



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년11월11일

(11) 등록번호 10-2728376

(24) 등록일자 2024년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C11B 3/00 (2006.01) *A23C 9/00* (2022.01)
A23D 9/02 (2006.01) *A23L 33/115* (2016.01)
A61K 8/92 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
C11B 3/02 (2006.01) *C11B 3/12* (2006.01)

(52) CPC특허분류

C11B 3/001 (2013.01)
A23C 9/00 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2018-7012252

(22) 출원일자(국제) 2016년10월05일

심사청구일자 2021년10월05일

(85) 번역문제출일자 2018년04월30일

(65) 공개번호 10-2018-0063217

(43) 공개일자 2018년06월11일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/055599

(87) 국제공개번호 WO 2017/062523

국제공개일자 2017년04월13일

(30) 우선권주장

62/237,320 2015년10월05일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

JP2010532418 A*

US05215630 A*

US20090042263 A1*

KR1020120018219 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

디에스엠 아이피 어셋츠 비.브이.

네덜란드 엔엘-6411 티이 헤르렌 헤트 오버룬 1

(72) 발명자

를 알프레드

캐나다 노바 스코티아 비3에이 3브이1 다트머스
링비 애비뉴 45

프로플레슈 랄프

스위스 5073 기프-오버프릭 암 모스터바흐 8

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

제일특허법인(유)

전체 청구항 수 : 총 28 항

심사관 : 박소일

(54) 발명의 명칭 오일 조성물 및 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 다중불포화 지방산이 농축된 오일 조성물; 상기 농축된 오일 조성물을 함유하는 조성물; 및 상기 농축된 오일 조성물의 제조 및 사용 방법에 관한 것이다. 상기 오일은 바람직하게는 미생물 오일 또는 해양 오일이다.

(52) CPC특허분류

A23D 9/02 (2013.01)
A23L 33/115 (2016.08)
A61K 8/92 (2013.01)
A61Q 19/00 (2013.01)
C11B 3/02 (2013.01)
C11B 3/12 (2013.01)

(72) 발명자

루가트 크리스

미국 켄터키주 40502 렉싱턴 서리 코트 3017

크랄로벵 제이로슬라브

캐나다 노바 스코티아 비3에스 1에이치4 헬리팩스
버크셔 클로즈 11

옥스포드 마크

캐나다 노바 스코티아 비3지 0비2 이스턴 패시지
텔크라프트 코트 35

레예스-소레즈 에릭

캐나다 노바 스코티아 비3에이 0이1 다트머스 란야
레인 405-15

스테판스키 마이클 웬

미국 켄터키주 40391 윈체스터 플래너건 스테이션
로드 1875

명세서

청구범위

청구항 1

다중불포화 지방산의 에스테르를 포함하는 오일의 분리 및 농축 방법으로서,

상기 방법은 상기 오일을 하나 이상의 증류 단계로 처리하는 단계를 포함하고,

제 1 증류 단계는 오일을 하나 이상의 장치에 공급하고 증류액에서 저비점 화합물을 제거하는 조건으로 오일을 처리함을 포함하고,

제 2 증류 단계는 제 1 장치 다중불포화 지방산(LC-PUFA)의 적어도 일부를 제 2 LC-PUFA의 적어도 일부로부터 분리하는 조건으로 오일을 처리함을 포함하되,

상기 제 1 LC-PUFA는 에이코사펜타엔산(EPA)이고 제 2 LC-PUFA는 도코사헥사엔산(DHA)이고,

상기 하나 이상의 장치는 와이핑된 막 증발기(wiped-film evaporator)에 결합된 분별 증류 컬럼을 포함하는, 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

제 3 증류 단계는 제 1 LC-PUFA의 적어도 추가적인 일부를 제 2 LC-PUFA로부터 분리하는 조건으로 오일을 처리함을 포함하는, 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

제 2 증류 단계에서의 장치는 단거리 증류 컬럼 또는 분별 증류 컬럼을 포함하는, 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

제 1 증류 단계의 증류액에서 에이코사펜타엔산(EPA)의 적어도 일부가 제거되는, 방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

증류액에서 EPA가 5% 이상 제거되는, 방법.

청구항 6

제 4 항에 있어서,

증류액에서 EPA가 10% 이상 제거되는, 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

제 2 LC-PUFA로부터 하나 이상의 LC-PUFA의 50% 이상의 양이 분리되는, 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

출발 오일 중의 중량%와 비교하여, 오일에서 하나 이상의 LC-PUFA의 중량%가 20 중량% 이상만큼 증가되는, 방법.

청구항 9

제 1 항에 있어서,
오일이 70% 이상의 원하는 PUFA를 포함하는, 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서,
오일이 80% 이상의 원하는 PUFA를 포함하는, 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서,
오일이 90% 이상의 원하는 PUFA를 포함하는, 방법.

청구항 12

제 1 항에 있어서,
LC-PUFA는 오메가-3 지방산, 오메가-6 지방산, 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서,
LC-PUFA는 아라키돈산(ARA), 에이코사펜타엔산(EPA), 도코사헥사엔산(DHA), 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서,
오일은 미생물 오일 또는 해양 오일인, 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서,
오일은 미생물 오일인, 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서,
상기 미생물 오일은 미생물에 의해 생산되고, 상기 미생물은 미세조류, 세균류, 진균류 또는 원생생물을 포함하는, 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서,
미생물은 미세조류인, 방법.

청구항 18

제 17 항에 있어서,
미세조류는 크립테코디늄(*Crypthecodinium*) 속의 것인, 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서,
미세조류는 크립테코디늄 코니이(*Crypthecodinium cohnii*) 종의 것인, 방법.

청구항 20

제 17 항에 있어서,
미세조류는 트라우스토키트리움(*Thraustochytrium*) 속의 것인, 방법.

청구항 21

제 20 항에 있어서,
미세조류는 스킴조키트리움(*Schizochytrium sp.*) 종의 것인, 방법.

청구항 22

제 16 항에 있어서,
미생물은 진균류인, 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서,
미생물은 모르티에렐라(*Mortierella*) 속의 것인, 방법.

청구항 24

제 23 항에 있어서,
미생물은 모르티에렐라 알피나(*Mortierella alpina*) 종의 것인, 방법.

청구항 25

제 1 항에 있어서,
오일의 이성질체 값은 1 중량% 이하인, 방법.

청구항 26

제 1 항에 있어서,
오일은 유전자 변형 생물체에 의해 생산되는, 방법.

청구항 27

제 1 항에 있어서,
오일 중의 에스테르 분획의 적어도 일부를 트라이글리세리드 분획으로 전환하기 위한, 오일의 에스테르교환반응 (transesterification)을 추가로 포함하는 방법.

청구항 28

제 1 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 따른 방법으로 제조된 오일.

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본원은 2015년 10월 5일자로 출원된 미국 가출원 제 62/237,320 호(이는 전체가 본원에 참고로 인용됨)를 우선권 주장한다.

[0003] 본 발명은 다중불포화 지방산이 농축된 오일 조성물; 상기 농축된 오일 조성물을 함유하는 조성물; 및 상기 농축된 오일 조성물의 제조 및 사용 방법에 관한 것이다. 상기 오일은 바람직하게는 미생물 오일 또는 해양 오일이다.

배경 기술

[0004] 지방산은 탄소쇄의 길이 및 포화 특성을 기초로 하여 분류된다. 지방산은 쇠에 존재하는 탄소수에 기초하여 단쇄, 중쇄, 또는 장쇄 지방산으로 명명되고, 이중 결합이 탄소 원자들 사이에 존재하지 않는 경우 포화 지방산으로 명명되며, 이중 결합이 존재하는 경우 불포화 지방산으로 명명된다. 불포화 장쇄 지방산은, 단지 하나의 이중 결합이 존재하는 경우 일불포화되고, 하나 초과인 이중 결합이 존재하는 경우 다중불포화된다.

[0005] 다중불포화된 지방산(PUFA)은 지방산의 메틸 말단으로부터 첫 번째 이중 결합의 위치를 기초로 하여 분류되며: 오메가-3($n-3$) 지방산은 세 번째 탄소에서 제1 이중 결합을 함유하는 반면, 오메가-6($n-6$) 지방산은 여섯 번째 탄소에서 제1 이중 결합을 함유한다. 예를 들면, 도코사헥사엔산("DHA")은, 쇠 길이가 22개 탄소이고 6개의 이중 결합을 갖는, 흔히 "22:6 $n-3$ "으로 지정되는 오메가-3 장쇄 다중불포화 지방산(LC-PUFA)이다. 다른 오메가-3 LC-PUFA는 "20:5 $n-3$ "으로 지정된 에이코사펜타엔산("EPA"), 및 "22:5 $n-3$ "으로 지정된 오메가-3 도코사펜타엔산("DPA $n-3$ ")을 포함한다. DHA 및 EPA는 "필수" 지방산으로 명명된다. 오메가-6 LC-PUFA는 "20:4 $n-6$ "으로 지정된 아라키돈산("ARA") 및 "22:5 $n-6$ "으로 지정된 오메가-6 도코사펜타엔산("DPA $n-6$ ")을 포함한다.

[0006] 오메가-3 지방산은, 세포막 중의 그들의 존재로 인해 세포 생리학에 영향을 미치고, 생물학적 활성 화합물의 생산 및 유전자 발현을 조절하고, 생합성 기질(substrate)로서 사용되는 생물학적으로 중요한 분자이다(문헌 [Roche, H. M., *Proc. Nutr. Soc.* 58: 397-401 (1999)]). 예를 들면, 인간 대뇌 피질 중의 지질을 만드는 지방산의 약 15 내지 20%, 망막 중의 지질을 만드는 지방산의 30 내지 60%를 차지하는 DHA는 고환 및 정자 속에서 농축되고, 모유의 중요한 성분이다(문헌[Berge, J.P., and Barnathan, G., *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 96:49-125 (2005)]). DHA는 뇌 내 오메가-3 지방산의 97% 이하 및 망막 내 오메가-3 지방산의 93% 이하를 차지한다. 또한, DHA는 태아 및 유아 발달 모두에서뿐만 아니라, 성인에서 인지 기능의 유지에도 필수적이다(상기 문헌 참조). 오메가-3 지방산은 인간 체내에서 새로이 합성되지 않으므로, 이들 지방산은 영양원으로부터 얻어야만 한다. 그러나 오메가-3 지방산의 공급원은 생성한 LC-PUFA의 특성과 양이 다양할 수 있다. 이와 같이, 원하는 LC-PUFA 프로파일과 함께 다량의 LC-PUFA를 갖는 오메가-3 지방산 공급원 및 더 고농도의 LC-PUFA를 함유하는 오일에 대한 지속적인 필요성이 존재한다. 이전의 농축 방법은 원하는 농도 수준을 달성하기 위해 수많은 단계를 필요로 하는 것으로 보였고, 따라서 비효율적인 공정을 초래하고 원하는 LC-PUFA 함량 또는 프로파일을 얻지 못하는 경우가 종종 있었다. 다른 공지된 방법들은 비용이 많이 들고 시간 소모도 크다. 또한, 이전의 농축 방법은, 하나의 연속 공정으로 원하는 LC-PUFA 함량 및 프로파일을 제공하는 분리 및 농축 방법을 제공하지 못했다. 본원의 발명자들은 놀랍게도, 더 고농도의 LC-PUFA를 갖는 원하는 LC-PUFA 프로파일을 생성하기 위해, 이전 방법보다 비용 및 시간 소모가 더 적은, 다중불포화 지방산을 포함하는 오일의 분리 및 농축 방법을 발견했다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은, 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 70 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.5 중량% 내지 약 5 중량%는 도코사펜타엔산 $n-3$ (DPA $n-3$)인 오일에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 5 중량% 미만은 에이코사펜타엔산(EPA)이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%는 EPA이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 2 중량% 내지 약 8 중량%는 DPA $n-6$ 이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획은 오일의 약 70 중량% 이상을 차지한다.

[0008] 본 발명은 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 70 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 3 중량% 내지 약 13 중량%는 도코사펜타엔산 $n-3$ (DPA $n-3$) 및 도코사펜타엔산 $n-6$ (DPA $n-6$)인 오일에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 1 중량% 내지 약 5 중량%는 DPA $n-3$ 이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약

2 중량% 내지 약 8 중량%는 DPA n-6이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 5 중량% 미만은 에이코사펜타엔산(EPA)이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%는 EPA이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획은 오일의 약 70 중량% 이상을 차지한다.

[0009] 또한, 본 발명은 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 70 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 DHA의 양은 상기 에스테르 분획 중의 총 오메가-3 지방산의 약 65 중량% 이상인 오일에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 8 중량% 이상은 EPA이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 EPA의 양은 에스테르 분획 중의 총 오메가-3 지방산의 약 2 중량% 이상이다.

[0010] 또한, 본 발명은 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 20 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 20 중량% 이상은 에이코사펜타엔산(EPA)인 오일에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%는 DPA n-3이다.

[0011] 또한, 본 발명은 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 30 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 30 중량% 이상은 에이코사펜타엔산(EPA)인 오일에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%는 DPA n-3이다.

[0012] 또한, 본 발명은 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 65 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 15 중량% 이상은 에이코사펜타엔산(EPA)인 오일에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%는 DPA n-3이다.

[0013] 또한, 본 발명은 에스테르 분획을 포함하는 오일로서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 50 중량% 이상은 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 25 중량% 이상은 에이코사펜타엔산(EPA)인 오일에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.1 중량% 내지 약 5 중량%는 DPA n-3이다.

[0014] 또한, 본 발명은, 다중불포화 지방산의 에스테르를 포함하는 오일의 분리 및 농축 방법으로서, 오일을 하나 이상의 증류 단계로 처리하는 단계를 포함하고, 제 1 증류 단계는 오일을 하나 이상의 장치에 공급하고 증류액에서 저비점 화합물을 제거하는 조건으로 오일을 처리함을 포함하는, 방법에 관한 것이다.

[0015] 일부 실시양태에서, 상기 오일은 미생물 오일 또는 해양 오일이다.

[0016] 일부 실시양태에서, 상기 오일은 미생물로부터 생성된 미생물 오일이다. 일부 실시양태에서, 상기 미생물은 미세조류, 세균류, 진균류, 및 원생생물을 포함하는 군으로부터 선택된다.

[0017] 본 발명은 본 발명의 오일을 포함하는 식품, 보충제, 또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 진술한 명세서를 읽음으로써, 당분야의 숙련자들은 본 발명의 특징 및 이점을 용이하게 이해할 것이다. 명료함을 위해, 개별 실시양태들의 문맥에서 상기 및 하기에 기술된 본 발명의 특정한 특징들을 결합하여 그 하위-조합을 형성할 수 있다는 것을 이해할 수 있다.

[0019] 본 명세서에서 예시적으로 특정된 실시양태들은 예시적일 뿐 한정을 의도한 것은 아니다.

[0020] 본 명세서 및 하기 청구 범위에서, 다음의 의미로 정의되는 다수의 용어에 대한 참고가 제공된다:

[0021] 본원의 문맥(특히 첨부된 특허청구범위) 중 단수형 및 유사한 지시대상의 사용은, 본원에서 달리 언급하지 않거나 문맥에서 명백히 부정되지 않는 한, 단수형 및 복수형을 모두 포함하는 것으로 해석된다. "포함하는", "갖는", "비롯한", 및 "함유하는"의 용어는, 달리 언급되지 않는 한, 개방형 용어로(즉, "포함하나, 이에 국한되지 않음"으로) 해석된다. 본원의 수치 범위의 인용은, 본원에서 달리 언급되지 않는 한, 상기 범주에 속하는 각각의 개별적인 값을 개별적으로 인용하는 약칭 방법으로서 작용하고자 하고, 이들이 본원에서 개별적으로 인용되는 경우에서와 같이, 각각의 개별적인 값들이 명세서에 도입된다.

[0022] 본원은 다중불포화 지방산을 포함하는 농축 오일 조성물; 농축 오일 조성물을 함유하는 조성물; 및 농축 오일

조성물의 제조 및 사용 방법을 개시한다.

- [0023] 다중불포화된 지방산(PUFA)은 지방산의 메틸 말단으로부터 첫 번째 이중 결합의 위치를 기초로 하여 분류되며: 오메가-3($n-3$) 지방산은 세 번째 탄소에서 제1 이중 결합을 함유하는 반면, 오메가-6($n-6$) 지방산은 여섯 번째 탄소에서 제1 이중 결합을 함유한다. 예를 들면, 도코사헥사엔산("DHA")은, 쇠 길이가 22개 탄소이고 6개의 이중 결합을 갖는, 흔히 "22:6 $n-3$ "으로 지정되는 오메가-3 장쇄 다중불포화 지방산(LC-PUFA)이다. 한 실시양태에서, PUFA는 오메가-3 지방산, 오메가-6 지방산, 및 이들의 혼합물로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, PUFA는 도코사헥사엔산(DHA), 에이코사펜타엔산(EPA), 도코사펜타엔산(DPA), 아라키돈산(ARA), 감마-리놀렌산(GLA), 다이호모-감마-리놀렌산(DGLA), 스테아리돈산(SDA), 및 이들의 혼합물로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, PUFA는 DHA, DPA, EPA, 및 이들의 혼합물로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, PUFA는 DHA이다. 또 다른 실시양태에서, PUFA는 DPA이다. 또 다른 실시양태에서, PUFA는 EPA이다.
- [0024] 일부 실시양태에서, 오일은 하나 이상의 PUFA를 포함한다. 일부 실시양태에서, 오일은 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 91% 이상, 약 92% 이상, 약 93% 이상, 약 94% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상의 PUFA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 PUFA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 PUFA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 PUFA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0025] 한 실시양태에서, 오일은 약 70 중량% 이상, 약 75 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 91 중량% 이상, 약 92 중량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상의 DHA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DHA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DHA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DHA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0026] 일부 실시양태에서, 오일은 약 3% 내지 약 13%, 약 4% 내지 약 12%, 약 5% 내지 약 11%, 약 6% 내지 약 10%, 또는 약 7% 내지 약 9%의 DPA $n-3$ 및 DPA $n-6$ 을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, DPA $n-3$ 및 DPA $n-6$ 은 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-3$ 및 DPA $n-6$ 의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-3$ 및 DPA $n-6$ 의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0027] 일부 실시양태에서, 오일은 약 0.5% 내지 약 5%, 약 1% 내지 약 5%, 또는 약 3% 내지 약 4%의 DPA $n-3$ 을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-3$ 은 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-3$ 의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-3$ 의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0028] 일부 실시양태에서, 오일은 약 2% 내지 약 8%, 약 3% 내지 약 7%, 또는 약 4% 내지 약 6%의 DPA $n-6$ 을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-6$ 은 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-6$ 의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA $n-6$ 의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0029] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 EPA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0030] 일부 실시양태에서, 오일은 약 0.1% 내지 약 5%, 약 0.5% 내지 약 3%, 또는 약 1% 내지 약 2%의 EPA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0031] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 ARA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 ARA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 ARA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 ARA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.

- [0032] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 GLA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 GLA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 GLA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 GLA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 DGLA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DGLA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DGLA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DGLA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0034] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 SDA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 SDA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 SDA의 중량%는 오일의 중량%이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 SDA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0035] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 22개 초과 탄소수를 갖는 다중불포화 지방산(초 장쇄 PUFA)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 초 장쇄 PUFA는 7,10,13,16,19,22,25 옥타코사엔산(C28:8)이다. 바람직한 실시양태에서, 오일은 0%의 7,10,13,16,19,22,25 옥타코사엔산(C28:8)을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 초 장쇄 PUFA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 초 장쇄 PUFA의 중량%는 오일의 중량%이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 초 장쇄 PUFA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0036] 한 실시양태에서, 오일은 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상, 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 91% 이상, 약 92%, 약 93% 이상, 약 94% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상의 EPA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA의 중량%는 오일의 중량%이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 EPA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0037] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 DHA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DHA는 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DHA의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DHA의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0038] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 DPA n-3 및 DPA n-6을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-3 및 DPA n-6은 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-3 및 DPA n-6의 중량%는 오일의 중량%이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-3 및 DPA n-6의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0039] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 DPA n-3을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-3은 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-3의 중량%는 오일의 중량%이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-3의 중량%는 에스테르 분획 중의 지방산의 중량%이다.
- [0040] 일부 실시양태에서, 오일은 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만의 DPA n-6을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-6은 에스테르 형태이다. 더 바람직한 실시양태에서, 에스테르는 에틸 에스테르이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-6의 중량%는 오일의 중량%이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 DPA n-6의 중량%는 에스테르 분획의 지방산의 중량%이다.
- [0041] 일부 실시양태에서, 오일은 에스테르 분획을 포함하고, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 50 중량% 이상, 약 55 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 65 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 75 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 91 중량% 이상, 약 92 중량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94

중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 도코사헥사엔산(DHA)이고, 상기 에스테르 분획 중의 DHA 양은 에스테르 분획 중의 총 오메가-3 지방산의 약 65 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 75 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 8 중량% 이상, 약 10 중량% 이상, 약 15 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 35 중량% 이상, 약 40 중량% 이상이 EPA이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 EPA의 양은 에스테르 분획 중의 총 오메가-3 지방산의 약 2 중량% 이상, 약 3 중량% 이상, 약 4 중량% 이상, 약 5 중량% 이상, 약 10 중량% 이상, 약 15 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 25 중량% 이상이다.

[0042] 일부 실시양태에서, 오일은 오일의 약 50 중량% 이상, 약 55 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 65 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 75 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 91 중량% 이상, 약 92 중량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상을 차지하는 에스테르 분획을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 70 중량% 이상, 약 75중량% 이상, 약 80중량% 이상, 약 85중량% 이상, 약 90중량% 이상, 약 91중량% 이상, 약 92중량% 이상, 약 93중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 DHA이다. 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 0.5 중량% 내지 약 5 중량%, 약 1 중량% 내지 약 5 중량%, 또는 약 3 중량% 내지 4 중량%가 DPA n-3이다.

[0043] 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 91 중량% 이상, 약 92 중량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 DHA 및 DPA n-3이다.

[0044] 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 및 DPA n-3 양의 약 80중량% 이상, 약 85중량% 이상, 약 90중량% 이상, 약 91중량% 이상, 약 92중량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이다.

[0045] 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 DPA n-3 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 및 DPA n-3 함량의 약 0.5 중량% 내지 약 5 중량%, 약 1 중량% 내지 약 5 중량%, 또는 약 3 중량% 내지 약 4 중량%이다.

[0046] 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA, DPA n-3, 및 DPA n-6 함량은 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 총량의 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 91% 이상, 약 92% 이상, 약 93% 이상, 약 94% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이다.

[0047] 일부 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA, DPA n-3, DPA n-6 함량의 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 91% 이상, 약 92% 이상, 약 93% 이상, 약 94% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이다.

[0048] 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르 분획은 에틸 에스테르이다.

[0049] 한 실시양태에서, 상기 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 및 EPA 함량은 에스테르 분획의 지방산의 총량의 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 91% 이상, 약 92% 이상, 약 93% 이상, 약 94% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이다. 일부 실시양태에서, 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 총량의 약 80중량% 이상, 약 85중량% 이상, 약 90중량% 이상, 약 91중량% 이상, 약 92중량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이다. 일부 실시양태에서, 에스테르 분획 중의 지방산의 EPA 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 총량의 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르 분획은 에틸 에스테르이다.

[0050] 한 실시양태에서, 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 및 EPA 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 총량의 약 80% 이상, 약 85% 이상, 약 90% 이상, 약 91% 이상, 약 92% 이상, 약 93% 이상, 약 94% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이다. 일부 실시양태에서, 에스테르 분획 중의 지방산의 EPA 함량은 지방산의 총량의 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 91 중량% 이상, 약 92 중

량% 이상, 약 93 중량% 이상, 약 94 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 96 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이다. 일부 실시양태에서, 에스테르 분획 중의 지방산의 DHA 함량은 에스테르 분획 중의 지방산의 총량의 약 5% 미만, 약 4% 미만, 약 3% 미만, 약 2.5% 미만, 약 2% 미만, 약 1.5% 미만, 약 1% 미만, 또는 약 0.5% 미만이다. 바람직한 실시양태에서, 상기 에스테르 분획은 에틸 에스테르이다.

- [0051] 일부 실시양태에서, 오일의 총 이성질체 값은 5% 미만, 4.5% 미만, 4% 미만, 3.5% 미만, 3% 미만, 2.5% 미만, 2% 미만, 1.5% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 0.1% 미만, 또는 0%이다.
- [0052] 일부 실시양태에서, 오일의 EPA 이성질체 값은 5% 미만, 4.5% 미만, 4% 미만, 3.5% 미만, 3% 미만, 2.5% 미만, 2% 미만, 1.5% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 0.1% 미만, 또는 0%이다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 오일의 DHA 이성질체 값은 5% 미만, 4.5% 미만, 4% 미만, 3.5% 미만, 3% 미만, 2.5% 미만, 2% 미만, 1.5% 미만, 1% 미만, 0.5% 미만, 0.1% 미만, 또는 0%이다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 오일 1 g 당 오일 중의 DHA의 양은 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 100 mg 내지 약 600 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 900 mg, 약 100 mg 내지 약 950 mg, 약 800 내지 약 950 mg, 또는 0 내지 약 100 mg이다.
- [0055] 일부 실시양태에서, 오일 1g 당 오일 중의 EPA의 양은 약 100 mg 내지 약 300 mg, 약 100 mg 내지 약 600 mg, 약 100 mg 내지 약 800 mg, 약 100 mg 내지 약 900 mg, 약 100 mg 내지 약 950 mg, 약 800 내지 약 950 mg, 또는 0 내지 약 100 mg이다.
- [0056] 일부 실시양태에서, 오일은 미생물 오일 또는 해양 오일이다.
- [0057] 미생물에 의해 생성되거나 미생물 세포로부터 획득되는 오일은 "미생물 오일"으로 지칭된다. 조류 및/또는 균류에 의해 생성된 오일은 각각 조류 및/또는 균류 오일로 지칭된다.
- [0058] 본원에 사용될 때, "미생물 세포" 또는 "미생물"은 조류, 세균류, 진균류, 원생생물, 효모, 또는 이들의 조합, 예를 들어 단세포 생물과 같은 유기체를 지칭한다. 미생물 세포는, 황조류(예를 들어, 부등편모조류(*Stramenopiles*) 계의 미생물); 녹조류; 규조류; 와편모조류(예를 들어 크립테코디늄 코니이(*Cryptothecodinium cohnii*) 또는 씨. 코니이(*C. cohnii*)와 같은 크립테코디늄 속의 구성원을 비롯한 와편모조강(*Dinophyceae*) 목의 미생물); 트라우스토키트리알(*Thraustochytriales*) 목의 미세조류; 효모(자낭균류 또는 담자균류); 및 뮤코(*Mucor*), 모르티에렐라(*Mortierella*)(모르티에렐라 알피나(*Mortierella alpina*) 및 모르티에렐라 섹트. 슈뮤케리(*Mortierella sect. schmuckeri*))를 포함하나, 이에 국한되지 않음), 및 피티움(*Pythium*) 속(피티움 인시디오숨(*Pythium insidiosum*))을 포함하나, 이에 국한되지 않음)의 균류를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0059] 한 실시양태에서, 미생물은 모르티에렐라 속, 크립테코디늄 속, 또는 트라우스토키트리알 목으로부터인 것이다. 또 다른 실시양태에서 미생물은 크립테코디늄 코니이로부터인 것이다. 여전히 추가의 실시양태에서, 미생물은 모르티에렐라 알피나로부터인 것이다. 여전히 추가의 실시양태에서, 미생물은 크립테코디늄 코니이, 모르티에렐라 알피나, 스키흐조키트리움 종, 및 이들의 혼합물로부터 선택된다.
- [0060] 여전히 추가의 실시양태에서, 미생물은 모르티에렐라 속, 코니디오볼루스(*Conidiobolus*) 속, 피티움(*Pythium*) 속, 피토포토라(*Phytophthora*) 속, 페니실리움(*Penicillium*) 속, 클라도스포리움(*Cladosporium*) 속, 무코(*Mucor*) 속, 푸사리움(*Fusarium*) 속, 아스페르길루스(*Aspergillus*) 속, 로도토룰라(*Rhodotorula*) 속, 엔토모프토라(*Entomophthora*) 속, 에키노스포란지움(*Echinosporangium*) 속, 및 사프로레그니아(*Saprolegnia*) 속에 속하는 미생물을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0061] 심지어 추가의 실시양태에서, 미생물은 트라우스토키트리움(*Thraustochytrium*) 속(종은 아루디멘탈(*arudimentale*), 아우리움(*aureum*), 벤티콜라(*benthicola*), 글로보숨(*globosum*), 키니(*kinnei*), 모티브(*motivum*), 멀티루디멘탈(*multirudimentale*), 파치테르뮴(*pachydermum*), 프로리페룸(*proliferum*), 로시움(*roseum*), 스트리아툼(*striatum*))을 포함함); 스키흐조키트리움(*Schizochytrium*) 속(종은 아그레타툼(*aggregatum*), 림나세움(*limnaceum*), 망그로비(*mangrovei*), 미누툼(*minutum*), 옥토스포룸(*octosporum*))을 포함함); 울케니아(*Ulkenia*) 속(종은 아모에보이디아(*amoeboidia*), 케르구엘렌시스(*kerguelensis*), 미누타(*minuta*), 프로펀다(*profunda*), 라디에이트(*radiate*), 사일렌스(*sailens*), 사르카리아나(*sarkariana*), 스키흐조키트롭스(*schizochytrrops*), 비수르젠시스(*visurgensis*), 요르겐시스(*yorkensis*))를 포함함); 우란티아코치트리움(*Aurantiaochytrium*) 속; 브롱기트리움(*Oblongichytrium*) 속; 시사이오이도키트리움(*Sicyoidochytrium*) 속; 파리에티키트리움(*Parientichytrium*) 속; 보트리오키트리움(*Botryochytrium*) 속; 또는 이들의 조합을 포함하는,

트라우스토키트리알 목의 미세조류로부터인 것이다. 울케니아에서 기술된 종은, 스킨조키트리움 속의 구성원으로 고려될 것이다. 또다른 실시양태에서, 미생물 세포는 트라우스토키트리알 목으로부터인 것이다. 심지어 또다른 실시양태에서, 미생물 세포는 트라우스토키트리움으로부터인 것이다. 여전히 추가의 실시양태에서, 미생물 세포는 스킨조키트리움 종으로부터인 것이다.

[0062] 특정 실시양태에서, 오일은 해양 오일을 포함할 수 있다. 적합한 어유의 예는 대서양 어유, 태평양 어유, 또는 지중해 어유, 또는 이들의 임의의 혼합물 또는 조합을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 보다 구체적인 예에서, 적합한 어유는 폴락크(pollack)유, 가다랑어(bonito)유, 정어리유, 틸라피아유, 참치 오일, 농어 오일, 하일벗(halibut) 오일, 청새치(spearfish)유, 바라쿠다(barracuda)유, 대구유, 마니텐(menhaden)유, 사다인(sardine)유, 멸치유, 열빙어(capelin)유, 청어(herring)유, 고등어유, 살모니드(salmonid)유, 참치유, 및 상어유일 수 있고, 이에 국한되지 않으며, 임의의 혼합물 또는 이들의 조합을 포함한다. 본원에서 사용하기에 적합한 다른 해양 오일은 오징어 오일, 커틀피쉬(cuttle fish) 오일, 문어 오일, 크릴 오일, 해표 오일, 고래 오일 등을 포함하나, 이에 국한되지 않으며, 임의의 혼합물 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0063] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 지방산은 지방산 에스테르 또는 에스테르일 수 있다. 일부 실시양태에서, 지방산 에스테르는 오메가-3 지방산, 오메가-6 지방산, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 지방산 에스테르는 DHA 에스테르, EPA 에스테르, 또는 이들의 조합이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기술된 오일 또는 그의 분획이 에스테르화되어 지방산 에스테르를 포함하는 오일 또는 그의 분획을 생성한다. "에스테르화"란 용어는 지방산 분자의 카복실산 기의 수소를 또 다른 치환체로 대체하는 것을 의미한다. 에스테르의 예는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, tert-부틸, 벤질, 니트로벤질, 메톡시벤질, 벤즈하이드릴, 및 트리클로로에틸을 포함한다. 일부 실시양태에서, 에스테르는 카복실산 보호 에스테르 기, 아르알킬(예를 들어, 벤질, 펜에틸)과의 에스테르, 저급 알케닐(예를 들어, 알릴, 2-부테닐)과의 에스테르, 저급-알콕시-저급-알킬(예를 들어, 메톡시메틸, 2-메톡시에틸, 2-에톡시에틸)과의 에스테르, 저급-알카노일옥시-저급-알킬(예를 들어, 아세톡시메틸, 피발로일옥시메틸, 1-피발로일옥시에틸)과의 에스테르, 저급-알콕시카보닐-저급-알킬(예를 들어, 메톡시카보닐메틸, 이소프로폭시카보닐메틸)과의 에스테르, 카복시-저급 알킬(예를 들어, 카복시메틸)과의 에스테르, 저급-알콕시카보닐옥시-저급-알킬(예를 들어, 1-(에톡시카보닐옥시)에틸, 1-(사이클로헥실옥시카보닐옥시)에틸)과의 에스테르, 카바모일옥시-저급 알킬(예를 들어, 카바모일옥시메틸)과의 에스테르 등이다. 일부 실시양태에서, 첨가된 치환체는 선형 또는 지환식 탄화수소 그룹, 예를 들면, C1-C6 알킬, C1-C6 사이클로알킬, C1-C6 알케닐, 또는 C1-C6 아릴 에스테르이다. 일부 실시양태에서, 에스테르는 알킬 에스테르, 예를 들면, 메틸 에스테르, 에틸 에스테르, 또는 프로필 에스테르이다. 일부 실시양태에서, 에스테르 치환체는 당해 지방산이 정제된 또는 반-정제된 상태로 존재하는 경우에 유리 지방산 분자에 부가된다.

[0064] 지방산 에스테르, 특히 다중불포화 지방산 에스테르는 당업자에게 공지된 방법으로 제조될 수 있다.

[0065] 예를 들어, 지방산, 특히 다중불포화 지방산을 함유하는 트라이-아실 글리세리드, 다이-아실 글리세리드, 및/또는 모노-아실 글리세리드를 산 또는 염기의 존재 하에 알코올과 반응시켜 에스테르를 생산할 수 있다. 미국 특허 출원 제 12/163,555 호(미국 특허 출원 사전 허가 출원 번호 제 2009/0023808 호로 공개됨)는 그 전체가 본원에 참고로 인용된다.

[0066] 알코올은 예를 들어 에탄올, 메탄올, n-프로판올, iso-프로판올, n-부탄올, iso-부탄올, sec-부탄올, tert-부탄올, n-펜탄올, 및 n-헥산올 등의 C1-C6 알킬 알코올을 포함할 수 있다. 알코올은 반응 용매 및 공-반응물로서, 단독으로 또는 공-용매로서 사용될 수 있다. 상기 알코올의 양은 반응 혼합물의 25 중량% 내지 50 중량% 범위일 수 있고, 명시적으로 기재된 것처럼 그 사이의 모든 값 및 하위 범위를 포함한다. 예를 들어, 반응 혼합물 중의 알코올의 양은 반응 혼합물의 30 중량%, 35 중량%, 40 중량%, 또는 45 중량%일 수 있다.

[0067] 염기는 예를 들어, 금속 알킬옥사이드일 수 있다. 금속 알킬옥사이드는 나트륨 에톡사이드, 나트륨 메톡사이드, 나트륨 n-프로폭사이드, 나트륨 iso-프로폭사이드, 나트륨 n-부톡사이드, 나트륨 iso-부톡사이드, 나트륨 sec-부톡사이드, 나트륨 tert-부톡사이드, 나트륨 n-펜톡사이드, 나트륨 n-헥소사이드, 리튬 에톡사이드, 리튬 메톡사이드, 리튬 n-프로폭사이드, 리튬 iso-프로폭사이드, 리튬 n-부톡사이드, 리튬 iso-부톡사이드, 리튬 sec-부톡사이드, 리튬 tert-부톡사이드, 리튬 n-펜톡사이드, 리튬 n-헥소사이드, 칼륨 에톡사이드, 칼륨 메톡사이드, 칼륨 n-프로폭사이드, 칼륨 iso-프로폭사이드, 칼륨 n-부톡사이드, 칼륨 iso-부톡사이드, 칼륨 sec-부톡사이드, 칼륨 tert-부톡사이드, 칼륨 n-펜톡사이드, 및/또는 칼륨 n-헥소사이드를 포함한다.

[0068] 일부 상황에서, 상기 염기는 나트륨 금속, 칼륨 금속, 또는 리튬 금속을 알코올 용액에 첨가함으로써 제조될 수 있다.

- [0069] 일부 상황에서, 상기 염기는 수소화 리튬, 수소화 나트륨, 또는 수소화 칼륨과 같은 수소화 금속을 알코올 용액에 첨가함으로써 제조될 수 있다.
- [0070] 염기 대 오일의 비율은 중량 대 중량 기준으로 예를 들어, 1:1 내지 1000:1의 범위일 수 있고, 명시적으로 기재된 것처럼 그 사이의 모든 값 및 하위 범위를 포함한다. 예를 들어, 염기 대 오일의 비는 중량 대 중량 기준으로, 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, 또는 900:1이다.
- [0071] 상기 에스테르화 반응은 10℃ 내지 100℃ 범위의 온도에서 실시될 수 있고, 명시적으로 기재된 것처럼 그 사이의 모든 값 및 하위 범위를 포함한다. 예를 들어, 상기 에스테르화 반응은 20℃, 30℃, 40℃, 50℃, 60℃, 70℃, 80℃, 또는 90℃에서 수행될 수 있다.
- [0072] 상기 에스테르화 반응은 대기에 개방된 상태에서 수행되거나 질소 또는 아르곤과 같은 불활성 분위기 하에서 수행될 수 있다.
- [0073] 지방산 에스테르의 후처리(workup) 및 분리는 당업자에게 공지된 방법, 예를 들어 유기 용매 및/또는 물로 추출함으로써 수행될 수 있다. 유기 용매는 예를 들어 펜탄, 헥산, 다이에틸 에테르, 에틸 아세테이트, 또는 이들의 조합일 수 있다. 물은 선택적으로 중탄산나트륨, 탄산나트륨, 염화 암모늄, 및/또는 희석된 무기산과 같은 다른 물질을 함유할 수 있다.
- [0074] 일부 실시양태에서, 오일 중의 에스테르 분획의 일부를 트라이글리세리드 분획으로 전환하기 위해 오일은 에스테르 교환반응을 거친다. 에스테르 교환반응, 특히 다중불포화 지방산 에스테르의 에스테르 교환반응은 당업자에게 공지된 방법으로 수행될 수 있다.
- [0075] 본 발명에서, 임의의 농축(concentration), 반응, 및/또는 정제 기술은 다른 농축(concentration), 반응, 및/또는 정제 기술과 조합되어, 다중불포화 지방산, 그의 에스테르, 그의 염, 그의 알데히드, 및/또는 그의 알코올이 농축된 미생물 오일을 제조할 수 있다. 상기 농축(enrichment) 기술은 임의의 순서 및 조합으로 사용될 수 있다.
- [0076] 일부 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 오일을 포함하는 식품, 보충제, 또는 약제학적 조성물이다. 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체를 함유할 수 있다.
- [0077] 일부 실시양태에서, 상기 조성물은 식품이다. 식품은 비-인간 동물 또는 인간 소비용의 임의의 식품이며, 고체 및 액체 조성물을 포함한다. 식품은 동물 또는 인간 식품에 대한 첨가제일 수 있다. 식품은 일반적인 식품인 우유, 음료, 치료학적 음료, 및 영양 음료를 포함하는 액체 제품; 기능성 식품; 보충물; 기능 식품; 조산아용 분유를 포함하는 영아용 조제식; 임신 또는 수유모용 식품; 성인용 식품; 노인용 식품; 및 동물 식품우유, 음료, 치료 음료 및 영양 음료를 포함한 액체 제품; 기능성 식품; 보충제; 약효식품(nutraceutical); 성숙한 유아를 위한 공식을 포함한 유아용 조제식; 임신 또는 간호 여성을 위한 식품; 성인용 식품; 노인성 식품; 및 동물성 식품을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0078] 일부 실시양태에서, 조성물은 동물 사료이다. "동물"은 동물 계에 속하는 비-인간 유기체를 의미하며, 수생 동물 및 육상 동물을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 용어 "동물 사료" 또는 "동물 식품"은, 어류; 시판어류; 관상 어류; 어류 유충; 쌍각류; 연체동물; 갑각류; 패류; 새우; 새우 유충; 아르테미아(artemia); 담륜충(rotifer); 브라인 새우(brine shrimp); 여과 섭식동물; 양서류; 파충류; 포유류; 사육동물; 농장 동물; 동물원 동물; 스포츠 동물; 종계(breeding stock); 경주용 동물; 쇼 동물(show animal); 보존 동물(heirloom animal); 희귀 동물 또는 멸종위기 동물; 애완동물, 예를 들면, 개, 고양이, 기니피그, 토끼, 랫드, 마우스, 또는 말; 원숭이(예를 들어, 세부스(cebus), 레서스(rhesus), 아프리카 녹색(African green), 파타스(patas), 시노몰구스(cynomolgus), 및 세르코피테쿠스(cercopithecus)), 유인원, 우랑우탄, 개코원숭이, 긴팔원숭이, 및 침팬지 등의 영장류; 개 및 늑대 등의 개과 동물; 고양이, 사자, 및 호랑이 등의 고양이과; 말, 당나귀 및 얼룩말 등의 말과; 암소, 소, 돼지, 및 양 등의 식용 동물; 사슴 및 기린 등의 유제류; 마우스, 랫드, 햄스터, 및 기니피그 등의 설치류 등에 상관없이, 비-인간 동물에 의도된 특정 식품을 말한다. 동물 사료는, 수경재배 사료, 애완동물 사료, 동물원 동물 사료, 노동 동물 사료, 가축 사료, 또는 이의 조합을 포함하는 가축 동물 사료를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0079] 일부 실시양태에서, 조성물은, 이의 고기 또는 생산물이 인간에 의해 소비되는 특정 동물, 예를 들면, 고기, 알, 또는 우유가 이로부터 인간 소비용으로 유래되는 특정 동물용 사료 또는 사료 보충물이다. 이러한 동물에게

공급되는 경우, LC-PUFA 등의 영양물이 고기, 우유, 알, 또는 이러한 동물의 다른 생산물에 혼입되어 이들 영양분들의 함량을 증가시킬 수 있다.

- [0080] 본 발명은 또한 다중불포화 지방산의 에스테르를 포함하는 오일을 분리 및 농축하여 오일을 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0081] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 오일에 적어도 한 번의 증류 단계를 가하는 단계를 포함하며, 이때 제 1 증류 단계는 오일을 하나 이상의 장치에 공급하고 증류액에서 저비점 화합물을 제거하는 조건으로 오일을 처리함을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 에이코사펜타엔산(EPA)의 일부가 증류액에서 제거된다. 일부 실시양태에서, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상의 EPA가 제 1 증류 단계의 증류액에 존재한다.
- [0082] 일부 실시양태에서, 제 1 장쇄 다중불포화 지방산(LC-PUFA)의 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상이 제 2 증류 단계에서 제 2 LC-PUFA로부터 분리된다. 바람직한 실시양태에서, 상기 제 1 LC-PUFA는 EPA이다. 바람직한 실시양태에서, 제 2 LC-PUFA는 DHA이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 제 1 LC-PUFA는 EPA이고, 제 2 LC-PUFA는 DHA이다.
- [0083] 일부 실시양태에서, 제 1 장쇄 다중불포화 지방산(LC-PUFA)의 약 50% 이상, 약 55% 이상, 약 60% 이상, 약 65% 이상, 약 70% 이상, 약 75% 이상이 제 3 증류 단계에서 제 2 LC-PUFA로부터 분리된다. 바람직한 실시양태에서, 상기 제 1 LC-PUFA는 EPA이다. 바람직한 실시양태에서, 제 2 LC-PUFA는 DHA이다. 더 바람직한 실시양태에서, 상기 제 1 LC-PUFA는 EPA이고, 제 2 LC-PUFA는 DHA이다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 단거리 증류기, 분별 증류기, 강하막 증발기(falling-film evaporator), 와이핑된 막 증발기(wiped-film evaporator), 또는 이들의 조합을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 상기 방법은 분별 증류기를 포함한다.
- [0085] 일부 실시양태에서, 상기 장치는 분별 증류 컬럼이다.
- [0086] 일부 실시양태에서, 상기 컬럼은 정류 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, 컬럼은 약 3 미터 이상, 약 2 미터 이상, 또는 약 3 미터 이상의 구조화된 패키징을 갖고, 약 3 내지 4 이상, 약 4 내지 5 이상, 약 5 내지 6 이상, 약 6 내지 7 이상, 약 7 내지 8 이상, 약 8 내지 9 이상, 약 9 내지 10 이상, 약 10 내지 11 이상, 약 11 내지 12 이상, 또는 약 12 내지 13 이상의 이론단수를 갖는다.
- [0087] 일부 실시양태에서, 컬럼은 진공관에 부착된다. 일부 실시양태에서, 컬럼 상부의 압력은 약 4 mbar 미만, 약 3.5 mbar 미만, 약 3 mbar 미만, 약 2.5 mbar 미만, 약 2 mbar 미만 또는 약 1.5 mbar 미만이다. 일부 실시양태에서, 컬럼의 압력 강하는 약 10 mbar 미만, 약 9 mbar 미만, 약 8 mbar 미만, 약 7 mbar 미만, 약 6 mbar 미만, 약 5 mbar 미만, 4 mbar 미만, 또는 약 3 mbar 미만이다.
- [0088] 일부 실시양태에서, 상기 장치는 분별 컬럼 또는 단거리 증류기이다. 바람직한 실시양태에서, 분별 컬럼은 와이핑된 막 증발기에 부착된다. 하나 이상의 증류 단계를 포함하는 일부 실시양태에서, 각각의 증류 단계의 장치는 동일한 장치이거나 직렬일 수 있다.
- [0089] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 장치에 오일을 공급하는 단계는 중간-컬럼 공급물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 장치에 대한 오일의 공급은 증발기 공급물을 포함한다.
- [0090] 바람직한 실시양태에서, 제 1 증류 단계에 적용되어 잔류액 단부 및 증류액 단부에서 분리되는 오일의 양은 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 또는 약 80 중량% 이상이다. 바람직한 실시양태에서, 잔류액 단부에서 수집된 오일은 약 10 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상의 EPA 및 DHA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 증류액 단부에서 수집된 오일은 약 10 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상의 탄소 원자 20 개 미만의 다중불포화 지방산을 포함한다.
- [0091] 바람직한 실시양태에서, 제 2 증류 단계에 적용되어 잔류액 단부 및 증류액 단부에서 분리되는 오일의 양은 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 또는 약 80 중량% 이상이다. 바람직한 실시양태에서, 잔류액 단부에서 수집된 오일은 약 10 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상의 EPA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 증류액 단부에서 수집된 오

일은 약 10 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상의 DHA를 포함한다.

[0092] 바람직한 실시양태에서, 제 3 증류 단계에 적용되어 잔류액 단부 및 증류액 단부에서 분리되는 오일의 양은 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 또는 약 80 중량% 이상이다. 바람직한 실시양태에서, 잔류액 단부에서 수집된 오일은 약 10중량% 이상, 약 20중량% 이상, 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상의 EPA를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 증류액 단부에서 수집된 오일은 약 10 중량% 이상, 약 20 중량% 이상, 약 30 중량% 이상, 약 40 중량% 이상, 약 50 중량% 이상, 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 85 중량% 이상, 또는 약 90 중량% 이상의 DHA를 포함한다.

[0093] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 증류 단계는 가열을 포함하고, 이때 온도는 약 275℃ 미만, 약 250℃ 미만, 약 225℃ 미만, 약 200℃ 미만, 약 190℃ 미만, 약 180℃ 미만, 약 170℃ 미만, 약 100℃ 내지 약 250℃, 약 125℃ 내지 225℃, 약 150℃ 내지 200℃, 또는 약 160℃ 내지 190℃이다.

[0094] 일부 실시양태에서, 환류비는 약 5 미만, 약 4.5 미만, 약 4 미만, 약 3.5 미만, 약 3 미만, 약 2.5 미만, 약 2 미만, 약 1.5 미만이다. 약 1 미만, 또는 약 0.5 미만이다.

[0095] 또한, 본 발명은 본원에 개시된 임의의 방법으로 제조한 오일에 관한 것이다.

[0096] 실시예

[0097] 하기 실시예는 개시된 주제에 따른 방법 및 결과를 예시하기 위해 아래에 제시된다. 이들 실시예는 본원에 개시된 주제의 모든 실시양태를 포함하는 것은 아니고 대표적인 방법 및 결과를 설명하기 위한 것이다. 이들 실시예는 당업자에게 명백한 균등물 및 변형물을 배제하려는 의도는 아니다.

[0098] 분석 방법: 지방산 조성의 측정은, 유럽 약전 방법 2.04.29에 따른 가스 크로마토그래피/불꽃 이온화 검출기(GD/FID)를 사용하여 수행하였다.

[0099] 실시예 1

[0100] 원유(crude oil)는 스키조트리움 종의 발효를 통해 생산되었다. 표 1은 출발 오일의 지방산 프로파일을 나타낸다.

[0101] [표 1] 지방산 프로파일-출발 오일

지방산	면적 백분율(%)
C14:0	1.3
C16:0	18.3
C18:0	1.1
C18:1 n-9	2.1
C20:4 n-6	1.3
C20:5 n-3(EPA)	9.5
C22:5 n-6	4.0
C22:5 n-3	1.2
C22:6 n-3(DHA)	58.1

[0102]

[0103] 에스테르 교환반응: 출발 오일을 트라이글리세리드로부터 에틸 에스테르로 전환시키기 위해, 1 리터의 둥근 바닥 플라스크에 400 g의 건조된 원유 및 에탄올(120 g)에 용해된 나트륨 에톡사이드(3.2 g) 용액을 첨가했다. 상기 혼합물을 N₂ 분위기 하에 교반하면서 75℃로 가열한 다음, 이 온도에서 1 시간 동안 유지시켰다. 반응 혼합물을 30℃로 냉각시키고, 개별 깔대기로 옮긴 후 하부 글리세롤 층을 배출시켰다. 이어서, 상부 오일 층을 깨끗한 1 리터의 둥근 바닥 플라스크로 옮기고 에탄올(12.0 g) 중의 나트륨 에톡사이드(0.32 g) 용액을 첨가했다. 상기 혼합물을 N₂ 분위기 하에 교반하면서 다시 75℃로 가열한 다음, 이 온도에서 1 시간 동안 유지시켰다. 회전식 증발기를 사용하여 에탄올을 제거하고, 수성 세척 부분의 pH가 더 이상 염기성이 아닐 때까지 잔류액을 시트르산 용액(1% w/w)으로 세척한 후에 물로 세척하고, 진공 하에 건조시켰다.

[0104] 분석 방법: 크기 배제 크로마토그래피/굴절률 검출기(SEC/RI)를 사용하여 올리고머 및 지질 등급을 측정했다. 폴리머 기반의 Tosahaas TSK-GEL이 겔 투과 크로마토그래피에 사용되었다. 장치는 2 개의 TSK-GEL 컬럼 및 1 개의 가드 컬럼으로 조립되었고, 0.600 mL/분의 유속의 테트라하이드로퓨란(THF)으로 평형시켰다. 오일 샘플을

THF에 15 mg/mL의 농도로 용해시키고 10.0 μ L의 주입량으로 크로마토그래피에 주입했다. 표 2는 에스테르 교환 반응 후의 출발 오일의 지질 등급 프로파일을 나타낸다.

[표 2] 지질 종류-출발 오일

지질 종류	%
에틸 에스테르	96
모노글리세리드	2.6
다이글리세리드	1.2
트라이글리세리드	0.1

정제 및 농축, 시험 1: 오일을, 120°C 내지 180°C의 온도 범위 및 약 20 mtorr의 진공을 사용하는 단거리 증류 장치에 3 회 통과시킴으로써 분획하였다. 제 1 통과에서, 출발 오일이 상기 단거리 증류 장치를 통과했다. 증류액(샘플 1D)은 110 mg/g EPA 및 322 mg/g DHA를 함유하고, 잔류액(샘플 1R)은 70 mg/g EPA 및 759 mg/g DHA를 함유했다. 제 2 통과에서, 제 1 통과와 잔류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 2D)에서 72 mg/g EPA와 789 mg/g DHA를 수득했다. 잔류액(샘플 2R)은 점도 때문에 샘플링될 수 없었다. 제 3 통과에서, 제 2 통과로 얻은 증류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 3D) 중에서 126 mg/g EPA 및 715 mg/g DHA를 수득하고, 잔류액(샘플 3R) 중에서 43 mg/g EPA 및 811 mg/g DHA를 수득했다. 표 3에 결과를 나타냈다.

[표 3] 단거리 증류 결과, 시험 1

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)	총 오메가-3(mg/g)
출발 오일	87	548	646
제 1 통과 증류액(샘플 1D)	110	322	451
제 1 통과 잔류액(샘플 1R)	70	759	853
제 2 통과 증류액(샘플 2D)	72	789	887
제 2 통과 잔류액(샘플 2R)	----	----	----
제 3 통과 증류액(샘플 3D)	126	715	868
제 3 통과 잔류액(샘플 3R)	43	811	877

정제 및 농축, 시험 2: 오일을, 120°C 내지 180°C의 온도 범위 및 약 20 mtorr의 진공을 사용하는 단거리 증류 장치에 4 회 통과시킴으로써 분획하였다. 제 1 통과에서, 출발 오일이 상기 단거리 증류 장치를 통과했다. 증류액(샘플 1D)은 69 mg/g EPA 및 154 mg/g DHA를 함유하고 잔류액(샘플 1R)은 94 mg/g EPA 및 641 mg/g DHA를 함유했다. 제 2 통과에서, 제 1 통과와 잔류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 2D) 중에서 131 mg/g EPA와 373 mg/g DHA를 수득하고, 잔류액(샘플 2R) 중에서 84 mg/g EPA와 717 mg/g DHA를 수득했다. 제 3 통과에서, 제 2 통과로 얻은 증류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 3D) 중에서 86 mg/g EPA 및 742 mg/g DHA를 수득했다. 잔류액(샘플 3R)은 점도 때문에 샘플링될 수 없었다. 제 4 통과에서, 제 2 통과로 얻은 증류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 4D) 중에서 117 mg/g EPA 및 722 mg/g DHA를 수득하고, 잔류액(샘플 4R) 중에서 26 mg/g EPA 및 785 mg/g DHA를 수득했다. 표 4에 결과를 나타냈다.

[0111] [표 4] 단거리 증류 결과, 시험 2

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)	총 오메가-3(mg/g)
출발 오일	87	548	646
제 1 통과 증류액(샘플 1D)	69	154	234
제 1 통과 잔류액(샘플 1R)	94	641	758
제 2 통과 증류액(샘플 2D)	131	373	527
제 2 통과 잔류액(샘플 2R)	84	717	825
제 3 통과 증류액(샘플 3D)	86	742	853
제 3 통과 잔류액(샘플 3R)	----	----	----
제 4 통과 증류액(샘플 4D)	117	722	867
제 4 통과 잔류액(샘플 4R)	26	785	832

[0112]

[0113] 정제 및 농축, 시험 3: 이 시험에서 시험 1 및 2 의 출발 오일과 상이한 출발 오일이 사용되었다. 상기 오일은 스키토트리움(*Schizochytrium* sp.) 종의 발효를 통해 생산되었고, 상기과 동일한 에스테르 교환반응을 거쳤다. 상기 오일을 120℃ 내지 180℃의 온도 범위 및 약 20 mtorr의 진공을 사용하는 단거리 증류 장치에 3 회 통과시킴으로써 분획하였다. 제 1 통과에서, 출발 오일이 상기 단거리 증류 장치를 통과했다. 증류액(샘플 1D)은 112 mg/g EPA 및 332 mg/g DHA를 함유하고 잔류액(샘플 1R)은 60 mg/g EPA 및 733 mg/g DHA를 함유했다. 제 2 통과에서, 제 1 통과로 얻은 증류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 2D) 중에서 76 mg/g EPA와 766 mg/g DHA를 수득했다. 잔류액(샘플 2R)은 점도 때문에 샘플링될 수 없었다. 제 3 통과에서, 제 2 통과와 잔류액을 단거리 증류 장치를 통해 공급하여 증류액(샘플 3D) 중에서 96 mg/g EPA 및 786 mg/g DHA를 수득하고, 잔류액(샘플 3R) 중에서 22 mg/g EPA 및 805 mg/g DHA를 수득했다. 표 5에 결과를 나타냈다.

[0114] [표 5] 단거리 증류 결과, 시험 3

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)	총 오메가-3(mg/g)
출발 오일	86	525	630
제 1 통과 증류액(샘플 1D)	112	332	462
제 1 통과 잔류액(샘플 1R)	60	733	815
제 2 통과 증류액(샘플 2D)	62	766	851
제 2 통과 잔류액(샘플 2R)	----	----	-----
제 3 통과 증류액(샘플 3D)	96	786	907
제 3 통과 잔류액(샘플 3R)	22	805	848

[0115]

[0116] 실시예 2

[0117] 출발 오일은 스키토트리움 종의 발효를 통해 생산되었다.

[0118] 에스테르 교환반응: 1 리터의 둥근 바닥 플라스크에 400 g의 건조되고 여과시킨 출발 오일을 채우고 에탄올(120 g)에 용해된 나트륨 에톡사이드(3.2 g) 용액을 첨가했다. 상기 혼합물을 N₂ 분위기 하에 교반하면서 75℃로 가열한 다음, 이 온도에서 1 시간 동안 유지시켰다. 반응 혼합물을 30℃로 냉각시키고, 분별 깔대기로 옮긴 후 하부 글리세롤 층을 배수시켰다. 이어서, 상부 오일 층을 깨끗한 1 리터의 둥근 바닥 플라스크로 옮기고 에탄올(12.0 g) 중의 수산화 나트륨(0.32 g)의 용액을 첨가했다. 상기 혼합물을 N₂ 분위기 하에 교반하면서 다시 75℃로 가열한 다음, 이 온도에서 1 시간 동안 유지시켰다. 회전식 증발기를 사용하여 에탄올을 제거하고, 수성 세척 부분의 pH가 더 이상 염기성이 아닐 때까지 시트르산 용액(1% w/w)으로 세척한 후에 물로 세척하고, 진공 하에 건조시켰다.

[0119] 정제 및 농축: 오일은, 2.3 mbar의 컬럼의 압력 강하에 의해 210℃를 초과하지 않는 온도에서 분획되었다. 무거

은 분획은 0.01 mbar의 압력 및 140℃의 온도에서 단거리 증류를 사용하여 추가로 정제되었다. DHA 농축물은 순도 890 mg/g의 225 mg의 양으로 분리되었다.

[0120] 실시예 3

[0121] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다.

[0122] 에스테르 교환반응: 나트륨 에톡사이드를 촉매로 사용한 정제된 해양 오일과 에틸 알코올 간의 에스테르화 반응을 이용하여 해양 오일 에틸 에스테르를 제조했다. 정제된 해양 오일을 가열하고, 에탄올 및 나트륨 에톡사이드를 첨가했다. 해양 오일로부터 글리세롤을 분리하였다. (글리세롤 제거 후) 이어서 에탄올과 나트륨 에톡사이드를 해양 오일에 다시 첨가했다. 에틸 에스테르 해양 오일을 원심 분리하여 추가적으로 글리세롤을 제거했다. 9% 시트르산 용액을 해양 오일의 5 중량%만큼 첨가하여 상기 나트륨 에톡사이드를 중화시켰다. 상기 에틸 에스테르 해양 오일로부터 상기 산 세척 층을 분리한 후, 물을 첨가하고 상기 에틸 에스테르 해양 오일을 건조시켰다.

[0123] 실시예 4 내지 9에서 사용된 에틸 에스테르 해양 오일은 이 실시예 3에서와 같이 제조되었다.

[0124] 실시예 4

[0125] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 정류 컬럼을 갖는 강하막 증발기에 이은 단거리 증류기(SPD)를 평가했다. 컬럼은 대략 3 내지 4 개의 이론단수를 갖는 약 1 미터의 패키징을 함유했다. 205℃의 온도에서 에틸 에스테르 해양 오일을 재순환 스트림을 통해 공급했다. 표 7에 농도 결과를 나타냈다. 표 8에 이성질체 결과를 나타냈다.

[0126] 분석 방법: 이성질체 및 관련 불순물을 가스 크로마토그래피를 사용하여 측정했다. 약 25 mg의 샘플을 칭량하고 25 mL의 헥산에 용해시켰다. 은 이온 SPE 카트리지가 매니폴드(manifold)에 장착되었다; 카트리지를 4 mL의 아세톤으로 조건화하고 4 mL의 헥산으로 평형시켰다. 1 mL의 샘플 용액을 상기 카트리지에 로딩하고 회수했다. 6 mL의 아세톤으로 상기 카트리지를 세척했다. 2 mL의 아세톤/아세토니트릴(3:2)로 상기 카트리지를 린스하여 상기 샘플을 15 mL의 새로운 시험관에 얻었다. 매니폴드로부터 상기 시험관을 제거하고, 질소 스트림 하에서 용매를 증발시켰다. 상기 시험관에 1 mL의 헥산을 가했다. 상기 용액을 GC 바이알에 옮겼다. 1 mL/min 헬륨을 사용하는 애질런트(Agilent) DB 왁스 30 m X 0.25 mm X 0.25 μm 컬럼을 사용했다. 주입 부피는 1 μL이었고 검출기는 260℃의 FID였다. 구배(gradient)는 100℃에서 1.0 분, 210℃까지 20 °C/분으로 높이고, 40 분간 유지하였다.

[0127] [표 7] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 1 m 패키징, EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)
출발 오일	176	85
컬럼-증류액	70.7	0.3
컬럼-잔류액	323.4	191.7
SPD-증류액	378	210.2
SPD-잔류액	19.7	21.9

[0129] [표 8] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 1 m 패키징, 이성질체

샘플	EPA 이성질체(%)	DHA 이성질체(%)	총 이성질체(%)
출발 오일	0.3	0.8	0.5
컬럼-잔류액	0.4	2.6	2.0
SPD-증류액	2.6	5.1	3.8

[0131] 실시예 5

[0132] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 정류 컬럼을 갖는 강하막 증발기에 이은 단거리 증류기를 평가했다. 컬럼은 약 2 미터의 패키징을 함유하고, 중간 컬럼 액체 분배기를 구비했다. 170℃의 온도에서 해양 오일을 재순환 스트림을 통해 공급했다. 표 9에 농도 결과를 나타냈다. 표 10에 이성질체 결과를 나타냈다.

[0133] [표 9] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 2 m 패키, EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)
출발 오일	175.7	85
컬럼-증류액	15.0	0.0
컬럼-잔류액	361.1	177.7
SPD-증류액	382.4	184.2
SPD-잔류액	35.5	28.9

[0134]

[0135] [표 10] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 2 m 패키, 이성질체

샘플	EPA 이성질체(%)	DHA 이성질체(%)	총 이성질체(%)
출발 오일	0.3	0.8	0.5
컬럼-증류액	3.7	해당 없음	3.7
컬럼-잔류액	3.0	6.7	4.9
SPD-증류액	2.1	5.7	4.1

[0136]

[0137] **실시예 6**

[0138] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 2 개의 직렬 컬럼(각각의 강하막 증발기는 정류 컬럼을 가짐)에 이은 단거리 증류기를 평가했다. 실시예 4의 컬럼-잔류액 샘플을 실시예 4에서와 동일한 조건 하에 제 2 강하막 증발기(약 2 미터의 패키를 갖는 정류 컬럼 및 중간 컬럼 액체 분배기를 가짐)를 통해 공급했다. 표 11에 농도 결과를 나타냈다 표 12에 이성질체 결과를 나타냈다.

[0139] [표 11] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 2 m 패키, EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)
출발 오일	175.7	85
컬럼 1-증류액	15.0	0.0
컬럼 1-잔류액	361.1	177.7
컬럼 2-증류액	653.1	20.8
컬럼 2-잔류액	0.0	145.5
SPD-증류액	2.1	227.5
SPD-잔류액	0.0	10.7

[0140]

[0141] [표 12] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 2 m 패키, 이성질체

샘플	EPA 이성질체(%)	DHA 이성질체(%)	총 이성질체(%)
출발 오일	0.3	0.8	0.5
컬럼 1-증류액	3.7	해당 없음	3.7
컬럼 1-잔류액	3.0	6.7	4.9
컬럼 2-증류액	0.8	3.3	1.1
컬럼 2-잔류액	6.6	24.4	23.6
SPD-증류액	17.6	29.4	29.2

[0142]

[0143] **실시예 7**

[0144] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은 단거리 증류기(SP D)를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 상기 컬럼은, 중간 컬럼 공급물과 함께 약 8 내지 9 개의 이론단수를 갖는 3 m 패키으로 패키되었다. 표 13에 농도 결과를 나타냈다 표 14에 이성질체 결과를 나타냈다.

[0145] [표 13] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 3 m 패키, EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)
출발 오일	173	88.2
컬럼 1-증류액	13	0.0
컬럼 1-잔류액	402.2	206.2
SPD-증류액	450.3	228.1
SPD-잔류액	56.9	51.7

[0146]

- 22 -

[0147] [표 14] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 3 m 패키징, 이성질체

샘플	EPA 이성질체(%)	DHA 이성질체(%)	총 이성질체(%)
출발 오일	0.9	1.2	1.0
컬럼 1-잔류액	0.6	0.7	0.6
SPD-증류액	0.5	0.4	0.5

[0148]

[0149] 실시예 8

[0150] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은 단거리 증류기(SPD)를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 상기 컬럼은, 중간 컬럼 공급물과 함께 약 8 내지 9 개의 이론단수를 갖는 3 m 패키징으로 패키징되었다. 표 15에 농도 결과를 나타냈다 표 16에 이성질체 결과를 나타냈다.

[0151] [표 15] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 3 m 패키징, EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)
출발 오일	173	88.2
컬럼 1-증류액	11	0.0
컬럼 1-잔류액	409	224.3

[0152]

[0153] [표 16] 컬럼에 이은 단거리 증류기, 3 m 패키징, 이성질체

샘플	EPA 이성질체(%)	DHA 이성질체(%)	총 이성질체(%)
출발 오일	0.9	1.2	1.0
컬럼 1-잔류액	0.3	0.6	0.5

[0154]

[0155] 실시예 9

[0156] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은, 외부 응축기를 갖는 제 2 분별 증류 컬럼에 이은, 단거리 증류기(SPD)를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 두 컬럼 모두 중간 컬럼 공급물과 함께 약 8 내지 9 개의 이론단수를 갖는 2 m 패키징으로 패키징되었다. 표 17에 농도 결과를 나타냈다 표 18에 이성질체 결과를 나타냈다.

[0157] [표 17] 컬럼에 이은 제 2 컬럼에 이은 단거리 증류기, 2 m 패키징, EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	DHA(mg/g)
출발 오일	175.2	83.7
컬럼 1-증류액	15.0	0.0
컬럼 1-잔류액	402.2	206.2
컬럼 2-공급물	407	211.1
컬럼 2-증류액	825.1	0.0
컬럼 2-잔류액	33	396.6
SPD-증류액	21.9	493.2
SPD-잔류액	0.0	64.4

[0158]

[0159] [표 18] 컬럼에 이은 제 2 컬럼에 이은 단거리 증류기, 2 m 패키징, 이성질체

샘플	EPA 이성질체(%)	DHA 이성질체(%)	총 이성질체(%)
컬럼 2-공급물	0.5	0.6	0.6
컬럼 2-증류액	0.3	0.0	0.3
컬럼 2-잔류액	0.8	1.0	1.0
SPD-증류액	4.4	0.5	0.6

[0160]

[0161] 실시예 10

[0162] 다양한 농도의 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 표 19 내지 21에 열거된 출발 오일 농도는 사용된 어유의 종류에 따라 대표적인 농도 값이다(예를 들어, 22:08은 약 20%의 EPA와 8%의 DHA를 함유한 어류임). 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은, 외부 응축기를 갖는 제 2 분별 증류 컬럼에 이은, 단거리 증류기(SPD)를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 제 1 컬럼을 통과한 후 잔류액 중의 EPA 및 DHA 농

도를 측정했다(표 19). 상기 잔류액을 제 2 컬럼에 통과시키고 증류액 중의 EPA 및 DHA 농도를 측정했다(표 20). 제 2 컬럼의 잔류액을 단거리 증류 컬럼에 통과시키고 잔류액 중의 EPA 및 DHA 농도를 측정했다(표 21).

[표 19] 제 1 컬럼, EPA/DHA 농도

샘플	출발 물질	출발 EPA(중량%)	출발 DHA(중량%)	잔류액 EPA(중량%)	잔류액 DHA(중량%)
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

[표 20] 제 2 컬럼, EPA/DHA 농도, 증류액

샘플	출발 물질	출발 EPA(중량%)	출발 DHA(중량%)	증류액 EPA(중량%)	증류액 DHA(중량%)
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

[표 21] 단거리 증류 컬럼, EPA/DHA 농도, 잔류액

샘플	출발 물질	출발 EPA(중량%)	출발 DHA(중량%)	잔류액 EPA(중량%)	잔류액 DHA(중량%)
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

실시예 11

14.9 중량%의 EPA 및 10.1 중량%의 DHA의 EPA:DHA 프로파일을 갖는 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 외부 응축기를 갖는 분별 증류기에 이은, 외부 응축기를 갖는 제 2 분별 증류기에 이은, 단거리 증류기 (SPD)를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 제 1 컬럼을 통과한 후 증류액 및 잔류액 중의 EPA 및 DHA 농도를 측정했다(표 22). 상기 잔류액을 제 2 컬럼으로 통과시키고 증류액 및 잔류액 중의 EPA 및 DHA 농도를 측정했다(표 23). 제 2 컬럼의 잔류액을 단거리 증류 컬럼에 통과시키고 증류액 및 잔류액 중의 EPA 및 DHA 농도를 측정했다(표 24). 각 샘플의 EPA 및 DHA 농도는 상기 공정 중 상이한 시간 간격으로 측정되었다.

[표 22] 제 1 컬럼, EPA/DHA 농도

샘플	출발 EPA(중량%)	출발 DHA(중량%)	증류액 EPA(중량%)	증류액 DHA(중량%)	잔류액 EPA(중량%)	잔류액 DHA(중량%)
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

[0173] [표 23] 제 2 컬럼, EPA/DHA 농도

샘플	공급물 EPA(중량%)	공급물 DHA(중량%)	증류액 EPA(중량%)	증류액 DHA(중량%)	잔류액 EPA(중량%)	잔류액 DHA(중량%)
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

[0174]

[0175] [표 24] 단거리 증류 컬럼, EPA/DHA 농도

샘플	공급물 EPA(중량%)	공급물 DHA(중량%)	증류액 EPA(중량%)	증류액 DHA(중량%)	잔류액 EPA(중량%)	잔류액 DHA(중량%)
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

[0176]

[0177] 실시예 12

[0178] 조 어유에 대해 분리 및 농축 공정을 수행했다. 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은, 외부 응축기를 갖는 제 2 분별 증류 컬럼에 이은, 단거리 증류기(SPD)를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 이 샘플들 중의 이성질체의 수준을 측정하였다. 표 25에 결과를 나타냈다.

[0179] [표 25] 이성질체 결과

샘플	이성질체 A	이성질체 B	이성질체 C	이성질체 D + E	총 이성질체
출발 오일(18:12 어유)	0.26	0.07	0.12	0.34	0.79
증류액, 제 1 컬럼	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
잔류액, 제 1 컬럼	0.29	0.12	0.11	0.45	0.96
증류액, 제 2 컬럼(~77 중량% EPA)	0.33	0.16	0.16	0.51	1.16
증류액, 단거리 증류 컬럼(~56 중량% DHA)	없음 또는 미량	없음 또는 미량	없음 또는 미량	없음 또는 미량	없음 또는 미량

[0180]

[0181] 실시예 13

[0182] 원유는 스키조키트리움 종의 발효를 통해 생산되었다. 오일은 다중불포화 지방산의 에틸 에스테르를 생성하기 위해 에스테르 교환반응 단계를 거쳤다.

[0183] 정제 및 농축: 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은 단거리 증류기를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 표 26에 출발 오일의 지방산 프로파일을 나타냈다. 표 27에 생성된 오일의 지방산 프로파일을 나타냈다.

[0184] [표 26] 지방산 프로파일, 출발 오일

지방산	중량 백분율(%)
C14:0	1.5
C16:0	22.9
C18:0	1.7
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

[0185]

[0186] [표 27] 지방산 프로파일, 오일

지방산	중량 백분율(%)
C16:0	12.3
C18:0	1.5
C18:1 n-9	1.9
C20:4 n-6	1.8
C20:5 n-3(EPA)	21.8
C22:5 n-6	2.4
C22:5 n-3	4.1
C22:6 n-3(DHA)	50.6

[0187]

[0188] 실시예 14

[0189] 원유는 스키조키트리움 종의 발효를 통해 생산되었다. 오일은 다중불포화 지방산의 에틸 에스테르를 생성하기 위해 에스테르 교환반응 단계를 거쳤다.

[0190] 정제 및 농축: 오일을 분별 증류 컬럼에 제 1 통과시킴으로써 분획하였다. 증류액(샘플 1D)은 222 mg/g EPA 및 218 mg/g DHA를 함유했다. 잔류액(샘플 1R)은 175 mg/g EPA 및 611 mg/g DHA를 함유했다. 제 1 통과와 증류액을 분별 증류 컬럼에 제 2 통과시킴으로써 분획하였다. 증류액(샘플 3D)은 77 mg/g EPA 및 34 mg/g DHA, 잔류액(샘플 3R)은 291 mg/g EPA 및 331 mg/g DHA이었다. 제 1 통과와 잔류액을 분별 증류 컬럼에 제 2 통과시킴으로써 분획하였다. 이로 얻은 증류액(샘플 2D)은 181 mg/g EPA 및 624 mg/g DHA이었고, 잔류액은 점도 때문에 샘플링될 수 없었다. 샘플 2D를 단거리 증류 장치에 통과시켰다. 이로 얻은 증류액(샘플 4D)은 256 mg/g EPA 및 559 mg/g DHA이었고, 잔류액(샘플 4R)은 105 mg/g EPA 및 697 mg/g DHA이었다. 분별 컬럼 및/또는 단거리 증류 장치의 통과는 모두 110℃ 내지 180℃의 온도 범위 및 약 20 내지 25 mtorr의 진공을 사용했다. 표 28에 결과를 나타냈다.

[0191] [표 28] EPA/DHA 농도

샘플	EPA(mg/g)	EPA(중량%)	DHA(mg/g)	DHA(중량%)	총 오메가-3(mg/g)	총 오메가-3(중량%)
출발 오일	193	19.3	392	39.2	624	62.4
컬럼 1-증류액(샘플 1D)	222	22.2	218	21.8	465	46.5
컬럼 1-잔류액(샘플 1R)	175	17.5	611	61.1	842	84.2
컬럼 2-증류액(샘플 2D)	181	18.1	624	62.4	864	86.4
컬럼 2-잔류액(샘플 2R)	----	----	----	----	----	----
컬럼 3-증류액(샘플 3D)	77	7.7	34	3.4	116	11.6
컬럼 3-잔류액(샘플 3R)	291	29.1	331	33.1	650	65.0
SPD-증류액(샘플 4D)	256	25.6	559	55.9	857	85.7
SPD-잔류액(샘플 4R)	105	10.5	697	69.7	860	86.0

[0192]

[0193] 실시예 15

[0194] 원유는 크립테코디늄 코니이의 발효를 통해 생산되었다. 오일은 다중불포화 지방산의 에틸 에스테르를 생성하기 위해 에스테르 교환반응 단계를 거쳤다.

[0195] 정제 및 농축: 외부 응축기를 갖는 분별 증류 컬럼에 이은 단거리 증류기를 평가했다. 외부 응축기는 와이핑된 막 증발기였다. 표 29에 출발 오일의 지방산 프로파일을 나타냈다. 2 회 시도하였다. 표 30 및 표 31에 생성된 오일의 지방산 프로파일을 나타냈다.

[0196] [표 29] 지방산 프로파일, 출발 오일

지방산	중량 백분율(%)
C12:0	5.09
C14:0	9.10
C16:0	6.74
C18:1 n-9	6.42
C20:5 n-3(EPA)	0.0
C22:5 n-6	0.0
C22:5 n-3	0.87
C22:6 n-3(DHA)	48.7

[0197]

[0198] [표 30] 지방산 프로파일, 오일

지방산	중량 백분율(%)
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

[0199]

[0200] [표 31] 지방산 프로파일, 오일

지방산	중량 백분율(%)
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	1.36
C22:6 n-3(DHA)	96.6

[0201]

[0202] 본원에서 인용된 공개공보, 특허출원, 및 특허를 비롯한 모든 참고문헌은, 각각의 참고문헌이 참고로 인용되는 것으로 개별적으로 및 구체적으로 제시되고 그 전체가 본원에 개시되는 경우, 동일한 정도로 본원에 참고로 인용한다.

[0203] 본 발명을 수행하기 하기 위해 발명자들에게 공지된 최적의 모드를 비롯한 본 발명의 바람직한 실시양태가 본원에 기술되어 있다. 전술한 명세서를 읽음으로써, 상기 실시양태의 변형이 당분야의 숙련자들에게 명백해질 것이다. 본 발명자들은, 숙련자들이 이러한 변형을 적절하게 사용할 것을 예상하며, 본 발명이 본원에서 구체적으로 기술된 것과 다르게 수행되는 것도 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법률에서 허용되는 바와 같이, 본원에 첨부된 청구의 범위에서 언급한 청구 대상의 모든 변형 및 균등물을 포함한다. 또한, 모든 가능한 변형에서의 전술한 성분들의 임의의 조합도, 본원에서 달리 언급되거나 달리 문맥에서 명백히 부정되지 않는 한, 본 발명에 포함된다.