de óleo prensado como obtido no Exemplo 3 antes da etapa de refinamento são misturados no reator. A mistura é agitada a 85°C durante 20 minutos com 2% de Trisyl®, e em seguida seca a 85°C sob um vácuo de 20 mbar, e finalmente filtrada. 540 g de um óleo claro são desse modo recuperados.

25

300 g deste óleo são introduzidos no desodorizador e tratados com vapor durante 3 horas a 180°C / 1 mbar. O óleo refinado é analisado a

fim de determinar sua pureza (FFA, Fósforo) e o conteúdo de DHA. Os resultados são sumariados na Tabela 4 abaixo.

Tabela 4

% de DHA	8
% de FFA	0,07
mg/kg de Fósforo	2

5 Exemplo 5: Incorporação, em oleína de palma, de DHA e ARA obtidos de biomassas.

Equipamento:

Moinho colóide Fryma MZ 80

Unidade de filtração De Smet minipilot, com câmara de 1,4 l.

Prensa de filtro de 2 litros Seitz

10 Desodorizador de Laboratório.

Materiais empregados:

Biomassa contendo 36% de óleo contendo 43,1% de ácido araquidônico (ARA).

15 Biomassa contendo 50,5% de óleo contendo 39% de ácido docosaenoico (DHA)

Oleína de palma.

Trisyl® (agente de processamento).

Procedimento:

20 0,7 kg da biomassa contendo DHA, 0,7 kg da biomassa contendo ARA e 2 kg de oleína de palma são introduzidos no recipiente do moinho. A moagem foi realizada por passagem direta através do moinho com uma fenda de 10 microns em uma temperatura de 40 a 50°C e a mistura é recuperada. 2,5 kg desta mistura são introduzidos na unidade de filtração e a filtração é realizada a 50°C. A massa é lavada injetando-se 0,92 kg de oleína de palma. A massa é então prensada até uma pressão de 15 bar. 2,5 kg de um óleo ligeiramente turvo são desse modo recuperados, cujo óleo é filtrado sobre a prensa de filtro com um filtro de 1 micron. O conteúdo de fósforo do óleo filtrado, que é até 26 mg/kg, é determinado. O óleo filtrado é submetido à refinamento físico. Com o objetivo de reduzir o conteúdo de

25

fósforo, o óleo é agitado a 85°C durante 20 minutos com 1% de Trisyl® , seco a 85°C sob um vácuo de 20 mbar e em seguida filtrado. Finalmente, o óleo é desodorizado a 180°C / 1 mbar durante 3 horas. O óleo refinado é analisado a fim de determinar sua pureza (FFA, Fósforo) e o nível de incorporação de DHA e do ARA. Os resultados são sumariados na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5

% de DHA	2,3
Nível de incorporação de DHA (%)	64,6
% de ARA	2,8
Nível de incorporação de ARA (%)	99
% de FFA	0,04
mg/kg de Fósforo (P)	2

Exemplos 6 a 8

6. Uma fórmula infantil para bebês prematuros enriquecida com ARA é preparada de óleo preparado pelo processo de Exemplo 1 e um óleo de peixe enriquecido com DHA, contendo cerca de 24% de DHA e neste ponto são adicionados também outros óleos, por exemplo nas proporções indicadas na Tabela 6 abaixo, proteínas, onde apropriado hidrolizadas, carboidratos, e onde apropriado vitaminas e elementos de traço.

15

Tabela 6

	Exemplo 6
Óleo de Exemplo 1	0,8
Óleo de peixe	1,3
Óleo de MCT	27
Óleo de Soja	23
Oleína de palma	47,9
Total	100

7. Uma fórmula infantil para bebês não desmamados de tempo completo enriquecida com ARA e com DHA é preparada do óleo veículo preparado pelo processo de Exemplo 5 e neste ponto são adicionados também outros óleos, por exemplo nas proporções indicadas na Tabela 7 abai-

xo, proteínas, onde apropriado hidrolizadas, carboidratos e onde apropriado vitaminas e elementos de traço.

Tabela 7

	Exemplo 7
Óleo de Exemplo 5	13
Óleo de coco	20
Óleo de soja	20
Oleína de palma	47
Total	100

8. Um leite de continuidade para crianças pequenas enriquecido com DHA é preparado do óleo veículo preparado pelo processo de Exemplo 4, e nesse ponto são adicionados também outros óleos nas proporções indicadas na Tabela 8 abaixo, proteínas, onde apropriado hidrolizadas, carboidratos e onde apropriado vitaminas e elementos de traço.

Tabela 8

	Exemplo 8
Óleo de Exemplo 4	4
Óleo de semente de palma	27
Óleo de soja	23
Oleína de palma	46
Total	100

10 Exemplo 9

Um leite líquido enriquecido com DHA em uma quantidade de 1% de DHA na fase graxa é preparado da seguinte maneira :

- Um leite integral contendo 3,92% de gordura e 8,58% de sólidos sem gordura e um leite de baixo conteúdo de gordura contendo 0,05% de gordura e 9% de sólidos sem gordura são pasteurizados separadamente tratando-os a 87°C durante 12 segundos.

- 34,69 kg de leite integral e 160,26 kg de leite de baixo conteúdo de gordura, resfriado para 15°C, são então misturados, e em seguida uma pré-mistura de 0,77 kg de óleo obtido de acordo com o Exemplo 3 (oleína de palma, contendo 4,9% de DHA), 1,6 kg de óleo de soja e 1 g de vitamina

E aquecida para 50°C é incorporado a esta mistura por meio de um moinho de colóide.

Produto esterilizado:

5 Após aquecimento para 80°C em um permutador de placa, o líquido é esterilizado por UHT a 148°C durante 5 segundos. Após o resfriamento a 78°C, ele é homogeneizado em dois estágios, a 200 bar, e em seguida a 50 bar; ele é resfriado para 20°C e é assepticamente embalado em embalagem tipo cartão que foi previamente esterilizado, os estágios de homogeneização, resfriamento e enchimento ocorrem assepticamente.

10 Produto pasteurizado:

O líquido é aquecido a 72°C durante 15 segundos em um permutador de placa; ele é homogeneizado em dois estágios a 200 bar, e em seguida a 50 bar; ele é resfriado para 4°C e é embalado em embalagem tipo cartão.

15 Exemplo 10

Como um suplemento nutricional, um óleo preparado de acordo com o Exemplo 1, contendo ARA ou um óleo preparado de acordo com o Exemplo 2, contendo DHA é encapsulado em uma quantidade de 500 mg de óleo em cápsulas de gelatina.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para preparar um óleo estável contendo ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LC-PUFAs) na forma de triacilgliceróis, em particular ácido araquidônico (ARA), ácido dihomogamalinolênico (DH-
5 GLA), ácido docosaexaenóico (DHA) ou ácido eicosapentaenóico (EPA), caracterizado pelo fato de que uma ou mais biomassas obtidas da cultura de um micro-organismo, especialmente de um fungo ou de uma microalga con-
tendo os ácidos ARA, DHGLA, DHA ou EPA, são prensadas no estado seco a fim de obter um primeiro óleo prensado e uma massa, e pelo fato de que o
10 óleo desse modo obtido é tratado com um adsorvente e pelo fato de que ele é submetido à desodorização sob condições controladas.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a biomassa contém pelo menos um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa escolhido de ARA e DHA.

15 3. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que uma biomassa contendo ARA é tratada.

4. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que uma biomassa contendo DHA é tratada.

20 5. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que uma mistura de biomassas, contendo ARA e DHA, é tratada.

6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que um óleo veículo, entrando na composição de um produto alimentício, nutricional, farmacêutico ou cosmético, é trazido em contato com a massa pressionada da biomassa a fim de transferir o(s)
25 ácido(s) graxo(s) poliinsaturado(s) de cadeia longa na forma de triacilgliceróis para o referido veículo, o óleo contendo o(s) referido(s) ácido(s) graxo(s) é separado da massa de biomassa por pressionamento e filtração, o que constitui o segundo óleo prensado, e os óleos prensados são combinados e eles são refinados sob condições controladas.

30 7. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que os óleos prensados são submetidos a refinamento físico empregando um agente de processamento, sendo possível para o tratamento ser

realizado durante contato com o óleo veículo ou após a produção do óleo prensado, em particular durante a filtração.

8. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as paredes das células dos micro-organismos são rompidas por
5 pressionamento, a fim de aumentar o nível de incorporação do óleo de biomassa no óleo veículo.

9. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a massa pressionada da biomassa é submetida à moagem na presença do óleo veículo sob condições suaves, em uma temperatura mode-
10 rada sob uma atmosfera inerte, em particular sob uma camada de nitrogênio.

10. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 6 a 9, caracterizado pelo fato de que uma filtragem final é realizada a fim de remover as partículas finas de resíduo de biomassa.

11. Gêneros alimentícios, caracterizados pelo fato de que con-
15 têm um óleo obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

12. Gêneros alimentícios infantis, caracterizados pelo fato de que contêm um óleo obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

20 13. Gêneros alimentícios infantis, caracterizados pelo fato de contêm um óleo obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, em combinação com um óleo de peixe.

14. Composição nutricional, caracterizada pelo fato de que con-
25 têm um óleo obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

15. Composição cosmética em forma seca ou de emulsão, ca-
racterizada pelo fato de que contém um óleo obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

16. Gêneros alimentícios, caracterizados pelo fato de que con-
30 têm um óleo obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, em que são destinados como alimentação animal.

17. Gêneros alimentícios, caracterizados pelo fato de que con-

têm o resíduo de biomassa obtido por um processo, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, em que são destinados como alimentação animal.

RESUMO

Patente de Invenção: **"PROCESSO PARA PREPARAR ÓLEO ESTÁVEL CONTENDO ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS DE CADEIA LONGA NA FORMA DE TRIACILGLICERÓIS, BEM COMO GÊNEROS ALIMENTÍCIOS, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E COMPOSIÇÃO COSMÉTICA COMPREENDENDO O ÓLEO OBTIDO POR TAL PROCESSO"**.

A presente invenção refere-se a um óleo estável contendo LC-PUFAs na forma de triacilgliceróis, em particular ácido araquidônico (ARA), ácido dihomogamalinolênico (DHGLA), ácido docosaexaenóico (DHA) ou ácido eicosapentaenóico (EPA) que pode ser preparado por pressionamento direto de uma ou mais biomassas obtidas da cultura de um microorganismo, especialmente de um fungo ou de uma microalga contendo os ácidos ARA, DHGLA, DHA ou EPA induzindo a um primeiro óleo de pressionamento e trazendo um óleo veículo entrando na composição de um gênero alimentício, um produto cosmético ou farmacêutico, em contato com a massa de biomassa, seguido por pressionamento induzindo a um segundo óleo de pressionamento, e em seguida combinando-se os óleos prensados e refinando a mistura sob condições controladas.