



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 1007986-6 B1



(22) Data do Depósito: 29/01/2010

(45) Data de Concessão: 07/07/2020

(54) Título: PROCESSO PARA PRODUZIR UMA DISPERSÃO AQUOSA DE UM OU MAIS FITOESTERÓIS

(51) Int.Cl.: A23D 7/005; A23C 9/13; A23C 9/152; A23L 27/60; A23L 33/11.

(52) CPC: A23D 7/0056; A23C 9/13; A23C 9/152; A23D 7/0053; A23L 27/60; (...).

(30) Prioridade Unionista: 23/02/2009 CL 409-2009.

(73) Titular(es): THOMAS FRANCIS HARTING GLADE.

(72) Inventor(es): THOMAS FRANCIS HARTING GLADE; MIGUEL ANGEL FUENZALIDA DIAZ; ALEJANDRO MARKOVITS ROJAS.

(86) Pedido PCT: PCT IB2010050414 de 29/01/2010

(87) Publicação PCT: WO 2010/095067 de 26/08/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 23/08/2011

(57) Resumo: PROCESSO PARA PRODUZIR UMA DISPERSÃO AQUOSA DE UM OU MAIS FITOESTERÓIS A invenção refere-se a um método para a produção de dispersões aquosas altamente estáveis de fitoesteróis, fitoesteróis e seus derivados, o que permite o uso de uma ampla faixa de emulsificantes em concentrações relativamente pequenas em relação aos fitoesteróis e que permite a preparação de dispersões com altas concentrações de fitoesteróis. As ditas dispersões são obtidas utilizando um método no qual um ou mais fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais emulsificantes são dispersos em um dispersante a uma temperatura de pelo menos 140 °C, a fim de obter uma emulsão e a emulsão resultante é subsequentemente resfriada a fim de obter uma dispersão de esteróis em um meio aquoso.

**PROCESSO PARA PRODUZIR UMA DISPERSÃO AQUOSA DE UM OU MAIS
FITOESTERÓIS**

Campo da invenção

[0001] A presente invenção refere-se a um processo para a produção de dispersões aquosas altamente estáveis de fitoesteróis e à utilização destas dispersões como ingredientes de alimentos hipocolesterolêmicos e produtos farmacêuticos.

Antecedentes da invenção.

[0002] Esteróis em geral, principalmente os esteróis vegetais ou fitoesteróis, atualmente têm inúmeras aplicações e são mais comumente usados como ingredientes alimentares. Tais aplicações requerem o uso de fitoesteróis dispersos em meios aquosos, tais como bebidas lácteas, bebidas fantasia aquosas, sucos de fruta, ou em meios lipídicos como margarinas e maionese, entre outros. Uma vez que as aplicações de fitoesteróis dispersos são várias, é importante ter dispersões aquosas muito estáveis que possam ser armazenadas por longos períodos antes de serem usadas em diversas aplicações e, simultaneamente, fornecer produtos homogêneos quando usados em aplicações específicas, em que os fitoesteróis permanecem dispersos, nenhuma separação de fases ocorre e os produtos têm boa palatabilidade. O interesse da indústria de alimentos para a elaboração de produtos contendo fitoesterol é um resultado da capacidade comprovada dos fitoesteróis de inibir a absorção de colesterol da dieta.

[0003] Desde a década de 1930, sabe-se que os níveis de colesterol plasmático são afetados pela ingestão de fitoesteróis. Mais tarde, pesquisas realizadas em torno da

década de 1950 definitivamente demonstrou, tanto em animais quanto seres humanos, que fitoesteróis são muito eficientes na inibição da absorção de colesterol fornecido externamente, ou seja, colesterol da dieta. Consequentemente, pessoas que ingerem fitoesteróis com suas comidas contendo colesterol têm um menor nível de colesterol no soro do que aqueles cuja comida não contém fitoesteróis. Como resultado, tem havido recentemente um grande interesse na elaboração de produtos alimentícios contendo fitoesteróis como uma forma eficaz e de baixo custo para fornecer fitoesteróis para as pessoas necessitadas disso.

[0004] Apesar de fitoesteróis não serem solúveis em meios aquosos e serem dificilmente solúveis em meios graxos, os fitoesteróis não são solúveis no alimento ingerido para exercer seus efeitos hipocolesterolêmicos, mas são capazes de exibir os seus efeitos de redução do colesterol quando dispersos nestes meios. Embora o efeito de redução do colesterol dos fitoesteróis seja bem conhecido no estado da técnica foi surpreendentemente descoberto que dispersões de fitoesterol preparadas de acordo com o processo da presente invenção têm um efeito redutor de colesterol significativamente maior do que dispersões similares preparadas de acordo com processos conhecidos no estado da arte e têm maiores efeitos de redução de colesterol alcançados usando um dos produtos comerciais mais conhecidos tendo este efeito, a saber, ésteres de fitoestanol.

[0005] Normalmente, na preparação de dispersões aquosas de fitoesteróis, um ou mais agentes ativos de superfície são utilizados como emulsificantes que são adicionados à preparação em uma proporção de mais de 20% em

peso em relação aos fitoesteróis, que normalmente é de mais de 50%. A maioria dos pós de fitoesteróis dispersáveis em água contém cerca de 50% de fitoesteróis, que consiste em uma parte de fitoesteróis e uma parte de emulsificantes ou outros aditivos. Embora pós de fitoesterol dispersáveis contendo até 85% em peso de fitoesteróis possam ser encontrados no mercado, os ditos pós têm uma capacidade de dispersão muito fraca em água, e uma vez suspensos em água a 1% em peso, eles se separam da fase aquosa com facilidade e se depositam em menos de uma hora. A fim de estabilizar tais dispersões, elas necessitam de maiores quantidades de emulsificantes e processamento adicional, geralmente por homogeneização sob alta pressão, o que implica em etapas de formulação adicionais mais complicadas. Atualmente, não existem dispersões aquosas estáveis comercialmente disponíveis de fitoesteróis, que poderiam ser usados como bons ingredientes funcionais, principalmente porque eles se depositam com facilidade, têm um teor de fitoesterol baixo na dispersão (alto teor de água) e têm uma vida de prateleira limitada (menos de um mês). Portanto, as dispersões são geralmente desidratadas e comercializadas como pós que podem ser ressuspensos. Nas seções a seguir, os termos agente ativo de superfície e tensoativo são usados alternadamente.

[0006] Emulsificantes alimentícios constituem somente um grupo relativamente pequeno da família emulsificante, e muitos deles têm restrições alimentares sobre a sua ingestão diária que, em alguns casos, como polissorbatos, pode ser tão baixa quanto 25 mg/Kg. Isso limita a combinação de emulsificantes que podem ser usados nos processos de dispersão de fitoesterol. Este problema é

mais grave quando mais de um tensoativo deve ser utilizado na dispersão, quando eles têm que ser incorporados nos produtos alimentícios ou farmacêuticos.

[0007] A ingestão diária sugerida de fitoesteróis como agentes redutores do colesterol é entre 0,8 e 2,0 g, portanto, no caso de que eles são acompanhados por altos níveis de emulsificantes alimentícios, a ingestão diária total de emulsificantes de alimentos considerando os emulsificantes presentes em outros itens de alimentos da mesma forma devem ultrapassar muito bem a ingestão diária máxima permitida para alguns emulsificantes ou, no caso de mono ou diglicerídeos, eles podem aumentar significativamente a ingestão total de calorias diárias.

[0008] Há uma necessidade, portanto, para desenvolver soluções para obter dispersões de fitoesterol aquosas altamente estáveis com a razão de emulsificante/fitoesterol mais baixa possível, usando toda a faixa de emulsificantes de alimentos, incluindo tensoativos hidrofóbicos e predominantemente hidrofílicos ou suas misturas.

[0009] Há um grande número de processos divulgados na técnica anterior na preparação das suspensões ou dispersões de fitoesteróis aquosos e seus usos como um ingrediente de alimentos hipocolesterolêmicos. Alguns dos documentos mais relevantes da técnica anterior dos últimos 20 anos envolvendo o assunto divulgado no presente pedido são apresentados na Tabela 1.

[0010] Na presente invenção, o termo emulsão tem o significado usual, isto é, uma emulsão é uma mistura de dois líquidos imiscíveis em que um dos líquidos, conhecido como

a fase dispersa, está disperso no outro líquido, conhecido como a fase contínua. Portanto, uma emulsão de fitoesterol aquosa significa uma dispersão de fitoesteróis líquidos em um meio aquoso, enquanto o termo dispersão aquosa de fitoesteróis refere-se à dispersão de fitoesteróis sólidos em um meio aquoso. Para formar uma emulsão estável, a emulsão deve conter um ou mais agentes ativos de superfície e, às vezes, também outros componentes conhecidos genericamente como coloides protetores. Agentes ativos de superfície ou tensoativos são substâncias que têm ambas as porções hidrofílica e hidrofóbica na mesma molécula, isto é, eles têm um caráter anfifílico. Isso significa que eles têm a tendência de se concentrar na interface, reduzindo assim a tensão interfacial. Para caracterizar o grau de caráter anfifílico de uma molécula anfifílica, uma escala numérica empírica variando de 1 a 40, denominada de valor HLB, é usado. Quanto menor o valor HLB, mais hidrofóbica é a molécula e, inversamente, quanto maior o valor HLB, maior é o caráter hidrofílico da molécula. Há um grande número de agentes de superfície ativa, tanto naturais quanto sintéticos, que são úteis para uma variedade de aplicações. Um agente emulsificante é um agente ativo de superfície utilizado na preparação de emulsões com o objetivo de estabilizar a emulsão. Verificou-se empiricamente que os agentes de superfície ativa com número HLB variando de 8 a 18 são úteis para estabilizar emulsões óleo em água (o/a), em que a fase dispersa é o óleo e a fase contínua é a água ou um meio aquoso. Por outro lado, agentes ativos de superfície que têm um número HLB variando de 3 a 6 são úteis para a estabilização de água em emulsões oleosas (a/o), onde

a fase dispersa é a água e a fase contínua é o óleo. No campo das emulsões, o termo óleo significa qualquer líquido que é imiscível com água. O termo meio aquoso significa água ou uma solução, dispersão ou emulsão a/o contendo pelo menos 30% de água em peso de solução, dispersão ou emulsão.

Tabela 1. Processos do estado da técnica para a preparação de dispersões de fitoesterol.

Número do documento	Inventor	Título
EP1645267A2	Dariusz Behnam	Method for producing an active ingredient concentrate and active ingredient concentrate.
20070031570	Thomas P. Binder	Hydrothermally processed compositions containing phytosterols.
6623780	Luke Alan Stevens	Aqueous dispersible sterol products.
20070141224	Jerzy Zawistowski	Compositions comprising one to more phytosterols and/or phytostanols, or derivatives thereof, and high HLB emulsifiers.
20060035009	Anilkumar Gaonkar	Compositions and processes for water-dispersible phytosterols and phytostanols.
WO/2002/065859	Nicolas Auriou	Stabilized dispersions of phytosterol in oil.

20030165572	Nicolas Auriou	Water-dispersible encapsulated sterols.
20050170064	Won-tae Yoon	Plant sterol-containing food, and method for preparing the same.
WO/2003/077680	Won-tae Yoon	Mixing powder of plant sterol and emulsifier, and method for preparing the same.
20070231447	Michael Fleckenstein	Sterol compositions and methods of making the same.
EP1575378A1	Helmut Auweter	Pulverulent phytosterol formulations.
6316030	Christian Kropf	Use of nanoscale sterols and sterol esters.
20040033202	Eugene R. Cooper	Nanoparticulate sterol formulations and novel sterol combinations.
WO/1999/063841	David John Stewart	Compositions comprising phytosterol and 7or phytostanol having enhanced solubility and dispersibility.
20050244488	Curtis A. Spilburg	Methods and formulations for enhancing the absorption and gastrointestinal bioavailability of hydrophobic drugs.
6110502	Brid Burruano	Method for producing water-dispersible sterol formulations.

WO/2002/017892	Nicolas Auriou	Stabilized dispersions of phytosterol in oil.
7306819	Erich Lerchenfeld	Beverages containing plant sterols.
7335389	Erich Lerchenfeld	Beverages containing plant sterols.
20070014819	Wen-teng Wu	Method of emulsifying phytosterol by natural saponin, emulsion prepared thereby and water- dispersible phytosterol powder product.
20040142087	Erich P Lerchenfeld	Beverages containing plant sterols.
WO/2003/103633	Eugene R Cooper	Nanoparticulate sterol formulations and sterol combinations.
WO/2003/094891	Curtis A. Spilburg	Methods and formulations for enhancing the absorption and gastro-intestinal bioavailability of hydrophobic drugs.
20020064548	Won-tae Yoon	Methods for dispersing plant sterol in aqueous phase and plant sterol- dispersed beverages.
WO/2003/000075	Matthew Dyer	Method for manufacturing of free- flowing powder containing water- dispersible sterols.

WO/2001/053320	David John Stewart	Crystalline composites comprising phytosterols and phytostanols or derivatives thereof.
WO/2007/124597	David John Stewart	Compositions comprising one or more esterified phytosterols and/or phytostanols into which are solubilized one or more unesterified phytosterols and/or phytostanols, in order to achieve therapeutic and formulation benefits
6113972	Glenn Corliss	Phytosterol-protein complexes.
WO/2006/074752	Yvonne Veldhuizen	Sachets comprising plant sterol.
20030003131	Matthew Dyer	Method for manufacture of free-flowing powder containing water-dispersible sterols.

[0011] Existem inúmeras divulgações no estado da técnica sobre a preparação de fitoesteróis dispersáveis em meios aquosos compreendendo a dispersão mecânica de fitoesteróis em meio aquoso na presença de um ou mais agentes ativos de superfície, a dissolução de fitoesteróis em alguns solventes adequados, sejam sub ou supercríticos seguido pela dispersão da dissolução em uma fase aquosa, a preparação de complexos de fitoesterol solúveis em água, a dissolução térmica de fitoesteróis em um ou mais agentes de superfície ativa seguido pela dispersão da dissolução em meio aquoso, a mistura direta de fitoesteróis com uma solução aquosa de

alguns agentes de superfície ativa seguido pela injeção de vapor vivo sob temperatura elevada e muitos outros.

[0012] Com exceção do processo divulgado no Pedido de Patente Americana 20060035009, em que fitoesteróis são solubilizados pela preparação de um complexo de fitoesterol solúvel em água-carboidrato, a abordagem geral para a obtenção de preparações de fitoesterol foi pela preparação de pós de fitoesterol dispersáveis em água ou de dispersões de fitoesterol aquosas para obter efeitos hipocolesterolêmicos. Ostlund, nas Patentes Americanas 5.932.562 e 6.063.776, também divulga processos para a obtenção de fitoesteróis solúveis em água, mas como mostrado no Exemplo 4 da patente '562, preparações de sitoestanol em pó não apresentaram efeitos de redução do colesterol em seres humanos. Com exceção dos três documentos acima, o estado da arte revela uma variedade de métodos seja para a preparação de pós de fitoesterol dispersáveis em água ou dispersões de fitoesterol aquosas, que em geral são mais facilmente obtidas do que fitoesteróis solúveis em água. Mas, como mostrado por Ostlund na Patente '562, a eficácia de pós ou dispersões de fitoesterol como agentes redutores do colesterol parece depender de seu processo de preparação.

[0013] Ao comparar o efeito de redução do colesterol de dispersões aquosas de fitoesteróis ou pós de fitoesterol dispersáveis em água preparados de acordo com a presente invenção com aqueles preparados de acordo com os processos conhecidos no estado da arte, um efeito de redução de colesterol significativamente maior foi observado no primeiro caso, o que poderia confirmar que o efeito de redução do colesterol de fitoesteróis sólidos ingeridos como

pós dispersáveis em água ou dispersões de fitoesterol aquosas parece depender, ainda que de modo imprevisível, do processo da preparação destes.

[0014] Existem inúmeros métodos bem conhecidos para a dispersão das fases líquidas imiscíveis para preparar emulsões. Os métodos preferidos utilizados na presente invenção são aqueles que recorrem a homogeneizadores de rotor/estacionários como moinhos coloidais, recipientes agitados e homogeneizadores de pressão. Este equipamento é capaz de fornecer alta tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento, permitindo a preparação de emulsões de fitoesterol aquosas que dão origem a suspensões de fitoesterol aquosas no resfriamento com características que são surpreendentemente diferentes das dispersões preparadas usando qualquer um dos processos do estado da técnica.

[0015] Os processos do estado da arte não divulgam qualquer processo de dispersão de fitoesterol, em que os fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais agentes de superfície ativa de grau alimentício, com um agente de superfície ativa baixo em relação à razão de fitoesteróis e tendo concentrações de fitoesterol significativas para uso na indústria alimentícia ou farmacêutica, são dispersos em temperaturas acima do ponto de fusão de fitoesteróis para formar uma emulsão, seguido pelo resfriamento da dita emulsão para originar uma dispersão de fitoesterol em meio aquoso.

[0016] Pelo contrário, este procedimento foi desencorajado nos documentos do estado da técnica, considerando o alto ponto de fusão dos fitoesteróis. De fato, a Patente Americana No. 6.623.780 (23 de setembro de 2003), intitulada "Aqueous dispersible sterol product", os

inventores (Stevens e Schmeltzer) explicitamente estabelecem (ver coluna 3, linha 10 e a seguir) que "A principal dificuldade na formulação de esteróis é alto ponto de fusão dos mesmos. Esteróis de grau alimentício comercialmente disponíveis tipicamente têm uma faixa de ponto de fusão de 120 °C até 140 °C. Isso torna a sua dispersão em água muito difícil porque os esteróis não podem ser dispersos em água como esteróis líquidos sem recorrer a altas temperaturas e altas pressões associadas".

[0017] A fim de superar o que consideravam uma dificuldade, os inventores recorreram à mistura de esteróis, monoglicerídeos e um polissorbato como Tween 60. Isto gera a uma mistura com um ponto de fusão mais baixo, que é de cerca de 75 °C. A mistura é a seguir resfriada, de preferência por pulverização da mistura em uma corrente de ar. O pó emulsificante de esterol resultante pode ser subsequentemente disperso em meio aquoso e ser submetido a homogeneização sob alto cisalhamento para formar uma emulsão, isto é, a incorporação de esteróis em matrizes alimentícias requer o uso das etapas de homogeneização subsequentes. De acordo com o tipo e as proporções dos agentes de superfície ativa reivindicados, o valor HLB da mistura de agente ativo de superfície varia de 4 a 6 e a razão reivindicada de emulsificantes para esteróis varia de 111% a 170%. Os inventores descobriram que uma dispersão preparada de acordo com a sua invenção, contendo esteróis, monoglicerídeos e polissorbatos, é estável em água pura por várias semanas.

[0018] Pelo contrário, dispersões de fitoesterol aquosas preparadas de acordo com os processos da presente

invenção têm uma vida de prateleira de mais de um ano sem qualquer separação de fase perceptível ou sedimentação durante tal período e são facilmente incorporadas em alimentos líquidos, como bebidas lácteas, bebidas fantasia aquosas, sucos de frutas e similares.

[0019] Uma das desvantagens do processo divulgado na patente '780 é que, a fim de preparar uma dispersão de fitoesterol aquosa mais ou menos estável várias etapas são necessárias, ou seja, a mistura dos esteróis com um ou mais agentes emulsificantes, derretimento da mistura formada, atomização do produto de material fundido e dispersão do pó resultante em meio aquoso sob alto cisalhamento a uma temperatura maior do que o ponto de fusão do pó. Além disso, a fim de obter uma redução significativa do ponto de fusão da mistura de esteróis e emulsificantes, uma quantidade similar ou superior dos emulsificantes é necessária em relação aos esteróis utilizados. Além disso, uma vida de prateleira de algumas semanas poderia ser insuficiente para determinadas aplicações. Além disso, a faixa de emulsificantes utilizável é bastante restrita no processo divulgado, deixando inúmeros emulsificantes alimentícios importantes fora do campo de aplicação. Além disso, os grandes excessos de emulsificantes que acompanham os esteróis devem contribuir significativamente para o conteúdo calórico dos artigos alimentares em que eles são incorporados, uma característica indesejável para alimentos com teor de colesterol reduzido.

[0020] Yoon et al. nos Pedidos de Patente Americanas 20040029844, 20040170064 e 20020064548 divulgam um processo semelhante para a preparação de fitoesteróis aquosos,

recorrendo a proporções mais baixas de emulsificante/fitoesterol do que aquelas usadas por Stevens e Schmeltzer na patente '780, mas à custa da utilização de temperaturas mais altas, mais perto do ponto de fusão dos esteróis, que foi precisamente o problema que os inventores da Patente Americana 6.623.780 queriam evitar.

[0021] Nos pedidos de patente acima citados, os processos divulgados consistem na mistura de esteróis com vários emulsificantes em temperaturas entre 130 °C e 140 °C, conforme ilustrado nos Exemplo 1, 2 e 3 do Pedido de Patente 20040029844, a fim de formar uma mistura derretida. Essa mistura pode ser dispersa em meio aquoso ou bebida, de preferência entre 70 °C e 90 °C. O processo é realizado em um misturador-agitador com uma velocidade de rotação de 6.800 rpm a 10.000 rpm. Os inventores estabelecem que, *"após o processo de agitação, um processo de homogeneização é necessário para pulverizar micelas agregadas"*.

[0022] Os emulsificantes utilizados foram éster de sacarose estearila, éster de lauril sorbitano, estearil-lactilato de sódio, monoestearato de poliglicerina e citrato de monoglicerila, em quantidades que variam de 17% até 85%, em relação aos esteróis. A faixa de valores HLB desses emulsificantes varia de 8 até 15.

[0023] Conforme mostrado nos Exemplos Comparativos 1, 2 e 3 do Pedido de Patente 20040029844, quando os emulsificantes utilizados foram estearil-lactilato de sódio, polissorbato ou monogliceril citrato, as dispersões resultantes foram instáveis. De acordo com os Exemplos, apenas o éster de sacarose estearila (HLB 11) e lauril sorbitano (HLB 8,6) e suas misturas foram estabilizadores

eficazes. Portanto, a faixa de emulsificantes adequada para realizar a invenção divulgada é bastante limitada. De acordo com os exemplos da presente invenção, a dispersão de esterol preparada de acordo com o Exemplo 1 do Pedido 20040029844 sem a etapa de homogeneização (ensaio 5) é instável, e quando a etapa de homogeneização está incluída (ensaio 6), a dispersão resultante tem consideravelmente menos estabilidade do que a dispersão de esterol preparada de acordo com a presente invenção. Além disso, o processo divulgado no Pedido 20040029844 não permite a preparação de dispersões de fitoesterol aquosas com alto teor de sólidos.

[0024] Ligante, no pedido de Patente Americana 20070031570, divulga um método para a preparação de dispersões de fitoesterol aquosas pela mistura de água, fitoesteróis e um emulsificante e, em seguida aquecendo a mistura com o vapor vivo entre 100 °C e 200 °C por um período que varia de 2 segundos até 10 minutos, preferencialmente de 30 segundos até 3 minutos. O processo de aquecimento exerce uma tensão de cisalhamento caracteristicamente baixa sobre a mistura. A seguir, a mistura é ou arrefecida no refrigerador instantâneo ou é adicionalmente homogeneizado a uma pressão elevada, variando de 2000 psi até 8000 psi, de preferência duas vezes. O relatório descritivo não divulga a temperatura de homogeneização, mas no Exemplo 1, após um processo hidrotérmico a 152 °C, a mistura é resfriada até 79 °C e submetida a uma etapa de homogeneização de dois estágios. Assim, a homogeneização real é realizada em uma dispersão aquosa de esteróis sólidos.

[0025] Para realizar o processo divulgado, emulsificantes de grau alimentício com baixos valores de HLB

(inferiores a 5), tais como lecitinas, mono e diglicerídeos destilados e similares são usados. A quantidade de emulsificantes em relação aos fitoesteróis nos Exemplos 1 e 2 foi de 199%.

[0026] Entre as desvantagens do processo divulgado pode-se estabelecer o seguinte: a faixa de emulsificantes utilizáveis é bastante limitada aos emulsificantes com valores de HLB inferiores a 5, que exclui emulsificantes importantes necessários em determinadas aplicações, o produto antes da etapa de homogeneização é muito instável, e mesmo após esta etapa de homogeneização o produto ainda tem baixa estabilidade; além disso, o produto utiliza grandes excessos de emulsificantes em relação à quantidade de fitoesteróis, que poderia ser desvantajoso para a sua aplicação em alimentos com teor reduzido de colesterol, que são geralmente obrigados a serem alimentos de baixa caloria da mesma forma.

[0027] Outra desvantagem do processo divulgado, comum aos outros processos no estado da técnica, é inerente à etapa de homogeneização da dispersão aquosa de esteróis sólidos devido à abrasão grave causada às válvulas do homogeneizador. No processo da presente invenção, a homogeneização é realizada ao longo das emulsões do esterol, e não de dispersões. A consequência disso é não só apenas a falta de abrasão esperada, mas também, inesperadamente, que a dispersão resultante acaba possuindo características surpreendentes, como uma maior estabilidade, a possibilidade de usar uma grande variedade de emulsificantes em concentrações muito baixas em relação ao fitoesteróis e na presença de grandes concentrações de fitoesteróis.

[0028] É evidente que não há nenhum processo no estado da técnica para preparar suspensões de fitoesterol aquosas tendo uma estabilidade muito alta, estabilizadas por um ou mais agentes de superfície ativa selecionados a partir de uma ampla variedade de emulsificantes compreendendo emulsificantes tanto hidrofílicos quanto hidrofóbicos, com valores HLB variando de cerca de 1 até cerca de 20, que permite a produção de dispersões com um teor baixo de fitoesterol e também dispersões com mais de 10%, de preferência mais de 20% de fitoesteróis com base no peso da dispersão aquosa.

[0029] O processo divulgado na presente invenção permite a preparação de dispersões de fitoesterol altamente estáveis usando uma grande variedade de emulsificantes de grau alimentício e suas misturas, com números de HLB entre 1 e 20, com baixa proporção de emulsificante/fitoesterol, e é um processo extremamente simples que pode ser satisfatoriamente realizado em uma única etapa. A faixa de concentração de fitoesteróis, nas dispersões das faixas da presente invenção de 0,1 g até 400 g de fitoesteróis dispersos por litro de dispersão, que são duas ordens de magnitude maior do que as concentrações mais altas obtidas para qualquer dispersão de fitoesterol estável divulgadas no estado da técnica. Essa é outra vantagem do processo da invenção, uma vez que dispersões aquosas com teor elevado de fitoesterol são preferíveis em certas aplicações em que a alta concentração de fitoesteróis dispersos é necessária como, por exemplo, em aditivos de margarina. Do mesmo modo, quando o objetivo é a obtenção de um pó dispersável, é preferível começar com uma dispersão que tenha o menor teor

de água possível, a fim de reduzir as dificuldades relacionadas com a remoção da água.

[0030] Embora a presente invenção foi motivada pela necessidade detectada de proporcionar um processo para obter dispersões de fitoesterol em que o produto do processo poderia superar todas as desvantagens das dispersões de fitoesterol obtidas usando os processos divulgados no estado da técnica, foi verificado que dispersões preparadas de acordo com o processo aqui divulgado, tanto dispersões aquosas bem como o processo de pó ressuspensão aqui divulgado, tanto as dispersões aquosas como fitoesteróis em pó ressuspensos exibiram de forma inesperada e surpreendentemente um efeito de redução de colesterol significativamente mais alto em relação ao efeito exibido pelas dispersões do estado da técnica, como será mostrado no Exemplo 16.

Breve descrição da invenção.

[0031] Para preparar dispersões de fitoesterol aquosas altamente estáveis, fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais emulsificantes são misturados e dispersos em um dispersante adequado a uma temperatura acima do ponto de fusão dos fitoesteróis para obter uma emulsão de fitoesterol aquosa, seguido por resfriamento da emulsão para produzir uma dispersão de fitoesterol aquosa altamente estável. O processo inventado e descrito em detalhes a seguir permite a preparação de dispersões de fitoesterol aquosas tendo uma estabilidade surpreendentemente alta, com um tamanho médio de partícula de menos de 1000 nm, mesmo em elevada concentração de fitoesterol com base no peso da dispersão final. Dispersantes adequados para realizar a invenção

incluem dispersantes rotor-estacionários como moinhos coloidais, recipientes agitados com agitadores de turbina de lâmina plana, impulsores de lâmina pontiagudos, impulsores de dente de serra e muitos outros designs de misturadores-agitadores, tais como equipamento de mistura de Silverson Machines e homogeneizadores de pressão.

Descrição detalhada da invenção.

[0032] O primeiro objetivo da presente invenção é fornecer um processo para a preparação de dispersões de fitoesterol aquosas altamente estáveis para serem usadas como alimento ou ingredientes farmacêuticos ou formulada em diversas aplicações.

[0033] O segundo objetivo da presente invenção é fornecer um processo para a preparação de suspensões de fitoesterol aquosas altamente estáveis para serem usadas sozinhas ou como um alimento ou ingrediente farmacêutico para a redução da absorção de colesterol da dieta em seres humanos em níveis significativamente mais elevados do que aqueles exibidos por produtos contendo fitoesterol similares do estado da técnica. Para preparar dispersões com tais características, um fitoesterol ou uma mistura de fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais emulsificantes são misturados e dispersos em um dispersante adequado a uma temperatura acima do ponto de fusão dos fitoesteróis para obter uma emulsão de fitoesterol aquosa, seguido pelo resfriamento da emulsão para produzir uma dispersão de fitoesterol aquosa altamente estável. Dispersantes adequados para realizar a primeira etapa da presente invenção incluem dispersantes de rotor-estacionários como moinhos coloidais, tanques agitados com agitadores de turbina de lâmina plana,

impulsores Cowles, impulsores de lâmina pontiaguda, impulsores de dente de serra e muitos outros designs de misturadores-agitadores, tais como misturadores da Silverson Machines e homogeneizadores de pressão.

[0034] O terceiro objetivo da presente invenção é fornecer um processo para a preparação de fitoesteróis dispersáveis em água em pó para serem usados sozinhos ou na preparação de um alimento ou produto farmacêutico a ser administrado a seres humanos para inibir a absorção de colesterol da dieta em níveis significativamente mais elevados do que aqueles exibidos por produtos semelhantes que contenham fitoesteróis em pó do estado da técnica. Para a preparação de fitoesteróis em pó com tais características, um fitoesterol ou uma mistura de fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais emulsificantes são misturados e dispersos em um dispersor adequado a uma temperatura acima do ponto de fusão dos fitoesteróis para obter uma emulsão de fitoesterol aquosa, seguido pelo resfriamento da emulsão para produzir uma dispersão de fitoesterol aquosa altamente estável. Dispersantes adequados para realizar a primeira etapa da presente invenção incluem dispersantes de rotor-estacionários como moinhos coloidais, tanques de agitação com agitadores de turbina de lâmina plana, impulsores Cowles, impulsores de lâmina pontiaguda, impulsores de dente de serra e muitos outros designs de misturador-agitador, como misturadores Silverson Machines e homogeneizadores de pressão. As dispersões obtidas são posteriormente desidratadas, a fim de obter fitesteróis em pó dispersáveis em água.

[0035] Uma técnica conveniente para a medição da

estabilidade de uma dispersão de fitoesterol aquosa, utilizada na presente invenção e nas divulgações de Stevens e Schmeltzer e Yoon et al., é a quantificação da quantidade de fitoesteróis separando de uma dispersão após centrifugação da dispersão sob condições padronizadas. Para este fim, uma quantidade de dispersão com uma certa concentração de fitoesterol é centrifugada a 3000 g por 10 minutos e a concentração de fitoesterol resultante no sobrenadante é medida. A estabilidade da dispersão original é expressa em termos do rendimento de fitoesteróis que permanecem em suspensão após a centrifugação. Quanto menos a quantidade de fitoesteróis separados, maior é a estabilidade da dispersão (ver Equação 1):

$$E = M1 * X1 / (M0 * X0) * 100, \text{ (Equação 1)}$$

sendo que:

E: Estabilidade da dispersão, %

M0: Massa da dispersão centrifugada, g

X0: Porcentagem de fitoesteróis na dispersão centrifugada, %

M1: Massa de dispersão recuperada, g

X1: Porcentagem de fitoesterol na dispersão recuperada, %

[0036] Nas condições do ensaio, nas dispersões de fitoesterol preparadas de acordo com o processo divulgado na presente invenção, nenhuma precipitação de fitoesterol é observada ou a estabilidade da dispersão é maior do que 75% após a centrifugação. Ou seja, mais de 75% da amostra de fitoesteróis permanece em suspensão após o ensaio de centrifugação.

[0037] Na presente invenção, o termo "fitoesterol"

inclui esteróis livres de origem vegetal, como sitoesterol, campesterol, estigmasterol, brassicasterol, avenasterol ou misturas dos ditos esteróis vegetais livres específicos, bem como a forma hidrogenada desses esteróis livres conhecidos como fitoestanóis, tais como sitoestanol, campestanol e suas misturas, e também ésteres de fitoesterol ou fitoestanol com ácidos orgânicos, como ácidos graxos, ácido succínico, ácido ferúlico e outros ácidos, misturas dos ditos ésteres e em geral ésteres com ácidos tendo de 1 a 24 átomos de carbono, glicosídeos e outros derivados dos mesmos.

[0038] Misturas de fitoesteróis ou fitoesteróis específicos podem ser obtidas a partir de uma variedade de sementes oleaginosas como soja, milho, girassol, algodão, raps e similares. Eles também podem ser obtidos a partir de subprodutos da indústria de polpa de papel, tais como sabonetes de óleo de resina de polpa de madeira, ou o resíduo da destilação de óleo de resina de polpa de madeira, conhecido resina de óleo de polpa de madeira.

[0039] Os agentes de superfície ativa ou emulsificantes úteis para a presente invenção compreendem uma ampla variedade de agentes de superfície ativa ou emulsificantes, especialmente agentes de superfície ativa de grau alimentício ou emulsificantes com valores de HLB que variam de 1 até 20, alguns dos quais sendo ilustrados na Tabela 2.

Tabela 2: Emulsificantes alimentícios

Emulsificante	Número HLB
Monoglicerídeos	3 a 4
Diglicerídeos	2 a 6
Ésteres do ácido acético dos	1

monoglicerídeos	
Ésteres do ácido láctico dos monoglicerídeos	3 a 4
Ésteres do ácido cítrico dos monoglicerídeos	9
Ésteres do ácido succínico dos monoglicerídeos	5 a 7
Ésteres do ácido diaciltartárico dos monoglicerídeo	8 a 10
Ésteres de poliglicerol dos ácidos graxos	4 a 14
Ésteres de sorbitano dos ácidos graxos	2 a 9
Ésteres de polioxietilenossorbitano dos ácidos graxos	10 a 17
Ésteres de polipropilenoglicol dos ácidos graxos	1 a 3
Ésteres de sacarose dos ácidos graxos	1 a 16
Estearil-lactilado de cálcio ou sódio	7 a 9
Lecitina	3 a 4
Sais dos ácidos graxos de sódio ou potássio	14 a 20

[0040] O primeiro objetivo da presente invenção pode ser alcançado pela mistura de fitoesteróis, um ou mais emulsificantes alimentícios, de preferência emulsificantes

de grau alimentício, com números de HLB variando de 1 a 20, e um meio aquoso, de preferência água, mais preferivelmente água mole. No caso em que apenas água dura ou semidura está disponível, esta pode ser amolecida por meio de técnicas bem conhecidas no estado da técnica, incluindo tratamentos químicos, de troca iônica ou destilação. Uma vez que dispersões são preparadas de acordo com os processos da presente invenção, as ditas dispersões podem ser misturadas com uma grande variedade de produtos a serem usados em alimentos, bebidas, produtos nutracêuticos, farmacêuticos ou cosméticos.

[0041] Além de água, outros meios aquosos que podem ser usados para preparar dispersões de fitoesterol na presente invenção são soluções aquosas naturais, emulsões ou dispersões utilizadas preferencialmente na indústria alimentícia, tais como leite, soro de leite e produtos do soro de leite, sucos e seus derivados, soluções e bases para preparar bebidas fantasia, derivados aquosos de soja e outras sementes, infusões de ervas, bebidas alcoólicas e similares.

[0042] Para cada grama de fitoesteróis na dispersão, a quantidade de emulsificante pode variar de 100 µg até 1.000 mg, de preferência a quantidade estará dentro da faixa de 10 mg até 200 mg. A quantidade de fitoesteróis na dispersão pode variar de 100 mg até 500 g por litro de dispersão. No estado da técnica, o mais alto teor de fitoesterol divulgado em uma dispersão de fitoesterol é inferior a 200 g/litro.

[0043] A seleção do tipo e quantidade de emulsificante ou mistura de emulsificantes a ser utilizada dependerá dos requisitos específicos dos usuários. Formulações específicas são descritas nos exemplos para

ilustrar a invenção, mas elas não limitam o escopo da invenção, que permite que uma pessoa versada na técnica execute outras aplicações específicas adaptadas aos requerimentos específicos sem afetar a estabilidade da dispersão de fitoesterol na formulação particular.

[0044] Uma vantagem adicional dos processos divulgados na presente invenção é a capacidade destes de fazer dispersões com alto teor de fitoesterol, uma vez que em certas aplicações, tais como cremes, margarinas especiais ou nos casos em que os produtos finais desejados são pós de fitoesterol dispersáveis, pode ser vantajoso ou mesmo necessário utilizar emulsões ou dispersões muito concentradas.

[0045] Subsequentemente, a mistura é aquecida até uma temperatura entre 140 °C e 250 °C, de preferência entre 150 °C e 200 °C, resultando em uma mistura líquida formada pelos fitoesteróis, emulsificantes e o meio aquoso, e a mistura líquida é então dispersa em um dispersante adequado para formar uma emulsão aquosa de fitoesteróis. O aquecimento e dispersão da mistura pode ser feito em recipientes agitado fechados, providos com um sistema de transferência de calor, como bobinas em espiral ou uma camisa, onde um fluido de transferência de calor apropriado circula a uma temperatura desejada, ou o aquecimento pode ser realizado utilizando um banho de aquecimento a uma temperatura desejada, em que o recipiente é parcialmente ou totalmente imerso.

[0046] É conveniente realizar o processo de emulsificação de fitoesterol na ausência de oxigênio para reduzir o risco de oxidação dos fitoesteróis ou dos emulsificantes, devido às altas temperaturas atingidas

durante o processo de emulsificação. Isto pode ser feito, por exemplo, realizando o processo de emulsificação em um recipiente agitado fechado em que o volume de cabeça está preenchido de gás nitrogênio. A mistura de fitoesteróis, meio aquoso e emulsificante ou emulsificantes é alimentada no reator deslocando parte do nitrogênio no recipiente, com exceção do que permanece no espaço de cabeça do reator.

[0047] Outra maneira conveniente de eliminar o oxigênio do recipiente agitado é primeiro evacuar o ar do recipiente através de uma bomba a vácuo e, a seguir, alimentar a mistura de fitoesteróis, meio aquoso e emulsificante ou emulsificantes no reator antes de aquecer tal mistura.

[0048] A mistura de fitoesteróis, meio aquoso e emulsificante ou emulsificantes é aquecida no recipiente fechado até a temperatura desejada, tipicamente entre 140 ° e 200 °C, com agitação. Quando a temperatura desejada é atingida, a agitação é mantida por um período que varia de 1 segundo até 1 hora, após o que o aquecimento é interrompido e a mistura é resfriada, geralmente sob 140°C. O resfriamento da mistura emulsionada pode ser efetuado quer por convecção natural, interrompendo o aquecimento e deixando a mistura esfriar por si só, ou por convecção forçada, circulando um fluido frio dentro da camisa ou bobina e mantendo a taxa de agitação. Uma vez que a mistura emulsionada é resfriada, uma dispersão de fitoesterol aquosa altamente estável é obtida, com um tamanho médio de partícula geralmente menor do que 1000 nm.

[0049] A emulsificação da mistura de fitoesteróis, meio aquoso e um ou mais emulsificantes também pode ser

convenientemente realizada em dispersores que consistem em misturadores em linha misturadores de alimentação de fundo. O processo de emulsificação pode ser realizado em um processo contínuo em qualquer um dos misturadores anteriormente mencionados. Quando o processo de emulsificação é realizado em um processo contínuo, a remoção de ar pode ser feita, por exemplo, primeiro aquecendo o meio aquoso até entre 90 °C e 95 °C, em seguida passando o mesmo para um removedor de ar, tal como uma coluna empacotada, e a seguir alimentando o meio aquoso desareado, fitoesterol e um ou mais emulsificantes para o misturador contínuo. A emulsão que deixa o misturador contínuo é, a seguir, resfriada para obter uma dispersão de fitoesterol aquosa altamente estável, tendo um tamanho de partícula de fitoesterol médio menor do que 1000 nm.

[0050] Quando o emulsificante utilizado em um processo em lote ou contínuo, seja sozinho ou em combinação com outros emulsificantes, é um sal de um ácido orgânico em uma proporção de pelo menos 0,5% em peso com relação aos fitoesteróis, a dispersão resultante é surpreendentemente translúcida, com um tamanho de partícula médio menor do que 100 nm. Sais que levam a tais dispersões incluem o sal de sódio ou potássio dos ácidos orgânicos tendo de 1 a 24 átomos de carbono, de preferência de 10 a 24 átomos de carbono. Estes ácidos orgânicos podem ácidos orgânicos saturados, mono ou poliinsaturados. Os sais podem ser adicionados diretamente à mistura a ser dispersa ou podem ser formados *in situ* durante o processo de emulsificação, por meio da neutralização do ácido orgânico correspondente com hidróxido de sódio ou potássio, que é incorporado na mistura

emulsionada. Como mostrado nos Exemplos, a presente invenção permite a formação surpreendente de dispersões de fitoesterol altamente estáveis, com um tamanho de partícula médio de cerca de 100 nm, usando não mais do que 1% dos emulsificantes em relação ao conteúdo de fitoesterol.

[0051] Os processos de dispersão da presente invenção podem ser realizados da mesma forma, caso desejado, na presença de um ou mais coloides protetores, como a gelatina, quitosana, caseína, goma arábica, amidos e polímeros, tais como álcoois polivinílicos, polivinilpirrolidonas e polialquilenoglicóis, dentre muitos outros. Preferencialmente, os ditos coloides protetores podem ser diretamente misturados na dispersão, na emulsão ou na mistura de fitoesteróis, um ou mais emulsificantes e no meio aquoso. O uso de um coloide de proteção é particularmente conveniente quando a dispersão ou a aplicação subsequente da dispersão irão suportar períodos de armazenamento muito grandes.

[0052] Os processos de dispersão acima referidos podem ser realizados da mesma forma, caso seja desejado, na presença de um agente aglomerante compreendendo amidos (amido de alto teor de amilose, amido de milho, amido de octenil succinilado, amido acetilado), dextrinas (maltodextrina, ciclodextrinas, isodextrinas), proteínas (glúten de trigo, farinha de trigo, concentrado de farinha de trigo, farelo de soja, concentrado de farelo de soja) e inibidores de crescimento de cristais (ésteres de poliglicerol, polirricinoleatos de poliglicerol). De preferência, o agente anti-aglomerante pode ser diretamente misturado na dispersão, na emulsão ou na mistura de esteróis,

um ou mais emulsificantes e em meio aquoso. O uso de um agente anti-aglomerante é especialmente vantajoso quando o produto final é pó de fitoesterol dispersável.

[0053] Se desejado, também é possível obter uma dispersão aquosa de fitoesterol com um tamanho médio muito menor e com menos dispersão de tamanho em torno do tamanho médio, se em vez de esfriar a emulsão aquosa formada, a dita emulsão for adicionalmente homogeneizada seja em um homogeneizador ou em um moinho coloidal. Se um homogeneizador é usado, a emulsão de fitoesteróis é alimentada em um homogeneizador funcionando a uma pressão de 30 a 3000 bar (3,0 a 300MPa) e em uma temperatura de 140 °C até 250 °C, de preferência de 150°C até 200°C. Se desejado, a mistura pode ser homogeneizada em um homogeneizador de estágio único ou em um homogeneizador de múltiplos estágios, de preferência em um homogeneizador de dois estágios. Se a homogeneização for realizada em dois estágios, a pressão no primeiro estágio pode variar de 100 até 3000 bar (10,0 a 300MPa), enquanto a pressão no segundo estágio pode variar de 25 até 100 bar (2,5 a 10MPa). A emulsão que deixa o homogeneizador produz uma dispersão aquosa altamente estável de fitoesteróis quando resfriada.

[0054] Uma vantagem adicional do processo da presente invenção que diz respeito aos processos do estado da técnica é o uso de homogeneização de alta temperatura sem a presença de partículas sólidas na mistura homogeneizada. Dispersões de fitoesterol são de fato homogeneizadas no estado atual dos processos da técnica. Em altas pressões, tais como aquelas em que os processos de homogeneização ocorrem, a presença de partículas sólidas de fitoesterol

pode exercer um efeito considerável abrasivo nas válvulas do homogeneizador, que não são observados usando o processo da presente invenção.

[0055] Alternativamente, a preparação de dispersões aquosas de fitoesteróis estáveis também pode ser realizada através da alimentação em um homogeneizador de um estágio ou de dois estágios de uma mistura de fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais emulsificantes, em que a mistura é alimentada no homogeneizador em um temperatura variando de 140°C até 250°C, de preferência de 150°C até 200°C. No caso em que a homogeneização é realizada em um homogeneizador de dois estágios, a pressão no primeiro estágio pode variar de 30 até 2000 bar (3,0 a 200MPa) e no segundo estágio de 20 até 100 bar (2,0 a 10MPa). A emulsão descarregada do homogeneizador produz uma dispersão aquosa estável de fitoesteróis quando resfriada.

[0056] Para certas aplicações, o uso de pós de fitoesterol dispersáveis que podem ser facilmente ressuspenso em um meio aquoso para produzir uma dispersão é desejável.

[0057] Para obter tais pós de fitoesterol dispersáveis, a mistura emulsificada ou dispersa obtida por qualquer dos processos anteriormente divulgados, que compreende um meio aquoso, fitoesteróis, um ou mais emulsificantes e, opcionalmente, um ou mais agente antiaglomerantes, pode ser adicionalmente desidratada preferencialmente por atomização da emulsão em um atomizador com um disco giratório ou atomizadores de bico a uma temperatura entre 80°C e 250°C. A operação pode ser realizada tanto em um processo de co-corrente quanto de contracorrente.

O pó de fitoesterol dispersável resultante tem um tamanho médio de partícula maior do que 1 micron, que é relativamente grande em comparação com aqueles obtidos nos processos do estado da técnica. No entanto, apesar de tal tamanho de partícula relativamente grande, o pó de fitoesterol dispersável obtido com os processos divulgados na presente invenção exibiu um efeito de redução do colesterol surpreendentemente alto.

[0058] Portanto, o primeiro objetivo da presente invenção é obtido por meio de um processo compreendendo:

a) dispersar um ou mais fitoesteróis, um meio aquoso e um ou mais emulsificantes em um dispersor, a uma temperatura de pelo menos 140 °C para obter uma emulsão; e

b) resfriar a emulsão para obter uma dispersão aquosa de fitoesteróis.

[0059] Para atingir o segundo objetivo das composições farmacêuticas ou alimentícias da invenção que compreendem uma dispersão de fitoesterol preparada de acordo com os processos divulgados, ou diretamente qualquer uma das dispersões obtidas usando qualquer um dos processos divulgados, são administrados a seres humanos. As dispersões de fitoesterol da presente invenção podem ser adequadamente incorporadas em uma variedade de produtos alimentícios, suplementos alimentares, aditivos alimentícios, nutracêuticos e bebidas, tais como os produtos derivados do leite (queijo, manteiga, leite, sorvete, iogurte e similares), alimentos gordurosos (margarina, maionese, banha, óleos comestíveis e similares), produtos à base de cereais (pão, biscoitos, massas, pastas e similares), doces e produtos de confeitaria (chocolates, caramelos, chicletes

e similares), bebidas alcoólicas e não alcoólicas (incluindo refrigerantes, sucos, suplementos dietéticos e outros), produtos diversos (ovos e produtos derivados do leite, alimento processado, pré-misturas, molhos preparados, sopas em pó e similares), suplementos dietéticos (bebidas, barras de cereais, comprimidos, cápsulas e similares) ou vesículas para uso direto. As dispersões de fitoesterol da presente invenção podem ser adequadamente incorporadas em uma variedade de preparações farmacêuticas e cosméticas, incluindo cápsulas, cápsulas moles, xaropes, soluções, unguentos, cremes ou géis, juntamente com excipientes e/ou diluentes adequados, estabilizadores ou compostos ativos. Estas preparações compreendem de 10 mg até 50 g de fitoesteróis contidos na dispersão para cada 100 g do produto formulado.

[0060] Para inibir a absorção do colesterol da dieta em seres humanos em um grau significativamente maior do que a redução observada quando os mesmos indivíduos são administrados com produtos contendo fitoesteróis preparados de acordo com o estado das técnicas da arte, seres humanos são administradas periodicamente, tipicamente em uma base diária, com uma composição alimentícia ou farmacêutica ou uma dispersão de fitoesterol com uma quantidade total de fitoesteróis variando de 0,1 g até 3,0 g por dia.

[0061] Para atingir o terceiro objetivo da presente invenção, pós de fitoesterol em pó ou composições alimentícias ou farmacêuticas que compreendem pós de fitoesterol obtidas de acordo com os processos divulgados na presente invenção são administrados aos indivíduos humanos. De acordo com a presente invenção, pós de fitoesterol podem

ser adequadamente incorporados em itens alimentícios como bebidas lácteas, refrigerantes, refrigerantes, bebidas alcoólicas, sucos de frutas, iogurte, sorvetes, maionese, margarina, produtos à base de cereais como pão, massas, biscoitos, pastas, sopas em pó, leite em pó, molhos e outros. Formas farmacêuticas adequadas para a incorporação de pós de fitoesterol compreendem xaropes farmacêuticos, cápsulas e pílulas. As composições alimentícias ou farmacêuticas compreendem de 10 mg até 50 g de pó de fitoesterol por 100 g do produto formulado.

[0062] Na presente invenção, para inibir a absorção de colesterol da dieta em indivíduos humanos em um grau significativamente maior do que a redução observada quando os mesmos indivíduos são administrados com pós de fitoesterol preparados de acordo com as técnicas do estado da técnica, os seres humanos são administrados periodicamente, tipicamente em uma base diária, com um alimento ou produto que compreende uma quantidade de fitoesteróis de 0,1 g até 3,0 g por dia.

Exemplos.

[0063] Nos exemplos a seguir, salvo indicação em contrário, fitoesteróis de óleo de resina da polpa de madeira correspondendo à composição mostrada na Tabela 3 foram utilizados. Todos os exemplos, a água mole e os emulsificantes de grau alimentício foram utilizados.

Tabela 3. Composição de fitoesterol de óleo de resina da polpa de madeira.

Fitoesterol	% em peso
Campesterol	7,0
Campestanol	1,4

Estigmasterol	0,8
Sitoesterol	75,3
Sitoestanol	12,0
Outros fitoesteróis	3,3

[0064] A fim de comparar a estabilidade das dispersões de fitoesterol preparadas de acordo com os processos divulgados na presente invenção com aquelas dispersões de fitoesteróis preparadas de acordo com os processos do estado da técnica na mesma base, dispersões de fitoesterol foram preparadas conforme divulgado no ensaio No. 5 do Exemplo 1 do pedido de patente americana 20040029844 e no Exemplo 1 do pedido de patente americana 20070031570, e suas estabilidades foram medidas usando o método de centrifugação e a Equação 1 descritos acima.

Exemplo 1.

[0065] A estabilidade de uma dispersão de fitoesterol preparada de acordo com o ensaio No. 5 do Exemplo 1 do Pedido de Patente Americana 20040029844.

[0066] 250 g de fitoesteróis, 25 g de éster de sacarose estearílico (Sisterna SP50) e 17,5 g de lauriléster sorbitano (Span 20) foram fundidos a 135 °C. A mistura fundida foi adicionada a 5000 g de água mantida a 80 °C. A mistura foi agitada a 7000 rpm por 15 minutos. 100 g da dispersão formada foi removida e deixada esfriar até a temperatura ambiente (Amostra 1.1). Além disso, 500 g da dispersão formada foram alimentados a um homogeneizador (APV-Gaulin, modelo MR-15) e homogeneizados em um estágio a 480 bar (48,0MPa). A mistura homogeneizada foi posteriormente deixada esfriar até a temperatura ambiente (Exemplo 1.2).

[0067] A estabilidade de ambas as amostras foi determinada de acordo com a Equação 1. A mistura não homogeneizada (amostra 1.1) resultou em uma estabilidade de 28,2%. A mistura homogeneizada (amostra 1.2) resultou em uma estabilidade de 41,5%.

[0068] Ambas as amostras continham cerca de 4,7% de fitoesteróis em peso de dispersão e tinham uma razão de emulsificante/fitoesterol de cerca de 17,0%. Ambas as misturas emulsificantes tinham um valor de HLB de cerca de 10.

Exemplo 2.

[0069] A estabilidade de uma dispersão de fitoesterol preparada de acordo com o Exemplo 1 do pedido de patente americana 20070031570.

[0070] 500 g de água foram aquecidos em um recipiente até 49°C. A seguir, 33,3g de lecitina de soja foram adicionados e agitados durante 20 minutos. A seguir, 16,7 g de fitoesteróis e 50 g de maltodextrina foram adicionados ao recipiente e a mistura resultante foi adicionalmente agitada por mais 20 minutos. Subsequentemente, a mistura foi aquecida até 74 °C e colocada em um reator Parr de laboratório de 1 L de alta pressão. A mistura foi aquecida até 152 °C por 1,5 minuto por meio da adição de vapor vivo através de uma válvula localizada na cabeça do reator. Em seguida, o reator foi rapidamente resfriado até uma temperatura da mistura de 79 °C. Ao abrir o reator, 200 g da dispersão foram tomados e deixados esfriar até a temperatura ambiente (Amostra 2.1). Além disso, 300 g da dispersão a 79 °C foram alimentados a um homogeneizador (APV-Gaulin, modelo MR-15) e homogeneizados em dois estágios, a 240 e 35 bar (24,0 a

3,5MPa), respectivamente, e depois foram deixados esfriar até a temperatura ambiente (Amostra 2.2).

[0071] A estabilidade de ambas as amostras foi determinada de acordo com a Equação 1. A mistura não homogeneizada (amostra 2.1) resultou em uma estabilidade de 17,4%. A mistura homogeneizada (amostra 2.2) resultou em uma estabilidade de 31,5%.

[0072] Ambas as amostras continham em média cerca de 3,3% de fitoesteróis em peso de dispersão e tinham uma razão de emulsificante/fitoesterol de cerca de 199,0%. O valor HLB para a lecitina de soja é de cerca de 3,8.

Exemplo 3.

[0073] Estabilidade das dispersões de fitoesterol preparadas pelo processo da presente invenção usando os emulsificantes dos Exemplos 1 e 2.

Ensaio 3.1

[0074] Um reator Parr de 1 litro (Parr Instrument Company, Moline, IL EUA) equipado com um agitador de turbina, nitrogênio e linhas de vácuo e aquecimento elétrico controlado foi carregado com água mole, fitoesteróis e um ou mais emulsificantes de acordo com a Tabela 4. O reator fechado foi evacuado durante 2 minutos com agitação a 30 rpm. A seguir, a velocidade de agitação foi aumentada até 700 rpm e o conteúdo do reator foi aquecido até 160 °C durante 10 minutos. Em seguida, o reator foi deixado esfriar até 25 °C e a pressão interna foi igualada à pressão atmosférica com nitrogênio. Uma amostra foi retirada da dispersão e sua porcentagem de estabilidade foi determinada.

Tabela 4

Ensaio	Fitoesteróis	Sisterna	Água	Estabilidade
--------	--------------	----------	------	--------------

	(g)	SP50 (éster de sacarose estearílico)	(g)	(%)
3,1	25,0	2,5	500	85

Ensaio 3.2

[0075] O ensaio anterior foi repetido nas condições de operação do ensaio 3.1, mas variando a quantidade de fitoesteróis e a quantidade e tipo de emulsificante, como mostrado na Tabela 5.

Tabela 5

Ensaio	Fitoesteróis (g)	Lecitina de soja (g)	Água (g)	Estabilidade (%)
3,2	16,7	33,3	500	89

[0076] Duas emulsões de fitoesterol adicionais foram subsequentemente preparadas de acordo com as condições anteriores e foram homogeneizadas a 160 °C. Após o resfriamento das emulsões homogeneizadas até a temperatura ambiente, as suas estabilidades foram maiores do que 99%.

[0077] A partir dos resultados do Exemplo 3, pode-se observar que o processo da invenção, ao contrário dos processos do estado da técnica, permitem a preparação de dispersões de fitoesterol altamente estáveis sem uma etapa de homogeneização, ambas com um emulsificante de baixo valor de HLB (HLB da lecitina de soja é 3,8) e um emulsificante com alto valor de HLB (éster de sacarose estearílico, HLB 11).

Exemplo 4.

[0078] Dispersões de fitoesterol preparadas com sais de sódio de ácidos graxos de girassol (SSSFA).

Ensaio 4.1

[0079] Um reator Parr de 1 litro (Parr Instrument Company, Moline, IL. EUA) equipado com um agitador de turbina, linhas de nitrogênio e de vácuo e aquecimento elétrico controlado foi carregado com 500 g de água mole, 5 g de fitoesteróis e 0,05 g de SSSFA. O reator fechado foi evacuado durante 2 minutos com agitação a 30 rpm. A seguir, a velocidade de agitação foi aumentada para 700 rpm e o conteúdo do reator foi aquecido até 160 °C durante 10 minutos. A seguir, o reator foi deixado esfriar até 25 °C e a pressão interna foi igualada à pressão atmosférica com nitrogênio. Uma amostra foi retirada da dispersão e sua estabilidade foi avaliada como sendo superior a 99 %, como mostra a Tabela 6. O ensaio foi repetido mais seis vezes (ensaios 4.2 até 4.7), nas mesmas condições de operação, mas usando diferentes quantidades de fitoesteróis e SSSFA a cada vez, e a estabilidade das dispersões resultantes foi determinada conforme mostrado na Tabela 6. Em todos os casos, a estabilidade das dispersões resultantes foi superior a 99%.

Tabela 6

Ensaio	Fitoesteróis (g)	SSSFA (g)	Água (g)	Estabilidade (%)
4.1	5	0,05	500	> 99
4.2	10	0,1	500	> 99
4.3	50	0,5	500	> 99
4.4	100	1,0	500	> 99
4.5	150	1,5	500	> 99
4.6	200	2,0	500	> 99
4.7	250	2,5	500	> 99

[0080] Como pode ser avaliado a partir dos valores estabelecidos na Tabela 6, as dispersões tinham mais de 99% de estabilidade com apenas 1% do emulsificante SSSFA em relação ao fitoesteróis.

[0081] Quando o teor total de fitoesterol geral das dispersões foi maior do que 5%, as dispersões resultantes tinham uma maior viscosidade, tornando-as mais adequadas para formulações de alimentos como produtos derivados do leite, margarinas, maioneses e outros, conferindo boa estabilidade e palatabilidade superior a tais produtos.

Exemplo 5.

[0082] Dispersões de fitoesterol preparadas com sais de sódio de ácidos graxos de óleo de coco.

[0083] O ensaio 4.3 do Exemplo 4 foi replicado usando 7,5 g de sais de sódio de ácidos graxos de óleo de coco como emulsificante em vez de 0,5 g de sais de sódio de ácidos graxos de óleo de girassol. A dispersão resultante foi um gel semitransparente tendo uma estabilidade de 100%. A dispersão foi prontamente incorporada nos itens alimentícios.

Exemplo 6.

Estabilidade das dispersões homogeneizadas

Ensaio 6.1

[0084] Um reator de aço inoxidável de 300 litros 316 equipado com um agitador de turbina e chicanas internas, nitrogênio e linha de vácuo, uma camisa de aquecimento aquecida com óleo térmico e uma camisa de resfriamento foi carregado com 150 Kg de água mole, 1,5 Kg de fitoesteróis e 150 g de Span 20. O reator fechado foi evacuado até 50 mbar (5kPa) a uma velocidade de agitação de 15 rpm e, depois,

equalizado com nitrogênio. Em seguida, a velocidade de agitação foi aumentada até 330 rpm e o conteúdo do reator foi aquecido até 160 °C por 20 minutos.

[0085] A emulsão obtida a 160 °C foi alimentada a um homogeneizador APV-Gaulin MR-15 aquecido e foi homogeneizada em dois estágios, a 300 e 50 bar (30,0 a 5,0MPa), respectivamente. Uma amostra da emulsão homogeneizada foi retirada e deixada esfriar até a temperatura ambiente. A estabilidade da dispersão resultante foi de 90%, como mostra a Tabela 7. O ensaio descrito foi repetido nas mesmas condições de operação para várias outras combinações do tipo de emulsificante e razões de fitoesteróis/emulsificante, como mostrado na Tabela 7.

Tabela 7

Ensaio	Água (Kg)	Fitoesteróis (Kg)	Emulsificante (g)	Tipo de emulsificante	HLB do emulsificante	Estabilidade da dispersão (%)
6.1	150	1.5	150	Span 20	8.6	90
6.2	150	1.5	150	Monoglicéridos	3-4	94
6.4	150	1.5	150	Estearoil lactilato de sódio	8.3	94
6.5	150	1.5	150	Éster de sacarose	16	> 99
6.8	150	3.0	30	Oleato de sódio	20	> 99

6.9	15 0	1.5	30	Oleato de sódio	20	> 99
6.1 0	15 0	1.5	150	Monoglice rídeos	3-4	> 99
6.1 1	15 0	1.5	15	Éster de sacarose	16	91
6.1 2	15 0	1.5	55	Éster de sacarose	16	96
6.1 3	15 0	1.5	15	Estearoil lactilado de sódio	8.3	90
6.1 4	15 0	1.5	15	Monoglice rídeos		88
6.1 5	15 0	1.5	600	Tween 20	15	89
6.1 6	15 0	1.5	600	Oleato de sódio	20	> 99
6.1 7	15 0	1.5	300	Laurato de sódio	20.4	> 99
6.1 8	15 0	3.0	300	Oleato de sódio	20	> 99
6.1 9	15 0	15	300	Oleato de sódio	20	> 99
6.2 0	15 0	50	2000	Oleato de sódio	20	> 99
6.2 1	15 0	30	1500	Oleato de sódio	20	> 99

[0086] Como pode ser observado a partir dos valores da Tabela 7, os processos aqui divulgados permitem a preparação de dispersões de fitosterol aquosas altamente

estáveis usando uma grande variedade de emulsificantes variando desde emulsificantes de baixo HLB (monoglicéridos) até emulsificantes de alto HLB (oleato de sódio), uma ampla gama de concentrações de fitoesterol e uma ampla faixa de razões de fitoesterol/emulsificante.

Exemplo 7.

Estabilidade de dispersões com uma mistura de emulsificantes

[0087] Uma série de dispersões de fitoesterol foram preparadas como descrito no Exemplo 4 usando uma mistura de estearato de potássio e Tween 80 com diferentes proporções relativas, como mostrado na Tabela 8, juntamente com a estabilidade respectiva da dispersão resultante.

Tabela 8

Ensaio	Fitoesteróis (g)	Estearato de potássio / Tween 80 (g/g)	Água (g)	Estabilidade (%)
7.1	5	0,25 / 0,25	500	87
7.2	10	0,5 / 0,5	500	89
7.3	50	0,5 / 2,5	500	92
7.4	100	1,0 / 5,0	500	91
7.5	150	3,0 / 15,0	500	91
7.6	200	4,0 / 15,0	500	95

[0088] Conforme é observado na Tabela 8, misturas emulsificantes também podem ser formuladas para obter dispersões altamente estáveis. No caso de substituição de Tween 80 com polissorbatos, dispersões altamente estáveis foram obtidas novamente. Essas dispersões são facilmente incorporadas em matrizes alimentares, tais como bebidas, produtos derivados do leite, margarinas, maioneses e outros.

Exemplo 8.

[0089] Dispersões de fitoesterol de soja preparadas com sais de sódio de ácidos graxos de girassol (SSSFA).

Exemplo 4 foi replicado usando fitoesteróis da soja com a composição mostrada na Tabela 9.

Tabela 9: Composição dos fitoesteróis da soja.

Fitoesterol	% em peso
Campesterol	25,6
Campestanol	0,9
Estigmasterol	16,3
Sitoesterol	49,0
Sitoestanol	1,4
Outros fitoesteróis	6,5

[0090] A estabilidade das dispersões resultantes foi maior do que 99%, como no caso de dispersões de fitoesterol de resina de polpa de madeira preparadas da mesma maneira.

Exemplo 9.

[0091] Dispersões de fitoestanol (fitoesterol hidrogenado) preparadas com sais de sódio de ácidos graxos de girassol (SSSFA).

[0092] Uma dispersão de fitoestanóis com a composição indicada na Tabela 10 foi preparada de acordo com as condições do Exemplo 4, mas com o reator Parr funcionando a 173 °C ao invés de 160 °C.

Tabela 10: Composição de fitoestanol no Exemplo 9

Fitoestanol	% em peso
Campesterol	0,1
Campestanol	31,4
Estigmasterol	0,0
Sitoesterol	0,3

Sitoestanol	64,9
Outros fitoesteróis	1,2

[0093] Os resultados de estabilidade, neste caso, foram semelhantes àqueles obtidos com fitoesteróis de resina de polpa de madeira, ou seja, uma estabilidade maior do que 99%.

Exemplo 10.

[0094] Estabilidade de dispersões de fitoesterol preparadas com leite desnatado em um processo contínuo.

[0095] O ajuste experimental para esse experimento consistiu em uma primeira placa trocadora de calor (HE 1) para aquecer a alimentação aquosa para um primeiro reator Parr de 1 litro (P1) provido com um agitador de turbina, uma segunda placa trocadora de calor (HE 2) provida com uma válvula de descarga e operado a 5 °C para resfriar a dispersão de fitoesterol de P1 e um segundo reator Parr (P2) aquecida com uma fita elétrica e conectado ao P1 através de uma bomba de engrenagem, que contém fitoesteróis líquido a 160 °C sob atmosfera de nitrogênio. HE 1 foi aquecido com óleo térmico a 170 °C e foi conectado a um tanque de alimentação através de uma bomba de engrenagens. O sistema HE 1-P1-HE 2 foi primeiro operado com água mole, e um estado constante de 20 segundos de tempo de residência foi atingido, ajustando o fluxo quando a temperatura em P1 foi de 160 °C. A seguir a alimentação foi substituída pelo leite desnatado contendo sais de sódio de ácidos graxos de girassol em uma concentração de 50 mg/litro.

[0096] Depois de alguns minutos, P1 foi alimentado a partir de P2 com fitoesteróis líquidos a 160 °C a uma taxa de 20g/minute e, depois de atingir um novo estado de

equilíbrio, as amostras da dispersão de fitoesterol no leite desnatado foram tomadas na saída do HE 2.

[0097] Não foi observada separação de fases e as amostras tinham um flavor neutro e boa palatabilidade. As amostras tinham uma estabilidade de 99%.

Exemplo 11.

[0098] Estabilidade das dispersões de fitoesterol preparadas com leite de soja em um processo contínuo.

[0099] O exemplo 10 foi replicado usando leite de soja em vez de leite desnatado. Uma dispersão de fitoesterol no leite de soja foi obtida. Nenhuma separação de fases foi observada, as amostras tinham um flavor neutro e a presença de fitoesteróis não foi palatável. A porcentagem de estabilidade das amostras foi de 99%.

Exemplo 12.

[0100] Estabilidade de uma dispersão de fitoesterol altamente concentrada preparada com leite desnatado em um processo contínuo.

[0101] A configuração experimental do Exemplo 10 foi modificada para realizar o Exemplo 12 da seguinte forma: um terceiro trocador de calor (HE 3) foi inserido entre P1 e HE 2. Um terceiro reator Parr (P3) contendo leite desnatado foi ligado a HE 3 através de uma bomba de engrenagens. Neste exemplo, a temperatura dos fitoesteróis derretidos em P2 (sob atmosfera de nitrogênio como no Exemplo 10) foi de 165°C.

[0102] O sistema HE 1-P1-HE 3-HE 2 foi primeiramente operado com uma solução de oleato de sódio a 0,65% em água mole a uma taxa de 100 mL/min entrando em P1 através de HE 1 a 165°C e deixando HE 2 a 15°C. Depois de algum tempo, os

fitoesteróis fundidos a partir de P2 começaram a ser alimentados em P1 a uma taxa de 35 mL/min, e uma dispersão de fitoesterol viscosa a 63 °C foi descarregada através de HE 2. Sob estas condições, leite desnatado de P3 foi alimentado para HE 3 a uma taxa de 7 L/min e todo o sistema foi operado para atingir um estado estacionário. As amostras foram tomadas depois. Não foi observada separação de fases e as amostras tinham um flavo neutro e boa palatabilidade. As amostras tiveram uma estabilidade de 99%.

Exemplo 13.

Preparação de um pó de fitoesterol dispersável

[0103] 100 Kg de dispersão de fitoesterol do ensaio 6.1 do Exemplo 6 foram colocados em um misturador de 500 litros equipado com um agitador de pá central. 250 g de maltodextrina foram adicionados com agitação. A mistura resultante foi então alimentada através de uma bomba Moyno a uma taxa de 1,5 L/min a um atomizador Niro fornecido com um disco atomizador rotativo a 12.000 rpm. As temperaturas de entrada e saída foram 210 °C e 105 °C, respectivamente. 745 g de fitoesteróis em pó foram recolhidos. O pó foi prontamente ressuspensado em água sem a necessidade de agitação ou homogeneização vigorosa.

Exemplo 14.

Preparação de pós de fitoesterol dispersáveis

[0104] O procedimento do Exemplo 13 foi repetido com as dispersões de fitoesterol dos ensaios 6.2, 6.5, 6.8, 6.10, 6.19, 6.20 e 6.21 do Exemplo 6. Os pós de fitoesteróis obtidos em cada ensaio foram prontamente ressuspensos em água, leite, leite de soja, infusões de ervas e café para beber sob agitação branda.

Exemplo 15.

Dispersão de fitoesterol instável

[0105] O procedimento do Exemplo 13 foi repetido utilizando 100 litros de uma dispersão de fitoesterol preparada de acordo com o procedimento do Exemplo 2. O pó de fitoesterol resultante decantou rapidamente após a ressuspensão em água.

Exemplo 16.

[0106] Avaliação do efeito do consumo de dispersões de fitoesterol e pós de fitoesterol dispersáveis na absorção *in vivo* de colesterol da dieta.

[0107] Vinte e seis camundongos C57/BL6 de 21 dias de idade foram livremente alimentados com uma dieta à base de pouco colesterol comercial (<0,02% de colesterol; Prolab RMH3000; PMI Feeds, St. Louis, MO) e foram divididos em cinco grupos. Cada um destes cinco grupos foi alimentado com acesso *ad libitum* a um ingrediente adicional em suas dietas, juntamente com a dieta basal, que para cada grupo foi a seguinte:

Grupo controle (n = 5): solução aquosa 0,01% de oleato de sódio

Grupo 1 (n = 5): suspensão de fitoesterol do ensaio 6.8 do Exemplo 6

Grupo 2 (n = 6): suspensão de fitoesterol 1% em peso aquosa preparada usando fitoesteróis dispersáveis preparados de acordo com o Exemplo 14 do ensaio correspondente 6.8

Grupo 3 (n = 5): emulsão aquosa 2% em peso de ésteres de fitoestanol

Grupo 4 (n = 5): 1% em peso de suspensão de fitoesterol preparada a partir dos pós de fitoesterol dispersáveis

preparados no Exemplo 15.

[0108] A dose diária estimada de consumo por camundongos foi de 100 mg de fitoesteróis ou fitoestanóis.

[0109] Para a determinação da absorção do colesterol, o método de razão isotópica dupla nas fezes foi utilizado conforme descrito por Schwarz et al. (*Schwarz M, Russell DW, Dietschy JM, Turley SD. (1998) Marked reduction in bile acid synthesis in cholesterol 7 α -hydroxylase-deficient mice does not lead to diminished tissue cholesterol turnover or to hypercholesterolemia J. Lipid Res. 39: 1833-1843*), que consiste na medida indireta da diferença entre a radioatividade de uma dose única de colesterol radiomarcado administrado por gavagens e aquela encontrada nas fezes coletadas 24 h da administração de colesterol radiomarcado. O método inclui a administração conjunta de um padrão de sitoestanol interno radiomarcado não absorvível juntamente com o colesterol radioativo para a calibração das medições.

[0110] Após 40 dias de alimentação de cada grupo com as dietas acima mencionadas, os animais receberam uma dose única contendo 1 uCi de [4-¹⁴C]-colesterol juntamente com 2 uCi de [5,6-³H] de sitoestanol. As fezes correspondentes a um período de 24 horas foram coletadas. Os Lipídeos totais foram extraídos da dose da mistura oral e das fezes, e a diferença na proporção de ¹⁴C/³H foi calculada. Os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11

Grupo	Absorção de colesterol (%)	Redução da absorção de colesterol (%)
Controle (n=5)	72 ± 4	
Grupo 1 (n=5)	38 ± 4 ^{a,b}	47

Grupo 2 (n=6)	44 ± 3 ^{a,b}	38
Grupo 3 (n=5)	55 ± 3 ^a	24
Grupo 4 (n=5)	62 ± 5	14

^ap < 0,05, teste U não paramétrico de Mann-Whitney em relação ao grupo controle

^bp < 0,05, 0,05, teste U não paramétrico de Mann-Whitney em relação ao grupo 3

[0111] Os resultados mostram que a absorção do colesterol média é de 72%. Os animais do Grupo 4, que foram alimentados com a suspensão de fitoesterol preparada a partir dos pós de fitoesterol dispersáveis do Exemplo 15 experimentaram a menor redução na absorção do colesterol, apenas 14% de redução em relação ao grupo controle. Estes foram seguidos pelos animais do Grupo 3, cuja dieta incluía dispersões aquosas de ésteres de fitoestanol, que foram cientificamente bem reconhecidos pelas suas ações. Grupo 1 mostrou a maior capacidade de redução de absorção do colesterol, cerca de 47% em relação ao grupo controle, assim evidenciando que as dispersões preparadas de acordo com os métodos da presente invenção são altamente eficientes para reduzir a absorção de colesterol. Da mesma forma, os pós dispersáveis de fitoesterol preparados de acordo com os processos da presente invenção (Grupo 2) são significativamente melhores para reduzir a absorção de colesterol do que os pós dispersáveis de ésteres de fitoestanol e fitoesteróis preparados de acordo com outros processos divulgados no estado da técnica.

Exemplo 17.

Molho para salada

[0112] Um molho para salada contendo fitoesteróis dispersáveis livres foi preparado com a fórmula mostrada na

Tabela 12:

Tabela 12

Ingrediente	% em peso
Óleo de canola	14,0
Vinagre	5,8
Dispersão do ensaio 4.3 do Exemplo 4	70,2
Sal	1,5
Açúcar	3,7
Temperos e agentes flavorizantes	3,5
Carboximetilcelulose	1,2

[0113] A dispersão de fitoesterol, sal, açúcar, temperos e agentes flavorizantes foi misturada em um recipiente agitado, em seguida, os outros ingredientes foram adicionados lentamente com agitação constante e a mistura foi homogeneizada. Finalmente, os temperos e os agentes flavorizantes foram adicionados com agitação. O molho para salada preparado de acordo com este procedimento tinha consistência e características de sabor desejáveis.

Exemplo 18

Preparação de uma bebida derivada do leite

[0114] A bebida derivada do leite contendo fitoesteróis dispersos foi preparada de acordo com a fórmula apresentada na Tabela 13:

Tabela 13

Ingrediente	% em peso
Leite em pó	15
Dispersão do ensaio 6.5 do Exemplo 6	85

[0115] A dispersão de fitoesteróis foi aquecida a 40 °C e, em seguida, misturada com o leite em pó em um recipiente com agitação. A mistura resultante foi pasteurizada a 84 °C e rapidamente resfriada até 5 °C.

Exemplo 19.

Preparação de uma margarina

[0116] Uma margarina contendo fitoesteróis dispersos foi preparada de acordo com a fórmula apresentada na Tabela 14:

Tabela 14

Ingrediente	% em peso
Óleo vegetal	43
Dispersão do ensaio 4.4 do Exemplo 4	50
Gordura	2
Manteiga	3
Sal	1,4
Mono e diglicerídeos	0,4
Flavorizante	0,07
Lecitina	0,08
Sorbato de potássio	0,05

[0117] A dispersão de fitoesteróis foi aquecida a 80°C e misturada com o sal, mono e diglicerídeos, flavorizantes solúveis em água e sorbato de potássio com agitação constante. A mistura homogênea resultante foi pasteurizada a 60°C. O óleo vegetal foi aquecido até 80°C, misturado com a gordura, manteiga, flavorizantes solúveis em óleo e lecitina para formar uma mistura homogênea. A seguir, a mistura aquosa foi adicionada com agitação a 70 °C para formar uma emulsão. A emulsão foi subseqüentemente resfriada

e embalada.

Exemplo 20.

Preparação de um iogurte

[0118] Um iogurte contendo fitoesteróis dispersos foi preparado de acordo com a fórmula apresentada na Tabela 15:

Tabela 15

Ingrediente	% em peso
Dispersão do ensaio 6.10 do Exemplo 6	17
Leite em pó	17
Açúcar	6
Estabilizantes	2

[0119] A dispersão de fitoesteróis foi aquecida a 40 °C e misturada com o leite em pó. A mistura foi pasteurizada e, em seguida, o açúcar foi incorporado à mistura pasteurizada. Culturas de iogurte lácticas foram adicionadas à mistura, que foi subsequentemente incubada a 37°C até atingir pH 4,2. Uma mistura de estabilizantes foi então adicionada e o iogurte resultando foi embalado.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para produzir uma dispersão aquosa de um ou mais fitoesteróis, **CARACTERIZADO** por compreender as etapas de:

a) adicionar cada um dos seguintes componentes a um dispensador aquecido em uma única etapa: um ou mais fitoesteróis, 5 mg a menos que 10 mg de um ou mais sal de sódio ou potássio de um ácido orgânico por grama de fitoesteróis, o ácido orgânico tendo de 10 a 24 átomos de carbono, e água; e então, dispersar a mistura a uma temperatura na faixa de 150°C a 200°C para produzir uma emulsão aquosa de fitosterol ou fitoesteróis, e

b) resfriar a emulsão para produzir uma dispersão aquosa de fitosterol ou fitoesteróis, desde que o sal de sódio ou potássio de um ácido orgânico tendo de 10 a 24 átomos de carbono seja diferente do sódio estearoil lactilato.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o dispersador é um recipiente com agitação.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido orgânico é ácido graxo.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que na etapa a) 0,05g de uma mistura de sais de sódio de ácidos graxos de girassol e 5 g de fitoesteróis são dispersos em água em 160°C.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido orgânico é ácido graxo.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que na etapa a) 0,05g de uma mistura de sais de sódio de ácidos graxos de girassol e 5 g de fitoesteróis são dispersos em água em 160°C.

7. Processo para produzir uma dispersão aquosa de um ou mais fitoesteróis, **CARACTERIZADO** por compreender as etapas de:

a) adicionar cada um dos seguintes componentes a um dispensador aquecido em uma única etapa: um ou mais fitoesteróis, 5 mg a menos que 10 mg de um ou mais sal de sódio ou potássio de um ácido orgânico por grama de fitoesteróis, o ácido orgânico tendo de 10 a 24 átomos de carbono, e água; e então, dispersar a mistura a uma temperatura na faixa de 150°C a 200°C para produzir uma emulsão aquosa de fitosterol ou fitoesteróis; e

b) homogeneizar a emulsão em um homogeneizador pressurizado; e

c) resfriar a emulsão homogeneizada para produzir uma dispersão aquosa de fitosterol ou fitoesteróis, desde que o sal de sódio ou potássio de um ácido orgânico tendo de 10 a 24 átomos de carbono seja diferente do sódio estearoil lactilato.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido orgânico é o ácido graxo.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ácido graxo é ácido oleico.