

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6947370号
(P6947370)

(45) 発行日 令和3年10月13日(2021.10.13)

(24) 登録日 令和3年9月21日(2021.9.21)

(51) Int.Cl.	F 1
C 11 B 3/12	(2006.01)
C 12 P 7/64	(2006.01)
A 23 D 9/02	(2006.01)
A 23 C 9/152	(2006.01)
A 61 K 8/37	(2006.01)

請求項の数 19 (全 36 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-516573 (P2018-516573)
(86) (22) 出願日	平成28年10月5日 (2016.10.5)
(65) 公表番号	特表2018-532015 (P2018-532015A)
(43) 公表日	平成30年11月1日 (2018.11.1)
(86) 國際出願番号	PCT/US2016/055599
(87) 國際公開番号	W02017/062523
(87) 國際公開日	平成29年4月13日 (2017.4.13)
審査請求日	令和1年10月7日 (2019.10.7)
(31) 優先権主張番号	62/237,320
(32) 優先日	平成27年10月5日 (2015.10.5)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

前置審査

(73) 特許権者	503220392 ディーエスエム アイピー アセツツ ビ ー. ブイ. D S M I P A S S E T S B. V. オランダ国, 6411 ティーイー ヘ ーレン, ヘット オーバーラーン 1 Het Overloon 1, NL- 6411 TE Heerlen, Net herlands
(74) 代理人	100107456 弁理士 池田 成人
(74) 代理人	100128381 弁理士 清水 義憲
(74) 代理人	100162352 弁理士 酒巻 順一郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】油組成物および製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ポリ不飽和脂肪酸のエステルを含む油の分離および濃縮方法であって、前記方法が、前記油を少なくとも1つの蒸留ステップにかける工程を含み、ここで、第1蒸留ステップが前記油を少なくとも1つの装置に供給する工程と、低沸点化合物を留出物中に除去するための条件に前記油をさらす工程とを含み、

少なくとも5%のエイコサペンタエン酸(EPA)が、前記第1蒸留ステップの留出物中に除去され、

第2蒸留ステップが、エイコサペンタエン酸(EPA)である1つの長鎖ポリ不飽和脂肪酸(LC-PUFA)の少なくとも一部をドコサヘキサエン酸(DHA)である第2LC-PUFAの少なくとも一部から分離するための条件に前記油をさらす工程を含み、

前記少なくとも1つの装置が薄膜エバポレーターに取り付けられた分留塔を含む方法。

【請求項 2】

第3蒸留ステップが、1つの長鎖ポリ不飽和脂肪酸(LC-PUFA)の少なくとも追加部分を第2LC-PUFAから分離するための条件に前記油をさらす工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

少なくとも10%のEPAが、前記第1蒸留ステップの留出物中に除去される請求項1～2のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4】

10

第2および/または第3蒸留ステップにかけられる前記油は残留物エンドで集められ、
残留物エンドで集められる前記油は、少なくとも10%重量のEPAを含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

第2および/または第3蒸留ステップにかけられる前記油は留出物エンドで集められ、
留出物エンドで集められる前記油は、少なくとも10%のDHAを含む、請求項1～4の
いずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

ポリ不飽和脂肪酸のエステルを含む油の分離および濃縮方法であって、前記方法が、前記油を少なくとも1つの蒸留ステップにかける工程を含み、ここで、第1蒸留ステップが前記油を少なくとも1つの装置に供給する工程と、低沸点化合物を留出物中に除去するための条件に前記油をさらす工程とを含み、
10

第2蒸留ステップが、エイコサペンタエン酸(EPA)である1つの長鎖ポリ不飽和脂肪酸(LC-PUFA)の少なくとも一部をドコサヘキサエン酸(DHA)である第2LC-PUFAの少なくとも一部から分離するための条件に前記油をさらす工程を含み、

前記少なくとも1つの装置が薄膜エバボレーターに取り付けられた分留塔を含み、

分離および濃縮の後の前記油が、エステル画分中に少なくとも90%の所望のPUFAを含む方法。

【請求項7】

ポリ不飽和脂肪酸のエステルを含む微生物油の分離および濃縮方法であって、前記方法が、前記微生物油を少なくとも1つの蒸留ステップにかける工程を含み、ここで、第1蒸留ステップが前記微生物油を少なくとも1つの装置に供給する工程と、低沸点化合物を留出物中に除去するための条件に前記微生物油をさらす工程とを含み、
20

第2蒸留ステップが、エイコサペンタエン酸(EPA)である1つの長鎖ポリ不飽和脂肪酸(LC-PUFA)の少なくとも一部をドコサヘキサエン酸(DHA)である第2LC-PUFAの少なくとも一部から分離するための条件に前記微生物油をさらす工程を含み、

前記少なくとも1つの装置が薄膜エバボレーターに取り付けられた分留塔を含む方法。

【請求項8】

前記微生物油が微生物によって產生され、前記微生物が、微細藻類、バクテリア、真菌類および原生生物を含む群から選択される、請求項7に記載の方法。
30

【請求項9】

前記微生物が微細藻類である、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記微細藻類が属クリプテコジニウム(Cryptochodinium)のものである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記微細藻類が種クリプテコジニウム・コーニー(Cryptochodinium cohnii)のものである、請求項9に記載の方法。

【請求項12】

前記微細藻類が属トラウストキトリウム(Thraustochytrium)のものである、請求項9に記載の方法。
40

【請求項13】

前記微細藻類が種シゾキトリウム種(Schizochytrium sp.)のものである、請求項9に記載の方法。

【請求項14】

前記微生物が真菌類である、請求項8に記載の方法。

【請求項15】

前記微生物が属モルティエラ(Mortierellla)のものである、請求項14記載の方法。
50

【請求項 16】

前記微生物が種モルティエラ・アルピナ (*Mortierella alpina*) のものである、請求項 14 記載の方法。

【請求項 17】

前記油が 1 重量 % 以下の異性体値を有する、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記油が遺伝子組み換え生物によって產生される、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記油をエステル交換して前記油中のエステル画分の少なくとも一部をトリグリセリド画分に転化する工程をさらに含む、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

10

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

[関連出願の相互参照]

本出願は、2015年10月5日出願の米国仮特許出願第62/237,320号の出願日の優先権を主張するものであり、その出願の開示は、その全内容を参照により本明細書に本明細書によって援用される。

【0002】

20

[発明の分野]

ポリ不飽和脂肪酸に富む油組成物；油組成物を含有する組成物；ならびに油組成物の製造および使用方法が本明細書に開示される。油は好ましくは、微生物油またはマリンオイルである。

【0003】

[発明の背景]

脂肪酸は、炭素鎖の長さおよび飽和特性に基づいて分類される。脂肪酸は、鎖中に存在する炭素の数に基づいて短鎖、中鎖、または長鎖脂肪酸と称され、二重もしくは三重結合が炭素原子間に存在しない場合には飽和脂肪酸と称され、二重もしくは三重結合が存在する場合には不飽和脂肪酸と称される。不飽和長鎖脂肪酸は、たった1個の二重もしくは三重結合が存在する場合にはモノ不飽和であり、2個以上の二重もしくは三重結合が存在する場合にはポリ不飽和である。

30

【0004】

ポリ不飽和脂肪酸 (PUFA) は、脂肪酸のメチル末端からの第1二重結合の位置に基づいて分類され；オメガ-3 (n-3) 脂肪酸は、メチル末端から数えて3番目の炭素で第1二重結合を含有し、一方、オメガ-6 (n-6) 脂肪酸は、6番目の炭素で第1二重結合を含有する。例えば、ドコサヘキサエン酸 ('DHA') は、22個の炭素の鎖長および6個の二重結合を持ったオメガ-3の長鎖ポリ不飽和脂肪酸 (LC-PUFA) であり、多くの場合「22:6 n-3」と称される。他のオメガ-3 LC-PUFAは、「20:5 n-3」と称される、エイコサペンタエン酸 ('EPA')、および「22:5 n-3」と称される、オメガ-3 ドコサペンタエン酸 ('DPA n-3') を含む。オメガ-6 LC-PUFAは、「20:4 n-6」と称される、アラキドン酸 ('ARA')、および「22:5 n-6」と称される、オメガ-6 ドコサペンタエン酸 ('DPA n-6') を含む。

40

【0005】

オメガ-3 脂肪酸は、細胞膜におけるそれらの存在により細胞生理に影響を及ぼす生物学的に重要な分子であり、生物学的に活性な化合物の生成および遺伝子発現を調整し、生合成基質として機能する。Roche, H. M., Proc. Nutr. Soc. 58: 397-401 (1999)。DHAは、例えば、ヒト大脳皮質における脂質を作る脂肪酸のおおよそ15~20%、網膜における脂質を作る脂肪酸の30~60%を占め、睾丸

50

および精液に濃縮され、母乳の重要な成分である。Berge, J. P.、およびBarnathan, G. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 96: 49 - 125 (2005)。DHAは、脳におけるオメガ-3脂肪酸の97%まで、および網膜におけるオメガ-3脂肪酸の93%までを占める。さらに、DHAは、胎児および幼児成長の両方ならびに成人における認知機能の維持のために必須である。同上。オメガ-3脂肪酸はヒト身体において新たに合成されないので、これらの脂肪酸は、栄養源に由来しなければならない。しかし、オメガ-3脂肪酸源は、産生されるLC-PUFAの同一性および量の点で変わり得る。したがって、望ましいLC-PUFAプロフィールの豊富な量のLC-PUFAを有するオメガ-3脂肪酸源の、およびより高い濃度のLC-PUFAを含有する油の必要性が継続的に存在する。以前の濃縮方法は、所望の濃度レベルを達成するために多数のステップを必要とし、多くの場合所望のLC-PUFA含有量またはプロフィールを得られないと同時に非効率的なプロセスをもたらすことが示されている。他の公知の方法は、費用がかかり、時間がかかる。さらに、以前の濃縮方法は、所望のLC-PUFA含有量およびプロフィールを提供する1つの連続プロセスでの分離および濃縮の方法を提供していない。本発明者らは、LC-PUFAのより高い濃度を有する望ましいLC-PUFAプロフィールを生み出すためのポリ不飽和脂肪酸を含む油の分離および濃縮の方法であって、以前の方法よりも費用がかからず、時間がかかるない方法を意外にも見いだした。

【0006】

[発明の概要]

本発明は、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約70重量%がドコサヘキサエン酸(DHA)であり、エステル画分中の脂肪酸の約0.5重量%～約5重量%がドコサペンタエン酸n-3(DPA n-3)である油を指向する。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約5重量%未満がエイコサペンタエン酸(EPA)である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約0.1重量%～約5重量%がEPAである。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約2重量%～約8重量%がDPA n-6である。いくつかの実施形態においては、エステル画分は、油の少なくとも約70重量%を構成する。

【0007】

本発明は、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約70重量%がドコサヘキサエン酸(DHA)であり、エステル画分中の脂肪酸の約3重量%～約13重量%がドコサペンタエン酸n-3(DPA n-3)およびドコサペンタエン酸n-6(DPA n-6)である油を指向する。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約1重量%～約5重量%がDPA n-3である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約2重量%～約8重量%がDPA n-6である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約5重量%未満がエイコサペンタエン酸(EPA)である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約0.1重量%～約5重量%がEPAである。いくつかの実施形態においては、エステル画分は、油の少なくとも約70重量%を構成する。

【0008】

本発明はまた、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約70重量%がドコサヘキサエン酸(DHA)であり、エステル画分中のDHAの量は、エステル画分中の総オメガ-3脂肪酸少なくとも約65重量%である油を指向する。一実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約8重量%がEPAである。いくつかの実施形態においては、エステル画分中のEPAの量は、エステル画分中の総オメガ-3脂肪酸の少なくとも約2重量%である。

【0009】

本発明はまた、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約20重量%がドコサヘキサエン酸(DHA)であり、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約20重量%がエイコサペンタエン酸(EPA)である油を指向する。いくつかの実

10

20

30

40

50

施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約 0.1 重量% ~ 約 5 重量% が D P A n - 3 である。

【 0 0 1 0 】

本発明はまた、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約 30 重量% が ドコサヘキサエン酸 (D H A) であり、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約 30 重量% が エイコサペンタエン酸 (E P A) である油を指向する。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約 0.1 重量% ~ 約 5 重量% が D P A n - 3 である。

【 0 0 1 1 】

本発明はまた、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約 65 重量% が ドコサヘキサエン酸 (D H A) であり、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約 15 重量% が エイコサペンタエン酸 (E P A) である油を指向する。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約 0.1 重量% ~ 約 5 重量% が D P A n - 3 である。

【 0 0 1 2 】

本発明はまた、エステル画分を含む油であって、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約 50 重量% が ドコサヘキサエン酸 (D H A) であり、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約 25 重量% が エイコサペンタエン酸 (E P A) である油を指向する。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約 0.1 重量% ~ 約 5 重量% が D P A n - 3 である。

10

20

【 0 0 1 3 】

本発明はまた、ポリ不飽和脂肪酸のエステルを含む油の分離および濃縮方法であって、この方法が、油を少なくとも 1 つの蒸留ステップにかける工程を含み、ここで、第 1 蒸留ステップが油を少なくとも 1 つの装置に供給する工程と、低沸点化合物を留出物中に除去するための条件に油をさらす工程とを含む方法を指向する。

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態においては、油は、微生物油またはマリンオイルである。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態においては、油は、微生物から産生される微生物油である。いくつかの実施形態においては、微生物は、微細藻類、バクテリア、真菌類および原生生物を含む群から選択される。

30

【 0 0 1 6 】

本発明は、本発明の油を含む食物、栄養補助食品、または医薬品組成物を指向する。

【 0 0 1 7 】

[発明の詳細な説明]

本発明の特徴および利点は、以下の詳細な説明を読めば当業者によってより容易に理解され得る。明確にする理由で、別個の実施形態との関連で上におよび下に記載される本発明のある種の特徴がそれらの副次的組み合わせを形成するために組み合わせられてもよいことは十分理解されるべきである。

【 0 0 1 8 】

40

本明細書において特定される実施形態は、例示的であり、非限定的であることを意図する。

【 0 0 1 9 】

本明細書においておよび後に続く特許請求の範囲において、次の意味を有すると定義されるものとする、多数の用語に言及される：

本発明の説明との関連で（とりわけ後に続く特許請求の範囲との関連で）用語「ア (a) 」および「アン (a n) 」および「ザ (t h e) 」および類似の指示対象の使用は、特に本明細書で指示されないかまたは文脈によって明らかに矛盾しない限り、単数形および複数形を両方とも包含すると解釈されるべきである。用語「含む (c o m p r i s i n g) 」、「有する (h a v i n g) 」、「含む (i n c l u d i n g) 」および「含有する

50

(containing)」は、特に記載のない限り、制約のない用語（すなわち、意味「を含むが、それらに限定されない」）として解釈されるべきである。本明細書での値の範囲の列挙は、特に本明細書で明記しない限り、その範囲内に入る各別個の値に個別に言及する簡単な方法として役立つことを意図するにすぎず、各別個の値は、あたかもそれが本明細書において個別に列挙されているかのように、本明細書に組み込まれる。

【0020】

ポリ不飽和脂肪酸を含む濃縮油組成物；濃縮油組成物を含有する組成物；ならびに濃縮油組成物の製造および使用方法が本明細書に開示される。

【0021】

ポリ不飽和脂肪酸（PUFA）は、脂肪酸のメチル末端からの第1二重結合の位置に基づいて分類され；オメガ-3（n-3）脂肪酸は、メチル末端から数えて3番目の炭素で第1二重結合を含有し、一方、オメガ-6（n-6）脂肪酸は、6番目の炭素で第1二重結合を含有する。例えば、ドコサヘキサエン酸（DHA）は、22個炭素の鎖長および6個の二重結合を持ったオメガ-3長鎖ポリ不飽和脂肪酸（LC-PUFA）であり、多くの場合「22:6n-3」と称される。一実施形態においては、PUFAは、オメガ-3脂肪酸、オメガ-6脂肪酸、およびそれらの混合物から選択される。別の実施形態においては、PUFAは、ドコサヘキサエン酸（DHA）、エイコサペンタエン酸（EPA）、ドコサペンタエン酸（DPA）、アラキドン酸（ARA）、ガンマ-リノレン酸（GLA）、ジホモ-ガンマ-リノレン酸（DGLA）、ステアリドン酸（SDA）、およびそれらの混合物から選択される。別の実施形態においては、PUFAは、DHA、DPA、EPA、およびそれらの混合物から選択される。別の実施形態においては、PUFAはDHAである。さらなる実施形態においては、PUFAはDPAである。その上さらなる実施形態においては、PUFAはEPAである。

10

20

30

【0022】

いくつかの実施形態においては、油は、1種以上のPUFAを含む。いくつかの実施形態においては、油は、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のPUFAを含む。好ましい実施形態においては、PUFAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、PUFAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、PUFAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

30

【0023】

一実施形態においては、油は、少なくとも約70重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%または少なくとも約99重量%のDHAを含む。好ましい実施形態においては、DHAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、DHAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、DHAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

40

【0024】

いくつかの実施形態においては、油は、約3%～約13%、約4%～約12%、約5%～約11%、約6%～約10%、または約7%～約9%のDPA_{n-3}およびDPA_{n-6}を含む。好ましい実施形態においては、DPA_{n-3}およびDPA_{n-6}はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、DPA_{n-3}およびDPA_{n-6}の重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、DPA_{n-3}およびDPA_{n-6}の

50

重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

【0025】

いくつかの実施形態においては、油は、約0.5%～約5%、約1%～約5%、または約3%～約4%のDPA_{n-3}を含む。好ましい実施形態においては、DPA_{n-3}はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、DPA_{n-3}の重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、DPA_{n-3}の重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

【0026】

いくつかの実施形態においては、油は、約2%～約8%、約3%～約7%、または約4%～約6%のDPA_{n-6}を含む。好ましい実施形態においては、DPA_{n-6}はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、DPA_{n-6}の重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、DPA_{n-6}の重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

10

【0027】

いくつかの実施形態においては、油は、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満のEPAを含む。好ましい実施形態においては、EPAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、EPAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、EPAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

20

【0028】

いくつかの実施形態においては、油は、約0.1%～約5%、約0.5%～約3%、または約1%～約2%のEPAを含む。好ましい実施形態においては、EPAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、EPAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、EPAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

【0029】

いくつかの実施形態においては、油は、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満のARAを含む。好ましい実施形態においては、ARAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、ARAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、ARAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

30

【0030】

いくつかの実施形態においては、油は、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満のGLAを含む。好ましい実施形態においては、GLAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、GLAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、GLAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

40

【0031】

いくつかの実施形態においては、油は、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満のDGLAを含む。好ましい実施形態においては、DGLAはエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、DGLAの重量%は油の重量%である。より好ましい実施形態においては、DGLAの重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

【0032】

50

いくつかの実施形態においては、油は、約 5 % 未満、約 4 % 未満、約 3 % 未満、約 2 . 5 % 未満、約 2 % 未満、約 2 % 未満、約 1 . 5 % 未満、約 1 % 未満、または約 0 . 5 % 未満の S D A を含む。好ましい実施形態においては、 S D A はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、 S D A の重量 % は油の重量 % である。好ましい実施形態においては、 S D A の重量 % はエステル画分中の脂肪酸の重量 % である。

【 0 0 3 3 】

いくつかの実施形態においては、は、約 5 % 未満、約 4 % 未満、約 3 % 未満、約 2 . 5 % 未満、約 2 % 未満、約 2 % 未満、約 1 . 5 % 未満、約 1 % 未満、または約 0 . 5 % 未満の、22個よりも大きい炭素を有するポリ不飽和脂肪酸（非常に長鎖の P U F A ）を含む。10 いくつかの実施形態においては、非常に長鎖の P U F A は、7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 オクタコサオクタエン酸（C 28 : 8）である。好ましい実施形態においては、油は、0 % の 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25 オクタコサオクタエン酸（C 28 : 8）を含む。好ましい実施形態においては、非常に長鎖の P U F A はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、非常に長鎖の P U F A の重量 % は油の重量 % である。好ましい実施形態においては、非常に長鎖の P U F A の重量 % はエステル画分中の脂肪酸の重量 % である。

【 0 0 3 4 】

一実施形態においては、油は、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 5 5 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 % または少なくとも約 9 9 % の E P A を含む。好ましい実施形態においては、E P A はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、E P A の重量 % は油の重量 % である。好ましい実施形態においては、E P A の重量 % はエステル画分中の脂肪酸の重量 % である。

【 0 0 3 5 】

いくつかの実施形態においては、油は、約 5 % 未満、約 4 % 未満、約 3 % 未満、約 2 . 5 % 未満、約 2 % 未満、約 2 % 未満、約 1 . 5 % 未満、約 1 % 未満、または約 0 . 5 % 未満の D H A を含む。好ましい実施形態においては、D H A はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、D H A の重量 % は油の重量 % である。より好ましい実施形態においては、D H A の重量 % はエステル画分中の脂肪酸の重量 % である。

【 0 0 3 6 】

いくつかの実施形態においては、油は、約 5 % 未満、約 4 % 未満、約 3 % 未満、約 2 . 5 % 未満、約 2 % 未満、約 2 % 未満、約 1 . 5 % 未満、約 1 % 未満、または約 0 . 5 % 未満の D P A n - 3 および D P A n - 6 を含む。好ましい実施形態においては、D P A n - 3 および D P A n - 6 はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、D P A n - 3 および D P A n - 6 の重量 % は油の重量 % である。好ましい実施形態においては、D P A n - 3 および D P A n - 6 の重量 % はエステル画分中の脂肪酸の重量 % である。

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態においては、油は、約 5 % 未満、約 4 % 未満、約 3 % 未満、約 2 . 5 % 未満、約 2 % 未満、約 2 % 未満、約 1 . 5 % 未満、約 1 % 未満、または約 0 . 5 % 未満の D P A n - 3 を含む。好ましい実施形態においては、D P A n - 3 はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、D P A n - 3 の重量 % は油の重量 % である。より好ましい実施形態においては、D P A n - 3 の重量 % はエステル画分中の脂肪酸の重量 % である。

10

20

30

40

50

【0038】

いくつかの実施形態においては、油は、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満のDPA n-6を含む。好ましい実施形態においては、DPA n-6はエステル形態にある。より好ましい実施形態においては、エステルはエチルエステルである。好ましい実施形態においては、DPA n-6の重量%は油の重量%である。好ましい実施形態においては、DPA n-6の重量%はエステル画分中の脂肪酸の重量%である。

【0039】

いくつかの実施形態においては、油はエステル画分を含み、ここで、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約50重量%、少なくとも約55重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約65重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%、または少なくとも約99重量%は、ドコサヘキサエン酸(DHA)であり、エステル画分中のDHAの量は、エステル画分中の総オメガ-3脂肪酸の少なくとも約65重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約8重量%、少なくとも約10重量%、少なくとも約15重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約35重量%、少なくとも約40重量%はEPAである。いくつかの実施形態においては、エステル画分中のEPAの量は、エステル画分中の総オメガ-3脂肪酸の少なくとも約2重量%、少なくとも約3重量%、少なくとも約4重量%、少なくとも約5重量%、少なくとも約10重量%、少なくとも約15重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約25重量%である。

10

20

30

【0040】

いくつかの実施形態においては、油は、油の少なくとも約50重量%、少なくとも約55重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約65重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%、または少なくとも約99重量%のエステル画分を含む。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約70重量%、少なくとも約75重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%または少なくとも約99重量%はDHAである。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の約0.5重量%～約5重量%、約1重量%～約5重量%、または約3重量%～約4重量%はDPA n-3である。

【0041】

40

いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸の少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%または少なくとも約99重量%は、DHAおよびDPA n-3である。

【0042】

いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHA含有量は、エステル画分中の脂肪酸のDHAおよびDPA n-3含有量の量の少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重

50

量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%または少なくとも約99重量%である。

【0043】

いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDPA n-3含有量は、エステル画分中の脂肪酸のDHAおよびDPA n-3含有量の約0.5%～約5%、約1%～約5%、または約3%～約4%である。

【0044】

いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHA、DPA n-3およびDPA n-6含有量は、エステル画分中の脂肪酸の総量の少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%である。

【0045】

いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHA含有量は、エステル画分中の脂肪酸のDHA、DPA n-3およびDPA n-6含有量の少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%である。

【0046】

好みの実施形態においては、エステル画分はエチルエステルである。

【0047】

一実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHAおよびEPA含有量は、エステル画分中の脂肪酸の総量の少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHA含有量は、エステル画分中の脂肪酸の総量の少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%または少なくとも約99重量%の量である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のEPA含有量は、エステル画分中の脂肪酸の総量の約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満である。好みの実施形態においては、エステル画分はエチルエステルである。

【0048】

一実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHAおよびEPA含有量は、エステル画分中の脂肪酸の総量の少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のEPA含有量は、脂肪酸の総量の少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約91重量%、少なくとも約92重量%、少なくとも約93重量%、少なくとも約94重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約96重量%、少なくとも約97重量%、少なくとも約98重量%または少なくとも約99重量%である。いくつかの実施形態においては、エステル画分中の脂肪酸のDHA含有量は、エステル画分中の脂肪酸の総量の約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、または約0.5%未満である。好みの実施形態においては、エステル画分はエチルエステルである。

【0049】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態においては、油の総異性体値は、5%未満、4.5%未満、4%未満、3.5%未満、3%未満、2.5%未満、2%未満、1.5%未満、1%未満、0.5%未満、0.1%未満、または0%である。

【0050】

いくつかの実施形態においては、油のEPA異性体値は、5%未満、4.5%未満、4%未満、3.5%未満、3%未満、2.5%未満、2%未満、1.5%未満、1%未満、0.5%未満、0.1%未満、または0%である。

【0051】

いくつかの実施形態においては、油のDHA異性体値は、5%未満、4.5%未満、4%未満、3.5%未満、3%未満、2.5%未満、2%未満、1.5%未満、1%未満、0.5%未満、0.1%未満、または0%である。 10

【0052】

いくつかの実施形態においては、油の1グラム当たりの油中のDHAの量は、約100mg～約300mg、約100mg～約600mg、約100mg～約800mg、約100mg～約900mg、約100mg～約950mg、約800mg～約950mg、または0～約100mgである。

【0053】

いくつかの実施形態においては、油の1グラム当たりの油中のEPAの量は、約100mg～約300mg、約100mg～約600mg、約100mg～約800mg、約100mg～約900mg、約100mg～約950mg、約800mg～約950mg、または0～約100mgである。 20

【0054】

いくつかの実施形態においては、油は、微生物油またはマリンオイルである。

【0055】

微生物によって産生されるまたは微生物細胞から得られる油は、「微生物油」と言われる。藻類および/または真菌類によって産生される油は、それぞれ、藻類油および/または真菌類油と言われる。

【0056】

本明細書で用いるところでは、「微生物」は、藻類、バクテリア、真菌類、原生生物、酵母、およびそれらの組み合わせなどの生物、例えば、単細胞生物を言う。微生物は、黃金色藻類（例えば、ストラメノパイル（*S tr a m e n o p i l e s*）界の微生物）；緑藻類；珪藻；渦鞭毛藻（例えば、例えばクリプテコジニウム・コーニー（*C r y p t h e c o d i n i u m c o h n i i*）つまりC.コーニー（*C. C o h n i i*）などの属クリプテコジニウム（*C r y p t h e c o d i n i u m*）のメンバーを含む目ジノフィセアエ（*D i n o p h y c e a e*）の微生物）；目トラウストキトリアレス（*T h r a u s t o c h y t r i a l e s*）の微細藻類；酵母（アスコマイセテス（*A s c o m y c e t e s*）またはバシジオマイセテス（*B a s i d i o m y c e t e s*））；ならびに属ムコール（*M u c o r*）、モルティエラ・アルピナ（*M o r t i e r e l l a a l p i n a*）およびモルティエラ・セクト・スクムケリ（*M o r t i e r e l l a s e c t s c h u c k e r i*）を含むが、それらに限定されない、モルティエラ（*M o r t i e r e l l a*）、およびピシウム・インシジオスム（*P y t h i u m i n s i d i o s u m*）を含むが、それらに限定されないピシウム（*P y t h i u m*）の真菌類を含むが、それらに限定されない。

【0057】

一実施形態においては、微生物は、属モルティエラ（*M o r t i e r e l l a*）、属クリプテコジニウム（*C r y p t h e c o d i n i u m*）、属トラウストキトリウム（*T h r a u s t o c h y t r i u m*）、およびそれらの混合物からである。さらなる実施形態においては、微生物は、クリプテコジニウム・コーニー（*C r y p t h e c o d i n i u m C o h n i i*）からである。さらなる実施形態においては、微生物は、モルティエラ・アルピナ（*M o r t i e r e l l a a l p i n a*）からである。さらにさらなる

実施形態においては、微生物は、シゾキトリウム種 (*Schizochytrium* sp.) からである。その上さらにさらなる実施形態においては、微生物は、クリプテコジニウム・コーニー (*Cryptothecodium* *Cohnii*)、モルティエラ・アルピナ (*Mortierella alpina*)、シゾキトリウム種 (*Schizochytrium* sp.)、およびそれらの混合物から選択される。

【0058】

さらにさらなる実施形態においては、微生物は、属モルティエラ (*Mortierella*)、属コニジオボラス (*Conidiobolus*)、属ピシウム (*Pythium*)、属フィトフトラ (*Phytophthora*)、属ペニシリウム (*Penicillium*)、属クラドスボリウム (*Cladosporium*)、属ムコール (*Mucor*)、属フザリウム (*Fusarium*)、属アスペルギルス (*Aspergillus*)、属ロドトルラ (*Rhodotorula*)、属エントモフトラ (*Entomophthora*)、属エキノスボランギウム (*Echinosporangium*)、および属サプロレグニア (*Saprolegnia*) に属する微生物を含むが、それらに限定されない。

【0059】

さらにさらなる実施形態においては、微生物は、属トラウストキトリウム (*Thraustochytrium*) (種は、アルジメンタレ (*arudimentale*)、アウレウム (*aureum*)、ベンチコラ (*benthicola*)、グロボスム (*globosum*)、キネイ (*kinnei*)、モチブム (*motivum*)、マルチルジメンタル (*multirudimentale*)、パキデルマム (*pachydermum*)、プロリフェルム (*proliferum*)、ロゼウム (*roseum*)、ストリアツム (*striatum*) を含む)；属シゾキトリウム (*Schizochytrium*) (種は、アグレガツム (*aggregatum*)、リムナセウム (*limnaceum*)、マングロベイ (*mangrovei*)、ミヌツム (*minutum*)、オクトスボルム (*octosporum*) を含む)；属ウルケニア (*Ulkenia*) (種は、アモエボイデア (*amoeboidaea*)、ケルグエレンシス (*kerguelensis*)、ミヌタ (*minuta*)、プロフンダ (*profunda*)、ラジアテ (*radiate*)、サイレンス (*sailens*)、サルカリアナ (*sarkariana*)、シゾキトロップス (*schizochytrrops*)、ビスルゲンシス (*visurgensis*)、ヨルケンシス (*yorkensis*) を含む)；属オーランチアコキトリウム (*Aurantiacochytrium*)；属オブロンギチトリウム (*Oblongichytrium*)；属シコイドチトリウム (*Sicyoidochytrium*)；属パリエンティチトリウム (*Parientichytrium*)；属ボトリオキトリウム (*Botryochytrium*)；およびそれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない、目トラウストキトリアレス (*Thraustochytriales*) の微細藻類からである。ウルケニア (*Ulkenia*) 内に記載された種は、属シゾキトリウム (*Schizochytrium*) のメンバーであると考えられるであろう。別の実施形態においては、微生物は、目トラウストキトリアレス (*Thraustochytriales*) からである。その上別の実施形態においては、微生物は、トラウストキトリウム (*Thraustochytrium*) からである。さらにさらなる実施形態においては、微生物は、シゾキトリウム種 (*Schizochytrium* sp.) からである。

【0060】

ある種の実施形態においては、油は、マリンオイルを含むことができる。好適な魚油の例は、大西洋魚油、太平洋魚油、もしくは地中海魚油、またはそれらの任意の混合物もしくは組み合わせを含むが、それらに限定されない。より具体的な例では、好適な魚油は、それらの任意の混合物もしくは組み合わせを含めて、タラ (*pollack*) 油、カツオ油、マイワシ油、テラピア油、マグロ油、シーバス油、ハリバ油、スペアフィッシュオイル、バラクーダ油、タラ (*cod*) 油、メンハーデン油、イワシ油、アンチョビ油、カペリン油、ニシン油、サバ油、サケ科魚油、マグロ油、および鮫油であり得るが、それらに

限定されない。本明細書での使用に好適な他のマリンオイルは、それらの任意の混合物もしくは組み合わせを含めて、イカ油、コウイカ油、タコ油、オキアミ油、アザラシ油、鯨油を含むが、それらに限定されない。

【0061】

いくつかの実施形態においては、本明細書に記載されるような脂肪酸は、脂肪酸エステルまたはエステルであり得る。いくつかの実施形態においては、脂肪酸エステルは、オメガ-3脂肪酸、オメガ-6脂肪酸、およびそれらの組み合わせのエステルを含む。いくつかの実施形態においては、脂肪酸エステルは、DHAエステル、EPAエステル、またはそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態においては、本明細書に記載されるような油またはその画分は、脂肪酸エステルを含む油またはその画分を生成するためにエステル化される。用語「エステル」は、脂肪酸分子のカルボン酸基の水素の別の置換基での置き換えを意味する。エステルの例としては、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、t-ブチル、ベンジル、ニトロベンジル、メトキシベンジル、ベンズヒドリル、およびトリクロロエチルが挙げられる。いくつかの実施形態においては、エステルは、カルボン酸保護エステル基、アラルキル（例えば、ベンジル、フェネチル）のエステル、低級アルケニル（例えば、アリル、2-ブテニル）のエステル、低級アルコキシ-低級アルキル（例えば、メトキシメチル、2-メトキシエチル、2-エトキシエチル）のエステル、低級アルカノイル-低級アルキル（例えば、アセトキシメチル、ピバロイルオキシメチル、1-ピバロイルオキシエチル）のエステル、低級アルコキシカルボニル-低級アルキル（例えば、メトキシカルボニルメチル、イソプロポキシカルボニルメチル）のエステル、カルボキシ-低級アルキル（例えば、カルボキシメチル）のエステル、低級アルコキシカルボニルオキシ-低級アルキル（例えば、1-(エトキシカルボニルオキシ)エチル、1-(シクロヘキシルオキシカルボニルオキシ)エチル）のエステル、カルバモイルオキシ-低級アルキル（例えば、カルボモイルオキシメチル）のエステルなどである。いくつかの実施形態においては、加えられる置換基は、線状もしくは環式炭化水素基、例えば、C1～C6アルキル、C1～C6シクロアルキル、C1～C6アルケニル、またはC1～C6アリールエステルである。いくつかの実施形態においては、エステルは、アルキルエステル、例えば、メチルエステル、エチルエステルまたはプロピルエステルである。いくつかの実施形態においては、エステル置換基は、脂肪酸が精製または半精製状態にある場合に遊離脂肪酸分子に付加される。

【0062】

脂肪酸エステル、特にポリ不飽和脂肪酸エステルは、当業者に公知である方法で製造することができる。

【0063】

例えば、脂肪酸、特にポリ不飽和脂肪酸を含有するトリ-アシルグリセリド、ジ-アシルグリセリド、および/またはモノ-アシルグリセリドは、エステルを生成するために酸または塩基の存在下でアルコールと反応させることができる。米国特許出願第12/163,555号明細書、米国特許出願供与前（P r e - G r a n t ）公開第2009/0023808号明細書として公開されたものの開示は、その全体を本明細書に参照により援用される。

【0064】

アルコールは、例えば、C₁～C₆アルキルアルコール、例えば、エタノール、メタノール、n-ブロパノール、イソ-ブロパノール、n-ブタノール、イソ-ブタノール、sec-ブタノール、tert-ブタノール、n-ペンタノール、およびn-ヘキサノールを含むことができる。アルコールは、単独あるいは共溶媒と一緒にのどちらかで、反応溶媒および共溶媒として使用することができる。アルコールの量は、あたかも明確に全部書き出されているかのようにそれらの間のすべての値および部分的な範囲を含めて、反応混合物の25重量%～50重量%の範囲であることができる。例えば、反応混合物中のアルコールの量は、反応混合物の30重量%、35重量%、40重量%または45重量%であり得る。

10

20

30

40

50

【0065】

塩基は、例えば、金属アルコキシドであり得る。金属アルコキシドは、ナトリウムエトキシド、ナトリウムメトキシド、ナトリウムn-プロポキシド、ナトリウムイソ-プロポキシド、ナトリウムn-ブトキシド、ナトリウムイソ-ブトキシド、ナトリウムsec-ブトキシド、ナトリウムtert-ブトキシド、ナトリウムn-ペントキシド、ナトリウムn-ヘキソキシド、リチウムエトキシド、リチウムメトキシド、リチウムn-プロポキシド、リチウムイソ-プロポキシド、リチウムn-ブトキシド、リチウムイソ-ブトキシド、リチウムsec-ブトキシド、リチウムtert-ブトキシド、リチウムn-ペントキシド、リチウムn-ヘキソキシド、カリウムエトキシド、カリウムメトキシド、カリウムn-プロポキシド、カリウムイソ-プロポキシド、カリウムn-ブトキシド、カリウムイソ-ブトキシド、カリウムsec-ブトキシド、カリウムtert-ブトキシド、カリウムn-ペントキシド、および/またはカリウムn-ヘキソキシドを含む。

【0066】

いくつかの状況においては、塩基は、ナトリウム金属、カリウム金属、またはリチウム金属をアルコール溶液に添加することによって製造することができる。

【0067】

いくつかの状況においては、塩基は、水素化リチウム、水素化ナトリウム、または水素化カリウムなどの、金属水素化物をアルコール溶液に添加することによって製造することができる。

【0068】

塩基対油の比は、重量ベースで、あたかも明確に全部書き出されているかのようにそれらの間のすべての値および部分的な範囲を含めて、1:1~1000:1である。例えば、塩基対油の比は、重量対重量ベースで、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、または900:1であり得る。

【0069】

エステル化反応は、あたかも明確に全部書き出されているかのようにそれらの間のすべての値および部分的な範囲を含めて、10~100の範囲の温度で行うことができる。例えば、エステル化反応は、20、30、40、50、60、70、80、または90で行うことができる。

【0070】

エステル化反応は、大気に開放して、または窒素もしくはアルゴンなどの不活性雰囲気下で行うことができる。

【0071】

脂肪酸エステルのワーク-アップおよび単離は、当業者に公知の方法で、例えば、有機溶剤および/または水での抽出によって行うことができる。有機溶剤は、例えば、ペンタン、ヘキサン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、またはこれらの組み合わせであり得る。水は、重炭酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、塩化アンモニウムおよび/または希鈴酸などの他の物質を任意選択的に含有することができる。

【0072】

いくつかの実施形態においては、油は、油中のエステル画分の少なくとも一部をトリグリセリド画分に転化するためにエステル交換される。エステル交換、特にポリ不飽和脂肪酸エステルのエステル交換は、当業者に公知である方法で行うことができる。

【0073】

本発明においては、任意の濃縮、反応、および/または精製技術は、ポリ不飽和脂肪酸、それらのエステル、それらの塩、それらのアルデヒドおよび/またはそれらのアルコールに富む微生物油を製造するために任意の他の濃縮、反応、および/または精製と組み合わせることができる。富化技術は、任意の順におよび組み合わせで用いることができる。

【0074】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態においては、本発明は、本発明の油を含む食物、栄養補助食品、または医薬品組成物である。医薬品組成物は、薬学的に許容されるキャリアを含有することができる。

【0075】

いくつかの実施形態においては、本組成物は食品である。食品は、非ヒト動物またはヒト消費用の任意の食物であり、固体および液体組成物を両方とも含む。食品は、動物またはヒト食物への添加物であり得る。食物は、一般食品；ミルク、飲料、治療用ドリンク、および健康ドリンクを含む、液体製品；機能性食品；栄養補助食品；栄養補給食品；早産児用の調製粉乳を含む、幼児用調製粉乳；妊婦または看護婦用の食物；成人用の食物；高齢者食物；ならびに動物用食物を含むが、それらに限定されない。

10

【0076】

いくつかの実施形態においては、本組成物は動物飼料である。「動物」は、動物界に属する非ヒト生物を含み、限定なしに、水生動物および陸生動物を含む。用語「動物飼料」または「動物食物」は、魚；商業魚；観賞魚；稚魚；二枚貝；軟体動物；甲殻類；貝；エビ；稚エビ；アルテミア；ワムシ；ブラインシュリンプ；フィルター・フィーダー；両性類；爬虫類；哺乳類；家庭動物；家畜；動物園の動物；スポーツ動物；種畜；競走用動物；ショーアニマル；愛蔵動物；希少または絶滅寸前の動物；コンパニオン・アニマル；イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、またはウマなどのペット動物；サル（例えば、オマキザル、赤毛猿、アフリカミドリザル、バタス、カニクイザル、およびミドリザル）、類人猿、オランウータン、ヒヒ、テナガザル、およびチンパンジーなどの霊長類；イヌおよびオオカミなどのイヌ科イヌ属動物；ネコ、ライオン、およびトラなどの、猫科の動物；ウマ、ロバ、およびシマウマなどのウマ科の動物；乳牛、畜牛、ブタ、およびヒツジなどの食用動物；シカおよびキリンなどの有蹄動物；またはマウス、ラット、ハムスターおよびモルモットなどの齧歯動物など用にかかわらず、非ヒト動物用を意図される任意の食物を言う。動物飼料は、水産養殖飼料、ペット飼料を含む家畜飼料、動物学上の動物の飼料、使役動物飼料、家畜飼料、およびそれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない。

20

【0077】

いくつかの実施形態においては、本組成物は、肉、卵、またはミルクがヒト消費用にそれに由来する任意の動物などの、その肉または産物がヒトによって消費される任意の動物用の飼料または飼料栄養補助品である。そのような動物に給餌された場合に、L C - P U F Aなどの栄養物は、そのような動物の肉、ミルク、卵または他の産物中へ組み込まれてこれらの栄養物の含有量を高めることができる。

30

【0078】

本発明はまた、油を生成するためのポリ不飽和脂肪酸のエステルを含む油の分離および濃縮方法を指向する。

【0079】

いくつかの実施形態においては、本方法は、油を少なくとも1つの蒸留ステップにかける工程を含み、ここで、第1蒸留ステップは油を少なくとも1つの装置に供給する工程と、低沸点化合物を留出物中に除去するための条件に油をさらす工程とを含む。好ましい実施形態においては、エイコサペンタエン酸（E P A）の少なくとも一部は、留出物中に除去される。いくつかの実施形態においては、E P Aの少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%は、第1蒸留ステップの留出物中にある。

40

【0080】

いくつかの実施形態においては、1つの長鎖ポリ不飽和酸（L C - P U F A）の少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%は、第2蒸留ステップにおいて第2 L C - P U F Aから分離される。好ましい実施形態においては、1つのL C - P U F AはE P Aである、好ましい実施形態においては、第2 L C - P U F AはD H Aである。さらに好ましい実施形

50

態においては、1つのL C - P U F AはE P Aであり、第2 L C - P U F AはD H Aである。

【0081】

いくつかの実施形態においては、1つの長鎖ポリ不飽和酸（L C - P U F A）の少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%は、第3蒸留ステップにおいて第2 L C - P U F Aから分離される。好ましい実施形態においては、1つのL C - P U F AはE P Aである。好ましい実施形態においては、第2 L C - P U F AはD H Aである。さらに好ましい実施形態においては、1つのL C - P U F AはE P Aであり、第2 L C - P U F AはD H Aである。

10

【0082】

いくつかの実施形態においては、本方法は、ショートパス蒸留、分留、流下薄膜型エバボレーター、薄膜エバボレーター、またはそれらの組み合わせを含む。好ましい実施形態においては、本方法は分留を含む。

【0083】

いくつかの実施形態においては、装置は分留塔である。

【0084】

いくつかの実施形態においては、塔は、精留セクションを含む。いくつかの実施形態においては、塔は、少なくとも約3～4、少なくとも約4～5、少なくとも約5～6、少なくとも約6～7、少なくとも約7～8、少なくとも約8～9、少なくとも約9～10、少なくとも約10～11、少なくとも約11～12、または少なくとも約12～13の理論段数を有する、少なくとも約1メートル、少なくとも約2メートル、または少なくとも約3メートルの構造化充填物を有する。

20

【0085】

いくつかの実施形態においては、塔は、真空に取り付けられる。いくつかの実施形態においては、塔頂での圧力は、約4ミリバール未満、約3.5ミリバール未満、約3ミリバール未満、約2.5ミリバール未満、約2ミリバール未満、または約1.5ミリバール未満である。いくつかの実施形態においては、塔の圧力降下は、約10ミリバール未満、約9ミリバール未満、約8ミリバール未満、約7ミリバール未満、約6ミリバール未満、約5ミリバール未満、約4ミリバール未満、または約3ミリバール未満である。

30

【0086】

いくつかの実施形態においては、装置は、分留塔またはショートパス蒸留である。いくつかの実施形態においては、分留塔は、薄膜エバボレーターに取り付けられる。1つ以上の蒸留ステップを含むいくつかの実施形態においては、各蒸留ステップの装置は、同じ装置であってもよいし、直列にあってもよい。

【0087】

いくつかの実施形態においては、少なくとも1つの装置への油の供給は、中間塔供給を含む。いくつかの実施形態においては、少なくとも1つの装置への油の供給は、エバボレーター供給を含む。

【0088】

好ましい実施形態においては、第1蒸留ステップにかけられる油は、少なくとも約30重量%、少なくとも約40重量%、少なくとも約50重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約70重量%、または少なくとも約80重量%の量で残留物エンドおよび留出物エンドで分離される。好ましい実施形態においては、残留物エンドで集められる油は、少なくとも約10重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約30重量%、少なくとも約40重量%、少なくとも約50重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約85重量%、または少なくとも約90重量%のE P AおよびD H Aを含む。好ましい実施形態においては、留出物エンドで集められる油は、少なくとも約10重量%、少なくとも約20重量%、少なくとも約30重量%、少なくとも約40重量%、少なくとも約50重量%、少なくとも約60重量%、少なく

40

50

とも約 70 重量%、少なくとも約 80 重量%、少なくとも約 85 重量%、または少なくとも約 90 重量%の 20 個未満の炭素を有するポリ不飽和脂肪酸を含む。

【0089】

好ましい実施形態においては、第 2 蒸留ステップにかけられる油は、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 70 重量%、または少なくとも約 80 重量%の量で残留物エンドおよび留出物エンドで分離される。好ましい実施形態においては、残留物エンドで集められる油は、少なくとも約 10 重量%、少なくとも約 20 重量%、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 70 重量%、少なくとも約 80 重量%、少なくとも約 85 重量%、または少なくとも約 90 重量%の E P A を含む。好ましい実施形態においては、留出物エンドで集められる油は、少なくとも約 10 重量%、少なくとも約 20 重量%、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 70 重量%、少なくとも約 80 重量%、少なくとも約 85 重量%、または少なくとも約 90 重量%の D H A を含む。
10

【0090】

好ましい実施形態においては、第 3 蒸留ステップにかけられる油は、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 70 重量%、または少なくとも約 80 重量%の量で残留物エンドおよび留出物エンドで分離される。好ましい実施形態においては、残留物エンドで集められる油は、少なくとも約 10 重量%、少なくとも約 20 重量%、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 70 重量%、少なくとも約 80 重量%、少なくとも約 85 重量%、または少なくとも約 90 重量%の E P A を含む。好ましい実施形態においては、留出物エンドで集められる油は、少なくとも約 10 重量%、少なくとも約 20 重量%、少なくとも約 30 重量%、少なくとも約 40 重量%、少なくとも約 50 重量%、少なくとも約 60 重量%、少なくとも約 70 重量%、少なくとも約 80 重量%、少なくとも約 85 重量%、または少なくとも約 90 重量%の D H A を含む。
20

【0091】

いくつかの実施形態においては、少なくとも 1 つの蒸留ステップは、温度が、約 275 未満、約 250 未満、約 225 未満、約 200 未満、約 190 未満、約 180 未満、約 170 未満、約 100 ~ 約 250 、約 125 ~ 約 225 、約 150 ~ 約 200 、または約 160 ~ 約 190 である加熱工程を含む。
30

【0092】

いくつかの実施形態においては、還流比は、約 5 未満、約 4.5 未満、約 4 未満、約 3.5 未満、約 3 未満、約 2.5 未満、約 2 未満、約 1.5 未満、約 1 未満、または約 0.5 未満である。

【0093】

本発明はまた、本明細書に開示される方法のいずれかによって製造される油を指向する。
40

【0094】

[実施例]

以下の実施例は、開示される主題による方法および結果を例示するために以下に記述される。これらの実施例は、本明細書に開示される主題のすべての態様を包含することを意図せず、むしろ代表的な方法および結果を例示することを意図する。これらの実施例は、当業者に明らかである等価物および変形を排除することを意図しない。

【0095】

分析方法：脂肪酸組成の測定は、ヨーロッパ薬局方方法 2.04.29 に従って水素炎イオン化検出器を備えたガスクロマトグラフ (G D / F I D) を用いて行った。

【0096】

[実施例 1]

粗油を、シゾキトリウム種 (*S chizochrytrium* sp.) の発酵によって產生した。表 1 は、出発油の脂肪酸プロフィールを示す。

【0097】

【表 1】

表1:脂肪酸プロフィール-出発油

脂肪酸	面積パーセント (%)
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

10

20

30

【0098】

エステル交換：出発油をトリグリセリドからエチルエステルに転化するために、1リットルの丸底フラスコに、400 g の乾燥した、粗油と、エタノール (120 g) に溶解したナトリウムエトキシド (3.2 g) の溶液とを装入した。混合物を、N₂ 霧囲気下で攪拌しながら 75 ℃ に加熱し、次にこの温度で 1 時間維持した。反応混合物を 30 ℃ に放冷し、分液漏斗に移し、底部のグリセロール層を流し出した。上方の油層を次に、きれいな 1 L の丸底フラスコに移し、エタノール (12.0 g) 中のナトリウムエトキシド (0.32 g) の溶液を添加した。混合物を再び、N₂ 霧囲気下で攪拌しながら 75 ℃ に加熱し、次にこの温度で 1 時間維持した。エタノールを、ロータリーエバポレーターを用いて除去し、残留物を、水性洗浄部分の pH がもはや塩基性でなくなるまでクエン酸溶液 (1% w/w) で洗浄し、水で洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0099】

分析方法：オリゴマーおよび脂質クラスの測定は、屈折率検出を備えたサイズ排除クロマトグラフィー (SEC/RI) を用いて行った。ポリマーベースの Tosahaa TSK-GEL を、ゲル浸透クロマトグラフィーのために使用した。装置は、2つの TSK-GEL カラム + ガードカラムで組み立て、0.600 mL / 分の流量でのテトラヒドロフラン (THF) で平衡させた。油試料を 15 mg / mL の濃度で THF に溶解させ、10.0 μL の注入量でクロマトグラフへ注入した。表 2 は、エステル交換後の出発油の脂質クラスプロフィールを示す。

40

【0100】

【表2】

表2:脂質クラス-出発油

脂質クラス	%
エチルエステル	96
モノグリセリド	2.6
ジグリセリド	1.2
トリグリセリド	0.1

10

【0101】

精製および濃縮、トライアル1：油を、120 ~ 180 の温度範囲およびおおよそ20ミリトルの減圧を用いるショートパス蒸留装置の3回通過によって分別した。第1パスに関しては、出発油をショートパス蒸留装置に通した。留出物（試料1D）は、110 mg / g のEPAおよび322 mg / g のDHAを含有し、残留物（試料1R）は、70 mg / g のEPAおよび759 mg / g のDHAを含有した。第2パスに関しては、第1パスからの残留物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料2D）中の72 mg / g のEPAおよび789 mg / g のDHAをもたらした。残留物（試料2R）は、粘度のためにサンプリングできなかった。第3パスに関しては、第2パスからの留出物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料3D）中の126 mg / g のEPAおよび715 mg / g のDHAならびに残留物（試料3R）中の43 mg / g のEPAおよび811 mg / g のDHA残留物をもたらした。結果を表3に示す。

20

【0102】

【表3】

表3:ショートパス蒸留結果、トライアル1

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)	総オメガ-3 (mg/g)
出発油	87	548	646
第1パス-留出物 (試料1D)	110	322	451
第1パス-残留物 (試料1R)	70	759	853
第2パス-留出物 (試料2D)	72	789	887
第2パス-残留物 (試料2R)	----	----	----
第3パス-留出物 (試料3D)	126	715	868
第3パス-残留物 (試料3R)	43	811	877

30

40

50

【0103】

精製および濃縮、トライアル2：油を、120～180の温度範囲およびおおよそ20ミリトルの減圧を用いるショートパス蒸留装置の4回通過によって分別した。第1パスに関しては、出発油をショートパス蒸留装置に通した。留出物（試料1D）は、69mg/gのEPAおよび154mg/gのDHAを含有し、残留物（試料1R）は、94mg/gのEPAおよび641mg/gのDHAを含有した。第2パスに関しては、第1パスからの残留物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料2D）中の131mg/gのEPAおよび373mg/gのDHAならびに残留物（試料2R）中の84mg/gのEPAおよび717mg/gのDHAをもたらした。第3パスに関しては、第2パスからの残留物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料3D）中の86mg/gのEPAおよび742mg/gのDHAならびに残留物（試料3R）は、粘度のためにサンプリングできなかった。第4パスに関しては、第3パスからの留出物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料4D）中の117mg/gのEPAおよび722mg/gのDHAならびに残留物（試料4R）中の26mg/gのEPAおよび785mg/gのDHAをもたらした。結果を表4に示す。

【0104】

【表4】

表4:ショートパス蒸留結果、トライアル2

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)	総オメガ-3 (mg/g)
出発油	87	548	646
第1パス-留出物 (試料1D)	69	154	234
第1パス-残留物 (試料1R)	94	641	758
第2パス-留出物 (試料2D)	131	373	527
第2パス-残留物 (試料2R)	84	717	825
第3パス-留出物 (試料3D)	86	742	853
第3パス-残留物 (試料3R)	----	----	----
第4パス-留出物 (試料4D)	117	722	867
第4パス-残留物 (試料4R)	26	785	832

【0105】

精製および濃縮、トライアル3：トライアル1および2におけるとは異なる出発油を、この実施例のために使用した。粗油を、シゾキトリウム種（S ch i z o c h y t r i u m s p . ）の発酵によって產生し、上記と同じエステル交換法にかけた。この油を、120～180の温度範囲およびおおよそ20ミリトルの減圧を用いるショートパス蒸留装置の3回通過によって分別した。第1パスに関しては、出発油をショートパス蒸留装置に通した。留出物（試料1D）は、112mg/gのEPAおよび332mg/gのD

H Aを含有し、残留物（試料1R）は、60mg/gのEPAおよび733mg/gのDHAを含有した。第2パスに関しては、第1パスからの残留物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料2D）中の76mg/gのEPAおよび766mg/gのDHAをもたらした。残留物（試料2R）は、粘度のためにサンプリングできなかった。第3パスに関しては、第2パスからの留出物をショートパス蒸留装置に供給し、留出物（試料3D）中の96mg/gのEPAおよび786mg/gのDHAならびに残留物（試料3R）中の22mg/gのEPAおよび805mg/gのDHA残留物をもたらした。結果を表5に示す。

【0106】

【表5】

10

表5:ショートパス蒸留結果、トライアル3

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)	総オメガ-3 (mg/g)
出発油	86	525	630
第1パス-留出物 (試料1D)	112	332	462
第1パス-残留物 (試料1R)	60	733	815
第2パス-留出物 (試料2D)	62	766	851
第2パス-残留物 (試料2R)	----	----	----
第3パス-留出物 (試料3D)	96	786	907
第3パス-残留物 (試料3R)	22	805	848

20

30

【0107】

[実施例2]

粗油を、シズキトリウム種 (*Schizochytrium* sp) の発酵によって產生した。

【0108】

エステル交換：1リットルの丸底フラスコに、400gの乾燥し、濾過した粗油と、エタノール(120g)に溶解したナトリウムエトキシド(3.2g)の溶液とを装入した。混合物を、N₂雰囲気下で攪拌しながら75℃に加熱し、次にこの温度で1時間維持した。反応混合物を30℃に放冷し、分液漏斗に移し、底部のグリセロール層を流し出した。上方の油層を次に、きれいな1Lの丸底フラスコに移し、エタノール(12.0g)中のナトリウムエトキシド(0.32g)の溶液を添加した。混合物を再び、N₂雰囲気下で攪拌しながら75℃に加熱し、次にこの温度で1時間維持した。エタノールを、ロータリーエバポレーターを用いて除去し、水性洗浄部分のpHがもはや塩基性でなくなるまでクエン酸溶液(1%w/w)で洗浄し、水で洗浄し、真空下で乾燥させた。

【0109】

精製および濃縮：油を、2.3ミリバールの塔の圧力降下で210℃を超えない温度で分別した。重質留分を、0.01ミリバールの圧力および140℃の温度でのショートバ

40

50

ス蒸留を用いてさらに精製した。DHA濃縮物を、225mgの量および890mg/gの純度で単離した。

【0110】

[実施例3]

粗魚油を、分離および濃縮プロセスにかけた。

【0111】

エステル交換：ナトリウムエトキシドを触媒として使用する、精製マリンオイルとエチルアルコールとの間のエステル交換反応を用いてマリンオイルエチルエステルを生成した。エタノールおよびナトリウムエトキシドを、加熱された精製マリンオイルに添加した。グリセロールをマリンオイルから分離した。エタノールおよびナトリウムエトキシドを次に再びマリンオイル（グリセロールの除去後の）に添加した。形成されたエチルエスエルマリンオイルを、さらなるグリセロール除去のために遠心分離した。ナトリウムエトキシドを、9%クエン酸溶液をマリンオイルの5重量%添加することによって中和した。酸洗層をエチルエステルマリンオイルから分離し、水を添加し、乳化システムマリンオイルを乾燥させた。

【0112】

実施例4～9に使用されるエチルエステルマリンオイルは、この実施例3におけるように調製した。

【0113】

[実施例4]

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留（SPD）が続く精留塔を備えた流下薄膜型エバボレーターを評価した。塔は、おおよそ3～4の理論段数を有するおおよそ1メートルの充填物を含有した。エチルエステルマリンオイルを、205の温度でのリサイクル流れによって供給した。濃縮結果を表7に示す。異性体結果を表8に示す。

【0114】

分析方法：異性体および関連不純物は、ガスクロマトグラフィーを用いて測定した。約25mgの試料を量り、25mlのヘキサンに溶解させた。銀イオンSPEカートリッジをマニホールド上に取り付け；カートリッジを4mLのアセトンで順化させ、4mLのヘキサンと平衡させた。1mLの試料溶液をカートリッジにロードし、ブルスルーした。カートリッジを6mLのアセトンで洗浄した。新たな15mL試験管へ、試料を2mLのアセトン/アセトニトリル（3:2）でカートリッジからリーンスした。試験管をマニホールドから取り出し、窒素流れ下に溶剤を吹き飛ばした。1mLのヘキサンを試験管に添加した。溶液をGCバイアルに移した。ヘリウムを1mL/分で使用するAgilent DB Wax 30m×0.25mm×0.25μmカラムを用いた。注入量は1μLであり、検出器は260でのFIDであった。グラジエントは、1.0分間100、210まで20/分でランプであり、40分間保持した。

【0115】

【表6】

表7:ショートパス蒸留が続く塔、1m填材、EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
出発油	176	85
塔-留出物	70.7	0.3
塔-残留物	323.4	191.7
SPD-留出物	378	210.2
SPD-残留物	19.7	21.9

10

20

30

40

50

【0116】

【表7】

表8:ショートパス蒸留が続く塔、1m填材、異性体

試料	EPA異性体 (%)	DHA異性体 (%)	総異性体 (%)
出発油	0.3	0.8	0.5
塔-残留物	0.4	2.6	2.0
SPD-留出物	2.6	5.1	3.8

10

【0117】

【実施例5】

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留が続く精留塔を備えた流下薄膜型エバポレーターを評価した。塔は、おおよそ2メートルの充填物を含有し、中間塔(middle column)液体分配器を有した。マリンオイルを、170°の温度でのリサイクル流れによって供給した。濃縮結果を表9に示す。異性体結果を表10に示す。

【0118】

【表8】

20

表9:ショートパス蒸留が続く塔、2m填材、EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
出発油	175.7	85
塔-留出物	15.0	0.0
塔-残留物	361.1	177.7
SPD-留出物	382.4	184.2
SPD-残留物	35.5	28.9

30

【0119】

【表9】

表10:ショートパス蒸留が続く塔、2m填材、異性体

試料	EPA異性体 (%)	DHA異性体 (%)	総異性体 (%)
出発油	0.3	0.8	0.5
塔-留出物	3.7	n/a	3.7
塔-残留物	3.0	6.7	4.9
SPD-留出物	2.1	5.7	4.1

40

【0120】

【実施例6】

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留が続く直列の2つの塔(それぞれ、精留塔を備えた流下薄膜型エバポレーター)を評価した。実施例4における塔残留物試料を、実施例4における同じ条件下でおおよそ2メートルの充填物および中間塔液体分配器を有する精留塔を備えた第2流下薄膜型エバポレーターに供給した。濃縮結果を表11に示す。異性体結果を表12に示す。

50

【0121】

【表10】

表11:ショートパス蒸留が続く塔、2m填材、EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
出発油	175.7	85
塔1-留出物	15.0	0.0
塔1-残留物	361.1	177.7
塔2-留出物	653.1	20.8
塔2-残留物	0.0	145.5
SPD-留出物	2.1	227.5
SPD-残留物	0.0	10.7

10

【0122】

【表11】

表12:ショートパス蒸留が続く塔、2m填材、異性体

試料	EPA異性体 (%)	DHA異性体 (%)	総異性体 (%)
出発油	0.3	0.8	0.5
塔1-留出物	3.7	n/a	3.7
塔1-残留物	3.0	6.7	4.9
塔2-留出物	0.8	3.3	1.1
塔2-残留物	6.6	24.4	23.6
SPD-留出物	17.6	29.4	29.2

20

【0123】

30

[実施例7]

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留 (SPD) が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。塔に、中間塔供給でおおよそ8~9の分離理論段数を有する、3メートルの充填物を詰め込んだ。濃縮結果を表13に示す。異性体結果を表14に示す。

【0124】

【表 1 2 】

表13:ショートパス蒸留が続く塔、3m填材、EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
出発油	173	88.2
塔1- 留出物	13	0.0
塔1- 残留物	402.2	206.2
SPD-留出物	450.3	228.1
SPD-残留物	56.9	51.7

10

【 0 1 2 5 】

【表 1 3 】

表14:ショートパス蒸留が続く塔、3m填材、異性体

試料	EPA異性体 (%)	DHA異性体 (%)	総異性体 (%)
出発油	0.9	1.2	1.0
塔1-残留物	0.6	0.7	0.6
SPD-留出物	0.5	0.4	0.5

20

【 0 1 2 6 】

[実施例 8]

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留 (S P D) が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。塔に、エバポレーター供給でおおよそ 8 ~ 9 の分離理論段数を有する、3 メートルの充填物を詰め込んだ。濃縮結果を表 1 5 に示す。異性体結果を表 1 6 に示す。

30

【 0 1 2 7 】

【表 1 4 】

表15:ショートパス蒸留が続く塔、3m填材、EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
出発油	173	88.2
塔1- 留出物	11	0.0
塔1- 残留物	409	224.3

40

【 0 1 2 8 】

【表 1 5】

表16:ショートパス蒸留が続く塔、3m填材、異性体

試料	EPA異性体 (%)	DHA異性体 (%)	総異性体 (%)
出発油	0.9	1.2	1.0
塔1-残留物	0.3	0.6	0.5

【0 1 2 9】

【実施例 9】

10

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留 (SPD) が続く外部凝縮器を備えた第2分留塔が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。両塔に、中間塔供給でおおよそ8~9の分離理論段数を有する、2メートルの充填物を詰め込んだ。濃縮結果を表17に示す。異性体結果を表18に示す。

【0 1 3 0】

【表 1 6】

表17:ショートパス蒸留が続く、第2塔が続く塔、2m填材、

20

EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	DHA (mg/g)
出発油	175.2	83.7
塔1- 留出物	15.0	0.0
塔1- 残留物	402.2	206.2
塔2-供給物	407	211.1
塔2- 留出物	825.1	0.0
塔2- 残留物	33	396.6
SPD-留出物	21.9	493.2
SPD-残留物	0.0	64.4

30

【0 1 3 1】

40

【表17】

表18:ショートパス蒸留が続く、第2塔が続く塔、2m填材、異性体

試料	EPA異性体 (%)	DHA異性体 (%)	総異性体 (%)
塔2 供給物	0.5	0.6	0.6
塔2-留出物	0.3	0.0	0.3
塔2-留出物	0.8	1.0	1.0
SPD-留出物	4.4	0.5	0.6

10

【0132】

【実施例10】

様々な濃度の粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。表19～21にリストされる出発油濃度は、使用される魚のタイプに基づく代表的な濃度値である（例えば、22:8は、およそ20%のEPAおよび8%DHAを含有する魚である）。ショートパス蒸留（SPD）が続く外部凝縮器を備えた第2分留塔が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。第1塔を通過した後、残留物中のEPAおよびDHA濃度を測定した（表19）。残留物を第2塔に通し、留出物中のEPAおよびDHA濃度を測定した（表20）。第2塔からの残留物をショートパス蒸留塔に通し、残留物中のEPAおよびDHA濃度を測定した（表21）。

20

【0133】

【表18】

表19:第1塔、EPA/DHA濃度

試料	出発原料	出発EPA (重量%)	出発DHA (重量%)	残留物EPA (重量%)	残留物DHA (重量%)
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

30

【0134】

【表19】

表20:第2塔、EPA/DHA濃度、留出物

試料	出発原料	出発EPA (重量%)	出発DHA (重量%)	留出物EPA (重量%)	留出物DHA (重量%)
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

10

【0135】

【表20】

表21:ショートパス蒸留塔、EPA/DHA濃度、残留物

試料	出発原料	出発EPA (重量%)	出発DHA (重量%)	残留物EPA (重量%)	残留物DHA (重量%)
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

20

【0136】

[実施例11]

14.9重量%のEPAおよび10.1重量%のDHAのEPA:DHAプロフィールを有する粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留(SPD)が続く外部凝縮器を備えた第2分留塔が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバボレーターであった。第1塔に通した後、留出物および残留物中のEPAおよびDHA濃度を測定した(表22)。残留物を第2塔に通し、留出物および残留物中のEPAおよびDHA濃度を測定した(表23)。第2塔からの残留物をショートパス蒸留塔に通し、留出物および残留物中のEPAおよびDHA濃度を測定した(表24)。各試料のEPAおよびDHA濃度は、処理中に異なる時間間隔で測定した。

30

【0137】

【表21】

表22:第1塔、EPA/DHA濃度

試料	出発 EPA (重量%)	出発 DHA (重量%)	留出物 EPA (重量%)	留出物 DHA (重量%)	残留物 EPA (重量%)	残留物 DHA (重量%)
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

40

【0138】

50

【表22】

表23:第2塔、EPA/DHA濃度

試料	供給物 EPA (重量%)	供給物 DHA (重量%)	留出物EPA (重量%)	留出物 DHA (重量%)	残留物EPA (重量%)	残留物DHA (重量%)
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

10

【0139】

【表23】

20

表24:ショートパス蒸留塔、EPA/DHA濃度

試料	供給物 EPA (重量%)	供給物 DHA (重量%)	留出物 EPA (重量%)	留出物 DHA (重量%)	残留物 EPA (重量%)	残留物 DHA (重量%)
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

30

【0140】

[実施例12]

粗魚油を分離および濃縮プロセスにかけた。ショートパス蒸留 (SPD) が続く外部凝縮器を備えた第2分留塔が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。異性体のレベルをこれらの試料において測定した。結果を表25に示す。

40

【0141】

【表24】

表25:異性体結果

試料	異性体A	異性体B	異性体C	異性体D+E	総異性体
出発油 (18:12魚油)	0.26	0.07	0.12	0.34	0.79
留出物、 第1塔	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
残留物、 第1塔	0.29	0.12	0.11	0.45	0.96
留出物、 第2塔 (約77重量%EPA)	0.33	0.16	0.16	0.51	1.16
留出物、 ショートパス 蒸留塔 (約56%DHA)	無または痕跡	無または痕跡	無または痕跡	無または痕跡	無または痕跡

10

20

【0142】

[実施例13]

粗油を、シゾキトリウム種 (*Schizochytrium* sp) の発酵によって產生した。油を、ポリ不飽和脂肪酸のエチルエステルを生成するためのエステル交換ステップにかけた。

【0143】

精製および濃縮：ショートパス蒸留塔が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。出発油の脂肪酸プロフィールを表26に示す。生成した油の脂肪酸プロフィールを表27に示す。

30

【0144】

【表25】

表26:脂肪酸プロフィール、出発油

脂肪酸	重量パーセント (%)
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

40

【0145】

【表26】

表27:脂肪酸プロフィール、油

脂肪酸	重量パーセント(%)
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

10

【0146】

【実施例14】

粗油を、シゾキトリウム種 (S c h i z o c h y t r i u m s p) の発酵によって產生した。油を、ポリ不飽和脂肪酸のエチルエステルを生成するためのエステル交換ステップにかけた。

20

【0147】

精製および濃縮：油を、分留塔の第1通過によって分別した。留出物（試料1D）は、222 mg / g のEPAおよび218 mg / g のDHAを含有した。残留物（試料1R）は、175 mg / g のEPAおよび611 mg / g のDHAを含有した。この第1パスからの留出物を、分留塔の第2通過によって分別した。これからの留出物（試料3D）は、77 mg / g のEPAおよび34 mg / g のDHAであり、これからの残留物（試料3R）は、291 mg / g のEPAおよび331 mg / g のDHAであった。第1パスからの残留物を、分留塔の第2通過によって分別した。これからの留出物（試料2D）は、181 mg / g のEPAおよび624 mg / g のDHAであり、これからの残留物は、粘度のためにサンプリングできなかった。試料2Dをショートパス蒸留装置に通した。これからの留出物（試料4D）は、256 mg / g のEPAおよび559 mg / g のDHAであり、残留物（試料4R）は、105 mg / g のEPAおよび697 mg / g のDHAであった。分留塔および/またはショートパス蒸留装置のすべての通過は、110 ~ 180 の温度範囲およびおよそ20 ~ 25ミリトルの減圧を用いた。結果を表28に示す。

30

【0148】

【表27】

表28:EPA/DHA濃度

試料	EPA (mg/g)	EPA (重量%)	DHA (mg/g)	DHA (重量%)	総 オメガ-3 (mg/g)	総 オメガ-3 (重量%)
出発油	193	19.3	392	39.2	624	62.4
塔1- 留出物 (試料1D)	222	22.2	218	21.8	465	46.5
塔1- 残留物 (試料1R)	175	17.5	611	61.1	842	84.2
塔2- 留出物 (試料2D)	181	18.1	624	62.4	864	86.4
塔2- 残留物 (試料2R)	----	----	----	----	----	----
塔3- 留出物 (試料3D)	77	7.7	34	3.4	116	11.6
塔3- 残留物 (試料3R)	291	29.1	331	33.1	650	65.0
SPD- 留出物 (試料4D)	256	25.6	559	55.9	857	85.7
SPD- 残留物 (試料4R)	105	10.5	697	69.7	860	86.0

【0149】

[実施例15]

粗油を、クリプテコジニウム・コーニー(*Cryptochodinium cohnii*)の発酵によって產生した。油を、ポリ不飽和脂肪酸のエチルエステルを生成するためのエステル交換ステップにかけた。

【0150】

精製および濃縮：ショートパス蒸留が続く外部凝縮器を備えた分留塔を評価した。外部凝縮器は、薄膜エバポレーターであった。出発油の脂肪酸プロフィールを表29に示す。2つのトライアルを完了した。生成した油の脂肪酸プロフィールを表30および31に示す。

【0151】

10

20

30

40

【表28】

表29:脂肪酸プロフィール、出発油

脂肪酸	重量パーセント (%)
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

10

【0152】

【表29】

表30:脂肪酸プロフィール、油

20

脂肪酸	重量パーセント (%)
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

30

【0153】

【表 3 0】

表31:脂肪酸プロフィール、油

脂肪酸	重量パーセント (%)
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

10

【0154】

本明細書に引用される、刊行物、特許出願、および特許を含む、すべての参考文献は、
あたかも各参考文献が参照により援用されることが個別におよび具体的に示されており、
そして本明細書にその全体を記述されているかのように同じ程度まで参照により本明細書
によって援用される。

20

【0155】

本発明の好ましい実施形態は、本発明を実施するための本発明者らに公知の最良モード
を含めて、本明細書に記載されている。それらの好ましい実施形態の変形は、前述の説明
を読むと当業者に明らかになり得る。本発明者らは、熟練者が必要に応じてそのような変形
を用いることを期待し、本発明者らは、本発明が本明細書に具体的に記載されるものとは別な方法で実施されることを意図する。したがって、本発明は、適用法令によって許可
されるような本明細書に添付された特許請求の範囲に列挙される主題のすべての修正およ
び等価物を包含する。さらに、そのすべての可能な変形における上記の要素のいかなる組
み合わせも、特に本明細書に指示されないかまたは特に文脈によって明らかに矛盾しない
限り本発明によって包含される。

30

フロントページの続き

(51)Int.CI.		F I	
A 6 1 P	3/02 (2006.01)	A 6 1 P	3/02
A 6 1 K	8/99 (2017.01)	A 6 1 K	8/99
A 6 1 K	8/92 (2006.01)	A 6 1 K	8/92
A 6 1 K	8/9706 (2017.01)	A 6 1 K	8/9706
A 6 1 K	8/9728 (2017.01)	A 6 1 K	8/9728
A 6 1 K	31/232 (2006.01)	A 6 1 K	31/232

(74)代理人 100165526

弁理士 阿部 寛

(72)発明者 クラロヴェック, ヤロスラフ

カナダ, ノヴァスコシア ビー3エス 1エイチ4, ハリファックス, パークシャー クローズ 11

(72)発明者 ルイガート, クリス

アメリカ合衆国, ケンタッキー州, レキシントン, シャーリー コート 3017

(72)発明者 オックスフォード, マーク

カナダ, ノヴァスコシア ビー3ジー 0ビー2, イースタン パッセージ, デルクラフト コート 35

(72)発明者 プロブレッシュ, ラルフ

スイス, 5073 ギップフ-オーバーフリック, アム モスター バッハ 8

(72)発明者 レイエス-スアレス, エリック

カナダ, ノヴァスコシア ビー3エー 0イー1, ダートマス, ランヤ レーン 405-15

(72)発明者 ロール, アルフレッド

カナダ, ノヴァスコシア ビー3エー 3ヴィ1, ダートマス, リングビー アヴェニュー-45

(72)発明者 ステファンスキー, マイケル レン

アメリカ合衆国, ケンタッキー州, ウィンチェスター, フラナガン ステーション ロード 1875

審査官 井上 恵理

(56)参考文献 特表2010-532418 (JP, A)

特開平06-033088 (JP, A)

特開平11-246888 (JP, A)

米国特許第05215630 (US, A)

特開平05-222392 (JP, A)

中国特許出願公開第103864614 (CN, A)

特表2014-520574 (JP, A)

中国特許出願公開第103951556 (CN, A)

(58)調査した分野(Int.CI., DB名)

C 11 B 1/00-15/00

C 11 C 1/00-5/02

A 23 D 7/00-9/06

C 12 P 1/00-41/00

A 61 J 1/00

A 61 K 31/00-31/327

A 61P 1/00-43/00
A 61K 8/00- 8/99
A 61Q 1/00-90/00
C Aplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)
FSTA (STN)
JSTPplus / JMEDplus / JST7580 (JDreamIII)