



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108289470 A

(43)申请公布日 2018.07.17

(21)申请号 201680071077.5

M·L·斯特凡诺

(22)申请日 2016.10.05

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

(30)优先权数据

代理人 封新琴

62/237,320 2015.10.05 US

(51)Int.Cl.

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A23D 9/02(2006.01)

2018.06.04

C11B 3/12(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/055599 2016.10.05

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/062523 EN 2017.04.13

(71)申请人 帝斯曼知识产权资产管理有限公司

地址 荷兰海尔伦

(72)发明人 J·捷克 C·卢伊加特 M·牛津

R·普罗佩雷西

E·雷耶斯-苏亚雷斯 A·罗尔

权利要求书3页 说明书23页

(54)发明名称

油组合物和制备方法

(57)摘要

本发明涉及富集多不饱和脂肪酸的油组合物;包含所述富集油组合物的组合物;以及制备和使用所述富集油组合物的方法。油优选为微生物油或海洋油。

1. 分离和浓缩包含多不饱和脂肪酸的酯的油的方法,所述方法包括:使所述油经受至少一个蒸馏步骤,其中第一蒸馏步骤包括将所述油进料到至少一个蒸馏设备;和使所述油经受除去馏出物中的低沸点化合物的条件。

2. 权利要求1的方法,其中第二蒸馏步骤包括使所述油经受将一种长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)的至少一部分与第二LC-PUFA的至少一部分分离的条件。

3. 权利要求2的方法,其中第三蒸馏步骤包括使所述油经受将一种长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)的至少另外的部分与第二LC-PUFA分离的条件。

4. 权利要求2或3的方法,其中所述一种LC-PUFA是二十碳五烯酸(EPA)。

5. 权利要求2至4任一项的方法,其中所述第二LC-PUFA是二十二碳六烯酸(DHA)。

6. 前述权利要求任一项的方法,其中所述蒸馏步骤包括短程蒸馏,分馏,降膜式蒸发器,刮膜式蒸发器,或其组合。

7. 前述权利要求任一项的方法,其中所述第一蒸馏步骤中的设备是短程蒸馏柱。

8. 前述权利要求任一项的方法,其中所述第一蒸馏步骤中的设备是分馏柱。

9. 权利要求2至8任一项的方法,其中所述第二蒸馏步骤中的设备包括短程蒸馏柱或分馏柱。

10. 前述权利要求任一项的方法,其中在第一蒸馏步骤的馏出物中除去至少一部分的二十碳五烯酸(EPA)。

11. 权利要求10的方法,其中在所述馏出物中除去至少5%的EPA。

12. 权利要求11的方法,其中在所述馏出物中除去至少10%的EPA。

13. 前述权利要求任一项的方法,其中至少一种LC-PUFA以至少约50%的量从第二LC-PUFA分离。

14. 前述权利要求任一项的方法,其中在所述油中至少一种LC-PUFA的wt%增加至少约20wt%,与在起始油中的至少一种LC-PUFA的wt%相比。

15. 前述权利要求任一项的方法,其中所述油包含至少约70%的所需PUFA。

16. 前述权利要求任一项的方法,其中所述油包含至少约80%的所需PUFA。

17. 前述权利要求任一项的方法,其中所述油包含至少约90%的所需PUFA。

18. 前述权利要求任一项的方法,其中所述LC-PUFA是 Ω -3脂肪酸, Ω -6脂肪酸,及其组合。

19. 前述权利要求任一项的方法,其中所述LC-PUFA是花生四烯酸(ARA),二十碳五烯酸(EPA),二十二碳六烯酸(DHA),及其组合。

20. 前述权利要求任一项的方法,其中所述油是微生物油或海洋油。

21. 权利要求20的方法,其中所述油是微生物油。

22. 权利要求21的方法,其中所述油已经由微生物产生,其中所述微生物选自微藻、细菌、真菌和原生生物。

23. 权利要求22的方法,其中所述微生物是微藻。

24. 权利要求23的方法,其中所述微藻属于隐甲藻(Cryptochodinium)属。

25. 权利要求24的方法,其中所述微藻属于寇氏隐甲藻(Cryptochodinium cohnii)种。

26. 权利要求23的方法,其中所述微藻属于破囊壶菌(Thraustochytrium)属。

27. 权利要求26的方法,其中所述微藻属于裂殖壶菌(Schizochytrium sp.)种。

28. 权利要求22的方法,其中所述微生物是真菌。
29. 权利要求28的方法,其中所述微生物属于被孢霉 (*Mortierella*) 属。
30. 权利要求29的方法,其中所述微生物属于高山被孢霉 (*Mortierella alpina*) 种。
31. 前述权利要求任一项的方法,其中所述油的异构体值不大于1重量%。
32. 前述权利要求任一项的方法,其中所述油由遗传修饰的生物体产生。
33. 前述权利要求任一项的方法,其进一步包括使所述油进行酯交换,以将所述油中的所述酯馏分的至少一部分转化为甘油三酸酯馏分。
34. 通过前述权利要求任一项的方法产生的油。
35. 包含酯馏分的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的至少约70重量%是DHA,所述酯馏分中脂肪的约0.5重量%至约5重量%是DPA n-3。
36. 权利要求35的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的小于约5重量%是EPA。
37. 权利要求36的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是EPA。
38. 包含酯馏分的油,其中至少所述酯馏分中脂肪酸的约70重量%是DHA,所述酯馏分中脂肪酸的约3重量%至约13重量%是DPA n-3和DPA n-6。
39. 权利要求38的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的约1重量%至约5重量%是DPA n-3。
40. 权利要求38或权利要求39的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的约2重量%至约8重量%是DPA n-6。
41. 权利要求38-40中任一项的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的小于约5重量%是EPA。
42. 权利要求41的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是EPA。
43. 权利要求38-42中任一项的油,其中所述酯馏分占所述油的至少约70%。
44. 包含酯馏分的油,其中所述酯馏分的DHA含量为至少约70重量%,DHA的量为所述酯馏分中总 Ω -3脂肪酸的至少约65重量%。
45. 权利要求44的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的至少约8重量%是EPA。
46. 权利要求45的油,其中EPA的量为所述酯馏分中总 Ω -3脂肪酸的至少约2重量%。
47. 包含酯馏分的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的至少约65重量%是DHA,所述酯馏分中脂肪酸的至少约15重量%是EPA。
48. 权利要求47的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是DPA n-3。
49. 包含酯馏分的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的至少约50重量%是DHA,所述酯馏分中脂肪酸的至少约35重量%是EPA。
50. 权利要求49的油,其中所述酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是DPA n-3。
51. 权利要求47-50中任一项的油,其中所述酯馏分占所述油的至少约70重量%。
52. 包含酯馏分的油,其中所述酯馏分的二十二碳六烯酸 (DHA) 和二十碳五烯酸 (EPA) 含量为脂肪酸总量的至少约90重量%,其中所述酯馏分的EPA含量小于脂肪酸总量的约5重量%。
53. 权利要求52的油,其中所述酯馏分的EPA含量小于约1重量%。
54. 权利要求52或权利要求53的油,其中所述酯馏分的EPA含量小于约0.5重量%。
55. 权利要求52-54中任一项的油,其中所述酯馏分占所述油的至少约70重量%。

56. 包含酯馏分的油, 其中所述酯馏分的二十二碳六烯酸 (DHA) 和二十碳五烯酸 (EPA) 含量为脂肪酸总量的至少约90重量%, 其中所述酯馏分的DHA含量小于脂肪酸总量的约5重量%。

57. 权利要求56的油, 其中所述酯馏分的DHA含量小于约1重量%。

58. 权利要求56或权利要求57的油, 其中所述酯馏分的DHA含量小于约0.5重量%。

59. 权利要求35-58中任一项的油, 其中所述酯馏分占所述油的至少约70重量%。

60. 权利要求35-59中任一项的油, 其中所述油是微生物油或海洋油。

61. 权利要求35-60中任一项的油, 其中所述油是微生物油。

62. 权利要求61的油, 其中所述油已经由微生物产生, 其中所述微生物选自微藻、细菌、真菌和原生生物。

63. 权利要求62的油, 其中所述微生物是微藻。

64. 权利要求63的油, 其中所述微藻属于隐甲藻 (*Cryptochodinium*) 属。

65. 权利要求64的油, 其中所述微藻属于寇氏隐甲藻 (*Cryptochodinium cohnii*) 种。

66. 权利要求63的油, 其中所述微藻属于破囊壶菌 (*Thraustochytrium*) 属。

67. 权利要求63的油, 其中所述微藻属于裂殖壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 种。

68. 权利要求62的油, 其中所述微生物是真菌。

69. 权利要求68的油, 其中所述微生物属于被孢霉属 (*Mortierella*) 属。

70. 权利要求69的油, 其中所述微生物属于高山被孢霉 (*Mortierella alpina*) 种。

71. 权利要求35-70中任一项的油, 其中所述油的异构体值不大于1wt%。

72. 权利要求35-71中任一项的油, 其中使所述油进行酯交换, 以将所述油中的所述酯馏分的至少一部分转化为甘油三酸酯馏分。

73. 权利要求35-72中任一项的油, 其中所述油由遗传修饰的生物体产生。

74. 通过权利要求1-32中任一项的方法制备的权利要求35-73中任一项的油。

75. 用于非人类或人类的食品、化妆品或药物组合物, 其包含权利要求35-74中任一项的油。

76. 权利要求75的食品, 其中所述食品是奶, 饮料, 治疗性饮品, 营养性饮品, 或其组合。

77. 权利要求76的食品, 其中所述食品是婴儿配方奶粉。

78. 权利要求76的食品, 其中所述食品是膳食补充剂。

油组合物和制备方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年10月5日提交的美国临时专利申请号62/237,320的申请日权益,其公开内容完全并入本申请以作参考。

技术领域

[0003] 本申请公开了富集多不饱和脂肪酸的油组合物;包含该油组合物的组合物;以及制备和使用该油组合物的方法。油优选为微生物油或海洋油。

背景技术

[0004] 脂肪酸根据碳链的长度和饱和特征分类。脂肪酸根据链中存在的碳数称为短链、中链、或长链脂肪酸,当在碳原子之间不存在双键或三键时称为饱和脂肪酸,当存在双键或三键时称为不饱和脂肪酸。当仅存在一个双键或三键时,不饱和长链脂肪酸是单不饱和的,当存在多于一个双键或三键时,不饱和长链脂肪酸是多不饱和的。

[0005] 多不饱和脂肪酸(PUFA)根据从脂肪酸的甲基端起的第一个双键的位置分类; Ω -3(n-3)脂肪酸在从甲基端起的第三个碳处包含第一个双键,而 Ω -6(n-6)脂肪酸在第六个碳处包含第一个双键。例如,二十二碳六烯酸("DHA")是链长度为22个碳且具有6个双键的 Ω -3长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA),通常称为"22:6n-3"。其它 Ω -3LC-PUFA包括二十碳五烯酸("EPA"),称为"20:5n-3"; Ω -3二十二碳五烯酸("DPA n-3"),称为"22:5n-3"。 Ω -6LC-PUFA包括花生四烯酸("ARA"),称为"20:4n-6"; Ω -6二十二碳五烯酸("DPA n-6"),称为"22:5n-6"。

[0006] Ω -3脂肪酸是生物学重要的分子,其由于存在于细胞膜中而影响细胞生理学,调节具有生物活性的化合物的产生和基因表达,且用作生物合成底物。Roche, H.M., Proc.Nutr.Soc.58:397-401 (1999)。例如,DHA占形成人类大脑皮层中脂质的脂肪酸的约15%-20%、占形成视网膜中脂质的脂肪酸的30%-60%,集中在睾丸和精子,并且是母乳的重要组分。Bergé, J.P., and Barnathan, G.. Adv.Biochem.Eng.Biotechnol.96:49-125 (2005)。DHA占大脑中 Ω -3脂肪酸的多达97%,占视网膜中 Ω -3脂肪酸的多达93%。此外,DHA对于胎儿和婴儿的发育以及维持成人的认知功能两者都是必不可少的。Id.由于 Ω -3脂肪酸在人体内无法重新合成,这些脂肪酸必须源自营养来源。但是, Ω -3脂肪酸的来源可能在制得的LC-PUFA的特性和量上有所不同。因此,一直需要含有高含量具有所需LC-PUFA组成的LC-PUFA的 Ω -3脂肪酸来源,以及需要包含较高浓度LC-PUFA的油。已经表明之前的浓缩方法需要许多步骤来达到所需的浓度水平,导致方法低效,同时通常无法获得所需的LC-PUFA含量或组成。其它已知的方法是昂贵和耗时的。此外,之前的浓缩方法并未提供在一个连续方法中得到所需的LC-PUFA含量和组成的分离和浓缩的方法。发明人已经出乎意料地发现,分离和浓缩包含多不饱和脂肪酸的油以制得具有较高浓度LC-PUFA的所需LC-PUFA组成的方法相比于之前的方法较为廉价且耗时较少。

发明内容

[0007] 本发明涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约70重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中脂肪酸的约0.5重量%至约5重量%是二十二碳五烯酸n-3(DPA n-3)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的小于约5重量%是二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是EPA。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约2重量%至约8重量%是DPA n-6。在一些实施方式中,酯馏分占油的至少约70重量%。

[0008] 本发明涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约70重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中脂肪酸的约3重量%至约13重量%是二十二碳五烯酸n-3(DPA n-3)和二十二碳五烯酸n-6(DPA n-6)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约1重量%至约5重量%是DPA n-3。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约2重量%至约8重量%是DPA n-6。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的小于约5重量%是二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是EPA。在一些实施方式中,酯馏分占油的至少约70重量%。

[0009] 本发明还涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约70重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中DHA的量为酯馏分中总 Ω -3脂肪酸的至少约65重量%。在一种实施方式中,酯馏分中脂肪酸的至少约8重量%是EPA。在一些实施方式中,酯馏分中EPA的量为酯馏分中总 Ω -3脂肪酸的至少约2重量%。

[0010] 本发明还涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约20重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中脂肪酸的至少约20重量%是二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是DPA n-3。

[0011] 本发明还涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约30重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中脂肪酸的至少约30重量%是二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是DPA n-3。

[0012] 本发明还涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约65重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中脂肪酸的至少约15重量%是二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是DPA n-3。

[0013] 本发明还涉及包含酯馏分的油,其中酯馏分中脂肪酸的至少约50重量%是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中脂肪酸的至少约25重量%是二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,酯馏分中脂肪酸的约0.1重量%至约5重量%是DPA n-3。

[0014] 本发明还涉及分离和浓缩包含多不饱和脂肪酸酯的油的方法,所述方法包括使油经受至少一个蒸馏步骤,其中第一蒸馏步骤包括将油进料到至少一个设备,和使油经受除去馏出物中的低沸点化合物的条件。

[0015] 在一些实施方式中,油是微生物油或海洋油。

[0016] 在一些实施方式中,油是由微生物产生的微生物油。在一些实施方式中,微生物选自微藻,细菌,真菌和原生生物。

[0017] 本发明涉及包含本发明油的食物、补充剂、或药物组合物。

具体实施方式

[0018] 在阅读了以下具体实施方式之后,本领域技术人员可以更容易理解本发明的特征和优势。应该知道,为了清楚,在单独实施方式内容中上述和下述的本发明的某些特征可以组合以形成其子组合。

[0019] 本申请指定为示例性的实施方式意在说明而非限制。

[0020] 在本说明书和所附权利要求中,将参考多个术语,将其定义为具有以下含义:

[0021] 除非本申请另外说明或明显与上下文矛盾,否则本申请认为在描述本发明的内容中(尤其是在所附权利要求的内容中)使用术语“一个”和“一种”和“这个”和类似指示代词涵盖了单数和复数两者。除非另有说明,否则认为术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”未开放式术语(即,表示“包括但不限于”)。除非本申请另外说明,否则本申请数值的范围的记载仅意在用作独立提及落入范围内的各单个数值的速记法,并且每个单个数值都并入到说明书中,如同本申请已经单独记载了它们一样。

[0022] 本申请公开了包含多不饱和脂肪酸的富集油组合物;包含富集油组合物的组合物;以及制备和使用富集油组合物的方法。

[0023] 多不饱和脂肪酸(PUFA)根据从脂肪酸的甲基端数的第一个双键的位置分类; Ω -3(n -3)脂肪酸在从甲基端数的第三个碳处包含第一个双键,而 Ω -6(n -6)脂肪酸在第六个碳处包含第一个双键。例如,二十二碳六烯酸(DHA)是链长度为22个碳且具有6个双键的 Ω -3长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA),通常称为“22:6 n -3”。在一种实施方式中,PUFA选自 Ω -3脂肪酸, Ω -6脂肪酸,及其混合物。在另一种实施方式中,PUFA选自二十二碳六烯酸(DHA),二十碳五烯酸(EPA),二十二碳五烯酸(DPA),花生四烯酸(ARA), γ -亚麻酸(GLA),二高- γ -亚麻酸(DGLA),十八碳四烯酸(SDA),及其混合物。在另一种实施方式中,PUFA选自DHA,DPA,EPA,及其混合物。在另一种实施方式中,PUFA是DHA。在进一步的实施方式中,PUFA是DPA。再在进一步的实施方式中,PUFA是EPA。

[0024] 在一些实施方式中,油包含一种或多种PUFA。在一些实施方式中,油包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、或至少约99%的PUFA。在优选的实施方式中,PUFA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,PUFA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,PUFA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0025] 在一种实施方式中,油包含至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99重量%的DHA。在优选的实施方式中,DHA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DHA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DHA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0026] 在一些实施方式中,油包含约3%至约13%、约4%至约12%、约5%至约11%、约6%至约10%、或约7%至约9%的DPA n -3和DPA n -6。在优选的实施方式中,DPA n -3和DPA n -6是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DPA n -3和DPA n -6的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DPA n -3和DPA n -6的重量%是酯馏分中

脂肪酸的重量%。

[0027] 在一些实施方式中,油包含约0.5%至约5%、约1%至约5%、或约3%至约4%的DPA n-3。在优选的实施方式中,DPA n-3是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DPA n-3的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DPA n-3的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0028] 在一些实施方式中,油包含约2%至约8%、约3%至约7%、或约4%至约6%的DPA n-6。在优选的实施方式中,DPA n-6是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DPA n-6的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DPA n-6的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0029] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的EPA。在优选的实施方式中,EPA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,EPA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,EPA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0030] 在一些实施方式中,油包含约0.1%至约5%、约0.5%至约3%、或约1%至约2%的EPA。在优选的实施方式中,EPA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,EPA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,EPA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0031] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的ARA。在优选的实施方式中,ARA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,ARA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,ARA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0032] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的GLA。在优选的实施方式中,GLA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,GLA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,GLA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0033] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的DGLA。在优选的实施方式中,DGLA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DGLA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DGLA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0034] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的SDA。在优选的实施方式中,SDA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,SDA的重量%是油的重量%。在优选的实施方式中,SDA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0035] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的具有大于22个碳原子的多不饱和脂肪酸(极长链PUFA)。在一些实施方式中,极长链PUFA是7,10,13,16,19,22,25二十八碳八烯酸(octacosaoctanoic acid) (C28:8)。在优选的实施方式中,油包含0%的7,10,13,16,19,22,25二十八碳八烯酸(C28:8)。在优选的实施方式中,极长链PUFA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,极长链PUFA的重量%是油的重

量%。在优选的实施方式中,极长链PUFA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0036] 在一种实施方式中,油包含至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%的EPA。在优选的实施方式中,EPA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,EPA的重量%是油的重量%。在优选的实施方式中,EPA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0037] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的DHA。在优选的实施方式中,DHA是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DHA的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DHA的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0038] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的DPA n-3和DPA n-6。在优选的实施方式中,DPA n-3和DPA n-6是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DPA n-3和DPA n-6的重量%是油的重量%。在优选的实施方式中,DPA n-3和DPA n-6的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0039] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的DPA n-3。在优选的实施方式中,DPA n-3是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DPA n-3的重量%是油的重量%。在更优选的实施方式中,DPA n-3的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0040] 在一些实施方式中,油包含小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2.5%、小于约2%、小于约2%、小于约1.5%、小于约1%、或小于约0.5%的DPA n-6。在优选的实施方式中,DPA n-6是酯形式。在更优选的实施方式中,酯是乙酯。在优选的实施方式中,DPA n-6的重量%是油的重量%。在优选的实施方式中,DPA n-6的重量%是酯馏分中脂肪酸的重量%。

[0041] 在一些实施方式中,油包含酯馏分,其中酯馏分中至少约50重量%、至少约55重量%、至少约60重量%、至少约65重量%、至少约70重量%、至少约75重量%、至少约80重量%、至少约85重量%、至少约90重量%、至少约91重量%、至少约92重量%、至少约93重量%、至少约94重量%、至少约95重量%、至少约96重量%、至少约97重量%、至少约98重量%、或至少约99重量%的脂肪酸是二十二碳六烯酸(DHA),酯馏分中DHA是量为至少约65重量%,至少约70重量%,至少约75重量%,至少约80重量%,至少约85重量%,至少约90重量%,基于酯馏分中的总 Ω -3脂肪酸。在一些实施方式中,酯馏分中至少约8重量%、至少约10重量%、至少约15重量%、至少约20重量%、至少约35重量%、至少约40重量%的脂肪酸是EPA。在一些实施方式中,酯馏分中EPA的量为至少约2重量%,至少约3重量%,至少约4重量%,至少约5重量%,至少约10重量%,至少约15重量%,至少约20重量%,至少约25重量%,基于酯馏分中的总 Ω -3脂肪酸。

[0042] 在一些实施方式中,油包含酯馏分,其占油的至少约50重量%,至少约55重量%,至少约60重量%,至少约65重量%,至少约70重量%,至少约75重量%,至少约80重量%,至少约85重量%,至少约90重量%,至少约91重量%,至少约92重量%,至少约93重量%,至少

约94重量%，至少约95重量%，至少约96重量%，至少约97重量%，至少约98重量%，或至少约99重量%。在一些实施方式中，酯馏分中至少约70重量%、至少约75重量%、至少约80重量%、至少约85重量%、至少约90重量%、至少约91重量%、至少约92重量%、至少约93重量%、至少约94重量%、至少约95重量%、至少约96重量%、至少约97重量%、至少约98重量%、或至少约99重量%的脂肪酸是DHA。在一些实施方式中，酯馏分中约0.5重量%至约5重量%、约1重量%至约5重量%、或约3重量%至约4重量%的脂肪酸是DPA n-3。

[0043] 在一些实施方式中，酯馏分中至少约80重量%、至少约85重量%、至少约90重量%、至少约91重量%、至少约92重量%、至少约93重量%、至少约94重量%、至少约95重量%、至少约96重量%、至少约97重量%、至少约98重量%或至少约99重量%的脂肪酸是DHA和DPA n-3。

[0044] 在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA含量是酯馏分中脂肪酸的DHA和DPA含量的至少约80重量%，至少约85重量%，至少约90重量%，至少约91重量%，至少约92重量%，至少约93重量%，至少约94重量%，至少约95重量%，至少约96重量%，至少约97重量%，至少约98重量%或至少约99重量%。

[0045] 在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DPA n-3含量为酯馏分中脂肪酸的DHA和DPA n-3含量的约0.5%至约5%，约1%至约5%，或约3%至约4%。

[0046] 在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA、DPA n-3和DPA n-6含量为至少约80%，至少约85%，至少约90%，至少约91%，至少约92%，至少约93%，至少约94%，至少约95%，至少约96%，至少约97%，至少约98%或至少约99%，基于酯馏分中脂肪酸的总量。

[0047] 在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA含量是酯馏分中脂肪酸的DHA、DPA n-3和DPA n-6含量的至少约80%，至少约85%，至少约90%，至少约91%，至少约92%，至少约93%，至少约94%，至少约95%，至少约96%，至少约97%，至少约98%或至少约99%。

[0048] 在优选的实施方式中，酯馏分是乙酯。

[0049] 在一种实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA和EPA含量为至少约80%，至少约85%，至少约90%，至少约91%，至少约92%，至少约93%，至少约94%，至少约95%，至少约96%，至少约97%，至少约98%或至少约99%，基于酯馏分中脂肪酸的总量。在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA含量的量为至少约80重量%，至少约85重量%，至少约90重量%，至少约91重量%，至少约92重量%，至少约93重量%，至少约94重量%，至少约95重量%，至少约96重量%，至少约97重量%，至少约98重量%或至少约99重量%，基于酯馏分中脂肪酸的总量。在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的EPA含量为小于约5%，小于约4%，小于约3%，小于约2.5%，小于约2%，小于约2%，小于约1.5%，小于约1%，或小于约0.5%，基于酯馏分中脂肪酸总量。在优选的实施方式中，酯馏分是乙酯。

[0050] 在一种实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA和EPA含量为至少约80%，至少约85%，至少约90%，至少约91%，至少约92%，至少约93%，至少约94%，至少约95%，至少约96%，至少约97%，至少约98%或至少约99%，基于酯馏分中脂肪酸的总量。在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的EPA含量为至少约80重量%，至少约85重量%，至少约90重量%，至少约91重量%，至少约92重量%，至少约93重量%，至少约94重量%，至少约95重量%，至少约96重量%，至少约97重量%，至少约98重量%或至少约99重量%，基于脂肪酸的总量。在一些实施方式中，酯馏分中脂肪酸的DHA含量为小于约5%，小于约4%，小于约3%，小于约

2.5%，小于约2%，小于约2%，小于约1.5%，小于约1%，或小于约0.5%，基于酯馏分中脂肪酸的总量。在优选的实施方式中，酯馏分是乙酯。

[0051] 在一些实施方式中，油的总异构体值小于5%，小于4.5%，小于4%，小于3.5%，小于3%，小于2.5%，小于2%，小于1.5%，小于1%，小于0.5%，小于0.1%，或0%。

[0052] 在一些实施方式中，油的EPA异构体值小于5%，小于4.5%，小于4%，小于3.5%，小于3%，小于2.5%，小于2%，小于1.5%，小于1%，小于0.5%，小于0.1%，或0%。

[0053] 在一些实施方式中，油的DHA异构体值小于5%，小于4.5%，小于4%，小于3.5%，小于3%，小于2.5%，小于2%，小于1.5%，小于1%，小于0.5%，小于0.1%，或0%。

[0054] 在一些实施方式中，对于每克油，油中DHA的量为约100mg至约300mg，约100mg至约600mg，约100mg至约800mg，约100mg至约900mg，约100mg至约950-mg，约800至约950mg，或0至约100mg。

[0055] 在一些实施方式中，对于每克油，油中EPA的量为约100mg至约300mg，约100mg至约600mg，约100mg至约800mg，约100mg至约900mg，约100mg至约950mg，约800至约950mg，或0至约100mg。

[0056] 在一些实施方式中，油是微生物油或海洋油。

[0057] 由微生物产生的或得自微生物细胞的油称为“微生物油”。由藻类和/或真菌产生的油分别称为海藻油和/或真菌油。

[0058] 如本申请使用，“微生物”是指诸如藻类、细菌、真菌、原生生物、酵母的生物体及其组合，例如，单细胞生物体。微生物包括但不限于，金藻（例如，不等鞭毛（Stramenopiles）界的微生物）；绿藻；硅藻；双鞭毛藻（例如，沟鞭藻（Dinophyceae）目的微生物，包括隐甲藻（Cryptothecodinium）属的成员，例如，寇氏隐甲藻（Cryptothecodinium cohnii或C.cohnii）；破囊壶菌（Thraustochytriales）目的微藻；酵母（子囊菌（Ascomycetes）或担子菌（Basidiomycetes））；和毛霉（Mucor）属、被孢霉（Mortierella）属的真菌，包括但不限于高山被孢霉（Mortierella alpina）和Mortierella sect.schmuckeri，和腐霉菌（Pythium），包括但不限于隐丝敌腐霉（Pythium insidiosum）。

[0059] 在一种实施方式中，微生物来自被孢霉（Mortierella）属，隐甲藻（Cryptothecodinium）属，破囊壶菌（Thraustochytrium）属，及其混合物。在进一步的实施方式中，微生物来自寇氏隐甲藻（Cryptothecodinium Cohnii）。在进一步的实施方式中，微生物来自高山被孢霉（Mortierella alpina）。再在进一步的实施方式中，微生物来自裂殖壶菌（Schizochytrium sp.）。甚至再在进一步的实施方式中，微生物选自寇氏隐甲藻（Cryptothecodinium Cohnii），高山被孢霉（Mortierella alpina），裂殖壶菌（Schizochytrium sp.），及其混合物。

[0060] 再在进一步的实施方式中，微生物包括但不限于，属于被孢霉（Mortierella）属，耳霉（Conidiobolus）属，腐霉（Pythium）属，疫霉（Phytophthora）属，青霉（Penicillium）属，枝孢（Cladosporium）属，毛霉（Mucor）属，镰刀霉（Fusarium）属，曲霉（Aspergillus）属，红酵母（Rhodotorula）属，虫霉（Entomophthora）属，包裹菌（Echinosporangium）属，和水霉（Saprolegnia）属的微生物。

[0061] 在甚至进一步的实施方式中，微生物来自破囊壶菌（Thraustochytriales）目的微藻，其包括但不限于，破囊壶菌（Thraustochytrium）属（种包括破囊壶菌（arudimentale），

补血草(aureum),benthicola,深红红酵母(globosum),kinnei,动孢破囊壶菌(motivum),多增殖性破囊壶菌(multirudimentale),厚皮破囊壶菌(pachydermum),proliferum,roseum,纹带棒破囊壶菌(striatum));裂殖壶菌(Schizochytrium)属(种包括聚合裂殖壶菌(aggregatum),limnaceum,mangrovei,小裂殖壶菌(minutum),octosporum);吾肯氏壶菌(Ulkenia)属(种包括amoeboidea,keruelensis,minuta,嗜温吾肯氏壶菌(profunda),星状吾肯氏壶菌(radiate),sailens,沙氏吾肯氏壶菌(sarkariana),schizochytrids,visurgensis,yorkensis);Aurantiaochytrium属;Oblongichytrium属;Sicyoidochytrium属;Parientichytrium属;Botryochytrium属;及其组合。认为吾肯氏壶菌(Ulkenia)内所述的种是裂殖壶菌(Schizochytrium)属的成员。在另一种实施方式中,微生物来自破囊壶菌(Thraustochytriales)目。再在另一种实施方式中,微生物来自破囊壶菌(Thraustochytrium)。再在进一步的实施方式中,微生物来自裂殖壶菌(Schizochytrium sp.)。

[0062] 在某些实施方式中,油可以包括海洋油。适宜的鱼油的实例包括但不限于,大西洋鱼油,太平洋鱼油,或地中海鱼油,或其任何混合物或组成。在更具体的实例中,适宜的鱼油可以是但不限于,青鳉油(pollack oil),鳕油,沙丁鱼油,罗非鱼油,金枪鱼油,海鲈油,鱼肝油,旗鱼油,梭鱼油,鳕鱼油,鲱鱼油,沙丁鱼油,鳀鱼油,多春鱼油,鲱鱼油,鲭鱼油,金枪鱼油,和鲨鱼油,包括其任何混合物或组合。适用于本申请的其它海洋油包括但不限于,鱿鱼油,乌贼鱼油,章鱼油,磷虾油,海豹油,鲸油等,包括其任何混合物或组合。

[0063] 在一些实施方式中,本申请所述的脂肪酸可以是脂肪酸酯或酯。在一些实施方式中,脂肪酸酯包括 Ω -3脂肪酸的酯, Ω -6脂肪酸的酯,及其组合。在一些实施方式中,脂肪酸酯是DHA酯,EPA酯,或其组合。在一些实施方式中,将本申请所述的油或其馏分酯化以制备包含脂肪酸酯的油或其馏分。术语“酯”是指脂肪酸分子的羧基团中的氢被另一种取代基替代。酯的实例包括甲基酯,乙基酯,丙基酯,丁基酯,戊基酯,叔丁基酯,苄基酯,硝基苄基酯,甲氧基苄基酯,二甲苯基酯,和三氯乙基酯。在一些实施方式中,酯是保护羧酸的酯基团,具有芳烷基(例如,苄基,苯乙基)的酯,具有低级烯基(例如,烯丙基,2-丁烯基)的酯,具有低级烷氧基-低级烷基(例如,甲氧基甲基,2-甲氧基乙基,2-乙氧基乙基)的酯,具有低级烷酰氧基-低级烷基(例如,乙酰氧基甲基,特戊酰氧基甲基,1-特戊酰氧基乙基)的酯,具有低级烷氧基羰基-低级烷基(例如,甲氧基羰基甲基,异丙氧基羰基甲基)的酯,具有羧基-低级烷基(例如,羧基甲基)的酯,具有低级烷氧基羰氧基-低级烷基(例如,1-(乙氧基羰氧基)乙基,1-(环己氧基羰氧基)乙基)的酯,具有氨基甲酰氧基-低级烷基(例如,氨基甲酰氧基甲基)的酯等。在一些实施方式中,增加的取代基是直链或环状的烃基,例如,C1-C6烷基,C1-C6环烷基,C1-C6烯基,或C1-C6芳基酯。在一些实施方式中,酯是烷基酯,例如,甲酯,乙酯或丙酯。在一些实施方式中,当脂肪酸是纯化或半纯化的状态时,将酯取代基添加到游离脂肪酸分子中。

[0064] 脂肪酸酯、特别是多不饱和脂肪酸酯,可以按本领域技术人员已知的方式制备。

[0065] 例如,包含脂肪酸、特别是多不饱和脂肪酸的甘油三酸酯、甘油二酸酯、和/或甘油单酸酯可以与醇在酸或碱的存在下反应,制得酯。公开可见美国专利申请号12/163,555,其作为美国专利申请授权前公开号2009/0023808公布,其全部并入本申请以作参考。

[0066] 醇可以包括,例如,C1-C6烷基醇,例如,乙醇,甲醇,正丙醇,异丙醇,正丁醇,异丁

醇,仲丁醇,叔丁醇,正戊醇,和正己醇。醇可以单独或与助溶剂一起用作反应溶剂或共反应物。醇的量可以为反应混合物的25重量%至50重量%,包括其间的所有数值和子范围,如同已经明确写出。例如,反应混合物中醇的量可以为30重量%,35重量%,40重量%或45重量%,基于反应混合物。

[0067] 碱可以是,例如,金属烷基醇盐。金属烷基醇盐包括乙醇钠,甲醇钠,正丙醇钠,异丙醇钠,正丁醇钠,异丁醇钠,仲丁醇钠,叔丁醇钠,正戊醇钠,正己醇钠,乙醇锂,甲醇锂,正丙醇锂,异丙醇锂,正丁醇锂,异丁醇锂,仲丁醇锂,叔丁醇锂,正戊醇锂,正己醇锂,乙醇钾,甲醇钾,正丙醇钾,异丙醇钾,正丁醇钾,异丁醇钾,仲丁醇钾,叔丁醇钾,正戊醇钾,和/或正己醇钾。

[0068] 在一些情况中,碱可以通过将钠金属、钾金属、或锂金属添加到醇溶液中来制备。

[0069] 在一些情况中,碱可以通过将金属氢化物(例如氢化锂,氢化钠,或氢化钾)添加到醇溶液中来制备。

[0070] 基于重量:重量,碱与油的比率可以为,例如,1:1至1000:1,包括其间的所有数值和子范围,如同已经明确写出。例如,基于重量:重量,碱与油的比率可以为2:1,3:1,4:1,5:1,6:1,7:1,8:1,9:1,10:1,20:1,30:1,40:1,50:1,60:1,70:1,80:1,90:1,100:1,200:1,300:1,400:1,500:1,600:1,700:1,800:1,或900:1。

[0071] 酯化反应可以在以下温度范围内进行:10℃至100℃,包括其间的所有数值和子范围,如同已经明确写出。例如,酯化反应可以在20℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、或90℃进行。

[0072] 酯化反应可以敞开于大气中进行,或者可以在惰性气氛例如氮气或氩气下进行。

[0073] 脂肪酸酯的后处理和分离可以按本领域技术人员已知的方式进行,例如,通过用有机溶剂和/或水萃取进行。有机溶剂可以为,例如,戊烷,己烷,乙醚,乙酸乙酯,或这些的组合。水可以任选包含其它物质,例如碳酸氢钠,碳酸钠,氯化铵和/或稀释的无机酸。

[0074] 在一些实施方式中,将油进行酯交换,以将油中至少一部分酯馏分转化为甘油三酸酯馏分。酯交换、特别是多不饱和脂肪酸酯的酯交换可以按本领域技术人员已知的方式进行。

[0075] 在本发明中,任何浓缩、反应、和/或纯化技术可以与任何其它浓缩、反应、和/或纯化技术组合以制得富集以下物质的微生物油:多不饱和脂肪酸,它们的酯,它们的盐,其醛和/或其醇。富集技术可以按任何顺序和组合使用。

[0076] 在一些实施方式中,本发明是包含本发明油的食物、补充剂、或药物组合物。药物组合物可以包含药学上可接受的载体。

[0077] 在一些实施方式中,组合物是食品。食品是供非人类动物或人类消耗的任何事物,并且包括固体组合物和液体组合物两者。食品可以是动物或人类食物的添加剂。食物包括但不限于,常见食物;液体产品,包括奶,饮料,治疗性饮品,和营养性饮品;功能性食物;补充剂;保健品;婴儿配方奶粉,包括早产婴儿的配方奶粉;怀孕或哺乳妇女的食物;成人的食物;老年人食物;和动物食物。

[0078] 在一些实施方式中,组合物是动物饲料。“动物”包括属于动物界的非人类生物体,并且包括但不限于,水生动物和陆栖动物。术语“动物饲料”或“动物食物”是指意在用于非人类动物的任何食物,或用于鱼;商业鱼;观赏鱼;仔鱼;蚌类;软体动物;甲壳纲动物;贝类

动物;虾;虾苗;丰年虾;轮虫;卤虫;滤食动物;两栖动物;爬行动物;哺乳动物;家养动物;农场动物;动物园动物;运动动物;种畜;竞赛动物;展示动物;传家动物(heirloom animals);稀有或濒危动物;伴侣动物;宠物动物,例如狗,猫,豚鼠,兔子,大鼠,小鼠,或马;灵长目动物,例如猴(例如,悬猴,恒河猴,非洲绿猴,赤猴,食蟹猴,和长尾猴),猿,猩猩,狒狒,长臂猿,和黑猩猩;犬科动物,例如狗和狼;猫科动物,例如猫,狮子,和老虎;马科动物,例如马,驴,和斑马;食用动物,例如奶牛,家畜牛,猪,和羊;有蹄类动物,例如鹿和长颈鹿;或啮齿目动物,例如小鼠,大鼠,仓鼠和豚鼠;以及类似的。动物饲料包括但不限于,水产养殖饲料,家养动物饲料,包括宠物饲料,动物园动物饲料,役畜饲料,家畜饲料,及其组合。

[0079] 在一些实施方式中,组合物是下述任何动物的饲料或饲料补充剂,所述动物的肉或产品由人类消耗,例如源于其的肉、蛋、或奶供人类消耗的任何动物。当喂食给这样的动物时,可以使营养物例如LC-PUFA进入到这些动物的肉体、奶、蛋或其它产品中,以提高这些营养物的含量。

[0080] 本发明还涉及分离和浓缩包含多不饱和脂肪酸酯的油以制备油的方法。

[0081] 在一些实施方式中,方法包括使油经受至少一个蒸馏步骤,其中第一蒸馏步骤包括将油进料到至少一个设备中,和使油经受除去馏出物中低沸点化合物的条件。在优选的实施方式中,除去馏出物中至少一部分的二十碳五烯酸(EPA)。在一些实施方式中,至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%的EPA在第一蒸馏步骤的馏出物中。

[0082] 在一些实施方式中,至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%的一种长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)在第二蒸馏步骤中与第二LC-PUFA分离。在优选的实施方式中,一种LC-PUFA是EPA。在优选的实施方式中,第二LC-PUFA是DHA。在更优选的实施方式中,一种LC-PUFA是EPA,第二LC-PUFA是DHA。

[0083] 在一些实施方式中,至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%的一种长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)在第三蒸馏步骤中与第二LC-PUFA分离。在优选的实施方式中,一种LC-PUFA是EPA。在优选的实施方式中,第二LC-PUFA是DHA。在更优选的实施方式中,一种LC-PUFA是EPA,第二LC-PUFA是DHA。

[0084] 在一些实施方式中,方法包括短程蒸馏,分馏,降膜式蒸发器,刮膜式蒸发器,或其组合。在优选的实施方式中,方法包括分馏。

[0085] 在一些实施方式中,设备是分馏柱。

[0086] 在一些实施方式中,柱包括精馏工段。在一些实施方式中,柱具有至少约1米、至少约2米、或至少约3米的规整填料,具有至少约3-4个、至少约4-5个、至少约5-6个、至少约6-7个、至少约7-8个、至少约8-9个、至少约9-10个、至少约10-11个、至少约11-12个、或至少约12-13个理论阶段。

[0087] 在一些实施方式中,柱附接于真空。在一些实施方式中,在柱顶部的压力小于约4毫巴,小于约3.5毫巴,小于约3毫巴,小于约2.5毫巴,小于约2毫巴,或小于约1.5毫巴。在一些实施方式中,柱的压降小于约10毫巴,小于约9毫巴,小于约8毫巴,小于约7毫巴,小于约6毫巴,小于约5毫巴,小于约4毫巴,或小于约3毫巴。

[0088] 在一些实施方式中,设备是分馏柱或短程蒸馏。在优选的实施方式中,分馏柱附接于刮膜式蒸发器。在包括多于一个蒸馏步骤的一些实施方式中,各蒸馏步骤的设备可以是相同设备或者可以串联。

[0089] 在一些实施方式中,将油进料到至少一个设备包括中部柱进料。在一些实施方式中,将油进料到至少一个设备包括蒸发器进料。

[0090] 在优选的实施方式中,经受第一蒸馏步骤的油在残留物端和馏出物端分离的量为至少约30%,至少约40%,至少约50%,至少约60%,至少约70%,或至少约80重量%。在优选的实施方式中,在残留物端收集的油包含至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、或至少约90重量%的EPA和DHA。在优选的实施方式中,在馏出物端收集的油包含至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、或至少约90重量%的具有少于20个碳原子的多不饱和脂肪酸。

[0091] 在优选的实施方式中,经受第二蒸馏步骤的油在残留物端和馏出物端分离的量为至少约30%,至少约40%,至少约50%,至少约60%,至少约70%,或至少约80重量%。在优选的实施方式中,在残留物端收集的油包含至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、或至少约90重量%的EPA。在优选的实施方式中,在馏出物端收集的油包含至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、或至少约90重量%的DHA。

[0092] 在优选的实施方式中,经受第三蒸馏步骤的油在残留物端和馏出物端分离的量为至少约30%,至少约40%,至少约50%,至少约60%,至少约70%,或至少约80重量%。在优选的实施方式中,在残留物端收集的油包含至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、或至少约90重量%的EPA。在优选的实施方式中,在馏出物端收集的油包含至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约85%、或至少约90重量%的DHA。

[0093] 在一些实施方式中,至少一个蒸馏步骤包括加热,其中温度小于约275℃,小于约250℃,小于约225℃,小于约200℃,小于约190℃,小于约180℃,或小于约170℃,约100℃至约250℃,约125℃至225℃,约150℃至200℃,或约160℃至190℃。

[0094] 在一些实施方式中,回流比小于约5,小于约4.5,小于约4,小于约3.5,小于约3,小于约2.5,小于约2,小于约1.5,小于约1,或小于约0.5。

[0095] 本发明还涉及通过本申请公开的任一种方法制备的油。

[0096] 实施例

[0097] 以下陈述以下实施例以说明根据公开的主题内容的方法和结果。这些实施例不意在包括本申请公开的主题内容的所有方面,而是说明代表性方法和结果。这些实施例不意在排除本领域技术人员显而易见的等价物和变型。

[0098] 分析方法:脂肪酸组成的确定使用配有火焰离子化检测器的气相色谱(GD/FID)根据欧洲药典方法2.04.29进行。

[0099] 实施例1

[0100] 粗制油通过裂殖壶菌(*Schizochytrium* sp.)的发酵制备。表1显示起始油的脂肪酸组成。

[0101] 表1:脂肪酸组成-起始油

[0102]

脂肪酸	面积百分比 (%)
C14:0	1.3
C16:0	18.3
C18:0	1.1
C18:1n-9	2.1
C20:4n-6	1.3
C20:5n-3 (EPA)	9.5
C22:5n-6	4.0
C22:5n-3	1.2
C22:6n-3 (DHA)	58.1

[0103] 酯交换:为将起始油由甘油三酸酯转化为乙酯,向1升圆底烧瓶中装入400g干燥的粗制油,加入溶解在乙醇(120g)中的乙醇钠(3.2g)的溶液。将混合物加热至75℃,同时在N₂气氛下搅拌,然后在该温度保持1小时。使反应混合物冷却至30℃,将其转移至分离漏斗,排出底部甘油层。然后将上部油层转移到干净的1L圆底烧瓶中,加入乙醇钠(0.32g)在乙醇(12.0g)中的溶液。再次将混合物加热至75℃,同时在N₂气氛下搅拌,然后在该温度保持1小时。使用旋转蒸发仪除去乙醇,将残留物用柠檬酸溶液(1%w/w)洗涤,直到含水洗涤部分的pH不再为碱性,用水洗涤,并真空干燥。

[0104] 分析方法:低聚物和脂质分类的确定使用配有折射率检测的尺寸排阻色谱(SEC/RI)进行。基于聚合物的Tosahaas TSK-GEL用于凝胶渗透色谱。将该设备与两个TSK-GEL柱+一个保护柱组装,并用四氢呋喃(THF)以0.600mL/min的流动速率平衡。将油样品以15mg/mL的浓度溶解于THF,并以10.0μL的注入体积注入到色谱中。表2显示起始油在酯交换之后的脂质分类概况。

[0105] 表2:脂质分类-起始油

[0106]

脂质分类	%
乙酯	96
甘油单酸酯	2.6
甘油二酸酯	1.2
甘油三酸酯	0.1

[0107] 纯化和浓缩,试验1:使用120℃至180℃的温度范围和约20毫托的真空使油经由通过短程蒸馏设备的三个路程来分馏。在第一程中,使起始油穿过短程蒸馏设备。馏出物(样品1D)包含110mg/g的EPA和322mg/g的DHA,残留物(样品1R)包含70mg/g的EPA和759mg/g的DHA。在第二程中,将来自第一程的残留物进料到短程蒸馏设备中,使得馏出物(样品2D)包含72mg/g的EPA和789mg/g的DHA。残留物(样品2R)由于粘度无法采样。在第三程中,将来自第二程的馏出物进料到短程蒸馏设备中,使得馏出物(样品3D)包含126mg/g的EPA和715mg/g的DHA,和残留物(样品3R)包含43mg/g的EPA和811mg/g的DHA。结果显示于表3。

[0108] 表3:短程蒸馏结果,试验1

[0109]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)	总 Ω -3 (mg/g)
起始油	87	548	646
第一程-馏出物 (样品1D)	110	322	451
第一程-残留物 (样品1R)	70	759	853
第二程-馏出物 (样品2D)	72	789	887
第二程-残留物 (样品2R)	----	----	----
第三程-馏出物 (样品3D)	126	715	868
第三程-残留物 (样品3R)	43	811	877

[0110] 纯化和浓缩, 试验2: 使用120℃至180℃的温度范围和约20毫托的真空使油经由通过短程蒸馏设备的四个路程来分馏。在第一程中, 使起始油穿过短程蒸馏设备。馏出物(样品1D) 包含69mg/g的EPA和154mg/g的DHA, 残留物(样品1R) 包含94mg/g的EPA和641mg/g的DHA。在第二程中, 将来自第一程的残留物进料到短程蒸馏设备中, 使得馏出物(样品2D) 包含131mg/g的EPA和373mg/g的DHA, 和残留物(样品2R) 包含84mg/g的EPA和717mg/g的DHA。在第三程中, 将来自第二程的残留物进料到短程蒸馏设备中, 使得馏出物(样品3D) 包含86mg/g的EPA和742mg/g的DHA。残留物(样品3R) 由于粘度无法采样。在第四程中, 将来自第三程的馏出物进料到短程蒸馏设备中, 使得馏出物(样品4D) 包含117mg/g的EPA和722mg/g的DHA, 和残留物(样品4R) 包含26mg/g的EPA和785mg/g的DHA。结果显示于表4。

[0111] 表4: 短程蒸馏结果, 试验2

[0112]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)	总 Ω -3 (mg/g)
起始油	87	548	646
第一程-馏出物 (样品1D)	69	154	234
第一程-残留物 (样品1R)	94	641	758
第二程-馏出物 (样品2D)	131	373	527
第二程-残留物 (样品2R)	84	717	825
第三程-馏出物 (样品3D)	86	742	853
第三程-残留物 (样品3R)	----	----	----
第四程-馏出物 (样品4D)	117	722	867
第四程-残留物 (样品4R)	26	785	832

[0113] 纯化和浓缩, 试验3: 与试验1和2中不同的起始油用于该实施例。油通过裂殖壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 的发酵制备, 并使其经受与上述相同的酯交换方法。使用120℃至180℃的温度范围和约20毫托的真空使油经由通过短程蒸馏设备的三个路程来分馏。在第一程中, 使起始油穿过短程蒸馏设备。馏出物 (样品1D) 包含112mg/g的EPA和332mg/g的DHA, 残留物 (样品1R) 包含60mg/g的EPA和733mg/g的DHA。在第二程中, 将来自第一程的残留物进料到短程蒸馏设备中, 使得馏出物 (样品2D) 包含76mg/g的EPA和766mg/g的DHA。残留物 (样品2R) 由于粘度无法采样。在第三程中, 将来自第二程的馏出物进料到短程蒸馏设备中, 使得馏出物 (样品3D) 包含96mg/g的EPA和786mg/g的DHA, 和残留物 (样品3R) 包含22mg/g的EPA和805mg/g的DHA。结果显示于表5。

[0114] 表5: 短程蒸馏结果, 试验3

[0115]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)	总Ω-3 (mg/g)
起始油	86	525	630
第一程-馏出物 (样品1D)	112	332	462
第一程-残留物 (样品1R)	60	733	815
第二程-馏出物 (样品2D)	62	766	851
第二程-残留物 (样品2R)	----	----	-----
第三程-馏出物 (样品3D)	96	786	907
第三程-残留物 (样品3R)	22	805	848

[0116] 实施例2

[0117] 粗制油通过裂殖壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 的发酵制备。

[0118] 酯交换: 向1升圆底烧瓶中装入400g干燥的过滤的粗制油, 加入溶解在乙醇 (120g) 中的乙醇钠 (3.2g) 的溶液。将混合物加热至75℃, 同时在N₂气氛下搅拌, 然后在该温度保持1小时。使反应混合物冷却至30℃, 将其转移至分离漏斗, 排出底部甘油层。然后将上部油层转移到干净的1L圆底烧瓶中, 加入氢氧化钠 (0.32g) 在乙醇 (12.0g) 中的溶液。再次将混合物加热至75℃, 同时在N₂气氛下搅拌, 然后在该温度保持1小时。使用旋转蒸发器除去乙醇, 用柠檬酸溶液 (1% w/w) 洗涤, 直到含水洗涤部分的pH不再为碱性, 用水洗涤, 并真空干燥。

[0119] 纯化和浓缩: 将油在不超过210℃的温度分馏, 其中柱的压降为2.3毫巴。重馏分使用短程蒸馏在0.01毫巴的压力和140℃的温度进一步精制。DHA浓度的分离量为225mg, 纯度为890mg/g。

[0120] 实施例3

[0121] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。

[0122] 酯交换: 使用乙醇钠作为催化剂在纯化的海洋油和乙醇之间的酯化反应用于制备海洋油乙酯。将乙醇和乙醇钠添加到已经加热的纯化的海洋油中。从海洋油中分离甘油。然后将乙醇和乙醇钠再次加入到海洋油中 (在除去甘油之后)。将形成的海洋油乙酯离心, 用于进一步除去甘油。乙醇钠通过添加5重量%海洋油和9重量%柠檬酸溶液来中和。将酸洗层与海洋油乙酯分离, 加入水, 将海洋油乙酯干燥。

[0123] 实施例4-9中使用的海洋油乙酯按照该实施例3制备。

[0124] 实施例4

[0125] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价配有精馏柱然后是短程蒸馏 (SPD) 的降膜式蒸发器。柱包含约1米填料, 其具有约3-4个理论阶段。在205℃的温度将海洋油乙酯进料到再循环液流中。浓度结果显示于表7。异构体结果显示于表8。

[0126] 分析方法: 异构体和有关杂质使用气相色谱测量。称重约25mg样品, 将其溶解于25mL己烷中。将银离子SPE小柱安装在歧管上; 将小柱用4mL丙酮调理, 并用4mL己烷进行平

衡。将1mL样品溶液装载在小柱上并使其贯通。将小柱用6mL丙酮洗涤。用2mL丙酮/乙腈(3:2)将样品从小柱冲洗到新的15mL试管中。从歧管取下试管,在氮气流下吹走溶剂。将1mL己烷添加到试管中。将溶液转移至GC瓶中。使用利用1mL/min氮气的Agilent DB Wax 30m X 0.25mm X 0.25 μ m柱。注入体积为1 μ L,检测器为FID@260 $^{\circ}$ C。梯度为:100 $^{\circ}$ C保持1.0min,以20/min斜升至210 $^{\circ}$ C,保持40分钟。

[0127] 表7:柱,然后是短程蒸馏,1m填料,EPA/DHA浓度

[0128]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
起始油	176	85
柱-馏出物	70.7	0.3
柱-残留物	323.4	191.7
SPD-馏出物	378	210.2
SPD-残留物	19.7	21.9

[0129] 表8:柱,然后是短程蒸馏,1m填料,异构体

[0130]

样品	EPA异构体(%)	DHA异构体(%)	总异构体(%)
起始油	0.3	0.8	0.5
柱-残留物	0.4	2.6	2.0
SPD-馏出物	2.6	5.1	3.8

[0131] 实施例5

[0132] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价配有精馏柱然后是短程蒸馏柱的降膜式蒸发器。柱包含约2米的填料并且具有中部柱液体分布器。在170 $^{\circ}$ C的温度将海洋油进料到再循环液流中。浓度结果显示于表9。异构体结果显示于表10。

[0133] 表9:柱,然后是短程蒸馏柱,2m填料,EPA/DHA浓度

[0134]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
起始油	175.7	85
柱-馏出物	15.0	0.0
柱-残留物	361.1	177.7
SPD-馏出物	382.4	184.2
SPD-残留物	35.5	28.9

[0135] 表10:柱,然后是短程蒸馏柱,2m填料,异构体

[0136]

样品	EPA异构体(%)	DHA异构体(%)	总异构体(%)
起始油	0.3	0.8	0.5
柱-馏出物	3.7	n/a	3.7
柱-残留物	3.0	6.7	4.9
SPD-馏出物	2.1	5.7	4.1

[0137] 实施例6

[0138] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价2个串联柱(各降膜式蒸发器具有精馏柱)然后是短程蒸馏柱。在与实施例4中所述的相同条件下,将实施例4中的柱-残留物样品进料到配有具有约2米填料和中部柱液体分布器的精馏柱的第二降膜式蒸发器中。浓度结果显示于表11。异构体结果显示于表12。

[0139] 表11:柱,然后是短程蒸馏柱,2m填料,EPA/DHA浓度

[0140]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
起始油	175.7	85
柱1-馏出物	15.0	0.0
柱1-残留物	361.1	177.7
柱2-馏出物	653.1	20.8
柱2-残留物	0.0	145.5
SPD-馏出物	2.1	227.5
SPD-残留物	0.0	10.7

[0141] 表12:柱,然后是短程蒸馏柱,2m填料,异构体

[0142]

样品	EPA异构体(%)	DHA异构体(%)	总异构体(%)
起始油	0.3	0.8	0.5
柱1-馏出物	3.7	n/a	3.7
柱1-残留物	3.0	6.7	4.9
柱2-馏出物	0.8	3.3	1.1
柱2-残留物	6.6	24.4	23.6
SPD-馏出物	17.6	29.4	29.2

[0143] 实施例7

[0144] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱 (SPD) 的分馏柱。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。柱填装有3米填料,具有约8-9个配有中部柱进料的理论分离阶段。浓度结果显示于表13。异构体结果显示于表14。

[0145] 表13:柱,然后是短程蒸馏柱,3m填料,EPA/DHA浓度

[0146]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
起始油	173	88.2
柱1-馏出物	13	0.0
柱1-残留物	402.2	206.2
SPD-馏出物	450.3	228.1
SPD-残留物	56.9	51.7

[0147] 表14:柱,然后是短程蒸馏柱,3m填料,异构体

[0148]

样品	EPA异构体(%)	DHA异构体(%)	总异构体(%)
起始油	0.9	1.2	1.0

柱1-残留物	0.6	0.7	0.6
SPD-馏出物	0.5	0.4	0.5

[0149] 实施例8

[0150] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱 (SPD) 的分馏柱。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。柱填装有3米填料,具有约8-9个配有蒸发器进料的理论分离阶段。浓度结果显示于表15。异构体结果显示于表16。

[0151] 表15:柱,然后是短程蒸馏柱,3m填料,EPA/DHA浓度

[0152]

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
起始油	173	88.2
柱1-馏出物	11	0.0
柱1-残留物	409	224.3

[0153] 表16:柱,然后是短程蒸馏柱,3m填料,异构体

[0154]

样品	EPA异构体 (%)	DHA异构体 (%)	总异构体 (%)
起始油	0.9	1.2	1.0
柱1-残留物	0.3	0.6	0.5

[0155] 实施例9

[0156] 使粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价具有外部冷凝器然后是第二分馏柱的分馏柱,所述第二分馏柱具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱 (SPD)。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。两个柱都填装有2米填料,具有约8-9个配有中部柱进料的理论分离阶段。浓度结果显示于表17。异构体结果显示于表18。

[0157] 表17:柱,然后是第二柱,然后是短程蒸馏柱,2m填料,EPA/DHA浓度

样品	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
起始油	175.2	83.7
柱1-馏出物	15.0	0.0
柱1-残留物	402.2	206.2
柱2-进料	407	211.1
柱2-馏出物	825.1	0.0
柱2-残留物	33	396.6
SPD-馏出物	21.9	493.2

SPD-残留物	0.0	64.4
---------	-----	------

[0160] 表18:柱,然后是第二柱,然后是短程蒸馏柱,2m填料,异构体

[0161]

样品	EPA异构体 (%)	DHA异构体 (%)	总异构体 (%)
柱2-进料	0.5	0.6	0.6
柱2-馏出物	0.3	0.0	0.3
柱2-馏出物	0.8	1.0	1.0
SPD-馏出物	4.4	0.5	0.6

[0162] 实施例10

[0163] 使各种浓度的粗制鱼油经受分离和浓缩方法。列于表19-21的起始油浓度是基于使用的鱼的类型的代表性浓度值(例如,22:08是包含约20%的EPA和8%的DHA的鱼)。评价具有外部冷凝器然后是第二分馏柱的分馏柱,所述第二分馏柱具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱(SPD)。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。在穿过第一柱之后,测量残留物中的EPA和DHA浓度(表19)。使残留物穿过第二柱,测量馏出物中的EPA和DHA浓度(表20)。使来自第二柱的残留物穿过短程蒸馏柱,测量残留物中的EPA和DHA浓度(表21)。

[0164] 表19:第一柱,EPA/DHA浓度

[0165]

样品	起始原料	起始EPA (wt%)	起始DHA (wt%)	残留物EPA (wt%)	残留物DHA (wt%)
1	22:8	17.5	8.4	39.5-42.8	20.6-21.8
2	22:8	17.5	8.4	40.5-41.5	21.0-21.2
3	18:12	14.3	12.6	29.5-32.4	29.9-31.6
4	18:12	14.3	12.6	30.4-32.6	29.8-30.8
5	22:8	17.5	8.4	40.6-41.0	21.1
6	12:18	13.9	13.0	28.7-31.7	30.8-32.4
7	12:18	13.9	13.0	28.5-31.8	30.4-32.4

[0166] 表20:第二柱,EPA/DHA浓度,馏出物

[0167]

样品	起始原料	起始EPA (wt%)	起始DHA (wt%)	馏出物EPA (wt%)	馏出物DHA (wt%)
1	22:8	40.7	21.1	79.8-82.2	0.0
2	18:12	31.1	30.6	75.5-78.8	0.0-0.04
3	12:18	30.6	31.3	74.4-76.0	0.0
4	12:18	30.6	31.3	73.9-74.6	0.0
5	22:8	39.9	20.6	75.1-77.8	0.0-0.66

[0168] 表21:短程蒸馏柱,EPA/DHA浓度,残留物

[0169]

样品	起始原料	起始EPA (wt%)	起始DHA (wt%)	残留物EPA (wt%)	残留物DHA (wt%)
1	22:8	1.8	41.0	2.1-2.2	48.5-50.1
2	18:12	0.3	50.0	0.3-0.5	59.6-59.9
3	12:18	0.2	50.7	0.2	60.0

[0170] 实施例11

[0171] 使EPA:DHA组成为14.9wt%的EPA和10.1wt%的DHA的粗制鱼油经受分离和浓缩方法。评价具有外部冷凝器然后是第二分馏柱的分馏柱,所述第二分馏柱具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱(SPD)。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。在穿过第一柱之后,测量馏出物和残留物中的EPA和DHA浓度(表22)。使残留物穿过第二柱,测量馏出物和残留物中的EPA和DHA浓度(表23)。使来自第二柱的残留物穿过短程蒸馏柱,测量馏出物和残留物中的EPA和DHA浓度(表24)。在处理过程中的不同时间间隔测量各样品的EPA和DHA浓度。

[0172] 表22:第一柱,EPA/DHA浓度

[0173]

样品	起始EPA (wt%)	起始DHA (wt%)	馏出物EPA (wt%)	馏出物DHA (wt%)	残留物EPA (wt%)	残留物DHA (wt%)
1	14.9	10.1	5.8	---	30.2	27.6
2	14.9	10.1	2.4	---	33.7	26.0
3	14.9	10.1	1.9	---	33.9	25.7
4	14.9	10.1	0.2	---	35.0	24.4
5	14.9	10.1	0.2	---	34.8	24.4

[0174] 表23:第二柱,EPA/DHA浓度

[0175]

样品	进料EPA (wt%)	进料DHA (wt%)	馏出物EPA (wt%)	馏出物DHA (wt%)	残留物EPA (wt%)	残留物DHA (wt%)
1	35.6	24.9	61.3	0.1	---	46.8
2	35.6	24.9	73.9	---	---	46.2
3	35.6	24.9	73.3	0.3	---	46.3
4	35.6	24.9	74.0	---	0.2	46.0
5	35.6	24.9	76.4	---	0.3	45.5
6	35.6	24.9	76.7	---	0.2	45.2
7	35.6	24.9	77.5	---	0.3	44.2
8	35.6	24.9	77.0	---	0.3	44.8

[0176] 表24:短程蒸馏柱,EPA/DHA浓度

[0177]

样品	进料EPA (wt%)	进料DHA (wt%)	馏出物EPA (wt%)	馏出物DHA (wt%)	残留物EPA (wt%)	残留物DHA (wt%)
1	0.2	45.5	0.2	55.9	---	0.5
2	0.2	45.5	0.2	57.5	---	1
3	0.2	45.5	0.2	56.5	---	1.1
4	0.2	45.5	0.2	56.6	---	2.3
5	0.2	45.5	0.2	56.7	---	2.6
6	0.2	45.5	0.2	57	---	3.3
7	0.2	45.5	0.2	58.4	---	1.2

[0178] 实施例12

[0179] 使粗制鱼油经受分馏和浓缩方法。评价具有外部冷凝器然后是第二分馏柱的分馏柱,所述第二分馏柱具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱 (SPD)。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。测量这些样品中的异构体含量水平。结果显示于表25。

[0180] 表25:异构体结果

[0181]

样品	异构体A	异构体B	异构体C	异构体D + E	总异构体
起始油(18:12鱼油)	0.26	0.07	0.12	0.34	0.79
馏出物, 第一柱	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
残留物, 第一柱	0.29	0.12	0.11	0.45	0.96
馏出物, 第二柱 (~77 wt%的EPA)	0.33	0.16	0.16	0.51	1.16
馏出物, 短程蒸馏 柱(~56wt%的DHA)	无或痕量	无或痕量	无或痕量	无或痕量	无或痕量

[0182] 实施例13

[0183] 粗制油通过裂殖壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 的发酵制备。使油经受酯交换步骤以制备多不饱和脂肪酸的乙酯。

[0184] 纯化和浓缩: 评价具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱的分馏柱。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。起始油的脂肪酸组成显示于表26。制得的油的脂肪酸组成显示于表27。

[0185] 表26: 脂肪酸组成, 起始油

[0186]	脂肪酸	重量百分比(%)
	C14:0	1.5
	C16:0	22.9
	C18:0	1.7
[0187]	C18:1 n-9	2.1
	C20:4 n-6	1.7
	C20:5 n-3 (EPA)	19.9
	C22:5 n-6	1.9
	C22:5 n-3	3.3
	C22:6 n-3 (DHA)	41.4

[0188] 表27: 脂肪酸组成, 油

[0189]

脂肪酸	重量百分比 (%)
C16:0	12.3
C18:0	1.5
C18:1n-9	1.9
C20:4n-6	1.8
C20:5n-3 (EPA)	21.8
C22:5n-6	2.4
C22:5n-3	4.1
C22:6n-3 (DHA)	50.6

[0190] 实施例14

[0191] 粗制油通过裂殖壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 的发酵制备。使油经受酯交换步骤以制备多不饱和脂肪酸的乙酯。

[0192] 纯化和浓缩: 油经由通过分馏柱的第一程分馏。馏出物 (样品1D) 包含222mg/g的

EPA和218mg/g的DHA。残留物(样品1R)包含175mg/g的EPA和611mg/g的DHA。来自该第一程的馏出物经由通过分馏柱的第二程分馏。来自于此的馏出物(样品3D)是77mg/g的EPA和34mg/g的DHA,来自于此的残留物(样品3R)是291mg/g的EPA和331mg/g的DHA。来自第一程的残留物经由通过分馏柱的第二程分馏。来自于此的馏出物(样品2D)是181mg/g的EPA和624mg/g的DHA,来自于此的残留物由于粘度无法采样。使样品2D穿过短程蒸馏设备。来自于此的馏出物(样品4D)是256mg/g的EPA和559mg/g的DHA,残留物(样品4R)是105mg/g的EPA和697mg/g的DHA。使所有物质穿过使用110℃至180℃的温度范围和约20-25毫托真空的分馏柱和/或短程蒸馏设备。结果显示于表28。

[0193] 表28:EPA/DHA浓度

[0194]

样品	EPA (mg/g)	EPA (wt%)	DHA (mg/g)	DHA (wt%)	总Ω-3 (mg/g)	总Ω-3 (wt%)
起始油	193	19.3	392	39.2	624	62.4
柱1-馏出物	222	22.2	218	21.8	465	46.5

[0195]

(样品1D)						
柱1-残留物 (样品1R)	175	17.5	611	61.1	842	84.2
柱2-馏出物 (样品2D)	181	18.1	624	62.4	864	86.4
柱2-残留物 (样品2R)	----	----	----	----	----	----
柱3-馏出物 (样品3D)	77	7.7	34	3.4	116	11.6
柱3-残留物 (样品3R)	291	29.1	331	33.1	650	65.0
SPD-馏出物 (样品4D)	256	25.6	559	55.9	857	85.7
SPD-残留物 (样品4R)	105	10.5	697	69.7	860	86.0

[0196] 实施例15

[0197] 粗制油通过寇氏隐甲藻(*Cryptochodinium cohnii*)的发酵制备。使油经受酯交换步骤以制备多不饱和脂肪酸的乙酯。

[0198] 纯化和浓缩:评价具有外部冷凝器然后是短程蒸馏柱的分馏柱。外部冷凝器是刮膜式蒸发器。起始油的脂肪酸组成显示于表29。完成两个试验。制得的油的脂肪酸组成显示于表30和31。

[0199] 表29:脂肪酸组成,油

[0200]

脂肪酸	重量百分比(%)
C12:0	5.09

C14:0	9.10
C16:0	6.74
C18:1n-9	6.42
C20:5n-3 (EPA)	0.0
C22:5n-6	0.0
C22:5n-3	0.87
C22:6n-3 (DHA)	48.7

[0201] 表30:脂肪酸组成,油

脂肪酸	重量百分比(%)
C12:0	0.0
C14:0	0.0
C16:0	0.0
C18:1 n-9	0.0
C20:5 n-3 (EPA)	0.0
C22:5 n-6	0.0
C22:5 n-3	1.7
C22:6 n-3 (DHA)	96.9

[0204] 表31:脂肪酸组成,油

[0205]

脂肪酸	重量百分比 (%)
C12:0	0.0
C14:0	0.0
C16:0	0.0
C18:1n-9	0.0
C20:5n-3 (EPA)	0.0
C22:5n-6	0.0
C22:5n-3	1.36
C22:6n-3 (DHA)	96.6

[0206] 本申请引用的所有参考文献,包括公开、专利申请、和专利,都通过参考并入本申请,所达到的程度与单独和专门指出每篇参考文献通过参考并入本申请并在本申请完全陈述的程度一样。

[0207] 本申请描述了本发明的优选实施方式,包括发明人所知进行本发明的最好方式。在阅读了前述说明书之后,那些优选实施方式的变型对于本领域技术人员而言将变得明显。发明人预期本领域技术人员在适当时使用这样的变型,发明人意在使本发明按照不同于本申请具体所述的方式实践。因此,本发明包括适用法律所允许的所附权利要求中记载的主题内容的所有修改和等价物。此外,除非本申请另外说明或明显与上下文矛盾,否则在其所有可行变型中上述要素的任何组合包括在本发明中。