



공개특허 10-2022-0059969



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0059969  
(43) 공개일자 2022년05월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A23D 9/007* (2006.01) *A23D 9/06* (2006.01)  
*A23L 27/00* (2016.01) *A23L 3/3472* (2006.01)  
*A23L 3/3544* (2006.01) *A23L 33/115* (2016.01)  
*C11B 5/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A23D 9/007* (2013.01)  
*A23D 9/06* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7014333(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2012년11월01일  
심사청구일자 2022년04월27일
- (62) 원출원 특허 10-2020-7027878  
원출원일자(국제) 2012년11월01일  
심사청구일자 2020년09월25일
- (85) 번역문제출일자 2022년04월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/000534
- (87) 국제공개번호 WO 2013/066373  
국제공개일자 2013년05월10일
- (30) 우선권주장  
61/554,291 2011년11월01일 미국(US)
- (71) 출원인  
디에스엠 아이피 어셋츠 비.브이.  
네털란드 엔엘-6411 티이 헤르렌 헤트 오버룬 1
- (72) 발명자  
크로포드 크리스틴 쿨라  
미국 메릴랜드주 21042 엘리콧 시티 둈스 드라이  
브 3116  
수준 팽  
미국 메릴랜드주 21042 엘리콧 시티 로우렌 코트  
3506  
스테판스키 마이클 렌  
미국 켄터키주 40391 원체스터 플라나간 스테이션  
로드 1875
- (74) 대리인  
제일특허법인(유)

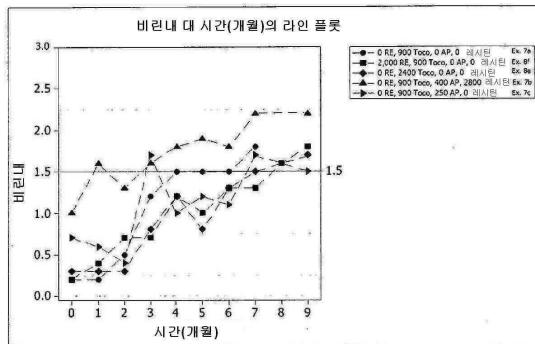
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 산화적으로 안정한 다중불포화된 지방산 함유 오일

### (57) 요 약

본 발명은 (i) 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산; (ii) 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및 (iii) 약 1000 ppm 미만의 레시틴을 포함하는 오일에 관한 것이다. 상기 오일은 약 750 ppm 미만의, 아스코르브산 유도체로부터 선택된 제 2 산화방지제를 포함할 수도 있다.

### 대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A23L 27/82* (2016.08)

*A23L 3/3472* (2013.01)

*A23L 3/3544* (2013.01)

*A23L 33/115* (2016.08)

*C11B 5/0007* (2013.01)

*C11B 5/0085* (2013.01)

*C11B 5/0092* (2013.01)

*A23V 2002/00* (2013.01)

*A23V 2200/02* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

- (i) 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산;
- (ii) 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및
- (iii) 750 ppm 미만의, 아스코르브산 유도체로부터 선택된 제 2 산화방지제

를 포함하는 오일로서,

상기 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산은 도코사헥사엔산(DHA), 에이코사펜타엔산(EPA), 아라키돈산(ARA), 오메가-3 도코사펜타엔산(DPA n-3), 오메가-6 도코사펜타엔산(DPA n-6) 및 이들의 혼합물 중에서 선택되고,

상기 하나 이상의 제 1 산화 방지제는 토코페롤이고, 상기 오일이 900 ppm 내지 3400 ppm의 양으로 토코페롤을 포함하고,

레시틴이 없고 30 ppb 미만의 철을 포함하는, 오일.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001]

본 발명은 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함하는 오일에 관한 것이다.

[0003]

관련 출원에 대한 상호참조

[0004]

본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에서, 2011년 11월 1일자로 출원된 미국 가 출원 제 61/554,291 호를 우선권 주장한다.

### 배경 기술

[0005]

다중불포화된 지방산(PUFA)을 함유하는 오일은 보관 중 산화되어 산패될 수 있다. 그 결과 오일뿐만 아니라 상기와 같은 오일이 포함된 제품 중에 불쾌한 맛과 냄새가 생성된다. 4 개 이상의 C-C 이중 결합을 갖는 PUFA는 보다 적은 이중 결합을 갖는 PUFA보다 산화적으로 덜 안정할 수 있다. 더욱이, 철과 같은 금속의 존재는 PUFA 함유 오일이 산화되는 속도를 증가시킬 수 있다.

[0006]

당해 분야의 숙련가들은 아스코르브산 유도체, 예를 들어 아스코르빌 팔미테이트를 레시틴과 함께 혼입시킴을 포함하는 다양한 수단을 사용함으로써 PUFA 함유 오일의 산화를 감소시키고자 하였다. 그러나, 보다 산화적으로 안정한 PUFA 함유 오일이 여전히 필요하다.

### 발명의 내용

[0007]

본 발명에 이르러 아스코르브산 유도체, 예를 들어 아스코르빌 팔미테이트와 레시틴의 병용이 4 개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 PUFA 30%를 포함하는 오일의 산화를 증가시킴을 발견하였다. 따라서, 본 발명의 하기의 비제한적인 실시태양들을 본원에 제공한다. 본원에 개시된 실시태양들을 적합하게 결합하거나 세분하여, 추가적인 실시태양들을 포함하거나 이를 실시태양으로 이루어지거나 이를 실시태양으로 본질적으로 이루어지기에 적합한 하위조합들을 제공할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0008]

도 1은 실시예 7a, 7b, 7c, 8e 및 8f에 따른 오일의 시간에 대한 비린내(fishy aroma) 관능가(sensory value)를 나타내는 그래프이다.

도 2는 실시예 7a, 7d, 7e 및 8b에 따른 오일의 시간에 대한 비린내 관능가를 나타내는 그래프이다.

도 3은 실시예 7a, 7f, 7g 및 8c에 따른 오일의 시간에 대한 비린내 관능가를 나타내는 그래프이다.

도 4는 실시예 7a, 7h, 7i 및 7j에 따른 오일의 시간에 대한 비린내 관능가를 나타내는 그래프이다.

도 5는 실시예 7a, 7c, 7k 및 8a에 따른 오일의 시간에 대한 비린내 관능가를 나타내는 그래프이다.

도 6은 레시틴이 실질적으로 없는 오일(실시예 7a, 7c, 7h, 8a 내지 8c, 및 8f) 대 혼합된 토코페롤, 아스코르빌 팔미테이트, 및 레시틴을 함유하는 오일(실시예 7b) 중에 함유된 철의 농도(ppb)를 나타내는 그래프이다.

도 7은 실시예 7a, 8d 및 7m에 따른 오일의 시간에 대한 비린내 관능가를 나타내는 그래프이다.

### **발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0009] 본 발명은 (i) 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산; (ii) 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및 (iii) 약 1000 ppm 미만의 레시틴을 포함하는 오일을 개시한다.
- [0010] 본 발명은 (i) 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산; (ii) 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및 (iii) 약 750 ppm 미만의, 아스코르브산 유도체로부터 선택된 제 2 산화방지제를 포함하는 오일을 개시한다.
- [0011] 본 발명은 (i) 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산; (ii) 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및 (iii) 약 30 ppb 미만의 철을 포함하는 오일을 개시한다. 선택적으로 상기 오일은 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함한다.
- [0012] 본 발명은 (i) 약 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산; (ii) 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및 (iii) 산화 안정성을 개선시키기 위한 수단을 포함하는 오일을 개시하며, 여기에서 상기 오일은 1.5 미만의 비린내를 갖는다.
- [0013] 본 발명에 사용된 바와 같이, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산의 중량%는 상기 오일 중의 전체 지방산들을 합한 중량에 관하여 표현된다.
- [0014] 본 발명에 사용된 바와 같이, 하나 이상의 다중불포화된 지방산의 중량%는 상기 오일 중에 존재하는 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 모든 다중불포화된 지방산들의 합의 중량 백분율을 지칭한다.
- [0015] 본 발명에 사용된 바와 같이, 특정 지방산 또는 특정 지방산들의 임의의 조합의 중량%는 상기 오일 중의 전체 지방산들을 합한 중량에 관하여 표현된다.
- [0016] "본질적으로 없는"이란 용어는 레시틴을 기술하는데 사용될 때 약 150 ppm, 약 15 ppm, 약 10 ppm, 약 5 ppm, 약 1 ppm, 및 약 0 ppm 이하를 의미한다.
- [0017] "본질적으로 없는"이란 용어는 아스코르브산 유도체를 기술하는데 사용될 때 약 3 ppm, 약 2.5 ppm, 약 2 ppm, 약 1.5 ppm, 약 1 ppm, 약 0.5 ppm, 약 0 ppm 이하를 의미한다.
- [0018] "없는"이란 용어는 레시틴 또는 아스코르브산 유도체를 기술하는데 사용될 때 검출할 수 있는 양이 존재하지 않음을 의미한다.
- [0019] "레시틴"이란 용어는 본 발명에 사용될 때, 예를 들어 해바라기 레시틴, 대두 레시틴, 계란 레시틴, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 1200 ppm 미만의 레시틴, 약 1000 ppm 미만의 레시틴, 750 ppm 미만의 레시틴, 약 500 ppm 미만의 레시틴, 약 250 ppm 미만의 레시틴, 또는 약 200 ppm 미만의 레시틴을 포함한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 레시틴이 없다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 레시틴이 본질적으로 없다.
- [0020] 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 30 ppb 미만 또는 보다 특히 약 25 ppb, 20 ppb, 15 ppb, 10 ppb, 5 ppb, 1 ppb, 0.5 ppb, 또는 0.2 ppb 이하의 철 함량을 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 상기 철 함량은 0 ppb이다.
- [0021] "산화방지제"란 용어는 본 발명에 사용될 때, 예를 들어 아스코르브산 유도체, 토코페롤, 녹차 추출물 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0022] 하나의 실시태양에서, 상기 산화방지제는 토코페롤, 녹차 추출물 및/또는 이들의 혼합물 중에서 선택된 제 1 산

화방지제이다. 또 다른 실시태양에서, 상기 산화방지제는 아스코르브산 유도체 중에서 선택된 제 2 산화방지제이다.

[0023] "아스코르브산 유도체"란 용어는 본 발명에 사용될 때, 예를 들어 아스코르브산, 아스코르빌 팔미테이트, 아스코르빌 스테아레이트, 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다. 하나의 실시태양에서, 상기 아스코르브산 유도체는 아스코르빌 팔미테이트이다.

[0024] 추가의 실시태양에서, 상기 아스코르브산 유도체는 본 발명에 개시된 오일 중에 약 0 ppm 내지 약 50 ppm, 약 0 ppm 내지 약 250 ppm, 약 0 ppm 내지 약 300 ppm, 약 0 ppm 내지 약 400 ppm, 약 0 ppm 내지 약 750 ppm, 약 50 ppm 내지 약 250 ppm, 약 50 ppm 내지 약 300 ppm, 약 50 ppm 내지 약 400 ppm, 약 50 ppm 내지 약 750 ppm, 약 250 ppm 내지 약 750 ppm, 약 250 ppm 내지 약 400 ppm, 약 250 ppm 내지 약 300 ppm, 약 300 ppm 내지 약 400 ppm 범위의 양으로 존재한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 750 ppm 미만의 아스코르브산 유도체, 약 400 ppm 미만의 아스코르브산 유도체, 약 300 ppm 미만의 아스코르브산 유도체, 약 250 ppm 미만의 아스코르브산 유도체, 또는 약 50 ppm 미만의 아스코르브산 유도체를 포함한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 아스코르브산 유도체가 본질적으로 없다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 250 ppm의 아스코르브산 유도체를 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 아스코르브산 유도체가 없다. 추가의 실시태양에서, 상기 오일은 아스코르빌 팔미테이트가 없다.

[0025] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 아스코르브산 유도체가 본질적으로 없고 레시틴이 본질적으로 없다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 아스코르빌 팔미테이트가 본질적으로 없고 레시틴이 본질적으로 없다. 또 다른 실시태양에서, 상기 오일은 아스코르브산 유도체가 없고 레시틴이 없다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 상기 오일은 아스코르빌 팔미테이트가 없고 레시틴이 없다.

[0026] 더욱 또 다른 실시태양에서, 상기 하나 이상의 제 1 산화방지제는 토코페롤이다. 또 다른 실시태양에서, 상기 하나 이상의 제 1 산화방지제는 부가 토코페롤이다. 더욱 추가의 실시태양에서, 상기 하나 이상의 제 1 산화방지제는 혼합된 토코페롤이다. 또 다른 실시태양에서, 상기 하나 이상의 제 1 산화방지제는 dl- $\alpha$ -토코페롤, d- $\alpha$ -토코페롤,  $\beta$ -토코페롤,  $\gamma$ -토코페롤,  $\delta$ -토코페롤,  $\alpha$ -토코트라이에놀,  $\beta$ -토코트라이에놀,  $\gamma$ -토코트라이에놀 및  $\delta$ -토코트라이에놀, 또는 이들의 혼합물이다.

[0027] 또 다른 실시태양에서, "토코페롤"이란 용어는 토코페롤의 임의의 이성질체(또는 그의 혼합물), 예를 들어 비제한적으로 dl- $\alpha$ -토코페롤(즉, 합성 토코페롤), d- $\alpha$ -토코페롤(즉, 천연 토코페롤),  $\beta$ -,  $\gamma$ - 및  $\delta$ -토코페롤 dl- $\alpha$ -토코페롤 및  $\alpha$ -토코트라이에놀,  $\beta$ -토코트라이에놀,  $\gamma$ -토코트라이에놀 및  $\delta$ -토코트라이에놀을 의미한다.

[0028] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 토코페롤을 약 900 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 900 ppm 내지 약 2400 ppm, 약 900 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 900 ppm 내지 약 1700 ppm, 약 900 ppm 내지 약 1400 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 2400 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 1700 ppm, 약 1700 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 1700 ppm 내지 약 2400 ppm, 약 1700 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 2400 ppm, 또는 약 2400 ppm 내지 약 3400 ppm 범위의 양으로 포함할 수 있다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3400 ppm 미만의 토코페롤, 약 2400 ppm 미만의 토코페롤, 약 2000 ppm 미만의 토코페롤, 약 1700 ppm 미만의 토코페롤, 약 1400 ppm 미만의 토코페롤, 또는 약 900 ppm 미만의 토코페롤을 포함한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 900 ppm 이상의 토코페롤, 약 1400 ppm 이상의 토코페롤, 약 1700 ppm 이상의 토코페롤, 약 2000 ppm 이상의 토코페롤, 약 2400 ppm 이상의 토코페롤, 또는 약 3400 ppm 이상의 토코페롤을 포함한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 1400 ppm의 토코페롤, 약 1700 ppm의 토코페롤, 또는 약 2400 ppm의 토코페롤을 포함한다.

[0029] "부가 토코페롤"이란 용어는 본 발명에 사용될 때, 본 발명에 개시된 오일에 첨가되는 토코페롤의 이성질체 및 유도체를 포함한다. 부가 토코페롤은 예를 들어  $\alpha$ -토코페롤, dl- $\alpha$ -토코페롤, d- $\alpha$ -토코페롤,  $\beta$ -토코페롤,  $\gamma$ -토코페롤,  $\delta$ -토코페롤,  $\alpha$ -토코트라이에놀,  $\beta$ -토코트라이에놀,  $\gamma$ -토코트라이에놀,  $\delta$ -토코트라이에놀, D- $\alpha$ -토코페롤, D- $\beta$ -토코페롤, D- $\gamma$ -토코페롤, D- $\delta$ -토코페롤 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다.

[0030] 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 0 ppm 내지 약 2500 ppm, 약 0 ppm 내지 약 1500 ppm, 약 0

ppm 내지 약 900 ppm, 약 0 ppm 내지 약 800 ppm, 약 0 ppm 내지 약 500 ppm, 약 50 ppm 내지 약 5000 ppm, 약 500 ppm 내지 약 3500 ppm, 약 500 ppm 내지 약 2500 ppm, 약 500 ppm 내지 약 1500 ppm, 약 500 ppm 내지 약 900 ppm, 약 500 ppm 내지 약 800 ppm, 약 300 ppm 내지 약 700 ppm, 약 800 ppm 내지 약 2500 ppm, 약 800 ppm 내지 약 1500 ppm, 약 800 ppm 내지 약 900 ppm, 약 900 ppm 내지 약 2500 ppm, 약 900 ppm 내지 약 1500 ppm, 또는 약 1500 ppm 내지 약 2500 ppm 범위의 부가 토코페롤을 포함할 수 있다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 2500 ppm 미만의 부가 토코페롤, 약 1500 ppm 미만의 부가 토코페롤, 약 900 ppm 미만의 부가 토코페롤, 약 800 ppm 미만의 부가 토코페롤, 또는 약 500 ppm 미만의 부가 토코페롤을 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 500 ppm의 부가 토코페롤, 약 800 ppm의 부가 토코페롤, 또는 약 1500 ppm의 부가 토코페롤을 포함한다.

[0031] 하나의 실시태양에서, 상기 토코페롤은  $\alpha$ -토코페롤, dl- $\alpha$ -토코페롤, d- $\alpha$ -토코페롤,  $\beta$ -토코페롤,  $\gamma$ -토코페롤,  $\delta$ -토코페롤,  $\alpha$ -토코트라이에놀,  $\beta$ -토코트라이에놀,  $\gamma$ -토코트라이에놀,  $\delta$ -토코트라이에놀, D- $\alpha$ -토코페롤, D- $\beta$ -토코페롤, D- $\gamma$ -토코페롤, D- $\delta$ -토코페롤 및/또는 이들의 혼합물 중에서 선택된다.

[0032] "혼합된 토코페롤"이란 용어는 본 발명에 사용될 때, 부가 토코페롤의 이성질체 및 유도체의 혼합물, 예를 들어 dl- $\alpha$ -토코페롤, d- $\alpha$ -토코페롤,  $\beta$ -토코페롤,  $\gamma$ -토코페롤,  $\delta$ -토코페롤,  $\alpha$ -토코트라이에놀,  $\beta$ -토코트라이에놀,  $\gamma$ -토코트라이에놀,  $\delta$ -토코트라이에놀, D- $\alpha$ -토코페롤, D- $\beta$ -토코페롤, D- $\gamma$ -토코페롤, 및 D- $\delta$ -토코페롤의 혼합물을 포함한다.

[0033] 하나의 실시태양에서, 상기 혼합된 토코페롤은 D- $\alpha$ -토코페롤, D- $\beta$ -토코페롤, D- $\gamma$ -토코페롤 및 D- $\delta$ -토코페롤의 혼합물이다. 또 다른 실시태양에서, 상기 혼합된 토코페롤은 약 9 내지 약 20%의 D- $\alpha$ -토코페롤, 약 1 내지 약 4%의 D- $\beta$ -토코페롤, 약 50 내지 약 65%의 D- $\gamma$ -토코페롤, 및 약 20 내지 약 35%의 D- $\delta$ -토코페롤의 혼합물이다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 상기 혼합된 토코페롤은 천연의 혼합된 토코페롤이다.

[0034] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 혼합된 토코페롤을 약 900 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 900 ppm 내지 약 2400 ppm, 약 900 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 900 ppm 내지 약 1700 ppm, 약 900 ppm 내지 약 1400 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 2400 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 1400 ppm 내지 약 1700 ppm, 약 1700 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 1700 ppm 내지 약 2400 ppm, 약 1700 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 3400 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 2400 ppm, 또는 약 2400 ppm 내지 약 3400 ppm 범위의 양으로 포함한다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3400 ppm 미만의 혼합된 토코페롤, 약 2400 ppm 미만의 혼합된 토코페롤, 약 2000 ppm 미만의 혼합된 토코페롤, 약 1700 ppm 미만의 혼합된 토코페롤, 약 1400 ppm 미만의 혼합된 토코페롤, 또는 약 900 ppm 미만의 혼합된 토코페롤을 포함한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 1400 ppm의 혼합된 토코페롤, 약 1700 ppm의 혼합된 토코페롤, 또는 약 2400 ppm의 혼합된 토코페롤을 포함한다.

[0035] 본 발명에 개시된 오일은 천연 토코페롤을, 예를 들어 발효 도중 미생물이 생산하고 최종적으로 원유(crude oil) 중에 함유되는 토코트라이에놀의 형태로 또한 함유할 수 있다. 상기 원유 중에 함유되는 천연 토코페롤의 양은 예를 들어 약 25 ppm 내지 약 500 ppm의 토코트라이에놀의 범위일 수 있다.

[0036] "녹차 추출물"이란 용어는 예를 들어 폴리페놀 화합물(즉, 카테킨)을 함유하는 녹차 추출물을 포함한다. 녹차 추출물 중에 존재할 수 있는 폴리페놀 화합물의 예는 에피갈로카테킨 갈레이트 25(EGCG), 에피갈로카테킨(EGC), 에피카테킨 갈레이트(ECG), 에피카테킨(EC) 및 이들의 혼합물을 포함한다. 하나의 실시태양에서, 상기 녹차 추출물은 하나 이상의 폴리페놀 화합물을, 임의의 담체를 제외한 녹차 추출물의 중량을 기준으로 약 1% 내지 약 90%, 약 5% 내지 약 85%, 약 10% 내지 약 80%, 약 15% 내지 약 75%, 약 20% 내지 약 70%, 약 25% 내지 약 65%, 약 30% 내지 약 60%, 약 35% 내지 약 55%, 또는 약 40% 내지 약 50%의 양으로 함유한다.

[0037] "풍미 시약"이란 용어는 예를 들어 로즈마리 추출물 및 바닐라를 포함한다. 상기 로즈마리 추출물은 예를 들어 로즈마리누스 오피시날리스(*Rosmarinus officinalis*)로부터 추출될 수 있다. 상기 로즈마리 추출물은 예를 들어 유기물질일 수 있다. 상기 로즈마리 추출물을, 페릴라(*Perilla*)과에 속하는 로즈마리의 잎을 건조시키고, 상기 건조된 잎을 분쇄하고, 상기 생성된 분쇄된 물질을 물, 뜨거운 물, 헥산, 에탄올, 아세톤, 에틸 아세테이트, 및 이들 용매 중 임의의 것의 혼합물로 추출함으로써 수득할 수 있다. 로즈마리 추출물에서 발견되는 성분들의 예는 카페인산, 카르노솔, 카르노스산, 메톡시 카르노스산, 로즈마린산, 로즈마늘, 로즈마리다이페놀, 로즈마리다이퀴논, 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다. 다수의 로즈마리 추출물들을 또한 상업적으로 입수할 수 있으며, 임의의 하나 이상이 본 발명에 유용할 수 있다. 적합한 로즈마리 추출물을 예를 들어 칼제(Kalsec)(미국 미시간주 칼라마주 소재)으로부터 허발록스(Herbalox)(등록상표)라는 상표명으로; 비티바(Vitiba)(슬로베니

아 마르코비치 소재)로부터 이놀렌스(Inolens)(등록상표)라는 상표명으로; 내쳐렉스(Naturex)(프랑스 아비뇽 소재)로부터 스타빌레인핸스(StabileEnhance)(등록상표)라는 상표명으로; 및 에콤 푸드 인더스트리즈 코포레이션(Ecom Food Industries Corporation)(캐나다 온타리오주 소재)으로부터 NR 3401이라는 제품코드로 상업적으로 입수할 수 있다.

[0038] 하나의 실시태양에서, 상기 풍미 시약은 로즈마리 추출물이다. 또 다른 실시태양에서, 상기 로즈마리 추출물을 로즈마리누스 오피시날리스로부터 추출한다.

[0039] 더욱 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 로즈마리 추출물을 약 0 ppm 내지 약 5000 ppm, 약 0 ppm 내지 약 3500 ppm, 약 0 ppm 내지 약 3000 ppm, 약 0 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 0 ppm 내지 약 750 ppm, 약 0 ppm 내지 약 500 ppm, 약 50 ppm 내지 약 5000 ppm, 약 50 ppm 내지 약 7500 ppm, 약 50 ppm 내지 약 10000 ppm, 약 500 ppm 내지 약 5000 ppm, 약 500 ppm 내지 약 4000 ppm, 약 500 ppm 내지 약 3500 ppm, 약 500 ppm 내지 약 3000 ppm, 약 500 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 500 ppm 내지 약 750 ppm, 약 750 ppm 내지 약 5000 ppm, 약 750 ppm 내지 약 3500 ppm, 약 750 ppm 내지 약 3000 ppm, 약 750 ppm 내지 약 2000 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 5000 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 3500 ppm, 약 2000 ppm 내지 약 3000 ppm, 약 3000 ppm 내지 약 3500 ppm, 약 3500 ppm 내지 약 5000 ppm 범위의 양으로 포함할 수 있다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 5000 ppm 미만의 로즈마리 추출물, 약 3500 ppm 미만의 로즈마리 추출물, 약 3000 ppm 미만의 로즈마리 추출물, 약 200 ppm 미만의 로즈마리 추출물, 약 750 ppm 미만의 로즈마리 추출물, 또는 약 500 ppm 미만의 로즈마리 추출물을 포함한다. 더욱 더 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 5000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 3500 ppm의 로즈마리 추출물, 약 3000 ppm의 로즈마리 추출물, 또는 약 2000 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다.

[0040] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 1700 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 본질적으로 없다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 800 ppm의 부가 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 본질적으로 없다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3500 ppm의 로즈마리 추출물 및 약 1400 ppm의 혼합된 토코페롤을 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴 및 아스코르빌 팔미테이트가 본질적으로 없다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3500 ppm의 로즈마리 추출물 및 약 500 ppm의 부가 토코페롤을 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴 및 아스코르빌 팔미테이트가 본질적으로 없다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 5000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 1700 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 본질적으로 없다. 훨씬 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 5000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 800 ppm의 부가 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 본질적으로 없다.

[0041] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 1700 ppm의 혼합된 토코페롤 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 없다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 800 ppm의 부가 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 없다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3500 ppm의 로즈마리 추출물 및 약 1400 ppm의 혼합된 토코페롤을 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴 및 아스코르빌 팔미테이트가 없다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3500 ppm의 로즈마리 추출물 및 약 500 ppm의 부가 토코페롤을 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴 및 아스코르빌 팔미테이트가 없다. 더욱 더 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 2000 ppm의 로즈마리 추출물 및 약 2400 ppm의 혼합된 토코페롤을 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴 및 아스코르빌 팔미테이트가 없다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 2000 ppm의 로즈마리 추출물 및 약 1500 ppm의 부가 토코페롤을 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴 및 아스코르빌 팔미테이트가 없다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 5000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 1700 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 없다. 훨씬 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 5000 ppm의 로즈마리 추출물, 약 800 ppm의 부가 토코페롤, 및 약 250 ppm의 아스코르빌

팔미테이트를 포함할 수 있으나, 상기 오일은 레시틴이 없다.

- [0042] 하나의 실시태양은 오일 중에, 상기 오일 중 지방산 함량의 중량을 기준으로, 약 30% 이상의, 4 개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산; 하나 이상의 제 1 산화방지제; 및 산화 안정성을 개선시키기 위한 수단을 포함하는 상기 오일에 관한 것이다.
- [0043] p-아니시딘가(p-AV)를 AOCS 공인 방법 Cd 18-90에 따라 측정한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 40 미만; 약 30 미만; 또는 약 20 미만의 p-AV를 갖는다.
- [0044] 과산화물가(PV)를 AOCS 공인 방법 Cd 8-53에 따라 측정한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 20 meq/kg 미만; 약 10 meq/kg 미만; 또는 약 5 meq/kg 미만의 PV를 갖는다.
- [0045] 랜시매트가(Rancimat Value)를 90 °C에서 작동하는 랜시매트 장치를 사용하여, 10 L/시간의 기류 설정으로 오일 안정성에 대한 표준 시험(AOCS Cd 12b-92)에 의해 측정한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 적합한 보관 하에서 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19 이하의 랜시매트가를 갖는다. 하나의 실시태양에서, 랜시매트가를 약 3 개월, 약 5 개월, 약 6 개월, 약 7 개월, 또는 8 개월의 적합한 보관 후에 측정한다. 당해 분야의 숙련가는 본 발명에 개시된 오일의 보관 조건이 무엇인지를 알 것이다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일을 진공 하에서 패키징되고 이어서 N<sub>2</sub>하에서 가열 밀봉되는(헤리티지 패키징(Heritage Packaging)) 나일론/호일/PE 저밀도 폴리에틸렌 주머니 중에 또는 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이티드(Elemental Container Inc.)) 중에 실온(25 °C)에서 보관한다.
- [0046] 바다/비린내(냄새) 및 바다/비린 방향족 화합물(맛) 관능가들을 관능 평가 기법에 개시된 바와 같은 방법에 따라 측정하였다(문헌[Meilgaard et al., CRC Press; 4 edition(December 13, 2006)]). 8 내지 18 명의 경험자 패널이 샘플 맛을 본다(또는 냄새를 맡는다). 이들 경험자는 각각 상기 샘플의 값을 측정한다. 그 후에 모든 값을 산술적으로 평균하고 결과를 다음 수로 반올림하거나 내린다. ≥1.5 비린내/바닷내 및 ≥2.5 비린/바다 방향족 화합물의 값은 일반 대중에 의해 지각될 수 있는 것으로 예상된다.
- [0047] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3 개월 후, 약 4 개월 후, 약 5 개월 후, 약 6 개월 후, 약 7 개월 후, 약 8 개월 후 또는 약 9 개월 후의 적합한 보관 후에 1.5 미만의 비린내 관능가를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 0 내지 3 개월, 0 내지 4 개월, 0 내지 5 개월, 0 내지 6 개월, 0 내지 7 개월, 0 내지 8 개월, 또는 0 내지 9 개월 중에서 선택된 기간에 1.5 미만의 비린내가를 갖는다. 하나의 실시태양에서, 적합한 보관을 진공 하에서 패키징되고 이어서 N<sub>2</sub>하에서 가열 밀봉되는 나일론/호일/PE 저밀도 폴리에틸렌 주머니 중에 또는 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기 중에 실온(25 °C)에서 수행한다.
- [0048] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3 개월 후, 약 4 개월 후, 약 5 개월 후, 약 6 개월 후, 약 7 개월 후, 약 8 개월 후 또는 약 9 개월 후의 적합한 보관 후에 2.5 미만의 비린 방향족 물질 관능가를 갖는다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 0 내지 3 개월, 0 내지 4 개월, 0 내지 5 개월, 0 내지 6 개월, 0 내지 7 개월, 0 내지 8 개월, 또는 0 내지 9 개월 중에서 선택된 기간에 1.5 미만의 비린내가를 갖는다. 하나의 실시태양에서, 적합한 보관을 진공 하에서 패키징되고 이어서 N<sub>2</sub>하에서 가열 밀봉되는 나일론/호일/PE 저밀도 폴리에틸렌 주머니 중에 또는 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기 중에 실온(25 °C)에서 수행한다.
- [0049] 하나의 실시태양에서, 4 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C<sub>18-22</sub> PUFA는 도코사헥사엔산("DHA"), 에이코사펜타엔산("EPA"), 아라키돈산("ARA"), 오메가-3 도코사펜타엔산("DPA n-3"), 및 오메가-6 도코사펜타엔산("DPA n-6") 중에서 선택된다. 일부 실시태양에서, 상기 오일은 오메가-3 PUFA를 포함한다. 추가의 실시태양에서, 상기 오메가-3 PUFA는 DHA, EPA, DPAn-3, 및 이들의 혼합물 중에서 선택된다.
- [0050] 실시태양들 중 일부에서, 상기 오일은 상기 오일의 전체 지방산 함량의 중량%로서 나타내는, 하기의 지방산(또는 그의 에스터) 중 하나 이상을 특징으로 한다. 본 발명에 개시된 실시태양들은 약 3% 이하의 다른 지방산 또는 그의 에스터를 추가로 포함할 수도 있다.
- [0051] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 30 중량% 이상, 약 35 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 45 중량% 이상, 또는 약 50 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 30 중량% 내지 약 60 중량%, 약 30 중량% 내지 약 50 중량%, 약 30 중량% 내지 약 40 중량%, 약 40 중량% 내지 약 60 중량%, 또는 약 40 중량% 내지 약 50 중량%

의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함한다.

[0052] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 30 중량% 이상, 약 35 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 45 중량% 이상, 또는 약 50 중량% 이상의 DHA를 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 30 중량% 내지 약 60 중량%, 약 30 중량% 내지 약 50 중량%, 약 30 중량% 내지 약 40 중량%, 약 40 중량% 내지 약 60 중량%, 또는 약 40 중량% 내지 약 50 중량%의 DHA를 포함한다.

[0053] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 35 중량% 이상의 DHA+EPA, 약 40 중량% 이상, 약 45 중량% 이상, 약 50 중량% 이상의 DHA+EPA를 포함하며, 여기에서 상기 오일은 약 80 중량% 미만, 약 70 중량% 미만, 또는 약 60 중량% 미만의 DHA+EPA를 포함한다.

[0054] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 또는 약 50% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로, 약 30% 내지 약 60%, 약 30% 내지 약 50%, 약 30% 내지 약 40%, 약 40% 내지 약 60%, 또는 약 40% 내지 약 50%의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함한다.

[0055] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 45% 이상, 또는 약 50% 이상의 DHA를 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로, 약 30% 내지 약 60%, 약 30% 내지 약 50%, 약 30% 내지 약 40%, 약 40% 내지 약 60%, 또는 약 40% 내지 약 50%의 DHA를 포함한다.

[0056] 또 다른 실시태양에서, 상기 오일은 총 지방산의 중량을 기준으로 약 80% 미만, 약 70% 미만, 또는 약 60% 미만의, 4 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C<sub>18-22</sub> PUFA를 포함한다.

[0057] DHA 및 EPA의 효능을 AOCS 공인 방법 Ce 1b-89에 따라 측정한다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 200 mg DHA/g 오일, 약 300 mg DHA/g 오일, 약 350 mg DHA/g 오일, 약 400 mg DHA/g 오일, 또는 약 500 mg DHA/g 오일을 포함한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 120 mg EPA/g 오일, 또는 약 130 mg EPA/g 오일을 포함한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 200 mg DHA/g 오일 내지 약 600 mg DHA/g 오일, 약 200 mg DHA/g 오일 내지 약 500 mg DHA/g 오일, 약 200 mg DHA/g 오일 내지 약 400 mg DHA/g 오일, 약 300 mg DHA/g 오일 내지 약 600 mg DHA/g 오일, 약 300 mg DHA/g 오일 내지 약 500 mg DHA/g 오일, 또는 약 300 mg DHA/g 오일 내지 약 400 mg DHA/g 오일을 포함한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 100 mg EPA/g 오일 내지 약 250 mg EPA/g 오일을 포함한다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 400 mg DHA+EPA/g 오일 또는 약 500 mg DHA+EPA/g 오일을 포함한다.

[0058] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 2% 이하의 ARA를 포함할 수 있다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 3% 이하의 EPA를 포함한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 18% 이하 또는 약 12% 내지 약 18%의 DPA n-6을 포함한다. 여전히 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 10% 이하의 다른 지방산을 포함할 수 있다.

[0059] 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 EPA가 실질적으로 없다. 본 발명에 사용된 바와 같이, "EPA가 실질적으로 없다"는 EPA가 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 3% 미만인 오일을 지칭할 수 있다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 2% 미만의 EPA, 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 1% 미만의 EPA, 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 0.2% 미만의 EPA, 또는 상기 오일의 총 지방산 함량의 중량을 기준으로 약 0.01% 미만의 EPA를 포함한다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 당해 분야에 공지된 기법을 사용하여 검출할 수 없는 양의 EPA를 갖는다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 EPA가 없다.

[0060] 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 또한 ARA가 실질적으로 없을 수 있다. 일부의 실시태양에서, 상기 ARA는 상기 오일의 총 지방산 함량의 약 3 중량% 미만이다. 일부의 실시태양에서, ARA는 상기 오일의 총 지방산 함량의 약 2 중량% 미만, 상기 오일의 총 지방산 함량의 약 1 중량% 미만, 상기 오일의 총 지방산 함량의 약 0.5 중량% 미만, 상기 오일의 총 지방산 함량의 약 0.2 중량% 미만, 또는 상기 오일의 총 지방산 함량의 약 0.01 중량% 미만을 차지한다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 검출할 수 없는 양의 ARA를 갖는다.

- [0061] 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 2 중량% 이하의 ARA를 포함할 수도 있다. 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 3 중량% 이하의 ARA를 포함한다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 18 중량% 이하 또는 약 12 중량% 내지 약 18 중량%의 DPA n-6을 포함한다. 여전히 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 약 10 중량% 이하의 다른 지방산을 포함할 수도 있다.
- [0062] 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 EPA가 실질적으로 없다. 본 발명에 사용된 바와 같이, "EPA가 실질적으로 없다"는 EPA가 약 3 중량% 미만인 오일을 지칭할 수 있다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 약 2 중량% 미만의 EPA, 약 1 중량% 미만의 EPA, 약 0.5 중량% 미만의 EPA, 약 0.2 중량% 미만의 EPA, 또는 약 0.01 중량% 미만의 EPA를 포함한다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 당해 분야에 공지된 기법을 사용하여 검출할 수 없는 양의 EPA를 갖는다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 EPA가 없다.
- [0063] 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 또한 ARA가 실질적으로 없을 수 있다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 약 3 중량% 미만의 ARA를 포함한다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 약 2 중량% 미만의 ARA, 약 1 중량% 미만, 약 0.5 중량% 미만, 약 0.2 중량% 미만, 또는 약 0.01 중량% 미만의 ARA를 포함한다. 일부의 실시태양에서, 상기 오일은 검출할 수 없는 양의 ARA를 갖는다.
- [0064] 본 발명에 사용된 오일을, 상기와 같은 오일이 필요한 임의의 용도에 사용할 수 있다. 상기 오일을 예를 들어 식료품(음료 및 식이성 보충제 포함), 동물 사료, 및/또는 개인 미용 및 위생 용품에 사용할 수 있다. 이들 제품은, 예를 들어 액체, 유화액, 젤 및/또는 고체와 같은 임의의 형태로 존재할 수 있다. 이들 제품은 바로 사용할 수 있는(바로 소비할 수 있는) 제품뿐만 아니라 추가의 가공이 필요한(예를 들어 희석, 용해, 가열 등에 의해) 제품일 수 있다. 하나의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 식용 오일이다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 식료품에 사용되는 식용 오일이다. 예시적인 식료품은 비제한적으로 영양 바, 식이성 보충제, 그래놀라 바, 구운 제품들(예를 들어 빵, 롤, 쿠키, 크래커, 파일 파이 또는 케이크), 파스타, 조미료, 샐러드 드레싱, 스프 믹스, 스낵 식품, 가공된 파일 주스, 소스, 그래비 소스, 시럽, 음료, 건조 음료 분말, 및 챔 또는 젤리를 포함한다.
- [0065] 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 유기물질이다. 본 발명에 사용된 바와 같은 "유기물질"이란 용어는 예를 들어 식료품 표지에 상기 용어의 포함에 대해 미국 농무부(USDA) 및 유럽 연합(EU)에 의해 지정된 표준을 포함한다. 상기 EU 표준은 예를 들어 규제 EC 834/2007에 나열되어 있고, 미국에서 USDA 표준은 예를 들어 문헌[the National Organic Program Regulation at 7 C.F.R., Part 205]에 나열되어 있다.
- [0066] 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 천연이다. 본 발명에 사용된 바와 같은 "천연"이란 용어는 예를 들어 색상, 인공향, 또는 합성 물질 첨가물을 함유하지 않는 식료품과 관련된 식료품 표지에 상기 용어를 사용함을 포함한다.
- [0067] 4 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C<sub>18-22</sub> PUFA를, 예를 들어 수생 동물, 예를 들어 어류, 해양 포유동물 및 갑각류(예를 들어 크릴새우 및 다른 크릴새우류); 예를 들어 벼, 간 및 눈을 포함한 동물 조직을 포함하는 동물 공급원 및 예를 들어 계란 및 우유를 포함하는 동물 생산물; 미세조류; 식물; 및/또는 종자를 포함한 다양한 공급원으로부터 수득할 수 있다. 하나의 실시태양에서, 상기 오일을 어류, 미세조류, 식물 또는 종자로부터 수득한다.
- [0068] 하나의 실시태양에서, 4 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C<sub>18-22</sub> PUFA를 미세조류로부터 수득한다. 또 다른 실시태양에서, 상기 미세조류는 트라우스토키트리알레스(*Thraustochytriales*) 목으로부터의 것이다. 상기 트라우스토키트리알레스 목은 예를 들어 트라우스토키트리움(*Thraustochytrium*) 속(종은 아루디멘탈레(*arudimentale*), 아우레움(*aureum*), 벤티콜라(*benthicola*), 글로보슘(*globosum*), 칸네이(*kinnei*), 모티븀(*motivum*), 멀티루디멘탈레(*multirudimentale*), 파키데르뮴(*pachydermum*), 프로리페룸(*proliferum*), 로세움(*roseum*), 스트리아툼(*striatum*)을 포함한다), 쉬조키트리움(*Schizochytrium*) 속(종은 아그레가툼(*aggregatum*), 립나세움(*limnaceum*), 망그로베이(*mangrovei*), 미누툼(*minutum*), 옥토스포룸(*octosporum*)을 포함한다), 울케니아(*Ulkenia*) 속(종은 아모에보이데아(*amoeboidae*), 케르구엘렌시스(*kerguelensis*), 미누타(*minuta*), 프로fun다(*profunda*), 라디아테(*radiate*), 사일렌스(*sailens*), 사르카리아나(*sarkariana*), 쉬조키트로프스(*schizochytrops*), 비수르젠틱스(*visurgensis*), 요르켄시스(*yorkensis*)를 포함한다), 아우란티아코키트리움(*Aurantiacochytrium*) 속; 오블롱기키트리움(*Oblongichytrium*) 속, 시크요이도키티움(*Sicyoidochytrium*) 속, 파리엔티키트리움(*Parientichytrium*) 속, 보트료키트리움(*Botryochytrium*) 속, 및 이들의 조합을 포함한다. 본 발명의 목적을 위해서, 울케니아 내에 개시된 종들은 쉬조키트리움 속의 구성원인 것으로 간주될

것이다. 더욱 또 다른 실시태양에서, 상기 미세조류는 트라우스토키트리움 종이다. 더욱 추가의 실시태양에서, 상기 미세조류는 쉬조키트리움 종이다. 더욱 추가의 실시태양에서, 상기 미세조류는 트라우스토키트리움 종 및 쉬조키트리움 종 중에서 선택된다.

[0069] 또 다른 실시태양에서, 상기 4 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C<sub>18-22</sub> PUFA를 발효 배양물에서 또는 농작물, 예를 들어 곡류(예를 들어 옥수수, 보리, 밀, 벼, 수수, 팔 밀렛, 옥수수, 호밀 및 귀리); 콩류; 대두류; 후추; 상추; 완두콩; 배추속 식물 종, 예를 들어 양배추, 브로콜리, 콜리플라워, 브뤼셀 스프라우트, 평지씨, 및 래디쉬; 당근; 비트; 가지; 시금치; 오이; 스쿼시; 멜론; 칸탈루프; 해바라기; 잇꽃; 캐놀라; 아마; 땅콩; 겨자; 평지씨; 병아리콩; 렌틸콩; 토키풀; 올리브; 팜; 렌즈콩; 달맞이꽃; 아마인; 및 담배에서 증식시킨 식물로부터 수득한다.

[0070] 하나님의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 원유이다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 정제유이다. 더욱 추가의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일은 최종유이다. "원유"는 추가의 가공 없이 미생물의 바이오매스로부터 추출되는 오일이다. "정제유"는 원유를 정제, 표백 및/또는 탈취의 표준 가공으로 처리함으로써 수득되는 오일이다. 미국 특허 공보 제 5,130,242 호를 참조하시오. "최종유"는 식물성 오일과 추가로 블렌딩되는 정제유이다. 일부의 실시태양에서, 최종유는 중간쇄 트라이글리세라이드(MCT), 카놀라유, 팜유 및 해바라기유 중에서 선택된 식물성 오일과 블렌딩된 정제유이다. 일부의 실시태양에서, 상기 해바라기유는 고 올레산 해바라기유이다. 다른 실시태양에서 상기 해바라기유는 유기물질이다. 더욱 다른 실시태양에서 상기 고 올레산 해바라기유는 유기물질이다.

[0071] 하나님의 실시태양은 유효량의 하나 이상의 제 1 산화방지제를, 오일 중의 지방산 함량의 중량을 기준으로 30 중량% 이상의, 4 개 이상의 이중 결합을 갖는 하나 이상의 다중불포화된 지방산을 포함하는 오일에 첨가함을 포함하는, 상기 오일의 산화 안정성을 개선시키는 방법에 관한 것이다.

[0072] 본 발명에 개시된 미생물 오일을 당해 분야의 숙련가들에게 공지된 임의의 적합한 수단에 의해 미세조류로부터 회수할 수 있다. 예를 들어, 상기 오일을, 예를 들어 국제 공보 제 WO 2001/053512 호, 국제 공보 제 WO 2001/051598 호, 국제 공보 제 WO 2001/076715 호 및 국제 공보 제 WO 2001/076385 호; 미국 공보 제 2007/0004678 호 및 미국 공보 제 2005/012739 호; 및 미국 특허 공보 제 6,399,803 호에 개시된 것들과 같은 기법으로 추출함으로써 회수할 수 있다. 지질의 회수를 위한 바이오매스의 효소 처리 방법이 국제 공보 제 WO 2003/09628 호; 미국 공보 제 2005/0170479 호; 유럽 특허 공보 제 0776356 호 및 미국 특허 공보 제 5,928,696 호에 개시되어 있다.

[0073] 일부의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일을 하기의 단계들을 통해 수득한다: 4 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C<sub>18-22</sub> PUFA를 함유하는 오일을 생산할 수 있는 미세조류를 발효시킴으로써 바이오매스를 생성시키고; 상기 바이오매스를 수확하고; 상기 바이오매스를 분무 건조시키고; 상기 바이오매스로부터 오일을 추출하고; 상기 오일을 정제하고(유리 지방산 및 인지질을 제거하기 위해서); 상기 오일을 표백하고(임의의 잔류 극성 화합물 및 산화촉진성 금속을 제거하고 지질 산화 생성물을 분해하기 위해서); 상기 오일을 냉각 여과하고(임의의 잔류 불용성 지방, 왁스 및 고체를 제거하기 위해서); 상기 오일을 탈취하고(선택적으로 진공 하에서 및 예를 들어 충전된 컬럼, 역류 증기 스트리핑 탈취기에서); 상기 오일에 산화방지제를 가하는 단계들; 및 이들의 임의의 조합. 일부의 실시태양에서, 예정된 기간 동안 조절된 증식에 이어서, 상기 배양물을 원심분리에 의해 수확하고 이어서 저온살균하고 분무 건조시킨다. 몇몇 실시태양에서, 상기 건조된 바이오매스를 질소로 플러싱시키고 패키징한 후에 -20 °C에서 동결시켜 보관한다. 몇몇 실시태양에서, 상기 건조된 바이오매스를 n-헥산 또는 아이소헥산과 배치 공정(상기 세포를 파괴하고 상기 오일과 세포 찌꺼기가 분리되게 한다)에서 혼합함으로써 상기 바이오매스로부터 상기 오일을 추출한다. 이어서, 몇몇 실시태양에서, 상기 용매를 제거한다. 하나님의 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일을 모델 AGV 멀티백(Multivac)(멀티백 제프 하겐뮐러(Multivac Sepp Hagenmüller) GmbH & Co. KG) 상에서 진공 하에서 패키징되고 이어서 N<sub>2</sub>하에서 가열 밀봉되는 나이론/호일/PE 저밀도 폴리에틸렌 주머니 중에 패키징하고 실온(25 °C)에서 보관한다. 또 다른 실시태양에서, 본 발명에 개시된 오일을 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기 중에 실온(25 °C)에서 보관한다.

[0074] 본 발명에 개시된 오일의 최종 용도에 따라, 상기 오일은 추가의 성분들을 포함할 수 있으며, 상기 성분들은 최종 생성물 및/또는 상기 최종 생성물의 생산 가공에 유용할 수 있다. 상기와 같은 추가의 성분은 예를 들어 착색제, 향료, 충전제, 풍미제, 비-레시틴 유화제, 안정제 및 다른 친지성 물질을 포함할 수 있다.

[0075] 실시예

물질

[0076] 실시예 3 내지 15에서 사용되는 로즈마리 추출물은 예를 들어 에콤 푸즈 인더스트리즈 코포레이션(Ecom Foods Industries Corporation)(캐나다 온타리오주 소재)으로부터 입수할 수 있다. 실시예 3 내지 15에 사용되는 고올레산 해바라기유는 예를 들어 휙코 오일즈(Humko oils)(미국 테네시주 멤피스 소재)로부터 상표명 트라이선(Trisun)(등록상표)으로 입수할 수 있다. TAP1010 선(Sun)은 비타블렌드(Vitablenad)(네덜란드 볼베가 소재)로부터 입수할 수 있다. 하기의 실시예들에 사용되는 대두 레시틴은 예를 들어 아처 다니엘스 미들랜드 캄파니(Archer Daniels Midland Co.)(미국 일리노이주 디케이터 소재)로부터 상표명 엘킨(Yelkin)(등록상표) 골드로 입수할 수 있다. 하기의 실시예들에 사용되는 아스코르빌 팔미테이트는 예를 들어 DSM 뉴트리셔널 프로덕츠(스위스 바젤 소재)로부터 입수할 수 있다.

## 실시예 1

[0079] 30% 이상의, 4 개 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 PUFA를 함유하는 고품질 원유의 제조

[0080] ATCC 수탁 번호 PTA-10208로 기탁된 쉬조키트리움 종(본 발명에서 이후부터 "PTA-10208"이라 칭함)을 하기에 개시하는 바와 같이, 개별적인 발효 실행을 통해 증식시켰다. 전형적인 배지 및 배양 조건을 표 1에 나열한다.

[0081] 22.5 °C, pH 7.0에서 질소 공급 동안 20% 용존 산소 및 그 후에 10% 용존 산소와 함께 1000 ppm Cl<sup>-</sup>을 갖는 탄소(글루코스) 및 질소-공급 배양물에서, PTA-10208은 10 L 발효기 부피에서 200 시간의 배양 후에 95 g/L의 건조 세포 중량을 생산하였다. 지질 수율은 53.7 g/L이었고; 오메가-3 수율은 37 g/L이었고; EPA 수율은 14.3 g/L이었고; DHA 수율은 21 g/L이었다. 지방산 함량은 57 중량%이었고; EPA 함량은 FAME의 27.7%이었고; DHA 함량은 FAME의 39.1%이었다. 이러한 조건 하에서 지질 생산성은 6.4 g/L/일이었고, 오메가-3 생산성은 4.4 g/L/일이었으며, EPA 생산성은 1.7 g/L/일이었고 DHA 생산성은 2.5 g/L/일이었다.

[0082] 22.5 °C, pH 7.5에서 질소 공급 동안 20% 용존 산소 및 그 후에 10% 용존 산소와 함께 1000 ppm Cl<sup>-</sup>을 갖는 탄소(글루코스) 및 질소-공급 배양물에서, PTA-10208은 10 L 발효기 부피에서 139 시간의 배양 후에 56 g/L의 건조 세포 중량을 생산하였다. 지질 수율은 53 g/L이었고; 오메가-3 수율은 34 g/L이었고; EPA 수율은 11.5 g/L이었고; DHA 수율은 22 g/L이었다. 지방산 함량은 58 중량%이었고; EPA 함량은 FAME의 21.7%이었고; DHA 함량은 FAME의 41.7%이었다. 이러한 조건 하에서 지질 생산성은 9.2 g/L/일이었고, 오메가-3 생산성은 5.9 g/L/일이었으며, EPA 생산성은 2 g/L/일이었고 DHA 생산성은 3.8 g/L/일이었다.

[0083] 22.5 °C, pH 7.0에서 질소 공급 동안 20% 용존 산소 및 그 후에 10% 용존 산소와 함께 1000 ppm Cl<sup>-</sup>을 갖는 탄소(글루코스) 및 질소-공급 배양물에서, PTA-10208은 2000 L 발효기 부피에서 167 시간의 배양 후에 93.8 g/L의 건조 세포 중량을 생산하였다. 지질 수율은 47.2 g/L이었고; 오메가-3 수율은 33.1 g/L이었고; EPA 수율은 10.5 g/L이었고; DHA 수율은 20.4 g/L이었다. 지방산 함량은 50.6 중량%이었고; EPA 함량은 FAME의 23%이었고; DHA 함량은 FAME의 42.6%이었다. 이러한 조건 하에서 지질 생산성은 6.8 g/L/일이었고, 오메가-3 생산성은 4.7 g/L/일이었으며, EPA 생산성은 1.5 g/L/일이었고 DHA 생산성은 2.9 g/L/일이었다.

[0084] 22.5 °C, pH 7.0에서 질소 공급 동안 20% 용존 산소 및 그 후에 10% 용존 산소와 함께 1000 ppm Cl<sup>-</sup>을 갖는 탄소(글루코스) 및 질소-공급 배양물에서, PTA-10208은 2000 L 발효기 부피에서 168 시간의 배양 후에 105 g/L의 건조 세포 중량을 생산하였다. 지질 수율은 46.4 g/L이었고; 오메가-3 수율은 33 g/L이었고; EPA 수율은 10.7 g/L이었고; DHA 수율은 20.3 g/L이었다. 지방산 함량은 43.9 중량%이었고; EPA 함량은 FAME의 24%이었고; DHA 함량은 FAME의 43.7%이었다. 이러한 조건 하에서 지질 생산성은 6.6 g/L/일이었고, 오메가-3 생산성은 4.7 g/L/일이었으며, EPA 생산성은 1.5 g/L/일이었고 DHA 생산성은 2.9 g/L/일이었다.

[0085] 22.5 °C, pH 7.0에서 질소 공급 동안 20% 용존 산소 및 그 후에 10% 용존 산소와 함께 1000 ppm Cl<sup>-</sup>을 갖는 탄소(글루코스) 및 질소-공급 배양물에서, PTA-10208은 2000 L 발효기 부피에서 168 시간의 배양 후에 64.8 g/L의 건조 세포 중량을 생산하였다. 지질 수율은 38.7 g/L이었고; 오메가-3 수율은 29.9 g/L이었고; EPA 수율은 8.5 g/L이었고; DHA 수율은 16.7 g/L이었다. 지방산 함량은 59.6 중량%이었고; EPA 함량은 FAME의 23%이었고; DHA 함량은 FAME의 42.3%이었다. 이러한 조건 하에서 지질 생산성은 5.53 g/L/일이었고, 오메가-3 생산성은 3.8 g/L/일이었으며, EPA 생산성은 1.2 g/L/일이었고 DHA 생산성은 2.3 g/L/일이었다.

**표 1****PTA-10208 용기 배지 및 전형적인 배양 조건**

성분	농도(g/L)	
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	8.8	0-25, 2-20, 또는 3-10
NaCl	0.625	0-25, 0.1-10, 또는 0.5-5
KCl	1.0	0-5, 0.25-3, 또는 0.5-2
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5.0	0-10, 2-8, 또는 3-6
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.42	0-10, 0.25-5, 또는 0.05-3
CaCl <sub>2</sub>	0.29	0.1-5, 0.15-3, 또는 0.2-1
T 154 (효모 추출물)	1.0	0-20, 0.1-10, 또는 0.5-5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.765	0.1-10, 0.5-5, 또는 1-3
<b>오토클레이브 후(금속)</b>		
성분	농도(g/L)	범위
시트르산	46.82	0.1-5000, 10-3000, 또는 40-2500
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10.30	0.1-100, 1-50, 또는 5-25
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	3.10	0.1-100, 1-50, 또는 2-25
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	9.3	0.01-100, 1-50, 또는 2-25
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.04	0-1, 0.001-0.1, 또는 0.01-0.1
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.04	0.001-1, 0.005-0.5, 또는 0.01-0.1
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	2.07	0.1-100, 0.5-50, 또는 1-25
NiSO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	2.07	0.1-100, 0.5-50, 또는 1-25
<b>오토클레이브 후(비타민)</b>		
성분	농도(g/L)	범위
티아민	9.75	0.1-100, 1-50, 또는 5-25
Ca½-판토테네이트	3.33	0.1-100, 0.1-50, 또는 1-10
비오텐	3.58	0.1-100, 0.1-50, 또는 1-10
<b>오토클레이브 후(탄소)</b>		
성분	농도(g/L)	범위
글루코스	30.0	5-150, 10-100, 또는 20-50
<b>질소 공급물</b>		
성분	농도(g/L)	범위
NH <sub>4</sub> OH	23.6	0-150, 10-100, 또는 15-50
전형적인 배양 조건은 (단독으로 또는 함께) 하기 를 포함할 수 있다:		
조건	범위	범위
pH	약 6.5 – 약 8.5, 약 6.5 – 약 8.0, 또는 약 7.0 – 약 8.0	
온도	약 17 – 약 30°C, 약 20 – 약 28°C, 또는 약 22 내지 약 24°C	
용존 산소	약 2 – 약 100% 포화, 약 5 – 약 50% 포화, 또는 약 7 – 약 20% 포화	
조절된 글루코스	약 5 – 약 50 g/L, 약 10 – 약 40 g/L, 또는 약 20 – 약 35 g/L	

[0086]

실시예 2

[0088]

PTA-10208의 지방산 프로파일

[0089]

실시예 1에 따라 생성된 바이오매스의 2 개 샘플(PTA-10208 샘플 #1 및 PTA-10208 샘플 #2)을 용매 추출에 의해 총 원유 함량에 대해 분석하고, 지질 부류를 고성능 액체 크로마토그래피/휘발성 광산란 검출(HPLC/ELSD)에 의해 측정하고, 트라이아실글리세롤(TAG)을 HPLC/질량 분광분석법(HPLC/MS)에 의해 분석하고, 지방산(FA) 프로파일을 불꽃 이온화 검출과 병행되는 기체 크로마토그래피(GC-FID)에 의해 측정하였다. 각각의 동결 건조된 바이오매스의 조 지질 함량을 헥산에 의한 용매 분쇄를 사용하여 측정하고 직접 트랜스에스터화에 의해 생성된 FAME(mg/g)의 합과 비교하였으며, 생성된 지방산 메틸 에스터(FAME)를 GC/FID 분석에 의해 정량분석하였다. 상기 추출된 조 지질 중의 FA를 또한 트랜스에스터화에 의해 정량분석하고 상기 생성된 FAME의 GC/FID 분석을 사용하여 정량분석하였다. 모든 중성 지질(NL) 및 유리 지방산(FFA)의 중량%를 ELSD 및 대기압 화학적 이온화-MS(APCI-MS) 식별과 함께 정상 HPLC를 사용하여 상기 추출된 조 지질 중에서 측정하였다. 상기 방법은 스테롤 에스터(SE), TAG, FFA, 1,3-다이아실글리세롤(1,3-DAG), 스테롤, 1,2-다이아실글리세롤(1,2-DAG) 및 모노아실글리세롤(MAG)을 분리시키고 정량화한다. 결과를 표 2 및 3에 나타낸다.

[0090]

상기 TAG 및 인지질(PL)을 상기 추출된 원유(PTA-10208 샘플 #1 및 PTA-10208 샘플 #2)로부터 단리하였다. TAG를 저압 플래시 크로마토그래피를 사용하여 단리하고 PL을 고상 추출(SPE)을 사용하여 단리하였다. 각각의 단리된 추출물의 정체를 박층 크로마토그래피(TLC)에 의해 확인하였다. 상기 단리된 TAG 및 PL 분획의 지방산

프로파일을 FAME로서 GC-FID를 사용하여 직접 트랜스에스터화에 따라 측정하였다. 결과를 표 4에 나타낸다.

- [0091] 개별적인 지질 부류들을 ELSD 및 APCI-MS 식별과 함께 정상 HPLC를 사용하여 PTA-10208로부터 추출된 원유의 샘플(PTA-10208 샘플 #3)로부터 단리하였다.
- [0092] 실험 과정
- [0093] 원유 추출 - 원유를 용매 분쇄를 사용하여 동결-건조된 바이오매스의 샘플들로부터 추출하였다. 예를 들어 대략 3 g의 바이오매스를 스웨덴 투브에 청량하였다. 3 개의 볼 베어링 및 30 mL의 헥산을 상기 스웨덴 투브에 가하고, 상기 투브를 네오프렌 마개로 밀봉하고 2 시간 동안 진탕기에 넣었다. 생성된 슬리리를 부흐너 깔때기 및 와트만 필터 페이퍼를 사용하여 여과하였다. 상기 여과된 액체를 수거하고, 용매를 진공 하에서 제거하고, 남은 조 지질의 양을 중량측정에 의해 측정하였다.
- [0094] 지방산 분석 - 바이오매스, 추출된 조 지질, 및 단리된 지질 부류들의 샘플을 FAME로서 지방산 조성에 대해 분석하였다. 간단히, 동결-건조된 바이오매스 및 단리된 지질 부류들을 스크류 캡 시험 투브에 직접 청량하는 반면, 원유의 샘플들은 대략 2 mg/mL의 농도를 제공하도록 헥산 중에 용해시켰다. 내부 표준을 함유하는 톨루엔, 및 메탄올 중의 1.5N HCl을 각 투브에 가하였다. 상기 투브들을 와동시키고, 이어서 캡핑하고 100 °C로 2 시간 동안 가열하였다. 상기 투브들을 냉각시키고, 수중 포화된 NaCl을 가하였다. 상기 투브들을 다시 와동시키고 원심분리시켜 층들이 분리되게 하였다. 이어서, 상기 유기층의 일부를 GC 바이알에 넣고 GC-FID에 의해 분석하였다. FAME를 누-체크-프렙(Nu-Check-Prep) GLC 비교 표준(누체크, 미국 미네소타주 엘리시안 소재)을 사용하여 생성시킨 3-점 교정 곡선을 사용하여 정량분석하였다. 상기 추출물 중에 존재하는 지방산을 mg/g 및 중량%로서 나타내었다. 상기 샘플들 중의 지방 함량을 평가하여 GC-FID에 의해 분석 시 내부 표준에 대한 동등한 반응을 가정하였다.
- [0095] HPLC/ELSD/MS 방법 -
- [0096] 장비 에이질런트(Agilent) 1100 HPLC, 올테크(Alltech) 3300 ELSD, 에이질런트 1100 MSD
- [0097] 컬럼 폐노메넥스 루나 실리카(Phenomenex Luna Silica), 250 x 4.6 mm, 5 μm 입자 크기 w/가드 컬럼
- [0098] 이동상 A - 99.5% 헥산(옴니솔브(Omnisolv)); 0.4% 아이소프로필 알콜(온니솔브); 0.1% 아세트산
- [0099] B - 99.9% 에탄올(온니솔브, 95:5 에탄올:IPA); 0.1% 아세트산
- [0100] 구배
- |    | 0분  | 5분  | 15분 | 20분 | 25분 | 26분 | 35분 |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| %A | 100 | 100 | 85  | 0   | 0   | 100 | 100 |
| %B | 0   | 0   | 10  | 100 | 100 | 0   | 0   |
- [0101]
- [0102] 컬럼 온도 30 °C
- [0103] 유속 1.5 mL/분
- [0104] 주입 부피 5 μL
- [0105] ELSD 검출 온도 35 °C, 기체 유속 1.2 L/분
- [0106] MSD 질량 범위 200 - 1200, 단편화 전압 225 V; 건조 기체 온도 350 °C; 증발기 온도 325 °C; 모세관 전압 3500 V; 코로나 전류 10 μA
- [0107] 고상 추출 - PL 분획들을 백 일류트(Vac Elut) 장치(바리안 인코포레이티드(Varian Inc)(미국 팔로알토 소재))에 놓인 2 g 아미노프로필 카트리지(바이오테이지(Biotage), 스웨덴 옵실라 소재)를 사용하여 고상 추출(SPE)에 의해 상기 조 지질로부터 분리시켰다. 상기 카트리지를 15 mL의 헥산으로 켄디셔닝하고, 각각의 샘플 약 60 mg 을 1 mL의 CHCl<sub>3</sub>에 용해시키고 상기 카트리지에 적용하였다. 상기 컬럼을 15 mL의 2:1 CHCl<sub>3</sub>:아이소프로필 알콜로 세척하여 모든 중성 지질을 용리시키고, 상기 지질을 버렸다. 이어서, 상기 지방산을 15 mL의 에테르 중 2% 아세트산(HOAc)으로 용리시키고, 이를 버렸다. 상기 PL 부분을 15 mL의 6:1 메탄올:클로로포름으로 용리시키고, 이를 수거하고, 질소 하에서 건조시키고 청량하였다.
- [0108] 플래시 크로마토그래피 - 플래시 크로마토그래피를 사용하여 상기 원유 중에 존재하는 액체 부류를 분리시켰다. 헥산 중에 용해된 대략 200 mg의 원유를 상기 컬럼의 헤드 상에 주입하였다. 상기 크로마토그래피 시스템은 5

$\text{mL}/\text{분}$ (표 6-7) 또는  $3 \text{ mL}/\text{분}$ (표 8-13)의 석유 에테르 및 에틸 아세테이트로 구성된 이동상을 갖는 실리카겔 60(EMD 케미칼, 미국 뉴저지주 갑스타운 소재)을 사용하였다. 단계 구배를 사용하여 상기 컬럼으로부터 각각의 지질 부류를 선택적으로 용리시켰다. 상기 이동상 구배는 100% 석유 에테르로부터 출발하여 50% 에틸 아세테이트로 마쳤다. 분획들을 길슨(Gilson) FC 204 큰-베드 분획 수거기(길슨 인코포레이티드, 미국 위스콘신주 미들톤 소재)를 사용하여 10 mL 시험튜브에 수거하였다. 각각의 튜브를 박층 크로마토그래피(TLC)에 의해 분석하고 개별적인 지질 부류들(예상되는 체류 인자(Rf)를 갖는 TLC 플레이트상의 단일 스포트에 의해 판단 시)을 함유하는 튜브들을 모으고, 농축 건조시키고 칭량하였다. 이어서, 전체 분획 함량을 중량측정에 의해 측정하였다.

[0109] TLC 분석 - 박층 크로마토그래피를 실리카겔 플레이트 상에서 수행하였다. 상기 플레이트를 석유 에테르:에틸 에테르:아세트산(80:20:1)으로 이루어지는 용매 시스템을 사용하여 용리시키고 요오드 증기를 사용하여 가시화하였다. 이어서, 각 스포트의 Rf 값들을 각각의 지질 부류에 대해 보고된 문헌 값들과 비교하였다.

[0110] TAG 및 PL 분획의 분석 - 상기 단리된 TAG 및 PL 분획들을 지방산 메틸 에스터(FAME)로서 지방산 조성에 대해 분석하였다. 상기 TAG 분획을 대략 1 내지 2 mg/mL의 농도를 제공하도록 혼산에 용해시켰다. 상기 용액들의 1 mL 분액을 질소 하에서 농축 건조시켰다. 내부 표준을 함유하는 틀루엔, 및 메탄을 중의 1.5N HCl을 각 튜브에 가하였다. 상기 튜브들을 와동시키고, 이어서 캡핑하고 100 °C로 2 시간 동안 가열하였다. 내부 표준 및 HCl 메탄을 상기 PL 분획을 함유하는 튜브에 직접 가하고 가열하였다. 상기 튜브들을 냉각시키고, 수중 포화된 NaCl을 가하였다. 상기 튜브들을 다시 와동시키고 원심분리시켜 층들이 분리되게 하였다. 이어서, 상기 유기 층의 일부를 GC 바이알에 넣고 GC-FID에 의해 분석하였다. FAME를 누-체크-프렙 GLC 502B 비교 표준(누체크, 미국 미네소타주 엘리시안 소재)을 사용하여 생성시킨 3-점 교정 곡선을 사용하여 정량분석하였다. 상기 추출물 중에 존재하는 지방산을 mg/g 및 FAME의 %로서 나타내었다.

[0111] PTA-10208 샘플 #1.

[0112] PTA-10208 샘플 #1에 대한 상기 바이오매스 및 추출된 조 지질의 지방산 프로파일을 GC/FID를 사용하여 측정하였다. 상기 바이오매스 중의 FA를, FAME 튜브에 28.6 mg의 바이오매스를 직접 칭량함으로써 동일 반응계에서 트랜스에스터화시킨 반면, 상기 추출된 조 지질의 샘플은 55.0 mg의 조 지질을 50 mL 메스 플라스크에 칭량하고 1 mL를 별도의 FAME 튜브로 옮김으로써 제조하였다. 상기 바이오매스의 평가된 조 지질 함량은 FID 검출과 함께 GC를 사용하여 53.2%(FAME의 합으로서)인 것으로 측정된 반면, 상기 건조 바이오매스로부터 52.0%(wt/wt) 지질이 추출되었고, 이는 전체 지질의 97.8% 회수율을 제공하였다. 상기 조 지질은 GC/FID를 사용하여 91.9% 지방산(FAME의 합으로서)인 것으로 측정되었다. 상기 조 지질 중에 함유된 주요 지방산은 C16:0(182.5 mg/g), C20:5 n-3(186.8 mg/g), 및 C22:6 n-3(423.1 mg/g)이었다.

[0113] 상기 추출된 조 지질의 지질 부류 프로파일을, 50 mL 메스 플라스크에 55.0 mg의 조 지질을 칭량하고 HPLC/ELSD/MS 분석을 위해 HPLC 바이알에 분액을 옮김으로써 측정하였다. 상기 HPLC/ELSD/MS 분석에 따라, 상기 조 지질은 0.2% 스테롤 에스터(SE), 95.1% TAG, 0.4% 스테롤 및 0.5% 1,2-다이아실글리세롤(DAG)을 함유하였다. 상기 TAG 분획 중 5%는 상기 TAG 피크 다음에 바로 용출되는 피크를 포함하였지만, 인지 가능한 질량 스펙트럼은 제공하지 않았다.

[0114] 플래시 크로마토그래피에 의해 측정 시 상기 샘플로부터 단리된 TAG는 상기 원유의 대략 92.4%를 구성하였다. PL은 SPE 단리 후에 중량 또는 TLC에 의해 검출되지 않았다. 상기 TAG 중에 함유된 주요 지방산(>50 mg/g)은 C16:0(189 mg/g), C20:5 n-3(197 mg/g), 및 C22:6 n-3(441 mg/g)이었다.

[0115] PTA-10208 샘플 #2.

[0116] PTA-10208 샘플 #2에 대한 상기 바이오매스 및 추출된 조 지질의 지방산 프로파일을 GC/FID를 사용하여 측정하였다. 상기 바이오매스 중의 FA를, FAME 튜브에 32.0 mg의 바이오매스를 직접 칭량함으로써 동일 반응계에서 트랜스에스터화시킨 반면, 상기 추출된 조 지질의 샘플은 60.1 mg의 조 지질을 50 mL 메스 플라스크에 칭량하고 1 mL를 별도의 FAME 튜브로 옮김으로써 제조하였다. 상기 바이오매스의 평가된 조 지질 함량은 FID 검출과 함께 GC를 사용하여 52.4%(FAME의 합으로서)인 것으로 측정된 반면, 상기 건조 바이오매스로부터 48.0%(wt/wt) 지질이 추출되었고, 이는 전체 지질의 91.7% 회수율을 제공하였다. 상기 조 지질은 GC/FID를 사용하여 95.3% 지방산(FAME의 합으로서)인 것으로 측정되었다. 상기 조 지질 중에 함유된 주요 지방산은 C16:0(217.5 mg/g), C20:5 n-3(169.3 mg/g), 및 C22:6 n-3(444.1 mg/g)이었다.

[0117] 상기 추출된 조 지질의 지질 부류 프로파일을, 50 mL 메스 플라스크에 60.1 mg의 조 지질을 칭량하고 HPLC/ELSD/MS 분석을 위해 HPLC 바이알에 분액을 옮김으로써 측정하였다. 상기 HPLC/ELSD/MS 분석에 따라, 상

기 조 지질은 0.2% SE, 95.7% TAG, 0.3% 스테롤 및 0.7% 1,2-DAG를 함유하였다. 상기 TAG 분획 중 5.1%는 상기 TAG 피크 다음에 바로 용출되는 피크를 포함하였지만, 인지 가능한 질량 스펙트럼은 제공하지 않았다.

[0118] 상기 샘플로부터 단리된 TAG는 상기 원유의 대략 93.9%를 구성하였다. PL은 SPE 단리 후에 중량 또는 TLC에 의해 검출되지 않았다. 상기 TAG 중에 함유된 주요 지방산(>50 mg/g)은 C16:0(218 mg/g), C20:5 n-3(167 mg/g), 및 C22:6 n-3(430 mg/g)이었다.

[0119] PTA-10208 샘플 #3.

[0120] ATCC 수탁 번호 PTA-10208 하에 기탁된 미생물로부터의 원유의 샘플(샘플 PTA-10208 #3)을 HPLC/ELSD/MS를 사용하여 분석하였다. 지질의 총 98.38%가 회수되었으며, 이때 스테롤 에스터(SE) 분획은 0.32%를 차지하고, TAG 분획은 96.13%를 차지하며, 1,3-다이아실글리세롤(DAG) 분획은 0.22%를 차지하고, 1,2-DAG 분획은 0.78%를 차지하고, 스테롤 분획은 0.93%를 차지하였다.

## 표 2

PTA-10208 바이오매스 및 추출된 조 지질의 지방산 프로파일(mg/g)

	샘플 #1 바이오매스 (mg/g)	샘플 #1 조 지질 (mg/g)	샘플 #2 바이오매스 (mg/g)	샘플 #2 조 지질 (mg/g)	샘플 #1 바이오매스 (mg/g)	샘플 #1 조 지질 (mg/g)	샘플 #2 바이오매스 (mg/g)	샘플 #2 조 지질 (mg/g)
지방산	FAME	FAME	FAME	FAME	지방산	FAME	FAME	FAME
C12:0	1.47	2.43	1.80	3.14	C22:0	0.10	0.00	0.08
C14:0	11.62	20.12	16.72	31.03	C20:4 n-7	0.81	0.45	0.67
C14:1	0.00	0.00	0.00	0.00	C20:4 n-6	7.22	12.23	6.84
C15:0	2.43	3.75	3.60	6.22	C22:1 n-9	0.00	0.00	0.00
C16:0	105.04	182.47	117.72	217.49	C20:4 n-5	0.63	0.52	0.00
C16:1	0.00	0.00	0.06	0.01	C20:4 n-3	3.45	5.45	3.33
C18:0	5.37	8.96	4.77	8.37	C20:3 n-3	0.09	0.00	0.11
C18:1 n-9	0.00	3.26	0.00	3.09	C20:5 n-3	107.31	186.83	92.99
C18:1 n-7	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:4 n-9	0.00	0.00	0.00
C18:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	C24:0	0.60	0.00	0.52
C20:0	1.48	1.79	1.40	1.85	C24:1 n-9	1.55	3.26	0.85
C18:3 n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:5 n-6	9.66	15.84	10.27
C20:1 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:5 n-3	20.44	35.13	9.92
C18:4 n-3	0.91	1.61	1.10	2.00	C22:6 n-3	246.98	423.10	245.96
C20:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	FAME의 합 (mg/g)	527.15	907.18	518.71
C20:3 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00				

[0121]

## 표 3

PTA-10208 바이오매스 및 추출된 조지질의 지방산 프로파일(%)

지방산	샘플 #1 바이오매스		샘플 #1 조지질		샘플 #2 바이오매斯		샘플 #2 조지질		지방산	샘플 #1 바이오매스		샘플 #1 조지질		샘플 #2 바이오매스		샘플 #2 조지질	
	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME		% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME
C12:0	0.28	0.27	0.35	0.33	C22:0	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C14:0	2.20	2.22	3.22	3.29	C20:4 n-7	0.15	0.05	0.13	0.13	0.13	0.13	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
C14:1	0.00	0.00	0.00	0.00	C20:4 n-6 ARA	1.37	1.35	1.32	1.29	1.32	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29
C15:0	0.46	0.41	0.69	0.66	C22:1 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C16:0	19.93	20.11	22.70	23.07	C20:4 n-5	0.12	0.06	0.00	0.05	0.00	0.00	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
C16:1	0.00	0.00	0.01	0.00	C20:4 n-3	0.65	0.60	0.64	0.64	0.64	0.64	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
C18:0	1.02	0.99	0.92	0.89	C20:3 n-3	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:1 n-9	0.00	0.36	0.00	0.33	C20:5 n-3 EPA	20.36	20.59	17.93	17.96	17.96	17.96	17.96	17.96	17.96	17.96	17.96	17.96
C18:1 n-7	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:4 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	C24:0	0.11	0.00	0.10	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:0	0.28	0.20	0.27	0.20	C24:1 n-9	0.29	0.36	0.16	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
C18:3 n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:5 n-6	1.83	1.75	1.98	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91	1.91
C20:1 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:5 n-3	3.88	3.87	1.91	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86	1.86
C18:4 n-3	0.17	0.18	0.21	0.21	C22:6 n-3 DHA	46.85	46.64	47.42	47.10	47.10	47.10	47.10	47.10	47.10	47.10	47.10	47.10
C20:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	FAME의 합 %	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
C20:3 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00													

[0122]

## 표 4

PTA-10208 단리된 TAG의 지방산 프로파일

지방산	샘플 #1		샘플 #1		샘플 #2		샘플 #2		지방산	샘플 #1		샘플 #1		샘플 #2		샘플 #2	
	FAME (mg/g)	% FAME	FAME (mg/g)	% FAME	FAME (mg/g)	% FAME	FAME (mg/g)	% FAME		FAME (mg/g)	% FAME						
C12:0	2.57	0.27	3.35	0.36	C22:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C14:0	21.07	2.23	31.37	3.41	미지	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C14:1	0.00	0.00	0.00	0.00	C20:4 n-7	0.39	0.04	0.05	0.01	0.39	0.04	0.05	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
C15:0	3.89	0.41	6.17	0.67	C20:3 n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C16:0	189.28	20.07	218.78	23.75	C20:4 n-6 ARA	12.79	1.36	11.82	1.28	12.79	1.36	11.82	1.28	12.79	1.36	11.82	1.28
C16:1	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:1 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:0	9.21	0.98	8.07	0.88	C20:4 n-5	0.39	0.04	0.07	0.01	0.39	0.04	0.07	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:1 n-9	3.35	0.36	3.64	0.40	C20:4 n-3	5.52	0.59	5.09	0.55	5.52	0.59	5.09	0.55	5.52	0.59	5.09	0.55
C18:1 n-7	0.00	0.00	0.00	0.00	C20:5 n-3 EPA	197.14	20.90	166.68	18.10	197.14	20.90	166.68	18.10	197.14	20.90	166.68	18.10
C18:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	C24:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:0	1.86	0.20	1.55	0.17	C22:4 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C18:3 n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	C24:1 n-9	1.08	0.11	<0.1	<0.1	1.08	0.11	<0.1	<0.1	1.08	0.11	<0.1	<0.1
C20:1 n-9	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:5 n-6	15.88	1.68	16.57	1.80	15.88	1.68	16.57	1.80	15.88	1.68	16.57	1.80
C18:4 n-3	1.64	0.17	2.00	0.22	C22:5 n-3	36.05	3.82	16.00	1.74	36.05	3.82	16.00	1.74	36.05	3.82	16.00	1.74
C20:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	C22:6 n-3 DHA	440.99	46.76	429.83	46.67	440.99	46.76	429.83	46.67	440.99	46.76	429.83	46.67
C20:3 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	FAME의 합 (mg/g)	943.11	-	921.03	-	943.11	-	921.03	-	943.11	-	921.03	-

[0123]

실시예 3

[0124]

원유를 실시예 1 및 2에 나열된 과정들에 따라서 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 고 올레산 해바라기유("HOSO")와 추가로 블렌딩하여 약 400 mg/g 오일 이상의 배합된 DHA + EPA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 전형적인 특징을 표 5에 나열한다.

## 표 13

약 400 mg/g 오일 이상의 배합된 DHA + EPA 함량을 갖는 최종 오일의 특징		
화학적 특징	명세	결과
DHA 함량 mg/g 오일	최소 240	255
EPA 함량 mg/g 오일	최소 120	155
DHA + EPA 함량 mg/g 오일	최소 400	411
과산화물가 meq/kg	최대 5.0	0.4
안시딘가	최대 20	<1
유리 지방산%	최대 0.25	0.1
수분 및 휘발성 물질%	최대 0.02	<0.01
비비누화 물질%	최대 4.5	0.9
트랜스-지방산%	최대 1	<1
원소 조성		
비소 ppm	최대 0.1	<0.1
카드뮴 ppm	최대 0.1	<0.1
구리 ppm	최대 0.05	<0.02
철 ppm	최대 0.2	0.0
납 ppm	최대 0.1	<0.1
수은 ppm	최대 0.04	<0.01

[0126]

[0127] 상기 오일 중에 함유된 다른 성분들은 1200 ppm의 해바라기 레시틴; 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 2000 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 300 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 2000 ppm의 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(Tocoblend)(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 첨가된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 1100 ppm을 포함한다)로부터, 및 상기 오일에 첨가된 상기 3000 ppm의 TAP 1010 선 중에 함유된 혼합된 토코페롤로부터 나왔다. TAP 1010 선은 300 ppm의 아스코르빌 팔미테이트, 300 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 1200 ppm의 해바라기 레시틴을 제공하였다.

[0128]

실시예 4

[0129]

해바라기 레시틴, 로즈마리 추출물, 혼합된 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트를 함유하는 최종 오일

[0130]

원유를 실시예 1 및 2에 나열된 과정에 따라 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 500 mg/g 오일 이상의 배합된 DHA + EPA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 전형적인 특징을 표 6에 나열한다.

## 표 14

약 500 mg/g 오일 이상의 배합된 DHA + EPA 함량을 갖는 최종 오일의 특징	
화학적 특징	
DHA 함량 mg/g 오일	최소 320
EPA 함량 mg/g 오일	최소 130
DHA + EPA 함량 mg/g 오일	최소 500
과산화물가 meq/kg	최대 5.0
안시던가	최대 20
유리 지방산%	최대 0.25
수분 및 휘발성 물질%	최대 0.02
비비누화 물질%	최대 4.5
트랜스-지방산%	최대 1
원소 조성	
비소 ppm	최대 0.1
카드뮴 ppm	최대 0.1
구리 ppm	최대 0.05
철 ppm	최대 0.2
납 ppm	최대 0.1
수은 ppm	최대 0.04

[0131]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 1600 ppm의 해바라기 레시틴; 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 2400 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 2400 ppm의 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 2000 ppm의 첨가된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다)로부터, 및 상기 오일에 첨가된 상기 4000 ppm의 TAP 1010 선 중에 함유된 혼합된 토코페롤로부터 나왔다. TAP 1010 선은 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트, 400 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 1600 ppm의 해바라기 레시틴을 제공하였다.

[0133]

실시예 5

[0134]

로즈마리 추출물, 혼합된 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트를 함유하는 최종 오일

[0135]

원유를 실시예 1 및 2에 나열된 과정에 따라 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 500 mg/g 오일 이상의 배합된 DHA + EPA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 특징은 표 6에 나열된 특징들과 유사하다.

[0136]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 3000 ppm의 로즈마리 추출물; 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다) 및 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.

[0137]

실시예 6

[0138]

실시예 4 및 5에 따른 최종 오일들의 효능; 비린내/바닷내(냄새); 및 비린/바다 방향족 물질(맛)을 비교하였다. 본 비교의 결과를 표 7에 나열한다.

[0139]

상기 효능은 하기 프로토콜 AOCS Ce 1b-89(변형된 것)를 통해 획득되었다. 바다/비린내(냄새) 및 비린/바다 방향족 화합물(맛) 관능가들을 관능 평가 기법에 개시된 바와 같은 방법에 따라 측정하였다(문헌[Meilgaard et al., CRC Press; 4 edition(December 13, 2006)]). 8 내지 18 명의 경험자 패널이 실시예 4 및 5에 따른 최종 오일 샘플을 맛 보고/보거나 냄새 맡는다. 이들 경험자는 각각 상기 샘플의 값을 측정한다. 그 후에 모든 값을 산술적으로 평균하고 결과를 다음 수로 반올림하거나 내린다.  $\geq 1.5$  비린내/바닷내 및  $\geq 2.5$  비린/바다 방향족 화합물의 값을 일반 대중에 의해 지각될 수 있는 것으로 예상된다.

[0140]

실시예 4a-d 및 5의 각각의 최종 오일을, 25 mm 천연 폴리 플러그 삽입물(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이티드(Elemental Container Inc.), 부품 번호 024PLUG)을 갖는 100 g 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이티드, 부품 번호 MC 12532)에 패키징하고 25 °C에서 보관하였다.

표 15

	시간 (개월)	실시예 4a	실시예 4b	실시예 4c	실시예 4d	실시예 4a-d의 평균	실시예 5
DHA 효능 (mg/g)	0	359	354	382	348	361	360
	3	372	365	394	346	369	362
EPA 효능 (mg/g)	0	199	213	179	158	187	178
	3	202	218	184	160	191	162
비린내/바닷내	0	1	0	0	1	1	0
	1	2	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	2	1	1
	3	1	1	1	3	2	1
	4	2	1	1	2	2	1
	5	2	1	2	2	2	2
비린/바다 방향족 물질	0	1	0	0	1	1	0
	1	2	1	1	1	1	0
	2	2	1	2	2	2	1
	3	1	2	2	3	2	1
	4	2	2	1	3	2	2
	5	3	2	2	3	3	3

[0141]

## [0142] 실시예 7

원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 공정들을 통해 쉬조기트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 상기 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 350 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 전형적인 특징을 표 8에 나열한다.

표 16

약 350 mg/g 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일의 특징	
지방산	농도(wt/wt)
14:0	6%-12%
16:0	18%-28%
18:0	최대 2%
18:1	최대 8%
18:2	최대 2%
20:4 ARA	최대 2%
20:5 EPA	최대 3%
22:5n-6 DPA	12%-18%
22:6 DHA	최소 35%
기타	최대 10%
원소 조성	
비소	최대 0.2 ppm
구리	최대 0.05 ppm
철	최대 0.2 ppm
납	최대 0.1 ppm
수은	최대 0.04 ppm
화학적 특징	
과산화물가	최대 5 meq/kg
유리 지방산	최대 0.25%
수분 및 휘발성 물질	최대 0.05%
비비누화 물질	최대 4.5%
트랜스 지방산	최대 1%

[0144]

## [0145] 실시예 7a

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 상류 가공 도중 첨가된 900 ppm의 혼합된 토코페롤을 포함한다. 상

기 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0147] 실시예 7b

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 상류 가공 도중 첨가된 900 ppm의 혼합된 토코페롤; 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트; 및 2800 ppm의 대두 레시틴을 포함한다. 상기 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0149] 실시예 7c

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 상류 가공 도중 첨가된 900 ppm의 혼합된 토코페롤; 750 ppm의 아스코르빌 팔미테이트; 및 2800 ppm의 대두 레시틴을 포함한다. 상기 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0151] 실시예 7d

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 3500 ppm의 로즈마리 추출물; 1400 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 50 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함한다)은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0153] 실시예 7e

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 3500 ppm의 로즈마리 추출물; 1400 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 750 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함한다)은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0155] 실시예 7f

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 3500 ppm의 로즈마리 추출물; 3400 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 50 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함한다)은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0157] 실시예 7g

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 3500 ppm의 로즈마리 추출물; 3400 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 750 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함한다)은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0159] 실시예 7h

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함한다)을 포함하며, 상기 토코페롤을, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다.

[0161] 실시예 7i

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 500 ppm의 로즈마리 추출물; 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 50 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.

[0163] 실시예 7j

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 500 ppm의 로즈마리 추출물; 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 750 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.

[0165] 실시예 7k

- [0166] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 500 ppm의 로즈마리 추출물; 3400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 50 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.
- [0167] 실시예 7L
- [0168] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 500 ppm의 로즈마리 추출물; 3400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 750 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.
- [0169] 실시예 7m
- [0170] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2800 ppm의 대두 레시틴; 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 2400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.
- [0171] 실시예 8
- [0172] 로즈마리 추출물 및 혼합된 토코페롤을 함유하는 최종 오일.
- [0173] 원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 공정들을 통해 쉬조키트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 상기 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 350 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 오일의 특징은 표 8에 나열된 특징들과 유사하다.
- [0174] 실시예 8a
- [0175] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 3400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 500 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 9는 아스코르빌 팔미테이트 또는 레시틴을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

## 표 17

성분	양: 하기와 함께 96.1% 지방	
4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포함하는 오일	ARA	20:4 n-6
	EPA	20:5 n-3
	DPA	22:5 n-6
	DPA	22:5 n-3
	DHA	22:6 n-3
전체 약 65.01 중량%		
토코페롤	3,400 ppm	
로즈마리 추출물	500 ppm	
고 올레산	7.8%	

[0176]

[0177]

실시예 8b

[0178]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 1400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 3500 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 10은 아스코르빌 팔미테이트 또는 레시틴을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

표 18

성분	양: 하기와 함께 96.7% 지방	
4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포함하는 오일	ARA	20:4 n-6 1.06%
	EPA	20:5 n-3 1.12%
	DPA	22:5 n-6 17.46%
	DPA	22:5 n-3 0.57%
	DHA	22:6 n-3 44.46%
	전체 약 64.67 중량%	
토코페롤	1,400 ppm	
로즈마리 추출물	3,500 ppm	
고 올레산	7.8%	

[0179]

실시예 8c

[0181]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 3400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 3500 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 11은 아스코르빌 팔미테이트 또는 레시틴을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

표 19

성분	양: 하기와 함께 95.3% 지방	
4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포함하는 오일	ARA	20:4 n-6 1.07%
	EPA	20:5 n-3 1.10%
	DPA	22:5 n-6 17.55%
	DPA	22:5 n-3 0.57%
	DHA	22:6 n-3 44.70%
	전체 약 64.99 중량%	
토코페롤	3,400 ppm	
로즈마리 추출물	3,500 ppm	
고 올레산	7.5%	

[0182]

실시예 8d

[0184]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 2000 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 12는 아스코르빌 팔미테이트 또는 레시틴을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

표 20

성분	양: 하기와 함께 95.9% 지방	
4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포함하는 오일	ARA	20:4 n-6 1.06%
	EPA	20:5 n-3 1.09%
	DPA	22:5 n-6 17.49%
	DPA	22:5 n-3 0.56%
	DHA	22:6 n-3 44.51%
	전체 약 64.71 중량%	
토코페롤	2,400 ppm	
로즈마리 추출물	2,000 ppm	
고 올레산	7.8%	

[0185]

[0186]

실시예 8e

[0187]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 0 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 13은 아스코르빌 팔미테이트, 레시틴 또는 로즈마리 추출물을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

## 표 21

성분 4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포 함하는 오일	양: 하기와 함께 95.8% 지방		
	ARA	20:4 n-6	1.06%
	EPA	20:5 n-3	1.09%
	DPA	22:5 n-6	17.47%
	DPA	22:5 n-3	0.56%
	DHA	22:6 n-3	44.48%
	전체 약 64.66 중량%		
토코페롤	2,400 ppm		
로즈마리 추출물	0 ppm		
고 올레산	8.0%		

[0188]

실시예 8f

[0189]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 900 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가되었으며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 2000 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 14는 아스코르빌 팔미테이트 또는 레시틴을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

## 표 22

성분 4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포 함하는 오일	양: 하기와 함께 96.6% 지방		
	ARA	20:4 n-6	1.06%
	EPA	20:5 n-3	1.09%
	DPA	22:5 n-6	17.48%
	DPA	22:5 n-3	0.57%
	DHA	22:6 n-3	44.51%
	전체 약 64.71 중량%		
토코페롤	900 ppm		
로즈마리 추출물	2,000 ppm		
고 올레산	8.0%		

[0190]

실시예 8g

[0191]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 도중 첨가된 900 ppm을 포함하며, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있다); 및 2000 ppm의 로즈마리 추출물을 포함한다. 표 15는 아스코르빌 팔미테이트 또는 레시틴을 함유하지 않는 본 실시예에 따른 오일을 요약한다.

## 표 23

성분 4 내지 6 개의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 하나 이상의 C <sub>18-22</sub> 다중불포화된 지방산을 포 함하는 오일	양: 하기와 함께 97.2% 지방	
	ARA	20:4 n-6
	EPA	20:5 n-3
	DPA	22:5 n-6
	DPA	22:5 n-3
	DHA	22:6 n-3
	전체 약 64.64 중량%	
토코페롤	2,400 ppm	
로즈마리 추출물	2,000 ppm	
고 올레산	7.8%	

[0194]

실시예 9

[0196] [표 16a]

실시예	바닷내/비린내 관능가	랜시매트가
8a	1.4 @ 6 Mths RT	5.6
8b	0.9 @ 8 Mths RT	5.3
8c	1.2 @ 8 Mths RT	5.8
8d	1.2 @ 6 Mths RT	5.5
8e	1.3 @ 6 Mths RT	4.1
8f	1.3 @ 7 Mths RT	4.1
8g	1.4 @ 6 Mths RT	5.2

[0197]

[표 16b]

	시간 (개월)	실시예 7a	실시예 7b	실시예 7c	실시예 7d	실시예 7e	실시예 7f	실시예 7g	실시예 7h	실시예 7i	실시예 7j	실시예 7k
DHA 효능 (mg/g)	0	427	370	371	368	368	365	375	428	368	365	366
	6	438	368	368	360	368	368	370	425	368	371	377
비린내/ 바닷내	0	0.3	1.0	0.8	0.8	0.3	0.8	0.3	0.5	1.4	0.5	1.4
	1	0.3	1.6	0.7	0.8	1.3	1.1	1.1	0.3	1.8	1.3	1.9
	2	0.6	1.4	0.5	1.2	1.0	1.0	1.2	0.7	1.7	1.1	1.6
	3	1.2	1.6	1.7	1.6	1.7	1.8	1.8	1.1	2.3	1.7	2.3
	4	1.6	1.9	1.1	1.7	1.6	1.5	1.9	1.6	2.2	1.4	2.2
	5	1.5	1.9	1.2	1.8	1.7	2.0	1.6	1.1	2.2	2.2	2.3
	6	1.5	1.9	1.2	2.3	2.1	2.5	2.0	1.6	2.3	2.2	2.5
	7	1.8	2.2	1.7	2.1	2.1	2.0	2.2	1.6	2.4	2.2	2.5
	8	-	2.2	1.5	2.1	2.2	2.2	2.2	1.8	2.9	2.5	2.6
비린/바다 방향족 물질	0	0.7	1.3	1.2	0.9	0.6	0.9	0.5	0.7	1.7	0.9	1.4
	1	0.7	2.5	1.1	1.1	1.2	1.1	1.4	0.6	2.3	1.4	2.5
	2	1.2	2.1	0.7	1.5	1.1	1.1	1.7	1.1	2.2	1.4	2.1
	3	1.6	2.4	2.4	1.9	2.1	2.1	2.1	1.6	2.8	2.1	2.8
	4	2.0	2.4	1.5	2.0	2.1	1.9	2.2	1.9	2.9	2.3	3.0
	5	2.0	2.4	1.5	2.2	2.1	2.4	2.1	1.6	2.9	2.6	2.8
	6	2.2	2.5	1.8	2.7	2.6	-	2.4	2.2	3.1	2.7	3.2
	7	2.5	2.8	1.9	2.6	2.4	2.6	2.5	2.4	3.1	2.6	3.2
	8	-	2.7	1.5	2.6	2.8	3.0	2.5	2.6	3.8	3.0	3.4

[0199]

[0200]

[표 16c]

	시간 (개월)	실시예 7L	실시예 7m(i)	실시예 7m(ii)	실시예 7m(iii)	실시예 8a	실시예 8b	실시예 8c	실시예 8d	실시예 8e	실시예 8f	실시예 8g
DHA 효능 (mg/g)	0	363	364	377	373	430	430	426	427	426	430	432
	6	365	367	368	370	430	425	430	432	429	425	430
비린내/ 바닷내	0	0.4	0.6	0.3	0.6	0.5	0.3	0.2	0.5	0.3	0.3	0.2
	1	1.0	1.2	0.9	0.8	0.4	0.5	0.5	0.5	0.3	0.5	0.3
	2	1.3	0.8	1.0	0.9	0.6	0.7	0.6	0.6	0.3	0.7	0.5
	3	1.8	1.7	1.5	1.3	1.2	0.8	1.0	1.0	0.8	0.8	1.0
	4	2.0	1.7	1.4	1.5	1.4	1.2	1.1	1.2	1.3	1.3	1.1
	5	1.8	1.7	1.8	1.6	1.3	1.0	1.1	1.0	0.8	1.0	1.1
	6	2.3	2.5	2.2	1.7	1.4	1.3	1.2	1.3	1.3	1.4	1.4
	7	2.0	2.1	1.9	2.0	1.7	1.2	1.4	1.5	1.6	1.4	1.5
	8	2.5	2.5	-	2.3	2.9	0.9	1.2	1.9	1.7	1.6	-
	9	-	-	-	-	-	1.3	1.9	-	-	1.8	-
비린내/바다 방향족 물질	0	0.7	0.8	0.5	0.8	0.8	0.5	0.4	0.6	0.5	0.5	0.5
	1	1.3	1.3	1.2	1.0	0.8	0.6	0.5	0.6	0.6	0.6	0.5
	2	1.5	1.2	1.1	1.2	1.1	0.8	0.7	0.8	0.7	0.8	1.0
	3	2.3	2.1	1.9	1.9	1.5	0.9	1.2	1.2	1.5	1.0	1.2
	4	2.4	-	2.1	-	1.9	1.3	1.5	1.4	1.7	1.4	1.3
	5	2.4	2.2	2.2	2.2	1.8	1.4	1.4	1.5	1.3	1.3	1.6
	6	2.8	-	-	-	2.1	1.4	1.5	1.5	1.9	1.6	1.8
	7	2.7	-	2.5	-	2.1	1.4	1.7	1.7	2.3	1.9	2.1
	8	3.0	3.0	-	2.9	3.1	1.3	1.9	2.4	2.4	2.1	-
	9	-	-	-	-	-	1.9	2.5	-	-	2.3	-

[0201]

[0202]

상기 랜시매트가를 90 °C에서 작동하는 랜시매트 장치를 사용하여, 10 L/시간의 기류 설정으로 오일 안정성에 대한 표준 시험(AOCS Cd 12b-92)에 의해 측정한다. 효능을 하기의 프로토콜 AOCS Ce 1b-89(변형된 것)를 통해 획득하였다. 바다/비린내(냄새) 및 비린/바다 방향족 화합물(맛) 관능가들을 판능 평가 기법에 개시된 바와 같은 방법에 따라 측정하였다(문헌[Meilgaard et al., CRC Press; 4 edition(December 13, 2006)]). 8 내지 18 명의 경험자 패널이 실시예 7a 내지 7m 및 8a 내지 8g에 따른 최종 오일 샘플을 맛 보고/보거나 냄새 맡는다. 이들 경험자는 각각 상기 샘플의 값을 측정한다. 그 후에 모든 값을 산술적으로 평균하고 결과를 다음 수로 반올림하거나 내린다. ≥1.5 비린내/바닷내 및 ≥2.5 비린/바다 방향족 화합물의 값은 일반 대중에 의해 지각될 수 있는 것으로 예상된다.

[0203]

실시예 7a 내지 7m 및 8a 내지 8g의 최종 오일을 모델 AGV 멀티백(멀티백 제프 하겐뮐러 GmbH & Co. KG) 상에서 진공 하에서 패키징되고 이어서 N<sub>2</sub>하에서 가열 밀봉되는 나일론/호일/PE 저밀도 폴리에틸렌 주머니에 패키징하고 실온(25 °C)에서 보관한다.

[0204]

실시예 10

[0205]

해바라기 레시틴, 로즈마리 추출물, 혼합된 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트를 함유하는 최종 오일

[0206]

원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 과정을 통해 쉬조키트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 350 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 전형적인 특징을 표 17에 나열한다.

## 표 25

약 350 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일의 특징	
화학적 특징	
DHA 함량 mg/g 오일	최소 350
과산화물기 meq/kg	최대 5.0
안시딘가	최대 20
유리 지방산%	최대 0.25
수분 및 휘발성 물질%	최대 0.05
비비누화 물질%	최대 4.5
트랜스-지방산%	최대 1
원소 조성	
비소 ppm	최대 0.1
카드뮴 ppm	최대 0.1
구리 ppm	최대 0.05
철 ppm	최대 0.2
납 ppm	최대 0.1
수은 ppm	최대 0.04

[0207]

[0208] 실시예 10a 내지 10e

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 1600 ppm의 해바라기 레시틴; 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 2400 ppm의 혼합된 토코페롤; 및 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다. 상기 2400 ppm의 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 2000 ppm의 첨가된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다)로부터, 및 상기 오일에 첨가된 상기 4000 ppm의 TAP 1010 선 중에 함유된 혼합된 토코페롤로부터 나왔다. TAP 1010 선은 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트, 400 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 1600 ppm의 해바라기 레시틴을 제공하였다.

[0210]

실시예 11

[0211] 로즈마리 추출물, 혼합된 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트를 함유하는 최종 오일

[0212]

원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 과정을 통해 쉬조키트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 400 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 특징은 표 17에 나열된 특징들과 유사하다.

[0213]

실시예 11a 및 11b

[0214]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 3000 ppm의 로즈마리 추출물; 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다) 및 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.

[0215]

실시예 12

[0216]

실시예 10a 내지 10e 및 11a 및 11b에 따른 최종 오일들의 효능; 비린내/바닷내(냄새); 및 비린/바다 방향족 물질(맛)을 비교하였다. 본 비교의 결과를 표 18에 나열한다.

[0217]

상기 효능은 하기 프로토콜 AOCS Ce 1b-89(변형된 것)를 통해 획득되었다. 바다/비린내(냄새) 및 비린/바다 방향족 화합물(맛) 관능가들을 관능 평가 기법에 개시된 바와 같은 방법에 따라 측정하였다(문헌[Meilgaard et al., CRC Press; 4 edition(December 13, 2006)]). 8 내지 18 명의 경험자 패널이 실시예 10a 내지 10e 및 11a 및 11b에 따른 최종 오일 샘플을 맛 보고/보거나 냄새 맡는다. 이를 경험자는 각각 상기 샘플의 값을 측정한다. 그 후에 모든 값을 산술적으로 평균하고 결과를 다음 수로 반올림하거나 내린다.  $\geq 1.5$  비린내/바닷내 및  $\geq 2.5$  비린/바다 방향족 화합물의 값은 일반 대중에 의해 지각될 수 있는 것으로 예상된다.

[0218]

실시예 10a 내지 10d 및 11a의 각각의 최종 오일을, 25 mm 천연 폴리 플러그 삽입물(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이티드, 부품 번호 024PLUG)을 갖는 100 g 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이

이티드, 부품 번호 MC 12532)에 패키징하고 25 °C에서 보관하였다.

[0219] 실시예 10e 및 11b의 각각의 최종 오일을 저밀도 폴리에틸렌(LDPE)을 안에 탠 300 g 가열-밀봉된 나일론-호일 주머니(해리티지 패키징에 의해 제조됨)에 패키징하고 실온(25 °C)에서 보관하였다.

### 표 27

	시간 (개월)	실시예 10a	실시예 10b	실시예 10c	실시예 10d	실시예 10a-d의 평균	실시예 10e	실시예 11a	실시예 11b
DHA 효능 (mg/g)	0	354	364	363	371	363	421	416	420
	3	355	356	354	366	358	418	417	419
비린내/바닷내	0	1	0	0	1	1	0	1	0
	1	2	1	1	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	2	1	1	1	1
	3	1	1	1	3	2	2	2	1
비린/바다 방향족 물질	0	1	0	0	1	1	1	1	0
	1	2	1	1	1	1	2	2	1
	2	2	1	2	2	2	1	2	1
	3	1	2	2	3	2	2	2	2

[0220]

실시예 13

해바라기 레시틴, 로즈마리 추출물, 혼합된 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트를 함유하는 최종 오일

[0223] 원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 과정을 통해 쉬조키트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 400 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 전형적인 특징을 표 19에 나열한다.

### 표 28

약 400 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일의 특징	
화학적 특징	
DHA 함량 mg/g 오일	최소 400
과산화물가 meq/kg	최대 5.0
안시딘가	최대 20
유리 지방산%	최대 0.25
수분 및 휘발성 물질%	최대 0.05
비비누화 물질%	최대 4.0
트랜스-지방산%	최대 1
원소 조성	
비소 ppm	최대 0.1
카드뮴 ppm	최대 0.1
구리 ppm	최대 0.05
철 ppm	최대 0.2
납 ppm	최대 0.1
수은 ppm	최대 0.04

[0224]

[0225] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 2400 ppm의 혼합된 토코페롤; 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트; 및 1600 ppm의 해바라기 레시틴을 포함한다. 상기 2400 ppm의 혼합된 토코페롤은, 예를 들어 비타블랜드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블랜드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 2000 ppm의 첨가된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다)로부터, 및 상기 오일에 첨가된 상기 4000 ppm의 TAP 1010 선 중에 함유된 혼합된 토코페롤로부터 나왔다. TAP 1010 선은 400 ppm의 아스코르빌 팔미테이트, 400 ppm의 혼합된 토코페롤, 및 1600 ppm의 해바라기 레시틴을 제공하였다.

[0226]

실시예 14

- [0227] 로즈마리 추출물, 혼합된 토코페롤, 및 아스코르빌 팔미테이트를 함유하는 최종 오일
- [0228] 원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 과정을 통해 쉬조키트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을 HOSO와 추가로 블렌딩하여 약 400 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 특징은 표 19에 나열된 특징들과 유사하다.
- [0229] 실시예 14a
- [0230] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다) 및 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.
- [0231] 실시예 14b 및 14c
- [0232] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 3000 ppm의 로즈마리 추출물; 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다) 및 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.
- [0233] 실시예 14d
- [0234] 상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은 5000 ppm의 로즈마리 추출물; 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다) 및 250 ppm의 아스코르빌 팔미테이트를 포함한다.
- [0235] 실시예 15
- [0236] 유기 로즈마리 추출물 및 혼합된 토코페롤을 함유하는 최종 오일
- [0237] 원유를, 예를 들어 국제 공보 제 WO 91/007498 호, 제 WO 94/08467 호, 제 WO 03/105606 호, 및 제 WO 2011/153246 호에 개시된 과정을 통해 쉬조키트리움 종으로부터 수득할 수 있다. 원유를 정제, 표백 및 탈취를 통해 추가로 가공하여 정제된 오일을 수득할 수 있다. 정제된 오일을, 예를 들어 아담스 베지터블스 오일스 인 코포레이티드(Adams Vegetables Oils, Inc.)(미국 캘리포니아주 알부클 소재)로부터 입수할 수 있는 유기 HOSO 와 추가로 블렌딩하여 약 400 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일을 성취할 수 있다. 본 실시예에 따른 최종 오일의 전형적인 특징을 표 20에 나열한다.

## 표 29

약 400 mg/g 오일 이상의 DHA 함량을 갖는 최종 오일의 특징	
화학적 특징	
DHA 함량 mg/g 오일	최소 400
과산화물가 meq/kg	최대 5.0
안시딘가	최대 20
유리 지방산%	최대 0.25
수분 및 휘발성 물질%	최대 0.02
비비누화 물질%	최대 4.0
트랜스-지방산%	최대 1
원소 조성	
비소 ppm	최대 0.1
카드뮴 ppm	최대 0.1
구리 ppm	최대 0.05
철 ppm	최대 0.2
납 ppm	최대 0.1
수은 ppm	최대 0.04

[0238]

[0239]

실시예 15a

[0240]

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은, 예를 들어 비티바(Vitiba)(슬로베니아 말코비치 소재)로부터 상표

명 이놀렌스(Inolens)(등록상표) 4 오가닉으로, 및 나투렉스(Naturex)(프랑스 아비뇽 소재)로부터 상표명 오가닉 스타빌인핸스(StabilEnhance)(등록상표) OSR-4로 입수할 수 있는 750 ppm의 로즈마리 추출물; 및 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 1700 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다)을 포함한다.

[0241] 실시예 15b

상기 최종 오일 중에 함유된 다른 성분들은, 예를 들어 비티바(슬로베니아 말코비치 소재)로부터 상표명 이놀렌스(등록상표) 4 오가닉으로, 및 나투렉스(프랑스 아비뇽 소재)로부터 상표명 오가닉 스타빌인핸스(등록상표) OSR-4로 입수할 수 있는 2000 ppm의 로즈마리 추출물; 및 예를 들어 비타블렌드(네덜란드 볼베가 소재)로부터 상표명 토코블렌드(상표) L70으로 입수할 수 있는, 2400 ppm의 혼합된 토코페롤(상류 가공 중 첨가된 900 ppm을 포함한다)을 포함한다.

[0243] 실시예 16

[0244] 실시예 13, 14 및 15에 따른 최종 오일들의 효능; 비린내/바닷내(냄새); 및 비린/바다 방향족 물질(맛)을 비교하였다. 본 비교의 결과를 표 21에 나열한다.

[0245] 상기 효능은 하기 프로토콜 AOCS Ce 1b-89(변형된 것)를 통해 획득되었다. 바다/비린내(냄새) 및 비린/바다 방향족 화합물(맛) 관능가들을 관능 평가 기법에 개시된 바와 같은 방법에 따라 측정하였다(문헌[Meilgaard et al., CRC Press; 4 edition(December 13, 2006)]). 8 내지 18 명의 경험자 패널이 실시예 13, 14 및 15에 따른 최종 오일 샘플을 맛 보고/보거나 냄새 맡는다. 이들 경험자는 각각 상기 샘플의 값을 측정한다. 그 후에 모든 값을 산술적으로 평균하고 결과를 다음 수로 반올림하거나 내린다. ≥1.5 비린내/바닷내 및 ≥2.5 비린/바다 방향족 화합물의 값은 일반 대중에 의해 지각될 수 있는 것으로 예상된다.

[0246] 실시예 13 및 14a 내지 14d의 각각의 최종 오일을 저밀도 폴리에틸렌(LDPE)을 안에 댄 300 g 가열-밀봉된 나일론-호일 주머니(헤리티지 패키징에 의해 제조됨)에 패키징하고 실온(25 °C)에서 보관하였다.

[0247] 실시예 15a 및 15b의 각각의 최종 오일을, 25 mm 천연 폴리 플러그 삽입물(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이티드, 부품 번호 024PLUG)을 갖는 100 g 에폭시-페놀을 안에 댄 알루미늄 용기(엘레멘탈 컨테이너 인코포레이티드, 부품 번호 MC 12532)에 패키징하고 25 °C에서 보관하였다.

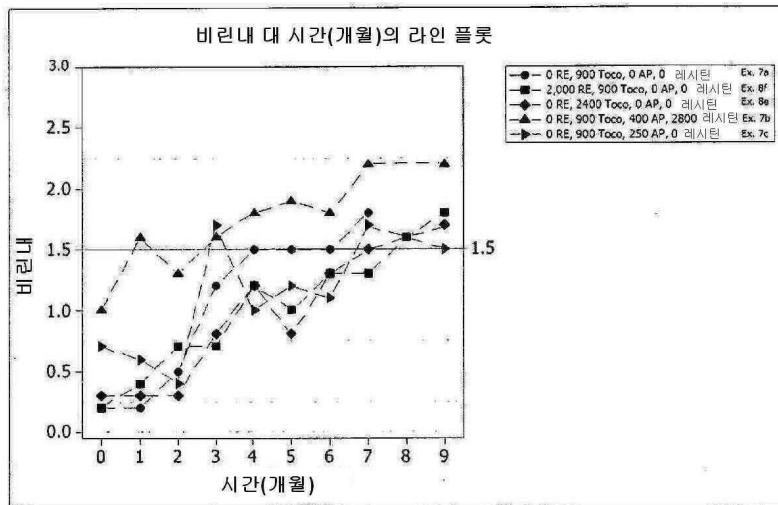
## 표 30

	시간 (개월)	실시예 13	실시예 14a	실시예 14b	실시예 14c	실시예 14d	실시예 15a	실시예 15b
DHA 효능 (mg/g)	0	420	420	425	423	426	439	423
	3	421	419	415	416	420	428	428
비린내/바닷내	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	1	0	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	-	-
	3	2	2	2	2	1	-	-
	4	2	2	1	2	2	-	-
비린/바다 방향족 물질	5	2	2	2	2	2	-	-
	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	2	2
	2	2	1	1	1	1	-	-
	3	2	2	3	2	2	-	-
	4	3	2	2	2	2	-	-
	5	3	2	3	2	2	-	-

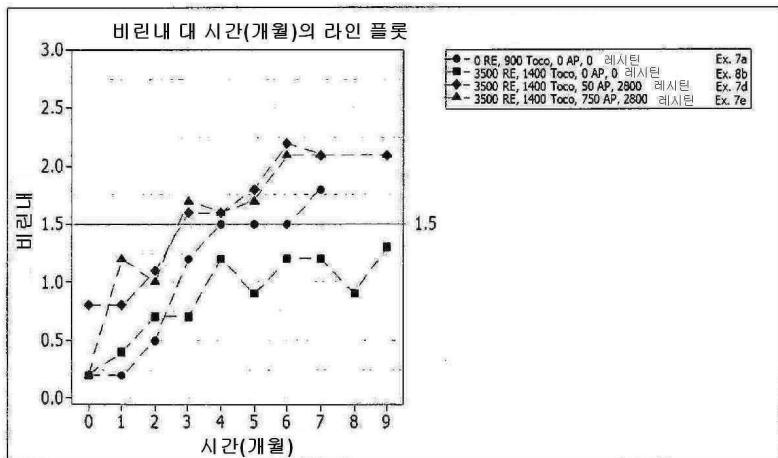
[0248]

## 도면

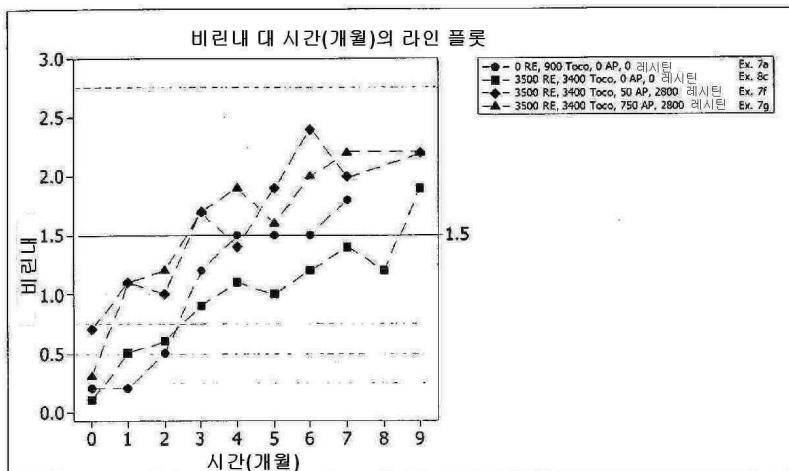
### 도면1



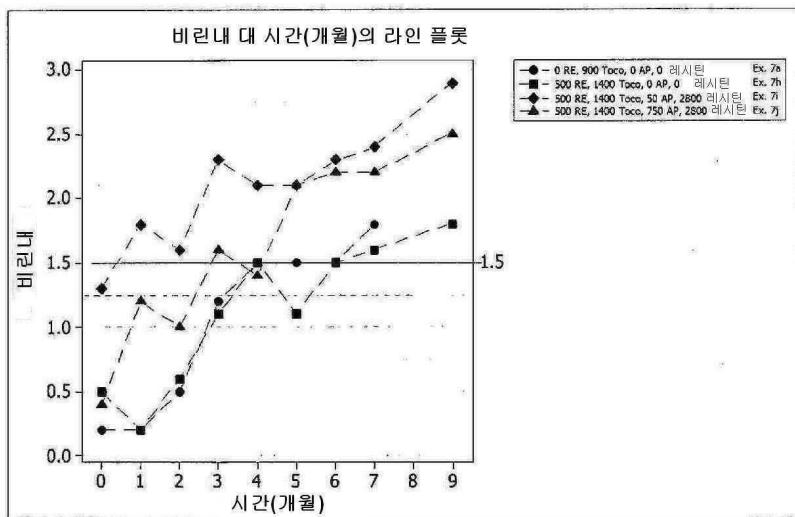
### 도면2



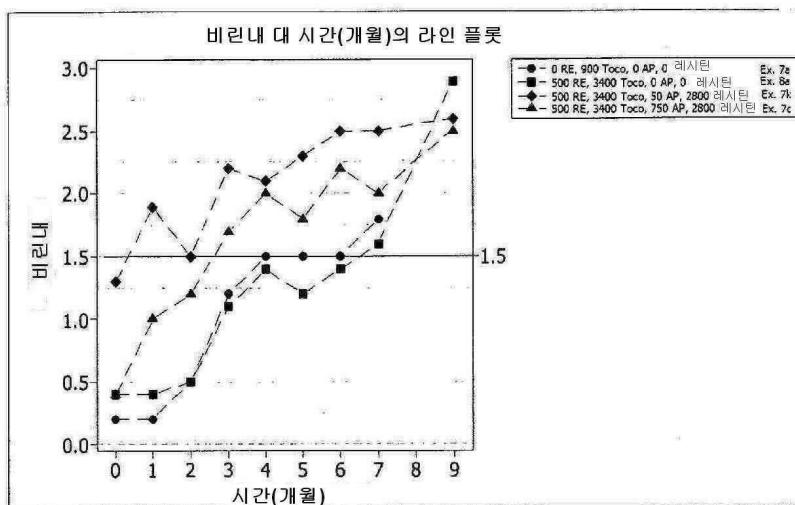
### 도면3



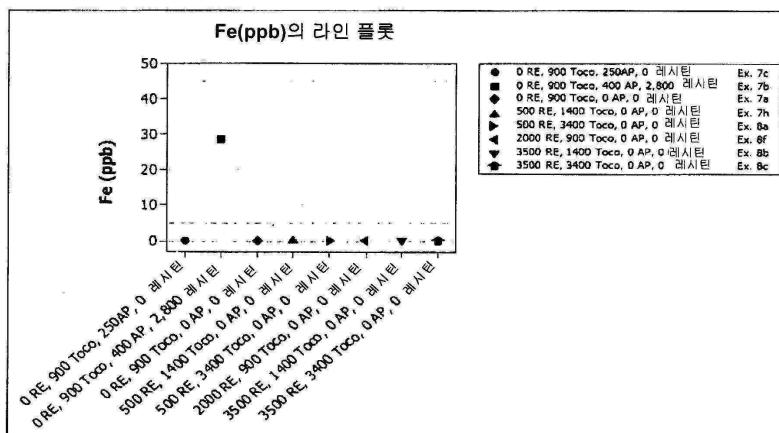
## 도면4



## 도면5



## 도면6



## 도면7

