



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) PI0709497-3 A2



(22) Data de Depósito: 11/04/2007
(43) Data da Publicação: 19/07/2011
(RPI 2115)

(51) Int.CI.:
A23D 9/00 2006.01

(54) Título: **PRODUTOS ALIMENTÍCIOS
COMPREENDENDO ÁCIDOS GRAXOS
POLIINSATURADOS DE CADEIA LONGA E
MÉTODOS PARA PREPARÁ-LOS**

(30) Prioridade Unionista: 11/04/2006 US 60/791,358

(73) Titular(es): MARTEK BIOSCIENCES CORPORATION

(72) Inventor(es): Jesus Ruben Abril, MICHELLE CRANDELL

(74) Procurador(es): City Patentes e Marcas Ltda.

(86) Pedido Internacional: PCT US2007066471 de 11/04/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/121273de 25/10/2007

(57) Resumo: PRODUTOS ALIMENTÍCIOS COMPREENDENDO ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE CADEIA LONGA E MÉTODOS PARA PREPARÁ-LOS. Sendo que a presente invenção inclui uma composição de óleo de alimento compreendendo uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL e um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFA de CL. O primeiro óleo pode preferivelmente compreender um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos. A presente invenção também fornece os métodos de preparação de alimento, mais especificamente, métodos para a fritura em frigideira, fritura em grandes quantidades de óleo, métodos para preparar molhos alimentícios contendo o lipídeo comestível, métodos para preparar produtos alimentícios prensados, e métodos para otimizar o conteúdo de PUFA de CL de um produto alimentício, especificamente produtos alimentícios previamente cozidos, e produtos alimentícios preparados em conformidade com tais métodos. Tais composições e métodos são úteis, por exemplo, para aumentar o consumo dos PUFA de CL.

"PRODUTOS ALIMENTÍCIOS
COMPREENDENDO ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE
CADEIA LONGA E MÉTODOS PARA PREPARÁ-LOS"

Campo Da Invenção

5 A invenção refere-se às composições de óleo de alimento, métodos para preparação de alimento e produtos alimentícios compreendendo ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, e especificamente, ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa de ômega-3, ácidos graxos poliinsaturados de cadeia 10 longa de ômega-6 e misturas dos mesmos.

Histórico

É desejável aumentar o consumo dietético dos ácidos graxos poliinsaturados de ômega-3 benéficos (PUFA de ômega-3) e dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa de ômega-3 (PUFA de CL). Outros nutrientes benéficos são os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa de ômega-6. Conforme aqui utilizado, a referência a um ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa ou PUFA de CL, refere-se a um ácido graxo poliinsaturado tendo 20 ou mais carbonos. Os PUFAs de ômega-3 são reconhecidos como compostos dietéticos importantes para impedir arteriosclerose e doença cardíaca coronária, para aliviar condições inflamatórias, prejuízo cognitivo e doenças relacionadas à demência e para retardar o crescimento de células de tumor. Uma importante classe de PUFAs de ômega-3 é as PUFAs de ômega-3 de CL. As PUFAs de CL de ômega-6 atuam não somente como lipídeos estruturais no corpo humano, porém também como precursores para um número de fatores na inflamação, tais como, prostaglandinas e leucotrienos.

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos e

são classificados com base nas características de comprimento e saturação da cadeia de carbono. Os ácidos graxos de cadeia curta possuem 2 a cerca de 6 carbonos e são tipicamente saturados. Os ácidos graxos de cadeia média possuem em cerca de 6 a cerca de 5 18 carbonos e podem ser saturados ou insaturados. Os ácidos graxos de cadeia longa possuem de 20 a 24 ou mais carbonos e também podem ser saturados ou insaturados. Nos ácidos graxos de cadeia mais longa pode haver um ou mais pontos de insaturação, originando os termos "monoinsaturado" e "poliinsaturado", 10 respectivamente. Os PUFA de cadeia longa (PUFA de CL) são de interesse específico na presente invenção.

Os PUFA de CL são categorizados de acordo com o número e posição de ligações duplas nos ácidos graxos de acordo com uma nomenclatura bem entendida. Existem 15 duas séries ou famílias dos PUFA de CL, dependendo da posição da ligação dupla mais próxima à extremidade de metila do ácido graxo: a série ω -3 (ou n-3 ou ômega-3) contém uma ligação dupla no terceiro carbono, enquanto a série ω -6 (ou n-6 ou ômega-6) não possui nenhuma ligação dupla até o sexto carbono. Dessa forma, o 20 ácido docosahexaenoico ("DHA") possui um comprimento de cadeia de 22 carbonos com 6 ligações duplas tendo início no terceiro carbono a partir da extremidade de metila e é designado como "22:6 n-3". Outro importante PUFA de CL é o ácido eicosapentaenoico ("EPA") que é designado como "20:5 n-3".

25 A síntese *de novo* ou "nova" dos ácidos graxos de ômega-3 e ômega-6, tais como, DHA e ARA, não ocorre no corpo humano; entretanto, o corpo pode converter os ácidos graxos de cadeia mais curta para PUFA de CL, tais como, DHA e ARA, embora em eficiência muito baixa. Tanto os ácidos graxos de

ômega-3 quanto de ômega-6 devem ser parte do consumo nutricional, já que o corpo humano não pode inserir ligações duplas mais próximas à extremidade ômega do que o sétimo átomo de carbono contando a partir de tal extremidade da molécula. Dessa forma, todas as conversões metabólicas ocorrem sem alterar a extremidade de ômega da molécula que contém as ligações duplas de ômega-3 e ômega-6. Conseqüentemente, os ácidos de ômega-3 e ômega-6 são duas famílias separadas de ácidos graxos essenciais, já que não são conversíveis entre si no corpo humano.

Nos últimos vinte anos, os peritos em saúde recomendaram dietas mais baixas em gorduras saturadas e mais altas em gorduras poliinsaturadas. Enquanto essa recomendação foi seguida por um número de consumidores, a incidência de doença cardíaca, câncer, diabetes e muitas outras doenças debilitantes continuaram a constantemente aumentar. Os cientistas concordam que o tipo e fonte de gorduras poliinsaturadas é tão crítico quanto à quantidade total de gorduras. As gorduras poliinsaturadas mais comuns são derivadas da matéria vegetal e faltam nos ácidos graxos de cadeia longa (mais especificamente os PUFAs de LC de ômega-3). Além disso, a hidrogenação das gorduras poliinsaturadas para criar gorduras sintéticas contribuiu para o aumento de determinadas doenças e exacerbou a deficiência em alguns ácidos graxos essenciais. De fato, muitas condições médicas foram identificadas como sendo beneficiais a partir de uma suplementação de ômega-3. Esses incluem acne, alergias, Alzheimer, artrite, aterosclerose, cistos de mama, câncer, fibrose cística, diabetes, eczema, hipertensão, hiperatividade, doenças intestinais, disfunção do rim, leucemia e esclerose múltipla. De nota, a Organização Mundial da Saúde recomendou que as

fórmulas infantis fossem enriquecidas com os ácidos graxos de ômega-3 e ômega-6.

Os poliinsaturados derivados de carne contêm quantidades significativas de ômega-6, porém pouco ou 5 nenhum ômega-3. Enquanto os ácidos graxos de ômega-6 e ômega-3 são ambos necessários para a boa saúde, eles devem ser consumidos em um equilíbrio de cerca de 4:1. A dieta ocidental atual criou um desequilíbrio grave com o consumo atual em média de 20 vezes mais ômega-6 do que o ômega-3. Os consumidores 10 preocupados começaram a procurar suplementos de alimento saudável para restaurar o equilíbrio. As fontes principais de ômega-3 são o óleo de linhaça e óleos de peixe. A última década observou 15 o rápido crescimento na produção de óleos de peixe e linhaça. Ambos os tipos de óleo são considerados como boas fontes dietéticas das gorduras poliinsaturadas de ômega-3. O óleo de linhaça não contém nenhum EPA, DHA ou DPA, porém, ao invés disso, contém um ácido linoléico – um bloco de construção que pode ser alongado pelo corpo para construir PUFAs de cadeias mais longas. Existe evidência, entretanto, que a taxa da conversão 20 metabólica pode ser baixa e oscilante, especificamente entre aqueles com saúde prejudicada. Os óleos de peixe variam consideravelmente no tipo e nível da composição de ácido graxo dependendo da espécie específica e suas dietas. Por exemplo, o peixe criado por aquicultura tende a ter um nível mais baixo dos 25 ácidos graxos de ômega-3 do que o peixe de modo selvagem. À luz dos benefícios de saúde de tais PUFAs de CL de ômega-3 e ômega-6, seria desejável suplementar os alimentos com tais ácidos graxos.

Devido à escassez das fontes de PUFAs de

ômega-3 de CL, os alimentos típicos preparados em casa e de conveniência são baixos tanto em PUFAs de ômega-3 quanto PUFAs de ômega-3 de CL (comprimento de cadeia maior do que 20), tais como, ácido docosahexaenoico, ácido docosapentaenoico 5 e ácido eicosapentaenoico. À luz dos benefícios de saúde de tais PUFAs de ômega-3 de CL (comprimento de cadeia maior do que 20), seria desejável suplementar os alimentos com tais ácidos graxos.

Enquanto os alimentos e suplementos 10 dietéticos preparados com PUFAs de CL podem ser mais saudáveis, também possuem uma vulnerabilidade aumentada ao ranço. O ranço nos lipídeos, tais como, ácidos graxos insaturados, é associado ao desenvolvimento de *off-flavor* de oxidação. O desenvolvimento de *off-flavor* de oxidação envolve a deterioração 15 do alimento afetando o sabor, aroma e o valor nutricional do alimento específico. Uma fonte primária do desenvolvimento de *off-flavor* de oxidação nos lipídeos, e consequentemente os produtos que os contêm, é a reação química dos lipídeos com o oxigênio. A taxa em que a reação de oxidação prossegue foi geralmente 20 entendida como sendo afetado pelos fatores, tais como, temperatura, grau de insaturação dos lipídeos, nível de oxigênio, exposição à luz ultravioleta, presença de quantidades de indício de metais pró-oxidantes (tais como, ferro, cobre ou níquel), enzimas de lipoxidase e assim por diante.

25 A suscetibilidade e taxa de oxidação dos ácidos graxos insaturados podem aumentar dramaticamente como uma função do grau crescente de insaturação especificamente. Com relação a isso, o EPA e o DHA contêm cinco e seis ligações duplas, respectivamente. Esse alto nível de insaturação torna os

ácidos graxos de ômega-3 prontamente oxidáveis. A instabilidade natural de tais óleos origina características de odor desagradável e sabor inodoro, mesmo após um período relativamente curto de tempo de armazenamento.

5 Os PUFAs podem ser extraídos a partir de fontes microbianas para uso em produtos nutricionais e/ou farmacêuticos. Por exemplo, o óleo microbiano enriquecido com DHA é fabricado a partir de *Cryptocodonium cohnii* dinoflagelado e óleo enriquecido com ARA é fabricado a partir do fungo filamentoso
10 *Mortierella alpina*, ambos para uso como suplementos nutricionais e nos produtos alimentícios, tais como, fórmulas infantis. De forma semelhante, o óleo microbiano enriquecido com DHA a partir de *Schizochytrium* é fabricado para uso como um suplemento nutricional ou ingrediente alimentício. Tipicamente, os PUFAs de CL
15 são extraídos a partir da biomassa e purificados. Os óleos extraídos e purificados podem ser ainda processados para atingir formulações específicas para uso em produtos alimentícios (tais como, pó seco ou emulsão líquida).

À luz do desejo de suplementar os alimentos
20 com PUFAs de ômega-3 de CL e/ou PUFAs de ômega-6 de CL, e considerando as falhas da técnica anterior para fornecer esses alimentos, existe uma necessidade para métodos de modo enriquecer os alimentos com PUFAs de ômega-3 de CL e/ou PUFAs de ômega-6 de CL e também para composições de óleo de
25 alimento e produtos alimentícios compreendendo os PUFAs de ômega-3 de CL e/ou PUFAs de ômega-6 de CL. Essas e outras necessidades são respondidas pela presente invenção.

Sumário Da Invenção

A presente invenção é direcionada às

composições de óleo de alimento e seus usos nos produtos alimentícios. As composições de óleo de alimento geralmente incluem uma mistura de um primeiro óleo tendo PUFAs de CL e preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos e um segundo óleo que não inclui substancialmente nenhum PUFA de CL, e preferivelmente, substancialmente nenhum PUFA de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFA de CL de ômega-6 e que é líquido em temperatura ambiente.

10 Em uma primeira configuração, a composição de óleo de alimento inclui uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL, e preferivelmente um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos e um segundo óleo compreendendo substancialmente

15 nenhum PUFA de CL, e preferivelmente, substancialmente nenhum PUFA de ômega-3 de CL, caracterizado pelo fato de que o segundo óleo é líquido em temperatura ambiente. Em uma configuração alternativa, a composição de óleo de alimento inclui uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL, e

20 preferivelmente um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos e um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFAs de CL, e substancialmente nenhum PUFA de ômega-6 de CL, caracterizado pelo fato de que o segundo óleo é líquido em temperatura ambiente.

25 Nessas configurações, a mistura compreende entre cerca de 0,01% e cerca de 5% dos PUFAs de CL. Em uma configuração adicional, a mistura pode compreender entre cerca de 0,08% e cerca de 3% dos PUFAs de CL ou entre cerca de 0,1% e cerca de 0,5% dos PUFAs de CL. Essa primeira configuração da invenção é especificamente

útil para preparar os produtos alimentícios fritos em frigideira. Tais produtos podem incluir entre cerca de 5mg e cerca de 150mg dos PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos por produto alimentício ou porção. Um aspecto 5 adicional dessa configuração é um método para a preparação de alimento de um item de alimento capaz de ser frito em frigideira. Esse método inclui a colocação do item de alimento e um óleo em uma frigideira. O óleo inclui a primeira configuração da composição de óleo de alimento acima descrita. O calor é aplicado à frigideira 10 suficiente para aquecer o item de alimento, assim fritando o alimento. Em uma configuração alternativa, essa composição de óleo de alimento é útil para preparar os produtos alimentícios fritos em grandes quantidades de óleo, tais como, tempurá ou batatas fritas, bem como os métodos para a preparação de alimento de um 15 item de alimento capaz de ser frito em grandes quantidades de óleo. Esse método inclui a imersão do item de alimento em um óleo. O óleo inclui a primeira configuração da composição de óleo de alimento acima descrita. O calor é aplicado ao óleo suficiente para aquecer o item de alimento, assim fritando em grandes quantidades 20 de óleo o alimento.

Uma segunda configuração da composição de óleo de alimento da presente invenção inclui uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL e preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou 25 misturas dos mesmos e um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFAs de CL e preferivelmente substancialmente nenhum PUFAs de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFAs de ômega-6 de CL, e caracterizado pelo fato de que o segundo óleo é líquido em

temperatura ambiente. Nessa configuração, o conteúdo do PUFA de CL da mistura está entre cerca de 1% e cerca de 30%. Nessa configuração, o conteúdo do PUFA de CL da mistura de óleo também pode estar entre cerca de 10% e cerca de 20%, ou entre 5 cerca de 1% e cerca de 5%. A segunda configuração da composição de óleo de alimento pode ser usada em um método para preparar um produto alimentício que inclui o contato de um óleo com os componentes alimentícios adicionais. Tais produtos alimentícios podem incluir qualquer molho alimentício contendo 10 lipídeo comestível, tais como, molhos para salada, escabeches, remoladas, molhos vegetais, molhos de fruta, molhos de peixe e molhos de carne, tais como, molhos de ave, molhos de carne bovina, molhos de vitela e molhos de cordeiro.

Uma terceira configuração da composição de 15 óleo de alimento da presente invenção inclui uma composição tópica de óleo de alimento que inclui uma mistura de um primeiro óleo tendo um PUFA de CL e preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos, um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFAs de 20 CL e preferivelmente, nenhum PUFAs de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFAs de ômega-6 de CL, e que é líquido em temperatura ambiente e um antioxidante. Nessa configuração, a mistura compreende entre cerca de 0,25% e cerca de 10% do PUFA de CL. Nessa configuração, o conteúdo do PUFA 25 de CL da mistura também pode estar entre cerca de 1% e cerca de 5%. Uma configuração adicional da presente invenção é um produto alimentício compreendendo a terceira configuração da composição de óleo de alimento. O produto alimentício pode ser selecionado de um produto alimentício previamente cozido, tal como aquele que foi

previamente cozido, frito ou frito em grandes quantidades de óleo. O produto alimentício pode ser selecionado a partir de bens cozidos, petiscos salgados, petiscos especiais, petiscos de confeitos e alimentos de petiscos naturalmente ocorrentes. Por 5 exemplo, o produto alimentício pode ser selecionado a partir de biscoitos, bolachas, doces, bolos, cereais, bolinhos, tortas, barras de granola/lanche, tortinhas, batatas chips, chips de milho, chips de trigo, chips de sorgo, chips de soja, petiscos prensados, pipoca, *pretzels*, *crisps* de batata, petiscos de fruta seca, petiscos de carne, 10 couros de porco, barras alimentícias saudáveis, bolos de arroz, bolos de milho, bombons, nozes, frutas secas e verduras.

Uma configuração adicional da presente invenção é um método da preparação de alimento que inclui a aplicação tópica da terceira configuração da composição de óleo de 15 alimento em um produto alimentício. A etapa da aplicação tópica pode ser selecionada a partir de pulverização, imersão e escovamento. Esse método pode ainda incluir o acondicionamento do produto alimentício após a aplicação da composição de óleo de alimento. A etapa de acondicionamento pode incluir o 20 acondicionamento do produto alimentício em uma atmosfera inerte. Tal atmosfera pode incluir o nitrogênio ou pode incluir o nitrogênio e dióxido de carbono.

Todas as configurações da composição de óleo de alimento da presente invenção podem ainda incluir (incluir) 25 um antioxidante, que pode ser selecionado a partir de Vitamina E, BHT, BHA, TBHQ, galato de propilo, Vitamina C, fosfolipídeos e antioxidantes naturais e combinações dos mesmos. Os antioxidantes preferidos incluem BHA, BHT, TBHQ, uma mistura de BHA/BHT e combinações dos mesmos, e especificamente, TBHQ.

Nas configurações preferidas, o antioxidante pode estar presente na mistura de óleo em uma quantidade entre cerca de 0,01% e cerca de 1% e, alternativamente, entre cerca de 0,1% e cerca de 0,5%.

Em diversas configurações das composições

5 de óleo de alimento, o segundo óleo pode ser selecionado a partir do óleo de borragem, óleo de semente de groselha-preta, óleo de milho, óleo de coco, óleo de canola, óleo de soja, óleo de cártamo, óleo de cártamo oléico alto, óleo de girassol, óleo de girassol oléico alto, azeite, óleo de onagrácea, óleo de caroço de algodão, óleo de
10 farelo de arroz, óleo de semente de uva, óleo de linhaça, óleo de alho, óleo de amendoim, óleo de amêndoа, óleo de noz, óleo de germe de trigo, óleo de gergelim, gordura animal, óleo animal, gordura marinha, óleo marinho, óleo microbiano, um óleo hidrogenado de quaisquer dos precedentes, e misturas dos
15 precedentes. O PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL em diversas configurações da presente invenção podem ser selecionados a partir do ácido docosahexaenóico, ácido eicosapentaenóico, ácido docosapentaenóico, e ácido araquidônico (ARA). Em diversas configurações, o primeiro óleo pode ser de uma
20 fonte microbiana, tais como, algas, protistas, bactérias e fungos. A fonte microbiana pode ser um microorganismo oleaginoso. A fonte microbiana pode ser selecionada a partir de microorganismos do gênero *Thraustochytrium*, microorganismos do gênero *Schizochytrium*, microorganismos do gênero *Althornia*,
25 microorganismos do gênero *Aplanochytrium*, microorganismos do gênero *Japonochytrium*, microorganismos do gênero *Elina*, microorganismos do gênero *Cryptocodinium* e microorganismos do gênero *Mortierella*. Nas configurações preferidas, o microorganismo é selecionado a partir dos microorganismos do gênero

Schizochytrium, microorganismos do gênero *Crypthecodinium* e microorganismos do gênero *Mortierella*.

O primeiro óleo pode também ser de uma fonte de planta, tais como, plantas que foram geneticamente modificadas para produzir PUFAs de CL, caracterizada pelo fato de que a planta é selecionada a partir de soja, milho, cátamo, girassol, canola, linho, amendoim, mostarda, semente de uva, grão-de-bico, algodão, lentilha, trevo branco, azeitona, palmeira, borragem, onagrácea, linhaça e tabaco.

10 Em uma configuração adicional, o primeiro óleo pode ser de uma fonte animal, que pode ser selecionada a partir de animais aquáticos, lipídeos extraídos dos tecidos de animal e produtos de animal. Além do mais, o primeiro óleo pode incluir pelo menos cerca de 20% dos PUFAs de ômega-3 de CL e/ou
15 PUFAs de ômega-6 de CL ou pelo menos cerca de 60% dos PUFAs de ômega-3 de CL e/ou PUFAs de ômega-6 de CL.

Breve Descrição Dos Desenhos

A Fig. 1 ilustra os resultados do teste de consumidor dos produtos alimentícios (batatas fritas, omeletes e
20 rabanada frita) da presente invenção.

A Fig. 2 ilustra o efeito do período de indução de OSI da mistura de diversos óleos vegetais com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL.

A Fig. 3 ilustra o efeito por o período de
25 indução de OSI da mistura de diversos óleos vegetais com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL, com e sem antioxidantes.

A Fig. 4 ilustra o efeito sobre a produção de produtos primários de oxidação da mistura do óleo de milho com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL, com e sem antioxidantes.

A Fig. 5 ilustra o efeito sobre a produção de produtos secundários de oxidação da mistura do óleo de milho com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL, com e sem antioxidantes.

5 A Fig. 6 ilustra o efeito por (um) período de indução de OSI da mistura do óleo de milho com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL.

10 A Fig. 7 ilustra o efeito por (um) período de indução de OSI da mistura do óleo de soja com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL.

A Fig. 8 ilustra o efeito por (um) período de indução de OSI da mistura do óleo de canola com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL.

15 A Fig. 9 ilustra o efeito por (um) período de indução de OSI da mistura do óleo de cártamo com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL.

A Fig. 10 ilustra o efeito por (um) período de indução de OSI da mistura do óleo de girassol com um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL.

20 A Fig. 11 ilustra os valores de peróxido de uma mistura de óleo de milho e um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL com o tempo.

25 A Fig. 12 ilustra os valores de alquenal de uma mistura de óleo de milho e um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL com o tempo.

A Fig. 13 ilustra o conteúdo de DHA de uma mistura do óleo de milho e um óleo contendo PUFA de ômega-3 de CL com o tempo.

Descrição Detalhada

As composições de óleo de alimento e produto alimentício, métodos para a preparação de alimento e métodos para otimizar o conteúdo de PUFA de CL e preferivelmente, o conteúdo de PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL dos produtos alimentícios previamente preparados, conforme ensinados pela presente invenção, fornecem o consumo aumentado dos PUFAs de CL e, especificamente, PUFAs de ômega-3 de CL e/ou PUFAs de ômega-6 de CL. Esse aprimoramento pode fornecer benefícios de saúde para aqueles que consomem tais produtos. A presente invenção também fornece os métodos para minimizar a degradação oxidativa dos PUFAs de CL nos produtos alimentícios e composições de óleo de alimento.

Em diversas configurações, a presente invenção inclui uma composição de óleo de alimento compreendendo uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL e preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL e um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFA de CL e preferivelmente, substancialmente nenhum PUFA de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFA de ômega-6 de CL que é líquido em temperatura ambiente. Em uma primeira configuração, a mistura compreende entre cerca de 0,01% e cerca de 5% dos PUFAs de CL. Essa configuração da composição de óleo de alimento é especificamente útil para fritar rapidamente o alimento, tal como, em uma frigideira, para conceder os PUFAs de CL e, preferivelmente, PUFAs de ômega-3 de CL, PUFAs de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos em uma dieta. Em uma configuração alternativa, essa composição de óleo de alimento é útil para preparar os produtos

alimentícios fritos em grandes quantidades de óleo, tais como, tempurá ou batatas fritas, em que o item de alimento é imerso no óleo. Em uma segunda configuração da composição de óleo de alimento, o conteúdo do PUFA de CL e, preferivelmente, o PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL da mistura está entre cerca de 1% e cerca de 30%. Essa segunda configuração da composição de óleo de alimento é especificamente útil nos produtos alimentícios, tais como, molhos alimentícios contendo lipídeo comestível, tais como, molhos para salada, escabeches, remoladas, 10 molhos vegetais, molhos de fruta, molhos de peixe, e molhos de carne. Em uma terceira configuração da composição de óleo de alimento, a mistura compreende entre cerca de 0,25% e cerca de 10% do PUFA de CL e, preferivelmente, PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL e a composição ainda inclui um 15 antioxidante. Essa terceira configuração é especificamente útil para aplicação tópica da composição aos alimentos, tais como, bens cozidos, petiscos salgados, petiscos especiais, petiscos doces e alimentos de petisco naturalmente ocorrentes. Tais alimentos com aplicações tópicas da composição de óleo são tipicamente produtos 20 embalados e são acondicionados em uma atmosfera inerte.

Um óleo de alimento preferivelmente contém mais do que cerca de 90% dos ácidos graxos por peso, considerando que um produto, tal como, margarina e manteiga, é tipicamente uma emulsão de gordura e água tendo um conteúdo de 25 ácido graxo entre cerca de 80% por peso e cerca de 95% por peso. Conforme aqui utilizado, todas as porcentagens são fornecidas por peso, exceto se explicitamente declarado de outro modo.

A mistura de óleo da presente invenção inclui um primeiro óleo que compreende um PUFA de CL, e

preferivelmente um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos. Os PUFA de ômega-3 de CL preferidos incluem, por exemplo, ácido docosahexaenóico C22: 6(n-3) (DHA), ácido eicosapentaenóico C20: 5(n-3) (EPA), e ácido docosapentaenóico C22: 5(n-3) (DPA). O DHA é especificamente preferido. Os PUFA de CL de ômega-6 preferidos incluem o ácido araquidônico C20: 4(n-6) (ARA). Os PUFA podem estar em quaisquer das formas comuns encontradas nos lipídeos naturais, incluindo, porém sem limitação, triacilgliceróis, diacilgliceróis, fosfolipídeos, ácidos graxos livres, ácidos graxos esterificados, ou em formas derivativas naturais ou sintéticas desses ácidos graxos (e.g. sais de cálcio dos ácidos graxos, ésteres de etila, etc.). A referência a um primeiro óleo compreendendo um PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL, conforme usado na presente invenção, pode se referir a um óleo compreendendo somente um único PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL, tal como DHA, ou um óleo compreendendo uma mistura de PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL, tais como, DHA e EPA, ou DHA e ARA.

Uma fonte preferida dos óleos que compreende os PUFA de CL e, preferivelmente, PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL, nas composições e métodos da presente invenção inclui uma fonte microbiana. As fontes microbianas e métodos para cultivar os microorganismos comprendendo nutrientes e/ou PUFA de CL são conhecidos da técnica Microbiologia Industrial e Biotecnologia , 2^a (*Industrial Microbiology e Biotechnology*, 2nd edição, 1999, Sociedade Americana para Microbiologia (*American Society for Microbiology*)). Preferivelmente, os microorganismos são cultivados em um meio de

fermentação em um digestor. Os métodos e composições da presente invenção são aplicáveis a qualquer microorganismo industrial que produz qualquer tipo de nutriente ou componente desejado, tal como, por exemplo, algas, protistas, bactérias e 5 fungos (incluindo levedura).

As fontes microbianas podem incluir microorganismos, tais como, algas, bactérias, fungos e/ou protistas. Os organismos preferidos incluem aqueles selecionados a partir do grupo consistindo em algas de ouro (tais como microorganismos do 10 reino *Stramenopiles*), algas verdes, diatomáceas, dinoflagelados (tais como microorganismos da ordem *Dinophyceae*, incluindo membros do gênero *Cryptocodinium*, tais como, por exemplo, *Cryptocodinium cohnii*), levedura e fungos do gênero *Mucor* e *Mortierella*, incluindo, porém sem limitação, *Mortierella alpina* e 15 *Mortierella sect. schmuckeri*. Os membros do grupo microbiano *Stramenopiles* incluem micro-algas e microorganismos semelhantes às algas, incluindo os seguintes grupos de microorganismos: Hamatores, Proteromonads, Opalines, *Develpayella*, *Diplophrys*, *Labrinthulids*, *Thraustochytrids*, *Biosecids*, *Oomycetes*, 20 *Hypochytridiomycetes*, Commation, *Reticulosphaera*, *Pelagomonas*, *Pelagococcus*, *Ollicola*, *Aureococcus*, *Parmales*, Diatomáceas, *Xanthophytes*, *Phaeophytes* (algas marrons), *Eustigmatophytes*, *Raphidophytes*, *Synurids*, *Axodines* (incluindo *Rhizochroinulinaales*, *Pedinellales*, *Dictyochales*), *Chrysomeridales*, *Sarcinochrysidales*, 25 *Hydrurales*, *Hibberdiales* e *Chromulinales*. Essa descrição detalhada da invenção discutirá os processos para cultivar os microorganismos que são capazes de produzir lipídeos compreendendo ácidos graxos poliinsaturados de ômega-3 e/ou ômega-6, especificamente os microorganismos que são capazes de

produzir DHA (ou compostos proximamente relacionados, tais como, DPA, EPA ou ARA). Os microorganismos preferidos adicionais são algas, tais como, Thraustochytrids da ordem Thraustochytriales, mais especificamente Thraustochytriales, 5 incluindo *Thraustochytrium*, *Schizochytrium* e *Ulkenia*, e incluindo Thraustochytriales que são revelados nas Patentes Norte-Americanas comumente designadas Nºs 5.340.594 e 5.340.742, ambas emitidas para Barclay, todas as quais são aqui incorporadas por referência em sua totalidade, além dos microorganismos do 10 gênero *Althornia*, gênero *Aplanochytrium*, gênero *Japonochytrium*, e gênero *Elina* e misturas dos mesmos. Mais preferivelmente, os microorganismos são selecionados a partir do grupo consistindo em microorganismos tendo as características de identificação do número de ATCC 20888, número de ATCC 20889, número de 15 ATCC 20890, número de ATCC 20891 e número de ATCC 20892, cepas de *Mortierella schmuckeri* e *Mortierella alpina*, cepas de *Cryptocodinium cohnii*, cepas mutantes derivadas de quaisquer dos precedentes, e misturas dos mesmos. Deve ser observado que muitos peritos concordam que *Ulkenia* não é um gênero separado 20 do gênero *Thraustochytrium*. De forma correspondente, conforme aqui utilizado, o gênero *Thraustochytrium* incluirá *Ulkenia*. Os microorganismos oleaginosos também são preferidos. Conforme aqui utilizado, os "microorganismos oleaginosos" são definidos como microorganismos capazes de acumular mais do que 20% do 25 peso de suas células na forma de lipídeos. Os microorganismos geneticamente modificados que produzem os PUFA de CL também são adequados para a presente invenção. Esses podem incluir os microorganismos produzindo PUFA de CL naturalmente que foram geneticamente modificados, bem como os

microorganismos que não produzem naturalmente os PUFAs de CL (incluindo levedura, bactérias, fungos, algas e/ou protistas), porém que foram geneticamente projetados para tanto.

Os organismos adequados podem ser obtidos a partir de um número de fontes disponíveis, incluindo por coleta do ambiente natural. Por exemplo, a Coleção de Cultura de Tipo Norte-Americana atualmente lista muitas cepas publicamente disponíveis dos microorganismos acima identificados. Conforme aqui utilizado, qualquer organismo, ou qualquer tipo específico de organismo, inclui cepas selvagens, mutantes ou tipos recombinantes. As condições de crescimento para cultivar ou produzir esses organismos são conhecidas na técnica, e as condições apropriadas de cultivo para pelo menos alguns desses organismos são reveladas em, por exemplo, Patente Norte-Americana Nº 5.130.242, Patente Norte-Americana Nº 5.407.957, Patente Norte-Americana Nº 5.397.591, Patente Norte-Americana Nº 5.492.938 e Patente Norte-Americana Nº 5.711.983, todas as quais são incorporadas no presente por referência em sua totalidade.

Outra fonte preferida dos óleos compreendendo PUFAs de CL inclui uma fonte de planta, tais como, plantas de semente oleaginosa. Já que plantas não produzem naturalmente os PUFAs de CL, as plantas produzindo os PUFAs de CL são aquelas geneticamente projetadas para expressar os genes que produzem os PUFAs de CL. Tais genes podem incluir genes codificando proteínas envolvidas nas vias clássicas de sintase do ácido graxo, ou genes codificando proteínas envolvidas na via de síntese de policetídeo de PUFA (PKS). Os genes e as proteínas envolvidas nas vias clássicas de síntese do

ácido graxo, e organismos geneticamente modificados, tais como, plantas, transformados com tais genes, são descritos, por exemplo, em Napier e Sayanova, "Procedimento da Sociedade Nutricional" (*Proceedings of the Nutrition Society*) (2005), 64:387-393; Robert e 5 outros, "Biologia da Planta Funcional" (*Functional Plant Biology*) (2005) 32:473-479; ou Publicação do Pedido de Patente Norte-Americanana 2004/0172682. A via de PKS de PUFA, genes e proteínas incluídos nessa via, e microorganismos geneticamente modificados e plantas transformadas com tais genes para a 10 expressão e produção de PUFAs são descritos em detalhes em: Patente Norte-Americanana Nº 6.566.583; Publicação do Pedido de Patente Norte-Americanana Nº 20020194641, Publicação do Pedido de Patente Norte-Americanana Nº 20040235127A1 e Publicação do Pedido de Patente Norte-Americanana Nº 20050100995A1, cada uma 15 das quais é aqui incorporada por referência em sua totalidade.

As safras preferidas de semente oleaginosa incluem sojas, milho, cárтamo, girassol, canola, linho, amendoim, mostarda, semente de colza, grão-de-bico, algodão, lentilha, trevo branco, azeitona, palmeira óleo, borragem, onagrácea, linhaça e 20 tabaco, que foram geneticamente modificadas para produzir PUFA de CL conforme acima descrito.

As técnicas de transformação genética para os microorganismos e plantas são bem-conhecidas na técnica. As técnicas de transformação para os microorganismos são bem- 25 conhecidas na técnica e são discutidas, por exemplo, em Sambrook e outros., 1989, Clonagem Molecular: um Manual de Laboratório, Primavera Fria Abriga Prensa de Laboratórios (*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Labs Press). Uma técnica geral para a transformação dos dinoflagelados, que podem ser

adaptados para uso com *Cryptocodonium cohnii*, é descrita em detalhes em Lohuis e Miller, O Jornal da Panta (*The Plant Journal*) (1998) 13(3): 427-435. Uma técnica geral para a transformação genética de Thraustochytrids é descrita em detalhes na Publicação 5 do Pedido de Patente Norte-Americana Nº 20030166207, publicada em 4 de setembro de 2003. Os métodos para a engenharia genética das plantas também são conhecidos na técnica. Por exemplo, numerosos métodos para a transformação de planta foram desenvolvidos, incluindo protocolos de transformação biológica e 10 física. Vide, por exemplo, Miki e outros., "Procedimentos para introduzir DNA estranhos em Plantas" (Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants) em *Métodos em Plantas Molecular Biologia e Biotecnologia* (*Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*), Click, B.R. e Thompson, J.E. Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993) pp. 67-88. Além disso, os vetores e 15 métodos de cultura *in vitro* para a célula de planta ou transformação de tecido e regeneração de plantas estão disponíveis. Vide, por exemplo, Gruber e outros., "Vetores para Transformação de Plantas" (Vectors for Plant Transformation), em *Métodos em Plantas Molecular Biologia e Biotecnologia* (in *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B.R. e Thompson, J.E. Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993) pp. 89-119. Vide também, Horsch e outros., Ciência (*Science*) 227:1229 (1985); Kado, C.I., *Crit. Rev. Plant. Set* 10:1 (1991); Moloney e outros., "Relatório de Celulas de 20 Plantas" (*Plant Cell Reports*) 8:238 (1989); Patente Norte-Americanana Nº 4.940.838; Patente Norte-Americanana Nº 5.464.763; Sanford e outros., *Part. Sci. Technol.* 5:27 (1987); Sanford, J.C., *Trends Biotech.* 6:299 (1988); Sanford, J.C., *Physiol. Plant* 79:206 (1990); Klein e outros., *Biotechnology* 10:268 (1992); Zhang e 25

outros., *Bio/Technology* 9:996 (1991); Deshayes e outros., *EMBO J.*, 4:2731 (1985); Christou e outros, *Proc Natl. Acad Sci. USA* 84:3962 (1987); Hain e outros., *Mol Gen. Genet* 199:161 (1985); Draper e outros., *Plant Cell Physiol.* 23:451 (1982); Donn et al., Nos 5 resumos do 7º Congresso Internacional de Células de Plantas e Cultura de Tecidos" (In Abstracts of VIIth International Congress on Plant Cell and Tissue Culture) IAPTC, A2-38, p. 53 (1990); D'Halluin e outros., *Plant Cell* 4:1495-1505 (1992) e Spencer e outros, (*Plant Mol Biol.*) 24:51-61 (1994).

10 Quando as plantas de semente oleaginosa são a fonte de PUFAs de CL, as sementes podem ser colhidas e processadas para remover quaisquer impurezas, fragmentos ou porções indigeríveis a partir das sementes colhidas. As etapas de processamento variam dependendo do tipo de semente oleaginosa
15 e são conhecidas na técnica. As etapas de processamento podem incluir debulha (tal como, por exemplo, quando as sementes soja são separadas das vagens), descorticagem (remover a cobertura externa seca, ou casca, de uma fruta, semente ou noz), secagem, limpeza, Trituração, moagem e escamação. Após as sementes
20 serem processadas para remover quaisquer impurezas, fragmentos ou materiais indigeríveis, elas podem ser adicionadas em uma solução aquosa, preferivelmente água, e então misturadas para produzir uma pasta fluida. Preferivelmente, a moagem, Trituração ou escamação é realizada antes da mistura com água. Uma pasta
25 fluida produzida dessa forma pode ser tratada e processada da mesma forma conforme descrita para um caldo de fermentação microbiana. A redução de tamanho, tratamento de calor, ajuste de pH, pasteurização e outros tratamentos conhecidos podem ser usados com a finalidade de aprimorar a qualidade (nutricional e

sensorial).

Outra fonte preferida de óleos que compreendem os PUFA de CL inclui uma fonte animal. Os exemplos das fontes animais incluem os animais aquáticos (p.ex., peixe, mamíferos marinhos e crustáceos, tais como, krill e outros eufasídeos) e tecidos animais (p.ex., cérebro, fígado, olhos, etc.) e produtos de animal (p.ex., ovos e leite). As técnicas para a recuperação de óleos contendo PUFA de CL de tais fontes são conhecidas na técnica.

10 Preferivelmente, o primeiro óleo compreende pelo menos cerca de 20% do PUFA de CL, pelo menos cerca de 30% do PUFA de CL, pelo menos cerca de 40% do PUFA de CL, pelo menos cerca de 50% do PUFA de CL, pelo menos cerca de 60% do PUFA de CL, pelo menos cerca de 70% do PUFA de CL, e
15 pelo menos cerca de 80% do PUFA de CL.

A mistura de óleo da presente invenção inclui um segundo óleo que pode (incluir) qualquer óleo conhecido na técnica. Tais óleos incluem, por exemplo, óleos derivados de plantas, tais como borragem, semente de groselha-preta, milho, coco, canola, soja, cártamo, cártamo oléico alto, girassol, girassol oléico alto, azeitona, onagrácea, caroço de algodão, farelo de arroz, semente de uva, linhaça, alho, amendoins, amêndoas, nozes, germe de trigo e gergelim. Tais fontes vegetais naturalmente produzem os ácidos graxos somente em cerca de 18 carbonos.

25 Os óleos adicionais adequados como o segundo óleo da composição de óleo inclui as gorduras animais e óleos, gorduras marinhas e óleos, óleos microbiológicos, e combinações de quaisquer desses óleos e gorduras. Mais preferivelmente, o equilíbrio da composição de óleo na primeira

composição de óleo compreende os seguintes óleos/gorduras: óleo de milho, óleo de soja, óleo de canola, óleo de caroço de algodão, óleo de girassol, óleo de girassol oléico alto, óleo de cártamo, óleo de cártamo oléico alto e azeite. Os óleos hidrogenados também

5 podem ser usados como o segundo óleo da composição de óleo, entretanto, os óleos hidrogenados não são tão preferidos como os óleos não hidrogenados. Sem pretender estar vinculada por teoria, em diversas configurações da presente invenção, a mistura do segundo óleo com o primeiro óleo aumenta a estabilidade oxidativa

10 do primeiro óleo (p.ex., conforme medido por aumentos no período de indução de OSI e/ou a produção de produtos primários e/ou secundários de oxidação sob condições aceleradas moderadas). Especificamente, na instância em que o segundo óleo é o óleo de milho, óleo de soja ou óleo de canola, a estabilidade oxidativa do

15 primeiro óleo pode ser aprimorada.

Em algumas configurações, a composição é estável para oxidação por um período de tempo quando armazenada em temperatura ambiente. O período de tempo pode ser pelo menos cerca de um mês, cerca de dois meses, cerca de

20 três meses, cerca de quatro meses, cerca de cinco meses, cerca de seis meses, cerca de sete meses, cerca de oito meses, cerca de nove meses, cerca de dez meses, cerca de onze meses e cerca de doze meses. Por estável, significa que os níveis dos produtos de oxidação, tais como, peróxidos e/ou alquenais, não aumentam

25 apreciavelmente no intervalo de tempo. Por exemplo, o nível dos produtos de uma oxidação medido como peróxidos, tipicamente será inferior a cerca de 3,0 meq/kg de gordura, menos de cerca de 2,5 meq/kg de gordura, menos de cerca de 2,0 meq/kg de gordura, menos de cerca de 1,5 meq/kg de gordura, menos de cerca de 1,0

meq/kg de gordura, menos de cerca de 0,5 meq/kg de gordura, ou menos de cerca de 0,25 meq/kg de gordura nas diversas estruturas de tempo acima mencionadas.

Além da estabilidade oxidativa, o nível de

- 5 PUFA de CL na composição é estável por um período de tempo quando armazenada em temperatura ambiente. O período de tempo pode ser de pelo menos cerca de um mês, cerca de dois meses, cerca de três meses, cerca de quatro meses, cerca de cinco meses, cerca de seis meses, cerca de sete meses, ou cerca de oito meses.
- 10 Por estável, significa que os níveis de PUFA de CL não diminuem apreciavelmente no intervalo de tempo. Por exemplo, o nível do PUFA de CL que pode ser recuperado após as diversas estruturas de tempo acima mencionadas é de pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca
- 15 de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% e pelo menos cerca de 99%.

Além disso, as características sensoriais da composição permanecem constantes por um período de tempo quando armazenada em temperatura ambiente. Por constante, significa que a característica sensorial medida (p.ex., verde/semelhante a feijão, semelhante a peixe, manchado de tinta, herbáceo ou outro) não se altera significativamente por um período de tempo. O período de tempo pode ser de pelo menos cerca de um mês, cerca de dois meses, cerca de três meses, cerca de quatro meses, cerca de cinco meses, cerca de seis meses, cerca de sete meses ou cerca de oito meses. Por exemplo, uma característica sensorial negativa tipicamente aumentará menos do que cerca de 100%, menos do que cerca de 75%, menos do que cerca de 50%,

menos do que cerca de 40%, menos do que cerca de 30%, menos do que cerca de 25%, menos do que cerca de 20%, menos do que cerca de 15%, menos do que cerca de 10%, ou menos do que cerca de 5%, sobre as diversas estruturas de tempo acima mencionadas.

O segundo óleo compreende substancialmente nenhum PUFA de CL e preferivelmente substancialmente nenhum PUFA de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFA de ômega-6 de CL. De modo geral, referência a substancialmente nenhum PUFA de CL inclui os óleos tendo menos do que cerca de 5% do PUFA de CL, menos do que cerca de 3% do PUFA de CL, menos do que cerca de 1% do PUFA de CL, menos do que cerca de 0,1% do PUFA de CL ou menos do que cerca de 0,01% do PUFA de CL. O segundo óleo também é preferivelmente líquido em temperatura ambiente (aproximadamente 21°C -23°C).

A mistura do primeiro óleo e segundo óleo pode ser realizada por qualquer método conhecido na técnica. A mistura pode ser feito por: 1) lote ou 2) mistura em linha contínua. A mistura em lote pode incluir a utilização de um contêiner de aço inoxidável, com um agitador, e se possível, o contêiner é coberto com nitrogênio durante a operação de mistura. O segundo óleo (substancialmente nenhum PUFA de CL) é tipicamente adicionado primeiro com agitação em uma velocidade que não cria vórtices até um estado fixo for atingido. O primeiro óleo (com PUFA de CL) é então adicionado até completamente misturado. A agitação preferivelmente pode continuar por cerca de 3 a 5 minutos (os tempos podem variar a partir de diferentes tamanhos de contêineres) até uma mistura, homogênea na aparência, for obtida.

Os antioxidantes sintéticos podem ser adicionados para otimizar a dispersão e dissolução do primeiro e segundo óleos, por exemplo, no início da agitação. No caso de mistura contínua, o primeiro óleo (tipicamente, volume mais baixo) pode ser adicionado no ponto de 5 mistura, dependendo do equipamento de mistura em linha usados, e será adicionado em uma taxa para produzir uma composição desejada. Os antioxidantes sintéticos podem ser pré-dissolvidos no segundo óleo, preferencialmente, porém também pode ser introduzido no primeiro óleo, presumindo-se que as quantidades 10 desejadas de antioxidantes possam ser dissolvidas completamente.

As composições de óleo de alimento e produtos alimentícios compreendendo as composições de óleo de alimento da presente invenção podem ter um conteúdo de PUFA de CL de modo que uma porção individual de um produto alimentício 15 compreendendo as composições de óleo de alimento da presente invenção possui uma quantidade apropriada de PUFA de CL por porção. As quantidades apropriadas de PUFAs de CL e preferivelmente, PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL por porção são conhecidas na técnica. Por exemplo, as 20 quantidades preferidas do PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL por porção incluem as quantidades de PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL entre cerca de 5 mg por porção e cerca de 150 mg por porção; entre cerca de 10 mg por porção e cerca de 100 mg por porção; entre cerca de 25 mg por 25 porção e cerca de 75 mg por porção; e entre cerca de 35 mg por porção e cerca de 50 mg por porção.

A concentração final do PUFA de CL na mistura pode variar dependendo do uso ou finalidade do óleo e quantidade de PUFA de CL desejado por porção. Por exemplo, um

produto alimentício compreendendo uma porcentagem significativa por peso do óleo, assim resultando em uma quantidade relativamente maior de óleo por porção, exigirá uma composição de óleo que possui uma porcentagem relativamente menor do PUFA de CL. Sabendo a quantidade aproximada do PUFA de CL desejado por porção e quantidade de óleo por porção, o artesão profissional pode realizar os cálculos necessários para determinar a porcentagem apropriada do PUFA de CL na mistura de óleo.

Na primeira configuração, tal como, quando a mistura de óleo deve ser usada como um óleo de fritura rápida, a mistura pode ter um conteúdo do PUFA de CL e, preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL em uma quantidade entre cerca de 0,01% e cerca de 5%, entre cerca de 0,8% e cerca de 3%, e entre cerca de 0,1% e cerca de 0,5%. Quando a mistura de óleo deve ser usada nos produtos alimentícios, por exemplo, como um molho alimentício contendo lipídeo comestível, preferivelmente, a mistura pode ter um conteúdo de PUFA de CL e preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL em uma quantidade entre cerca de 1% e cerca de 30%, entre cerca de 10% e cerca de 20%, e entre cerca de 1% e cerca de 5%. Quando a mistura de óleo deve ser usada nos produtos alimentícios, por exemplo, em uma configuração em que a mistura de óleo é pulverizada em um produto alimentício como um óleo tópico, a mistura pode ter um PUFA de CL e preferivelmente, um PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL entre cerca de 0,25% e cerca de 10%, e entre cerca de 1% e cerca de 5%.

Nas configurações preferidas, a mistura compreende os componentes de óleo que não são PUFAs de CL e,

especificamente, não PUFA de ômega-3 de CL nem PUFA de ômega-6 de CL tendo 20 ou mais carbonos em uma quantidade de pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 90% e pelo menos cerca de 95%.

5 Nas configurações preferidas, as composições de óleo de alimento e produtos alimentícios da presente invenção compreendem um antioxidante, e os métodos para a preparação de alimento compreende a adição de um antioxidante. Especificamente, na configuração de uma composição
10 tópica de óleo de alimento da presente invenção, um antioxidante é parte da composição. Em outras configurações, os antioxidantes podem ser usados, porém são opcionais. Qualquer antioxidante adequado para a conservação dos óleos de alimentos ou gorduras conhecido na técnica é compatível com a presente invenção, e
15 inclui vitamina E, butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), tert-butilhidroquinona (TBHQ), galato de propilo (PG), vitamina C (conforme aqui utilizado, referência à vitamina C inclui seus derivativos), fosfolipídeos e antioxidantes naturais, tais como, extrato de alecrim, e combinações dos mesmos. Os antioxidantes
20 preferidos incluem BHA, BHT, TBHQ, uma mistura de BHA/BHT e combinações dos mesmos, e especificamente, TBHQ. As quantidades de antioxidante para incluir na composição variarão dependendo da aplicação, conforme determinado por aquele com habilidade na técnica. Por exemplo, as composições de óleo de
25 alimento da presente invenção compreendendo quantidades relativamente maiores de PUFAs de CL e, preferivelmente, PUFAs de ômega-3 de CL e/ou PUFAs de ômega-6 de CL (tendo 20 ou mais carbonos) preferivelmente contêm quantidades mais altas de antioxidante, tais como, por exemplo, quantidades até o máximo

permitido pela lei norte-americana atual. Os antioxidantes podem ser adicionados ou misturados com o óleo por qualquer método conhecido na técnica. As quantidades preferidas de antioxidante nas composições de óleo da presente invenção incluem as 5 quantidades entre cerca de 0,01% e cerca de 1%, e entre cerca de 0,1% e cerca de 0,5%.

Nas configurações preferidas, as composições de óleo de alimento e produtos alimentícios da presente invenção são armazenadas sob condições apropriadas 10 para minimizar a degradação oxidativa. Muitos métodos para efetuar tais condições de armazenamento são conhecidos na técnica e são adequados para uso com a presente invenção, tais como, por exemplo, substituição do ar ambiente por uma atmosfera de gás inerte. Um método preferido através do qual para reduzir ou 15 minimizar a degradação oxidativa é o de armazenar as composições de óleo de alimento e produtos alimentícios sob uma atmosfera de nitrogênio (N₂) ou nitrogênio misturado e atmosfera de dióxido de carbono. Preferivelmente, as composições embaladas de óleo de alimento e produtos alimentícios são acondicionadas sob 20 nitrogênio. Os métodos para produzir uma atmosfera de gás de nitrogênio em um contêiner de alimento são conhecidos na técnica.

Em outra configuração, a presente invenção inclui um método para a preparação de alimento para um item de alimento capaz de ser frito em frigideira, compreendendo a 25 colocação do item de alimento e uma mistura de óleo da presente invenção na frigideira, e aplicação de calor na frigideira suficiente para aquecer o item de alimento. Os itens de alimento adequados incluem qualquer item de alimento que é capaz de ser frito em frigideira com um óleo, e inclui, por exemplo, carnes, ovos (p.ex.,

omeletes), peixe, verduras, tubérculos contendo amido, tais como, batatas, arroz, pastas, massas, pães, pães revestidos com massa (p.ex., rabanada), produtos de milho e misturas do precedente. O termo "frigideira" refere-se a qualquer utensílio de cozinha que é 5 adequado para aquecer os itens de alimento, e mais especificamente, refere-se a um recipiente amplo de metal ou de vidro temperado. Uma proporção adequada de alimento e óleo para uso na invenção pode ser determinada por aquele com habilidade na técnica. Essa configuração adicionalmente inclui um produto 10 alimentício frito em frigideira compreendendo uma mistura de óleo da presente invenção.

Em outra configuração, a presente invenção inclui um método para preparar uma mistura de óleo da presente invenção, caracterizado pelo fato de que a mistura de óleo entra em 15 contato com outros componentes alimentícios para fazer uma variedade de produtos, tais como, qualquer molho alimentício contendo lipídeo comestível, tais como, molhos para salada, escabeches, remoladas, molhos vegetais, molhos de fruta, molhos de peixe, e molhos de carne, tais como, molhos de ave, molhos de 20 carne bovina, molhos de vitela e molhos de cordeiro. Esse método inclui a mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL e preferivelmente, um PUFA de CL de ômega-3 e/ou PUFA de ômega-6 de CL com componentes adicionais convencionalmente encontrados em tais produtos, tais como, temperos, condimentos, 25 espessantes e emulsificantes. As receitas e métodos adequados para combinar o primeiro óleo e os componentes adicionais são conhecidos na técnica.

Em outra configuração, a presente invenção inclui um método para otimizar o conteúdo de PUFA de CL e

preferivelmente, PUFA de ômega-3 e/ou PUFA de ômega-6 de CL de um produto alimentício, compreendendo a aplicação de uma mistura de óleo da presente invenção ao produto alimentício. Por esse método, o conteúdo de PUFA de CL do produto alimentício é 5 otimizado, sem sujeitar os PUFAs de CL aos processos térmicos severos durante o cozimento. Tal método pode produzir produtos alimentícios tendo uma vida de prateleira de aproximadamente 6 meses ou mais. Um produto alimentício preferido é um produto alimentício previamente cozido. Os produtos alimentícios 10 previamente cozidos preferidos incluem os produtos alimentícios que foram previamente cozidos, fritos ou fritos em grandes quantidades de óleo. A mistura de óleo da presente invenção pode ser aplicada ao produto alimentício por qualquer método conhecido na técnica, tal como, pulverização do produto alimentício com o 15 óleo, imersão do produto alimentício no óleo, e escovamento do óleo na superfície do produto alimentício. Preferivelmente, o óleo é pulverizado na superfície do produto alimentício. Os produtos alimentícios preferidos incluem os bens cozidos, tais como, biscoitos, bolachas, doces, bolos, cereais, bolinhos, tortas, barras 20 de granola/lanche, e tortinhas; petiscos salgados, tais como, batatas chips, chips de milho, chips de *tortilla*, petiscos prensados, pipoca, pretzels, crisps de batata e nozes; petiscos especiais, tais como, petiscos de fruta seca, petiscos de carne, couros de porco, barras alimentícias saudáveis, bolos de arroz e bolos de milho; petiscos 25 doces, tais como, bombons; e alimentos de petisco naturalmente ocorrentes, tais como, nozes, frutas secas e verduras. Os produtos alimentícios preferidos incluem os biscoitos, bolachas, batatas chips, chips de milho, chips de trigo, chips de sorgo, chips de soja e nozes. Essa configuração adicionalmente inclui um produto

alimentício previamente cozido compreendendo uma mistura de óleo da presente invenção.

Em outra configuração, a presente invenção inclui um método para otimizar o conteúdo de PUFA de um produto alimentício, compreendendo a aplicação de uma mistura de óleo da presente invenção em um produto alimentício pretendido para consumo por crianças ou bebês. Por exemplo, os alimentos de petisco contendo ARA são adequados para consumo por crianças que ainda estão consumindo fórmula infantil, porém que estão 5 começando a comer alimentos sólidos. Em algumas dessas configurações, as proporções de DHA:ARA nos óleos da presente invenção são de cerca de 1:0,5 a cerca de 1:5. As proporções adicionais estão em cerca de 1:1,5, em cerca de 1:2 e em cerca de 10 1:3.

15 Os seguintes exemplos e resultados de teste são fornecidos para fins de ilustração e não têm a intenção de limitar o escopo da invenção.

Exemplos

Exemplo 1

20 O exemplo ilustra uma configuração da presente invenção em que uma mistura de óleos é usada para fritar diversos alimentos.

800 g de uma mistura de óleos foram preparadas ao misturar 799,2 g do óleo de milho comercialmente 25 disponível com 0,8 g de óleo DHASCO®-S (Martek Biosciences Corporation, Columbia, MD). DHASCO®-S compreende aproximadamente 35% por peso de DHA, resultando em um conteúdo de ômega-3 em cerca de 0,035%. Batatas fritas (em tiras), omeletes e rabanada frita foram preparados usando essa mistura

de óleo e testados para a aceitabilidade de consumidor por um painel de consumidor de nove ou doze pessoas. A mistura de óleo foi armazenada por um mês em temperatura ambiente e então foi novamente testada preparando os mesmos alimentos conforme 5 antes. Os resultados do teste de consumidor são mostrados na Fig. 1. A quantidade de DHA por porção do produto alimentício, bem como o óleo antes e após a fritura em grandes quantidades de óleo, foi analisada e é mostrada abaixo na Tabela 1.

Tabela 1

Amostra	DHA mg/porção
Batata frita (100 g por porção)	4,6
Rabanada (50 g por porção)	10,9
Ovo (100 g porção)	56
Óleo Antes da Fritura (1 g)	0,5
Óleo Após a Fritura (1 g)	0,5

10 A partir dos resultados na Fig. 1, pode ser observado que a rabanada e omelete tinham 100% ou quase 100% de resposta "Preferência" no teste de aceitabilidade de consumidor tanto no tempo zero e após um mês, indicando que após um mês, o óleo ainda estava em excelente condição. No caso das batatas 15 fritas em palito, embora >50% forneceu uma resposta de "Aversão" após um mês, a maioria dos comentários era neutra (p.ex., relacionada a um sabor oleoso ou um sabor diferente), com <50% do total atribuindo a classificação de "Aversão" a um comentário 20 negativo (p.ex., improvável). Portanto, as classificações de "Aversão" podem ser atribuídas ao envelhecimento do óleo de milho 25 ao invés da porção de ômega-3 do óleo sendo degrada e fornecendo *off-flavors*.

Exemplo 2

Esse exemplo examina o efeito sobre a

estabilidade oxidativa de um óleo contendo um PUFA de CL de ômega-3 da mistura de um óleo vegetal contendo substancialmente nenhum PUFA de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFA de ômega-6 de CL.

5 Um óleo contendo cerca de 35% por peso de DHA (DHASCO®-S, Martek Biosciences Corporation, Columbia, MD) foi diluído com 20% de diversos óleos vegetais e 30% de óleo de milho, conforme mostrado na Fig. 2. O óleo DHASCO®-S e os óleos misturados foram testados para o momento ao período de
10 indução de OSI, medido em horas. Os óleos foram mantidos em 80°C com ar borbulhado e avaliado para o momento até o óleo começar a oxidar.

Os resultados desse teste são mostrados na Fig. 2, em que é mostrado que em 20% do óleo de milho e óleo de
15 soja e 30% do óleo de milho, um aumento no período de indução de OSI foi atingido.

Exemplo 3

Esse exemplo examina o efeito sobre a estabilidade oxidativa de um óleo contendo um PUFA de CL de ômega-3 da mistura do óleo de milho, com e sem antioxidantes adicionados.

Um óleo contendo cerca de 32% por peso de DHA (DHA-HM, Martek Biosciences Corporation, Columbia, MD) foi diluído com 30% ou 40% do óleo de milho, com e sem a adição de
25 400ppm ou 600ppm de uma mistura de antioxidante de palmitato de ascorbil e tocoferóis (Grindox™, Danisco) conforme mostrado na Fig. 3. As misturas de óleo DHA-HM e óleo de milho foram testadas para o momento ao período de indução de OSI, medido em horas. Os óleos foram mantidos em 80°C com ar borbulhado e avaliados

para o momento até o óleo começar a oxidar.

Os resultados desse teste são mostrados na Fig. 3, em que é mostrado que todas as misturas de óleo de milho, com e sem antioxidante aumentado no período de indução de OSI.

5

Exemplo 4

Esse exemplo examina o efeito sobre a estabilidade oxidativa de um óleo contendo um PUFA de ômega-3 de CL da mistura do óleo de milho, com e sem antioxidantes adicionados.

10

Um óleo contendo cerca de 32% por peso de DHA (DHA-HM, Martek Biosciences Corporation, Columbia, MD) foi diluído com 30% ou 40% do óleo de milho, com e sem a adição de 400ppm ou 600ppm de uma mistura de antioxidante de palmitato de ascorbil e tocoferóis (Grindox™, Danisco), conforme mostrado nas

15

Figs. 4 e 5.

As misturas de óleo DHA-HM e óleo de milho foram armazenadas em 40°C por um período de semanas e testadas para a produção de peróxidos (produtos primários de oxidação) e alquenais (produtos secundários de oxidação).

20

Os resultados desse teste são mostrados nas Figs. 4 e 5, em que mostra que todas as misturas de óleo de milho, com e sem antioxidante, atrasaram a ocorrência dos produtos primários e secundários de oxidação.

Exemplo 5

25

Esse exemplo examina o efeito sobre a estabilidade oxidativa de um óleo contendo um PUFA de ômega-3 de CL da mistura dos óleos vegetais contendo substancialmente nenhum PUFA de ômega-3 de CL e substancialmente nenhum PUFA de ômega-6 de CL.

Cinco óleos vegetais comumente usados foram combinados com um óleo contendo cerca de 35% por peso de DHA (DHASCO®-S, Martek Biosciences Corporation, Columbia, MD) em cinco níveis de diluição.

5 O óleo DHASCO®-S, o óleo vegetal e os óleos misturados foram testados para o momento ao período de indução de OSI, medido em horas.

10 Os óleos foram mantidos em 80°C com ar borbulhado e avaliados para o momento até o óleo começar a oxidar.

Os óleos, níveis de diluição e valores de OSI são mostrados abaixo nas Tabelas 2-6. Os resultados também são mostrados nas Figs. 6-10.

Tabela 2

Óleo	Valor de OSI
100,00% do Óleo de milho	99,9
99,99% do Óleo de milho	87,5
99,75% do Óleo de milho	87,5
95,00% do Óleo de milho	59,3
90,00% do Óleo de milho	53,15
70,00% do Óleo de milho	41,025
100,00% de DHASCO®-S	36,2

Tabela 3

Óleo	Valor de OSI
100,00% do Óleo de soja	36,9
99,99% do Óleo de soja	37,225
99,75% do Óleo de soja	38,725
95,00% do Óleo de soja	38,7
90,00% do Óleo de soja	23,25
70,00% do Óleo de soja	19,3
100,00% de DHASCO®-S	36,2

Tabela 4

Óleo	Valor de OSI
100,00% do Óleo de canola	67,4
99,99% do Óleo de canola	67,95
99,75% do Óleo de canola	66,275
95,00% do Óleo de canola	56,075
90,00% do Óleo de canola	50,05
70,00% do Óleo de canola	39,725
100,00% de DHASCO®-S	36,2

Tabela 5

Óleo	Valor de OSI
100,00% do Óleo de cártamo	28,5
99,99% do Óleo de cártamo	28,95
99,75% do Óleo de cártamo	29,75
95,00% do Óleo de cártamo	24,925
90,00% do Óleo de cártamo	22,8
70,00% do Óleo de cártamo	19,35
100,00% de DHASCO®-S	36,2

Tabela 6

Óleo	Valor de OSI
100,00% do Óleo de girassol	48,6
99,99% do Óleo de girassol	44,9
99,75% do Óleo de girassol	45,35
95,00% do Óleo de girassol	34,4
90,00% do Óleo de girassol	27,45
70,00% do Óleo de girassol	20,6
100,00% de DHASCO®-S	36,2

Os resultados mostram que um aumento no período de indução de OSI pode ser atingido com as misturas de DHASCO®-S e óleos vegetais.

25

Exemplo 6

Esse exemplo examina as qualidades sensoriais do óleo de milho contendo 0,5% w/w do óleo DHASCO®-S.

As qualidades sensoriais da composição de

óleo misturado foram determinadas. O óleo foi então armazenado em um contêiner de metal em temperatura ambiente por seis meses e as qualidades sensoriais do óleo foram novamente determinadas. As características foram determinadas em uma escala de 1-15, com 5 15 sendo o pior. Os resultados são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados Sensoriais

Atributos	Tempo	
	T=0	T=6 meses
AROMA		
Impacto Total	3,5	4
Verde/Semelhante a feijão	2,5	1,5
Semelhante a peixe	0	0
Manchado de tinta	0	2
Herbáceo	0	0
Outro	1	2
AROMÁTICO		
Impacto Total	4,5	5,5
Verde/Semelhante a feijão	1	1
Semelhante a peixe	0	0
Manchado de tinta	4 (manchado de tinta/outro) *	4 (manchado de tinta/outro) *
Herbáceo	0	0
Outro		
Sabor restante		manchado de tinta

* Essa é uma característica do óleo de milho rançoso, e não é relacionada ao DHA. Esse resultado indica algum problema inerente com a qualidade do óleo de milho.

20 Eses resultados indicam que a característica sensorial das misturas de óleo da presente invenção permanece estável com o tempo de armazenamento.

Exemplo 7

O óleo de milho contendo 0,5% w/w do óleo DHASCO®-S do Exemplo 6 foi analisado por conteúdo de peróxido, 25 conteúdo de alquenal e nível de DHA. O conteúdo de peróxido é uma medida de oxidação do óleo. O conteúdo de peróxido é mostrado na Figura 11. Após oito meses, não existe nenhum aumento na quantidade dos peróxidos no óleo. Não existe, portanto, nenhuma oxidação aparente do óleo. Os alquenais são produtos

secundários da oxidação. O conteúdo de alquenal é mostrado na Figura 12. Não existe nenhum aumento na quantidade de alquenais no óleo, com o tempo. Os produtos secundários da oxidação tipicamente aumentam os progressos da oxidação ou permanecem 5 constantes se não houver nenhuma oxidação. Os níveis DHA não diminuíram com o tempo, conforme mostrado na Figura 13.

Exemplo 8

Esse exemplo avalia o uso do óleo de milho contendo 0,5% w/w do óleo DHASCO®-S a partir do Exemplo 6 que 10 foi armazenado por seis meses para preparar rabanada, batatas fritas em palito e ovos mexidos.

Assim que os alimentos foram cozidos, eles foram avaliados por um pequeno painel de paladar. Nenhuma observação abaixo do nível satisfatório foi detectada em quaisquer 15 dos alimentos.

Os alimentos cozidos também foram avaliados para conteúdo de DHA, para determinar a quantidade do DHA transferido ao alimento do óleo. As amostras de cada alimento foram congeladas na preparação para análise. Assim que secas, as 20 amostras foram trituradas para um pó fino. O DHA foi determinado por análise de FAME. As análises duplicadas foram realizadas para cada amostra usando uma curva de calibração padrão interna de três pontos (C23:0) para quantificar o DHA. Os resultados de DHA são resumidos na Tabela 8. Os ovos usados para preparar os ovos 25 mexidos naturalmente continham entre 10 e 20 mg de DHA por porção e, portanto, a diferença entre 66,4 mg e a quantidade naturalmente ocorrente de 10-20 mg de DHA é devida à transferência de DHA do óleo de milho fortificado.

Tabela 8: Conteúdo de DHA de diversos

alimentos cozidos no óleo de milho fortificado por DHA.

Descrição da Amostra	Sólidos (%)	DHA (mg de Ácidos Graxos Livres de DHA /g por alimento) ¹	DHA de Alimento Frito (mg dos Ácidos Graxos Livres de DHA /porção) ²
Rabanada	54,61	0,96	57,1
Batatas fritas em palito	44,02	0,41	24,9
Ovos mexidos	35,22	1,89	66,4

¹ Relatado em base de peso seco

² Relatado em uma base de "conforme recebido"

Os princípios, configurações preferidas e modos de operação da presente invenção foram descritos na especificação precedente. A invenção, que é pretendida para ser protegida pelo presente não deve, entretanto, ser interpretada como limitada às formas específicas reveladas, conforme essas devem ser consideradas como ilustrativas, ao invés de restritivas. As variações e alterações podem ser feitas por aqueles com habilidade na técnica sem desviar do espírito da presente invenção. De forma correspondente, o melhor modo precedente de realizar a invenção deve ser considerado exemplar por natureza e não limitante ao escopo e espírito da invenção conforme estabelecido nas reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES:

1. "UMA COMPOSIÇÃO" de óleo de alimento compreendendo uma mistura de: um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL, e um segundo óleo 5 compreendendo substancialmente nenhum PUFA de CL e que é líquido em temperatura ambiente, caracterizada pelo fato de que a mistura compreende entre cerca de 0,01% e cerca de 5% do PUFA de CL.
2. "UMA COMPOSIÇÃO" de óleo de 10 alimento compreendendo uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL e um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFA de CL e que é líquido em temperatura ambiente, caracterizada pelo fato de que a mistura compreende entre cerca de 1% e cerca de 30% do PUFA 15 de CL.
3. "UMA COMPOSIÇÃO" tópica de óleo de alimento compreendendo uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL, um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFA de CL e que é 20 líquido em temperatura ambiente, e um antioxidante, caracterizada pelo fato de que o PUFA de CL compreende entre cerca de 0,25% e cerca de 10% da composição de óleo de alimento.
4. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a mistura compreende entre 25 cerca de 0,08 % e cerca de 3 % dos PUFAs de CL.
5. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a mistura compreende entre cerca de 0,1 % e cerca de 0,5 % dos PUFAs de CL.
6. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação

2, caracterizada pelo fato de que o PUFA de CL compreende entre cerca de 10% e cerca de 20% da mistura.

7. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o PUFA de CL compreende entre cerca de 1% e cerca de 5% da mistura.

8. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1 ou 2, caracterizada pelo fato de ainda compreender um antioxidante.

9. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das 10 Reivindicações 3 ou 8, caracterizada pelo fato de que o antioxidante é selecionado a partir do grupo consistindo em vitamina E, butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), tert-butilhidroquinona (TBHQ), galato de propilo (PG), vitamina C, fosfolipídeos, e antioxidantes naturais, e combinações dos mesmos.

15 10. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 3 ou 8, caracterizada pelo fato de que o antioxidante está presente na mistura de óleo em uma quantidade entre cerca de 0,01% e cerca de 1%.

11. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das 20 Reivindicações 3 ou 8, caracterizada pelo fato de que o antioxidante está presente na mistura de óleo em uma quantidade entre cerca de 0,1% e cerca de 0,5%.

12. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das 25 Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o segundo óleo é selecionado a partir do grupo consistindo em óleo de borragem, óleo de semente de groselha-preta, óleo de milho, óleo de coco, óleo de canola, óleo de soja, óleo de cártamo, óleo de cártamo oléico alto, óleo de girassol, óleo de girassol oléico alto, azeite, óleo de onagrácea, óleo de caroço de algodão, óleo de

farelo de arroz, óleo de semente de uva, óleo de linhaça, óleo de alho, óleo de amendoim, óleo de amêndoas, óleo de noz, óleo de germe de trigo, óleo de gergelim, gordura animal, óleo animal, gordura marinha, óleo marinho, óleo microbiano, um óleo hidrogenado de quaisquer dos precedentes, e misturas dos precedentes.

13. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o PUFA de CL é selecionado a partir do grupo consistindo em um PUFA de ômega-3 de CL, um PUFA de ômega-6 de CL e misturas dos mesmos.

14. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 14, caracterizada pelo fato de que o PUFA de CL é selecionado a partir do grupo consistindo em ácido docosahexaenóico, ácido eicosapentaenóico, ácido docosapentaenóico e ácido araquidônico.

15. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o primeiro óleo é de uma fonte microbiana.

16. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a fonte microbiana compreende um microorganismo selecionado a partir do grupo consistindo em algas, protistas, bactérias e fungos.

17. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a fonte microbiana é um microorganismo oleaginoso.

18. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a fonte microbiana é um microorganismo selecionado a partir do grupo consistindo em microorganismos do gênero *Thraustochytrium*, microorganismos do

gênero *Schizochytrium*, microorganismos do gênero *Althornia*, microorganismos do gênero *Aplanochytrium*, microorganismos do gênero *Japonochytrium*, microorganismos do gênero *Elina*, microorganismos do gênero *Crypthecodinium*, microorganismos do 5 gênero *Mortierella* e misturas dos mesmos.

19. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que a fonte microbiana é um microorganismo selecionado a partir do grupo consistindo em microorganismos do gênero *Schizochytrium*, microorganismos do 10 gênero *Crypthecodinium*, microorganismos do gênero *Mortierella* e misturas dos mesmos.

20. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o primeiro óleo é de uma fonte de planta.

15 21. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 20, caracterizada pelo fato de que a fonte de planta foi geneticamente modificada para produzir ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, caracterizada pelo fato de que a planta é selecionada a partir do grupo consistindo em soja, milho, 20 cátamo, girassol, canola, linho, amendoim, mostarda, semente de colza, grão-de-bico, algodão, lentilha, trevo branco, azeitona, palmeira, borragem, onagrácea, linhaça e tabaco.

22. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o primeiro 25 óleo é de uma fonte animal.

23. "A COMPOSIÇÃO" da Reivindicação 22, caracterizada pelo fato de que a fonte animal é selecionada a partir do grupo consistindo em animais aquáticos, tecidos de animal e produtos de animal.

24. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que o primeiro óleo compreende pelo menos cerca de 20% dos PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos.

5 25. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizado pelo fato de que o primeiro óleo compreende pelo menos cerca de 60% dos PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos.

10 26. "A COMPOSIÇÃO" de quaisquer das Reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizada pelo fato de que a mistura é estável para oxidação por pelo menos cerca de três meses quando armazenada em temperatura ambiente; o nível de PUFA de CL é estável por pelo menos cerca de três meses quando armazenada em temperatura ambiente; e as características
15 sensoriais da composição permanecem constantes por pelo menos cerca de três meses quando armazenada em temperatura ambiente.

27. "UM PRODUTO" alimentício, caracterizado por compreender a composição de acordo com
20 quaisquer das Reivindicações 1- 26.

28. "O PRODUTO" alimentício da Reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício compreende entre cerca de 5 mg e cerca de 150 mg de PUFA de ômega-3 de CL e/ou PUFA de ômega-6 de CL.

25 29. "O PRODUTO" alimentício da Reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é selecionado a partir do grupo consistindo em molhos para salada, escabeches, remoladas, molhos vegetais, molhos de fruta, molhos de peixe e molhos de carne.

30. "O PRODUTO" alimentício da reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício compreende entre cerca de 5 mg de PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL, ou misturas dos mesmos, e cerca 5 de 150 mg de PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL, ou misturas dos mesmos.

31. "O PRODUTO" alimentício da reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício compreende entre cerca de 10 mg de PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL, ou misturas dos mesmos, e cerca 10 de 100 mg de PUFA de ômega-3 de CL, PUFA de ômega-6 de CL, ou misturas dos mesmos.

31. "O PRODUTO" alimentício da reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o produto 15 alimentício é um produto alimentício previamente cozido.

32. "O PRODUTO" alimentício da reivindicação 31, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício previamente cozido é selecionado a partir do grupo consistindo em um produto alimentício previamente cozido, um 20 produto alimentício previamente frito e um produto alimentício previamente frito em grandes quantidades de óleo.

33. "O PRODUTO" alimentício da reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é selecionado a partir do grupo consistindo em bens 25 cozidos, petiscos salgados, petiscos especiais, petiscos doces, e alimentos de petisco naturalmente ocorrentes.

34. "UM MÉTODO" de preparação de alimento para um item de alimento capaz de ser frito em frigideira, caracterizado pelo fato de compreender: a) colocação do item de

alimento e um óleo na frigideira; e b) aplicação de calor na frigideira suficiente para aquecer o item de alimento, caracterizado pelo fato de que o óleo compreende uma composição de acordo com quaisquer das Reivindicações 1-26.

5 35. "UM MÉTODO" para preparar um produto alimentício compreendendo: colocar o óleo em contato com pelo menos um componente alimentício, caracterizado pelo fato de que o óleo compreende uma composição de acordo com quaisquer das Reivindicações 1-26.

10 36. "O MÉTODO" da Reivindicação 35, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é selecionado a partir do grupo consistindo em molhos para salada, escabeches, remoladas, molhos vegetais, molhos de fruta, molhos de peixe e molhos de carne.

15 37. "O MÉTODO" da reivindicação 35, caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é selecionado a partir do grupo consistindo em biscoitos, bolachas, doces, bolos, cereais, bolinhos, tortas, barras de granola/lanche, tortinhas, batatas chips, chips de milho, chips de trigo, chips de sorgo, chips 20 de soja, petiscos prensados, pipoca, *pretzels*, *crisps* de batata, petiscos de fruta seca, petiscos de carne, couros de porco, barras alimentícias saudáveis, bolos de arroz, bolos de milho, bombons, nozes, frutas secas e verduras.

25 38. "O MÉTODO" da Reivindicação 35, caracterizado pelo fato de ainda compreender o acondicionamento do produto alimentício compreendendo a composição de acordo com quaisquer das Reivindicações 1-26.

 39. "O MÉTODO" da Reivindicação 38, caracterizado pelo fato de que a etapa de acondicionamento

compreende o acondicionamento do produto alimentício em uma atmosfera inerte, caracterizada pelo fato de que a atmosfera é selecionada a partir do grupo consistindo em: uma atmosfera compreendendo nitrogênio; e uma atmosfera compreendendo 5 nitrogênio e dióxido de carbono.

40. "UM MÉTODO" de preparação de alimento, compreendendo a aplicação tópica de uma composição de acordo com quaisquer das Reivindicações 1-26 em um produto alimentício, caracterizado pelo fato de que a etapa de aplicação 10 tópica é selecionada a partir do grupo consistindo em pulverização, imersão e escovamento.

41. "UM MÉTODO" de preparação de alimento para um item de alimento capaz de ser frito em grandes quantidades de óleo, compreendendo: a) imersão do item de 15 alimento em um óleo; e b) aplicação de calor suficiente para aquecer o item de alimento, caracterizado pelo fato de que o óleo compreende uma composição de acordo com quaisquer das Reivindicações 1-26.

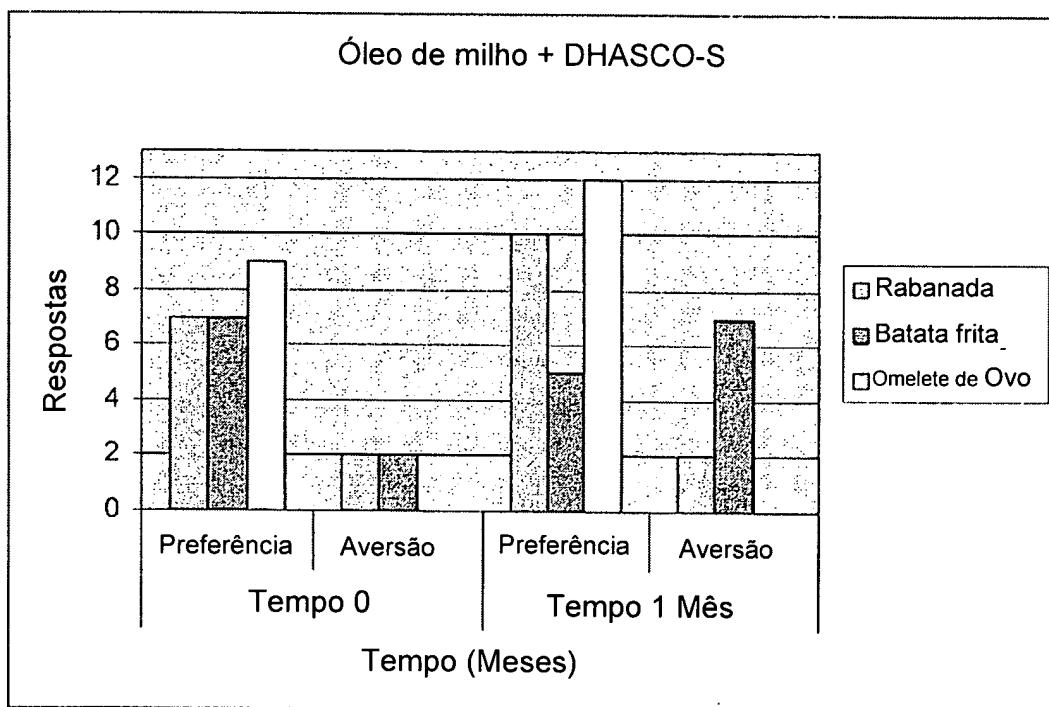


Fig. 1

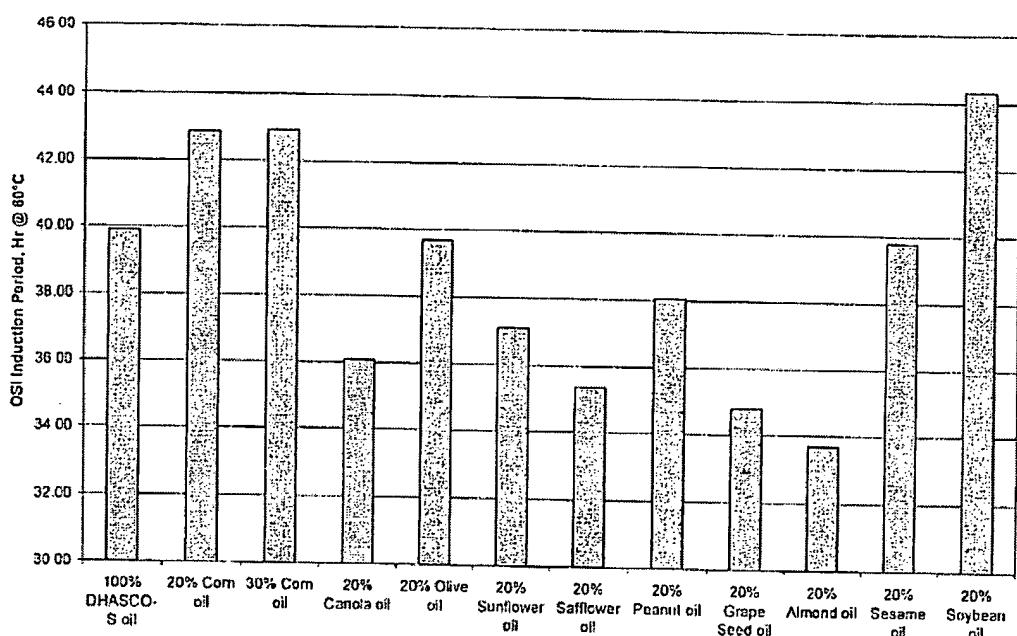


Fig. 2

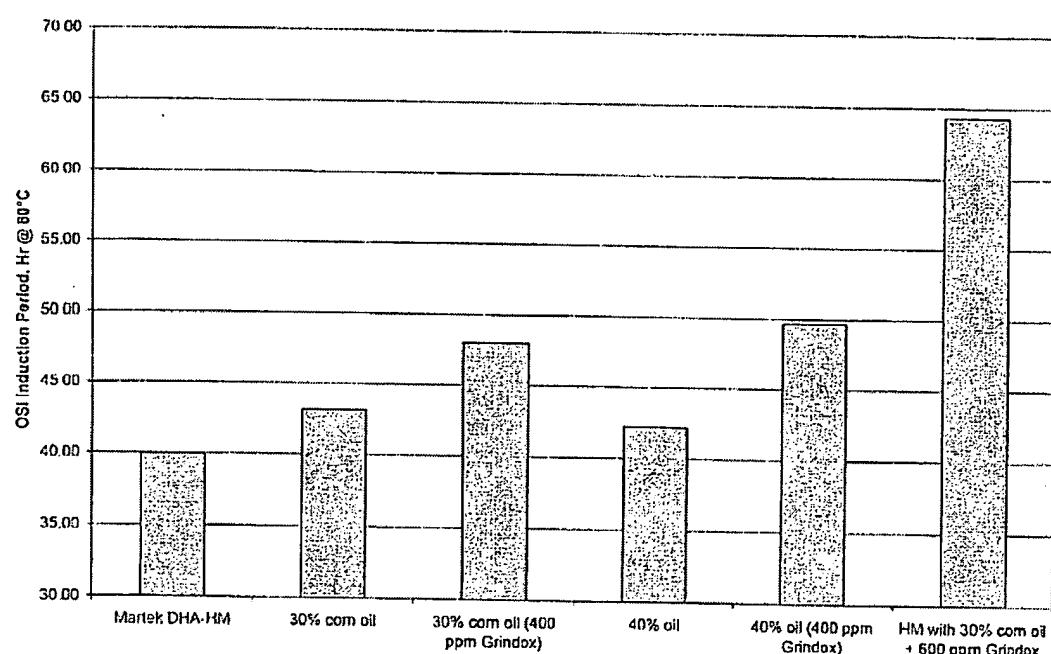


Fig. 3

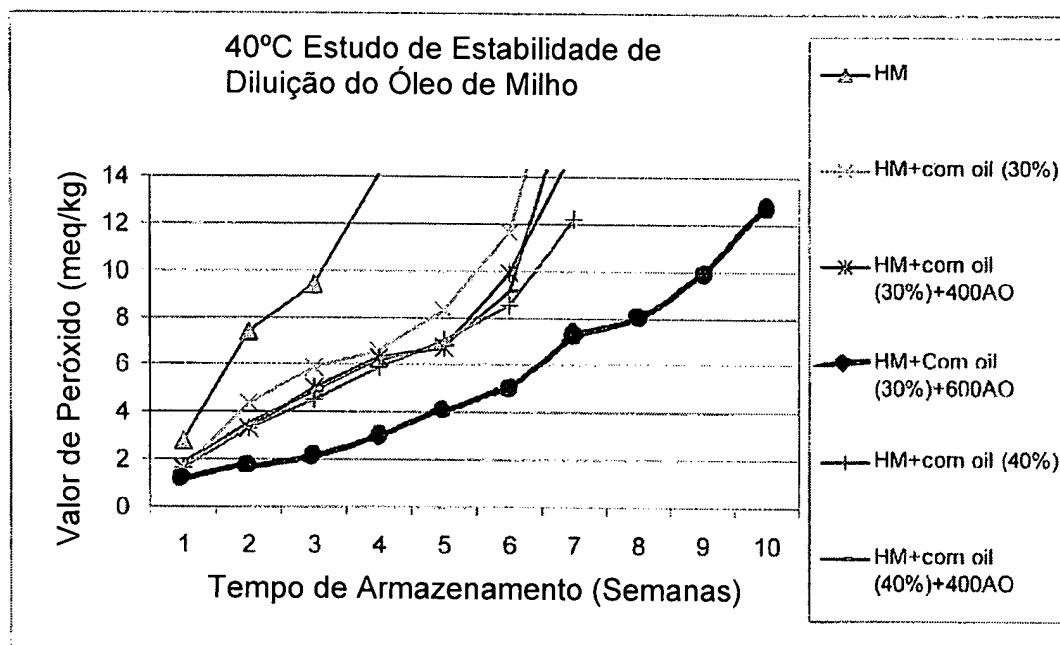


Fig. 4

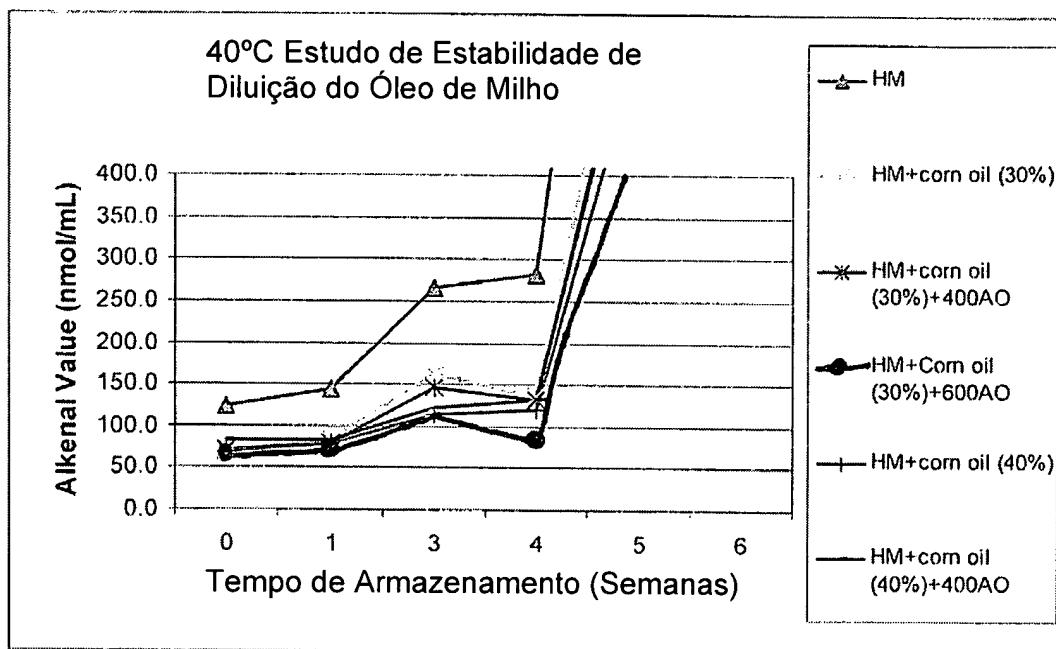


Fig. 5

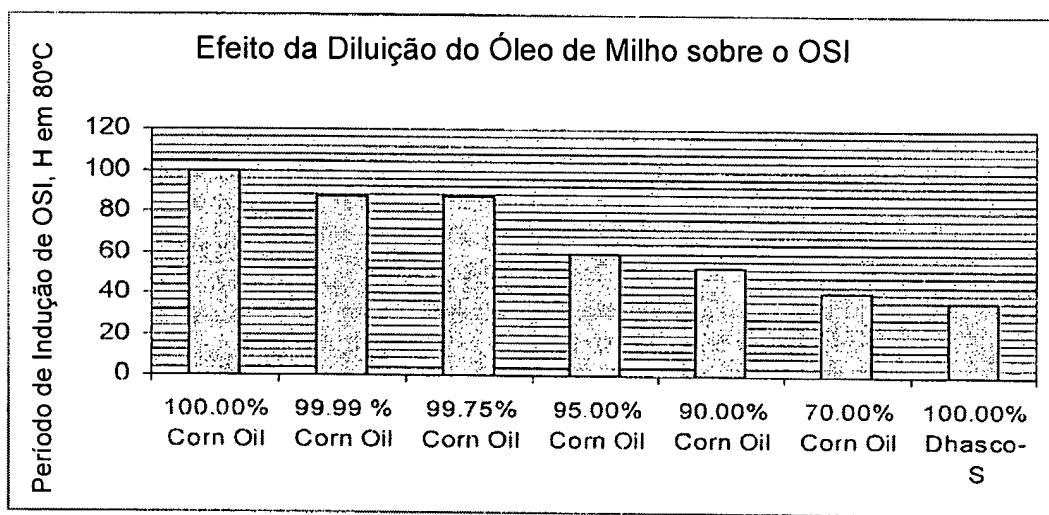


Fig. 6

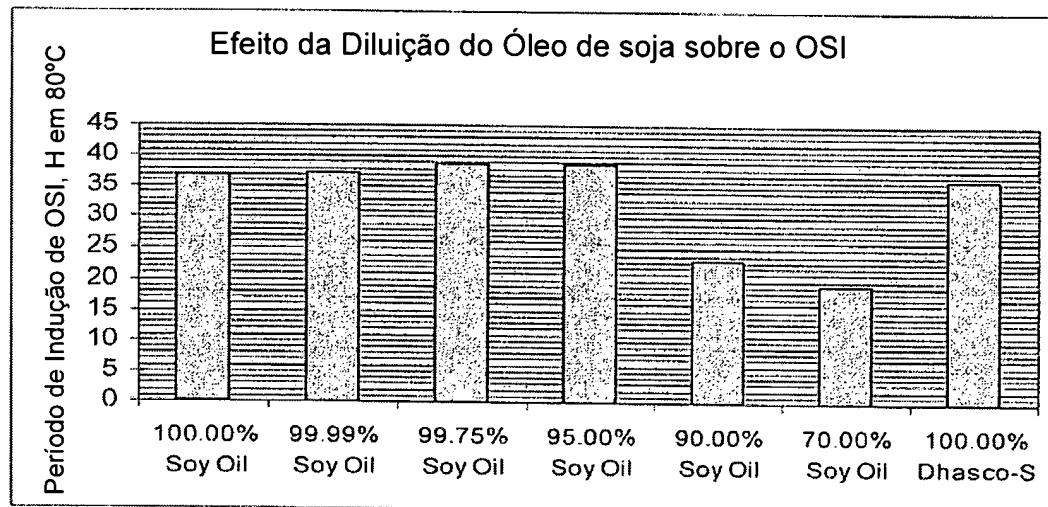


Fig. 7

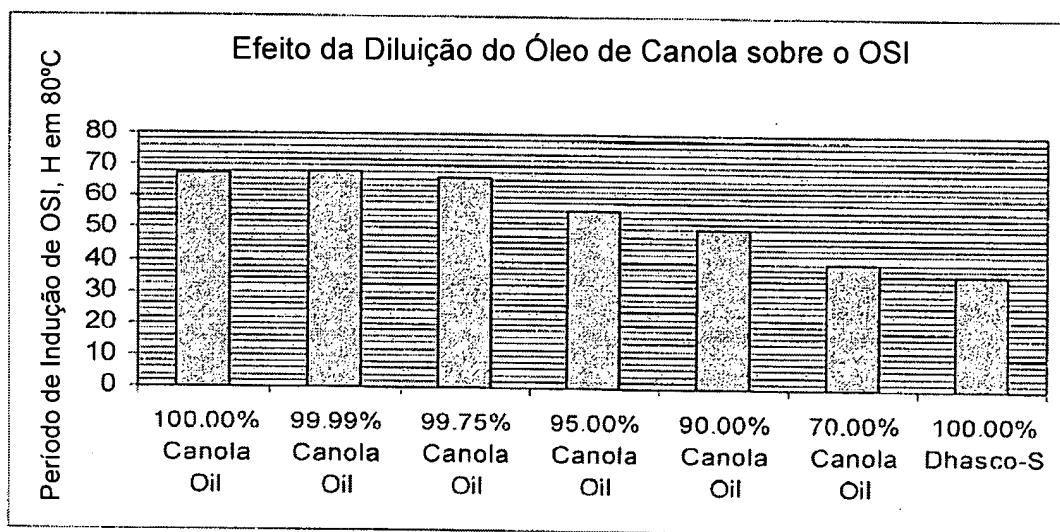


Fig.8

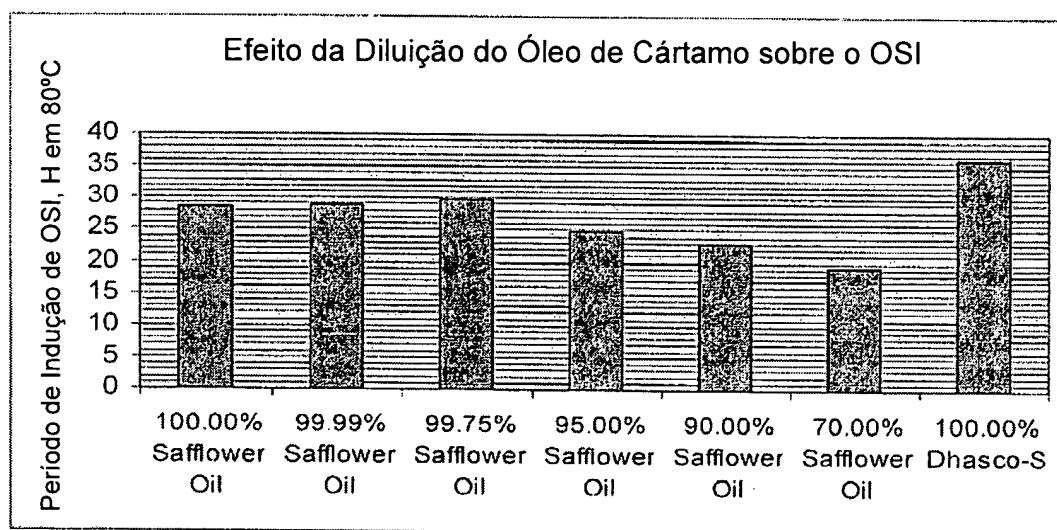


Fig. 9

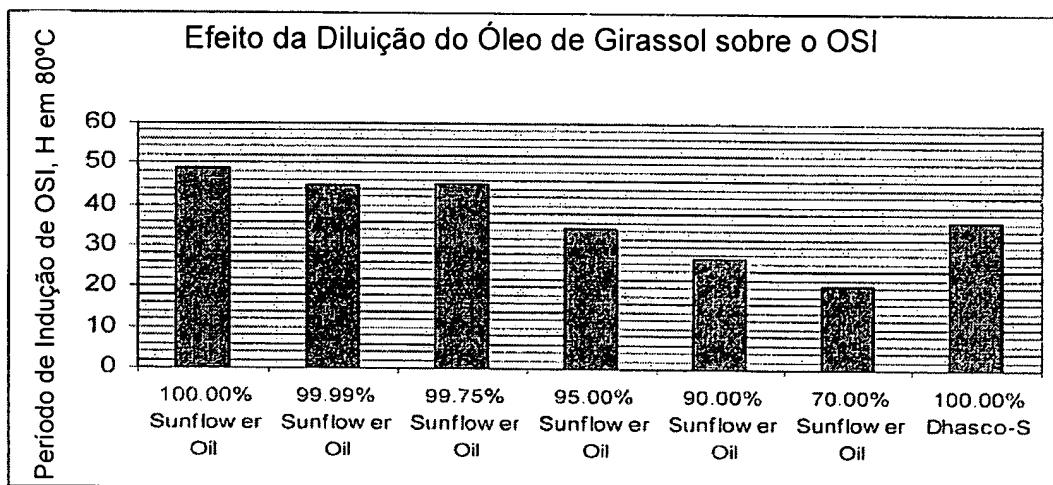


Fig. 10

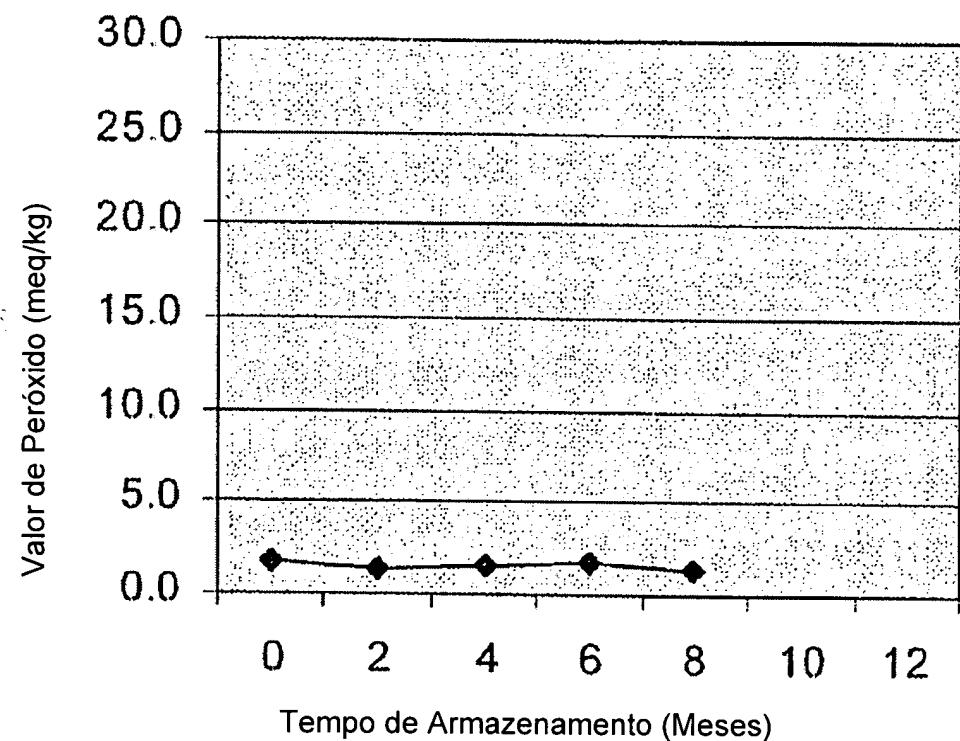


Fig. 11

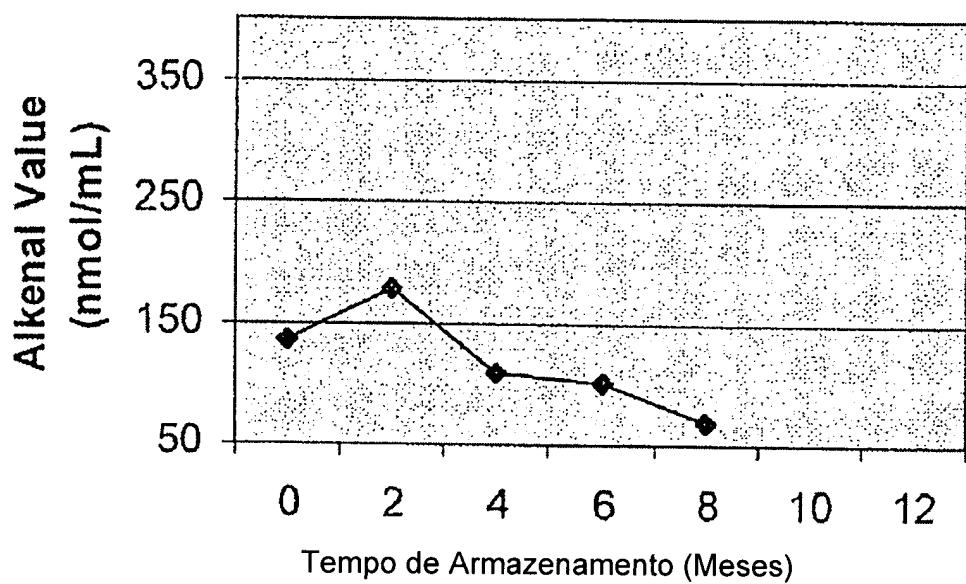


Fig. 12

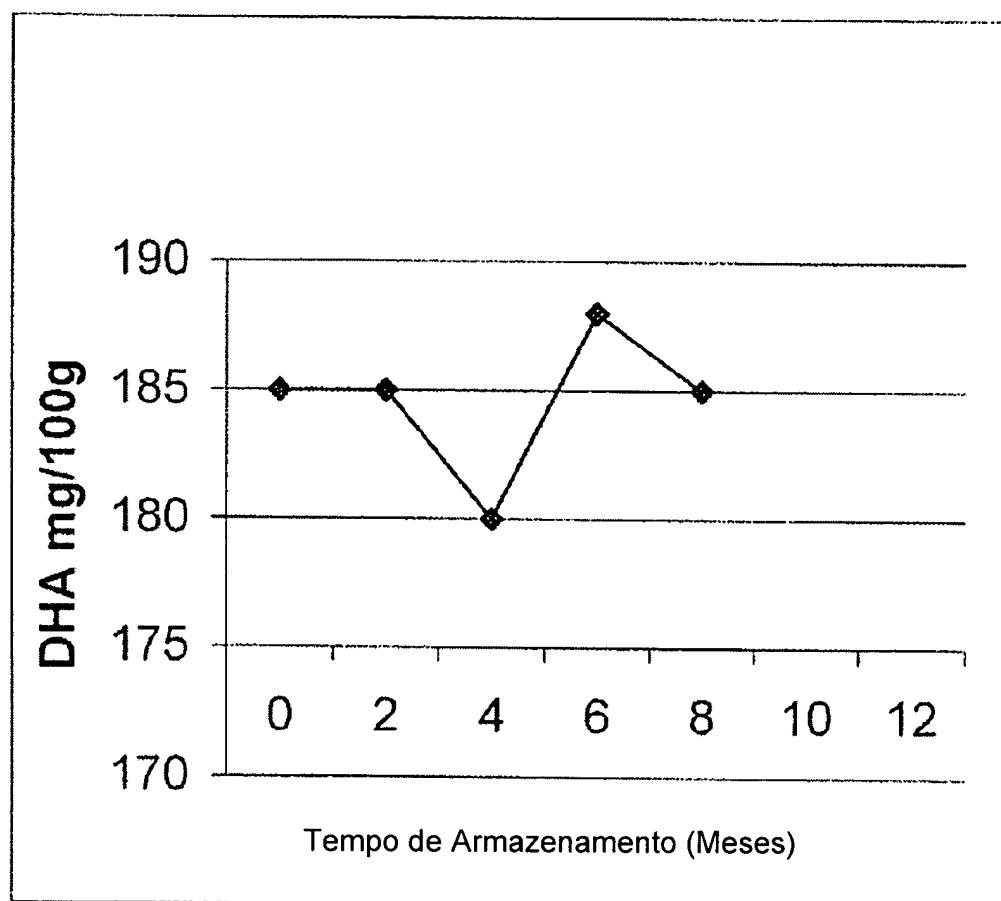


Fig. 13

RESUMO:**"PRODUTOS ALIMENTÍCIOS****COMPREENDENDO ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS DE CADEIA LONGA E MÉTODOS PARA PREPARÁ-LOS",** sendo que

- 5 a presente invenção inclui uma composição de óleo de alimento compreendendo uma mistura de um primeiro óleo compreendendo um PUFA de CL e um segundo óleo compreendendo substancialmente nenhum PUFA de CL. O primeiro óleo pode preferivelmente compreender um PUFA de ômega-3 de CL, um
- 10 PUFA de ômega-6 de CL ou misturas dos mesmos. A presente invenção também fornece os métodos de preparação de alimento, mais especificamente, métodos para a fritura em frigideira, fritura em grandes quantidades de óleo, métodos para preparar molhos alimentícios contendo o lipídeo comestível, métodos para preparar
- 15 produtos alimentícios prensados, e métodos para otimizar o conteúdo de PUFA de CL de um produto alimentício, especificamente produtos alimentícios previamente cozidos, e produtos alimentícios preparados em conformidade com tais métodos. Tais composições e métodos são úteis, por exemplo, para
- 20 aumentar o consumo dos PUFAs de CL.