



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년08월17일
(11) 등록번호 10-1769121
(24) 등록일자 2017년08월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 17/60 (2016.01) A23L 1/164 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A23L 1/305 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01) A23L 13/40 (2016.01)
A23L 15/00 (2016.01) A23L 2/52 (2006.01)
A23L 23/00 (2016.01) A23L 27/60 (2016.01)
(21) 출원번호 10-2011-7026943
(22) 출원일자(국제) 2010년04월14일
심사청구일자 2015년04월14일
(85) 번역문제출일자 2011년11월11일
(65) 공개번호 10-2011-0138407
(43) 공개일자 2011년12월27일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/031088
(87) 국제공개번호 WO 2010/120923
국제공개일자 2010년10월21일
(30) 우선권주장
12/684,884 2010년01월08일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
US05547699 A*
吳慶余. New Discoveries in Study on
Hydrocarbons From Thermal Degradation of
Heterotrophically Yellowing Algae. SCIENCE
CHINA Chemistry. 1994, 37(3): 326.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
테라비아 홀딩스 인코포레이티드
미합중국, 캘리포니아 94080, 사우스 샌프란시스코, 게이트웨이 블러바드 225
(72) 발명자
브룩스, 제프리
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225
프랭클린, 스코트
미국 94080 캘리포니아 사우스 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

전체 청구항 수 : 총 24 항

심사관 : 김현주

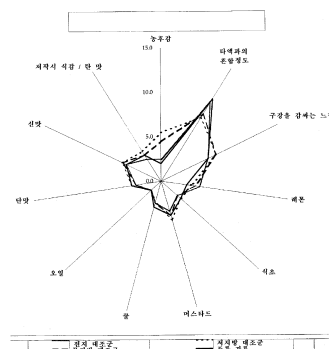
(54) 발명의 명칭 신규의 미세 조류 식품 조성물

(57) 요약

본 발명은 플레이크, 분말 및 가루로 가공된 미세 조류 바이오매스를 포함하는 신규의 미세 조류 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 미세 조류 바이오매스는 포화 지방의 함량이 낮고, 단일불포화 트리글리세라이드 오일의 함량은 높으며, 섬유소의 훌륭한 공급원일 수 있다. 본 발명은 또한 채식주의자를 위한 단백질 공급원으로서뿐만

(뒷면에 계속)

대표도



아니라, 섬유소의 훌륭한 공급원으로서도 적당한 미세 조류 바이오매스를 포함하기도 한다. 본 발명의 미세 조류 바이오매스로 식품 조성물, 예를 들어 음료, 베이킹된 제품(baked good), 난제품, 지방을 줄인 식품과 글루텐을 함유하지 않는 식품을 제형화하는 신규의 방법에 관하여도 본원에 개시되어 있다. 본 발명의 미세 조류 바이오매스를 포함하는 식품 조성물을 사람에게 제공하는 것은 칼로리 추가 섭취를 감소시키기 충분한 수준의 포만감을 느끼게 하면서, 건강에 좋은 성분을 제공함에 따른 추가의 이점을 갖는다. 본 발명은 또한 균주에 의해서 생산된 바이오매스의 착색 정도를 감소시키기에 충분한 비유전자 이식 돌연변이 방법이 행하여진 미세 조류의 신규한 균주를 추가로 제공한다. 미세 조류 바이오매스로부터 유래하는 오일은 추출될 수 있는 것으로서, 심장 건강에 좋은 식용 오일이다. 신규 미세 조류 바이오매스 및 이로부터 유래하는 오일은 식용 및 비식용 종속 영양 발효 공급물, 예를 들어 옥수수 전분, 사탕 수수, 글리세롤 및 해중합 셀룰로스로 제조되는데, 이 공급물은 최대한으로 다양한 지리학적 지역으로부터 현존하는 농업상 방법에 의해 생산된 부산물 또는 목적을 가지고 생산한 것이다.

(72) 발명자

아빌라, 제프

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

데커, 스티븐 엠.

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

바리우, 엔리케

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

라키투스키, 발터

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

피에초키, 존

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

제다니스, 다나

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

노리스, 레실 엠.

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 블러바드 225

(30) 우선권주장

12/684,885 2010년01월08일 미국(US)

12/684,886 2010년01월08일 미국(US)

12/684,887 2010년01월08일 미국(US)

12/684,888 2010년01월08일 미국(US)

12/684,889 2010년01월08일 미국(US)

12/684,891 2010년01월08일 미국(US)

12/684,892 2010년01월08일 미국(US)

12/684,893 2010년01월08일 미국(US)

12/684,894 2010년01월08일 미국(US)

61/169,271 2009년04월14일 미국(US)

61/173,166 2009년04월27일 미국(US)

61/246,070 2009년09월25일 미국(US)

61/299,250 2010년01월28일 미국(US)

PCT/US2009/060692 2009년10월14일 세계지적재산권기구(WIPO)(WO)

명세서

청구범위

청구항 1

(i) 0.5% w/w 이상의 미세조류 가루로서,

상기 미세조류 가루는 16 건조중량% 이상의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말형태의 용해된 세포를 함유하는 건조 미세조류 바이오매스의 균질물이고,

상기 바이오매스는 엽록소 함량이 200 ppm 미만이고, 도코사헥산산(DHA)이 5 중량% 미만이고, 빛이 존재하지 않는 조건에서 당을 먹이로 하여 종속 영양하고 저온 살균된 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*) 종인 미세조류 가루; 및

(ii) 식용 액체를 포함하는, 식료품.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 바이오매스는 엽록소 함량이 100 ppm 미만인, 식료품.

청구항 3

제1항에 있어서, 세포 용해가 70% 초과인 세포 파괴를 야기하는, 식료품.

청구항 4

제3항에 있어서, 세포 용해가 80% 초과인 세포 파괴를 야기하는, 식료품.

청구항 5

제3항에 있어서, 세포 용해가 90% 초과인 세포 파괴를 야기하는, 식료품.

청구항 6

제3항에 있어서, 세포 용해가 100%의 세포 파괴를 야기하는, 식료품.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 1 중량% 미만의 트리글리세라이드 오일이 도코사헥산산(DHA)(22:6)인, 식료품.

청구항 8

제7항에 있어서, 50 중량% 이상의 트리글리세라이드 오일이 18:1 지질이며, 글리세로지질의 형태로 함유되는, 식료품.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 트리글리세라이드 오일이

- a. 2% 미만의 14:0;
- b. 13-16%의 16:0;
- c. 1-4%의 18:0;
- d. 64-70%의 18:1;
- e. 10-16%의 18:2;
- f. 0.5-2.5%의 18:3; 및

g. 2% 미만의 탄소 사슬 길이 20 이상의 오일
을 포함하는, 식료품.

청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 가루가 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소한 색 돌연변이
체인 조류로부터 유래된, 식료품.

청구항 11

제10항에 있어서, 가루는 녹색 또는 황색 색소가 결핍된, 식료품.

청구항 12

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 가루가 미분되거나 100 μm 이하의 평균 입자 크기를 가지는,
식료품.

청구항 13

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 가루가 20-70 $\mu\text{g/g}$ 의 루테인을 포함하여, 20-115 $\mu\text{g/g}$ 의 전체 카
로티노이드를 포함하는, 식료품.

청구항 14

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식료품이 건조 난제품을 포함하고, 건조 난제품이 건조 전란,
건조 난백 또는 건조 난황인, 식료품.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 식료품이 분말형 난제품, 스크램블된 난제품, 팬 케이크 믹스 또는 와플 믹스를 포함하
는, 식료품.

청구항 16

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식료품이 베이킹된 제품(baked good), 빵, 씨리얼, 크래커 또
는 파스타인, 식료품.

청구항 17

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식료품이 음료이고, 식용 액체가 두유, 우유죽(rice milk) 또
는 아몬드 밀크인, 식료품.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 음료가 요구르트인, 식료품.

청구항 19

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식료품이 채식주의자를 위한 인조육(vegetarian meat
substitute)인, 식료품.

청구항 20

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 식료품이 글루텐 불포함(gluten-free) 베이킹된 제품(baked
product)인, 식료품.

청구항 21

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항산화제를 추가로 포함하는, 식료품.

청구항 22

(i) 10 건조중량% 이상의 트리글리세라이드 오일을 함유하는, 원상태인 세포를 포함하는 0.5% w/w 이상의 조류 바이오매스로서,

상기 바이오매스는 엽록소 함량이 200 ppm 미만이고, 도코사헥산산(DHA)이 5 중량% 미만이며, 빛이 존재하지 않는 조건에서 당을 먹이로 하여 증속 영양하고 저온 살균된 클로렐라 프로토테코이데스 종인 조류 바이오매스; 및

(ii) 식용 액체를 포함하는, 식료품.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 바이오매스는 엽록소 함량이 100 ppm 미만인, 식료품.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 1 중량% 미만의 트리글리세라이드 오일이 도코사헥산산(DHA)(22:6)인, 식료품.

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

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

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174

삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

청구항 177

삭제

청구항 178

삭제

청구항 179

삭제

청구항 180

삭제

청구항 181

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C.119(e)에 의하여 2009년 4월 14일에 출원된 미국 가출원 제61/169,271호, 2009년 4월 27일에 출원된 미국 가출원 제61/173,166호, 2009년 9월 25일에 출원된 미국 가출원 제61/246,070호, 및 2010년 1월 28일에 출원된 미국 가출원 제61/299,250호의 우선권의 이익을 주장한다. 본 출원은 또한 35 U.S.C. 119(e)에 의하여 2009년 4월 27일에 출원된 미국 특허 가출원 제61/173,166호, 및 2009년 9월 25일에 출원된 미국 특허 가출원 제61/246,070호의 우선권의 이익을 주장하는, 2009년 10월 14일에 출원된 국제출원 PCT/US2009/060692호의 일부계속출원이다. 본 출원은 또한 각각 2010년 1월 8일에 출원되었고, 35 U.S.C. 119(e)에 의하여 2009년 4월 27일에 출원된 미국 특허 가출원 제61/173,166호 및 2009년 9월 25일에 출원된 미국 특허 가출원 제61/246,070호의 우선권의 이익을 주장하는 각각 2009년 10월 14일에 출원된 미국 출원 제12/579,091호의 일부계속출원인, 미국 출원 제12/684,884호, 제12/684,885호, 제12/684,886호, 제12/684,887호, 제12/684,888호, 제12/684,889호, 제12/684,891호, 제12/684,892호, 제12/684,893호, 및 제12/684,894호의 일부계속출원이다. 이들 출원의 각각은 모든 목적을 위하여 전체적으로 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 서열 목록에 대한 참조

[0004] 본 출원은 2010년 4월 14일에 작성되었고, 22803바이트를 포함하고 있는, 파일명이 “026172-004150PC_Sequence_Listing” 인 텍스트 파일의 서열 목록을 포함한다. 텍스트 파일 내에 포함된 자료는 본원에 참조로 포함된다.

[0005] 본 발명의 분야

[0006] 본 발명은 미생물학, 식품 제조학 및 사람과 동물의 영양학 분야에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 본 발명의 배경

[0008] 인구가 증가함에 따라서, 부가 식품 공급원, 특히 생산 비용은 저렴하되 영양가 있는 식품 공급원에 대한 필요성이 증가하고 있다. 뿐만 아니라, 최소한 대부분의 선진국에서는 현재 다수의 식단에 있어 주식으로서 육류에 의존하고 있어서 온실 가스 방출량에 상당히 기여하고 있으며, 기존의 식품과 동일한 맛과 영양을 가지고 있으면서 환경에 유해한 효과는 덜 미치는, 새로운 식량의 생산이 필요한 실정이다.

[0009] 성장에 오로지 “물과 햇빛” 만을 필요로 하는 조류(algae)가 오랫동안 유망한 식품 공급원으로서 주목받아 왔다. 실제로, 임의의 종류의 조류(주로 해초)가 사람이 소비하는 중요한 식량을 제공하지만, 조류의 식량으로서의 이용 가능성은 아직 현실화되지 않고 있다. 야외 연못(outdoor pond)이나 광생물 반응기 내에서 광합성에 의하여 성장한 조류로 만들어진 조류 분말이 시판되고 있으나, 조류 분말은 (엽록소로 인해) 진한 녹색을 띠고 있으며 맛이 강하여 불쾌감을 준다. 식료품 또는 영양 보충식으로 제형화될 때, 상기 조류 분말은 식료품내에 또는 영양 보충식으로서 제형화될 경우, 이러한 조류 분말은 식료품 또는 영양 보충식에 시각적으로 매력적이지 않은 녹색을 부여하고 불쾌한 비린내 또는 해초맛이 난다.

[0010] 오늘날, 식량에 사용되는 조류의 몇 가지 종이 있는데, 대부분이 대형 조류로서, 예를 들어 켈프, 김(purple laver)(김(nori)에 사용되는 포르피라(*Porphyra*)), 덜스(dulse)(팔마리아 팔메이트(*Palmaria palmate*)) 및 파래(올바 락투카(*Ulva lactuca*))가 있다. 영양 보충식으로서 사용되는 미세 조류, 예를 들어 스피루리나(아스로스피라 플라텐시스(*Arthrospira platensis*))는 개방 연못(open pond)에서 (광합성에 의하여) 상업적으로 생육되거나, 또는 스무디나 주스에서 소량으로(일반적으로, 0.5%w/w 미만) 포함된다. 클로렐라(*Chlorella*)의 일부 종을 포함하여 기타 미세 조류는 아시아 국가에서 영양 보충식으로서 대중적이다.

[0011] 이러한 제품 이외에, 도코사헥산산(DHA) 함량이 높은 조류 오일이 영양용 조제식의 성분으로서 사용된다. DHA는

고도의 다중불포화 오일이다. DHA는 소염 특성을 가지며, 식량 제조에 사용되는 보충제 및 첨가제로서 널리 알려져 있다. 그러나, DHA는 열 처리에 의해 산화되기 때문에, 조리된 식품에는 적당하지 않다. 또한, DHA는 항산화제의 존재시 실온에서조차도 산소에 노출될 때 불안정하다. DHA가 산화되면 비린 맛과 불쾌한 냄새가 나게 된다.

[0012] 조류로부터 저렴하고 효율적으로 식량, 특히 맛 좋고 영양가가 있는 식량을 다량 생산하는 방법에 대한 수요가 있다. 본 발명은 이러한 수요 및 기타 수요를 충족한다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 식용 미세 조류의 다수 속, 종 및 균주로부터 유래하는 미세 조류 유래 가루의 조성물을 포함한다. 본 발명에 사용된 미세 조류는 조류 독소를 함유하지 않으며, 주로 단일불포화 트리글리세라이드 오일을 다양한 수준으로 함유한다. 본원에 개시된 가루는 식품 성분으로 혼합되며, 산화에 안정적이고, 균질화하며 미분화되는, 배합가능 자유 흐름 분말(free flowing blendable powder), 및 이의 조합물(combination)로서 제형화된다. 본원에 개시된 가루는 또한 점도를 조절할 수 있으며, 슬러리의 형태를 하고 있는 자가 안정화 에멀전(self stabilizing emulsion)을 형성한다. 또한, 가루를 제형화하고 가루를 식품 조성물에 포함시키는 혁신적인 방법도 본원에 개시되어 있다. 본 발명은 또한 소화성 단백질과 독특한 식이 섬유 함량이 아주 높고, 수분 결합능이 있으며, 질감화되었고(texturizing), 건강에 좋은 오일 전달 특성을 가지는 가루를 포함한다. 또한 본 발명의 가루를 사용하여 오일과 지방을 대체하는 신규 방법도 개시되어 있다. 본 발명의 가루는 옥수수 전분, 사탕 수수, 글리세롤 및 해중합된 셀룰로스를 포함하는 식용 및 비식용 종속 영양 발효 공급원으로 제조될 수 있다.

[0014] 제1 측면에서, 본 발명은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태인, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물을 포함하는 미세 조류 가루를 제공한다. 몇몇 구체예에서, 상기 분말 입자의 평균 크기는 100 μ m 미만이다. 몇몇 구체예에서, 상기 분말 입자의 평균 크기는 1~15 μ m이다. 하나의 구체예에서, 상기 분말은 미세 조류 바이오매스를 미분하여 에멀전을 형성하고, 이 에멀전을 건조함으로써 형성된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루의 수분 함량은 10 중량% 이하, 또는 5 중량% 이하이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 45 건조중량% 내지 70 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 60%~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다. 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 당당류 조성은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코시다. 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여, 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리에놀을 포함하여, 전체 토코트리에놀을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.

[0015] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 가루는 식품 성분 조성물의 형태이며, 여기에서 상기 미세 조류 가루는 하나 이상의 부가 식용성 성분, 즉 곡물, 과일, 채소, 단백질, 허브, 향신료, 또는 셀러드 드레싱, 난제품, 베이킹된 식품(baked good), 빵, 파스타, 소스, 스프, 음료, 냉동 디저트, 버터 또는 스프레드(spread) 제조용 성분 하나 이상과 혼합된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루는 비저블 오일(visible oil)을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루는 유도제(flow agent)를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 가루는 항산화제를 추가로 포함한다.

[0016] 본 발명의 다양한 구체예에서, 바이오매스는 하나의 미세 조류 균주로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 조류는 클로렐라 프로토테코이데스(*Chlorella protothecoides*)이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기

준(GMP) 조건 하에서 배양 및 가공된 조류로부터 유래한다.

[0017] 제2 측면에서, 본 발명은 (a) 적어도 0.5%w/w 미세 조류 가루(여기에서, 상기 미세 조류 가루는 적어도 16 중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태인, 대부분 또는 전부가 용해된 미세 조류 세포를 함유하는 균질물임), 및 (b) 적어도 하나의 기타 식용 성분(여기에서, 상기 식품 성분 조성물은 이 식품 성분 조성물에 액체를 첨가함으로써 재구성된 식료품으로 전환될 수 있음)을 포함하거나, 이를 혼합하여 형성된 식품 성분 조성물을 제공한다. 하나의 구체예에서, 식품 성분 조성물은 건조 파스타이다. 몇몇 경우에서, 식품 성분 조성물은 액체를 첨가한 후 베이킹(baking)함으로써 재구성된 식료품으로 전환될 수 있다. 하나의 구체예에서, 재구성된 식료품은 액체 식료품이다. 몇몇 경우에서, 식품 성분 조성물은 재구성 제품에 전단력을 가하는 것을 포함하는 방법에 의해 재구성된 식료품으로 전환될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 액체 식료품 중 미세 조류 바이오매스 입자의 평균 크기는 1 내지 15 μ m이다. 하나의 구체예에서, 재구성된 식료품은 에멀전이다. 몇몇 구체예에서, 재구성된 식료품은 샐러드 드레싱, 스프, 소스, 음료, 버터 또는 스프레드이다.

[0018] 몇몇 경우에서, 본 발명의 재구성된 식료품은 미세 조류 바이오매스로부터 유래하는 오일 이외의 오일이나 지방은 함유하지 않는다. 몇몇 구체예에서, 재구성된 식료품 중 미세 조류 가루의 양은 이 재구성된 식료품과 동일한 유형의 종래 식료품 중 오일 및/또는 지방 중량의 0.25~1배이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스 입자의 평균 크기는 100 μ m 미만이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 입자의 평균 크기는 1~15 μ m이다. 몇몇 구체예에서, 식품 성분 조성물의 수분 함량은 10 중량% 이하, 또는 5 중량% 이하이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 45 건조중량% 내지 65 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 60%~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 식품 성분 조성물의 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스의 식이 섬유 성분은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여, 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 엽록소를 2ppm 미만으로 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리에놀을 포함하여, 전체 토코트리에놀을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.

[0019] 제3 측면에서, 본 발명은 (a) 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 함유하는 미세 조류 세포를 제공하는 단계, (b) 이 세포를 분쇄하고 입자 크기를 줄여서 수성 균질물을 생산하는 단계, 및 (c) 이 균질물을 건조시켜 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 미세 조류 가루를 생산하는 단계를 포함하는, 미세 조류 가루를 제조하는 방법을 제공한다. 하나의 구체예에서, 상기 방법은 세포를 분쇄하기 전에 배양 배지로부터 미세 조류 세포를 분리하는 단계를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 분쇄 단계는 가압 분쇄기, 프렌치 프레스(French press) 또는 볼 밀(ball mill)을 사용하여 수행한다. 몇몇 경우에서, 상기 건조 단계는 동결 건조기, 드럼 건조기, 플래시 건조기, 분사 건조기 또는 박스 건조기를 사용하여 수행한다.

[0020] 몇몇 구체예에서, 본 발명의 방법은 50 건조중량% 내지 65 건조중량%의 오일을 함유하는 미세 조류 세포를 사용하여 수행한다. 몇몇 경우에서, 상기 방법은 공정 중 임의의 시점에 유도제를 첨가하는 단계를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 가루 입자의 평균 크기는 100 μ m 미만이다. 하나의 구체예에서, 가루 입자의 평균 크기는 1 내지 15 μ m이다. 몇몇 경우에서, 가루의 수분 함량은 10 중량% 이하, 또는 5 중량% 이하이다. 몇몇 경우에서, 오일의 50%~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.

[0021] 몇몇 경우에서, 본 발명의 방법은 미세 조류의 단일 균주의 미세 조류 세포를 사용하여 수행된다. 몇몇 구체예에서, 세포는 클로렐라 속에 속하는 종이다. 하나의 구체예에서, 세포는 클로렐라 프로토테코이데스이다. 몇몇 경우에서, 세포는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착이 감소한 색 돌연변이 균주의 세포이다. 몇몇 경우에서, 세포는 중속 영양 배양물로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 세포는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 분쇄 및 건조된다.

[0022] 제4 측면에서, 본 발명은 미세 조류 가루로부터 식료품을 제조하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 (a) 종래의

식료품 형태인 오일, 지방 또는 계란의 양을 기준으로 하여, 식료품 중 포함되는 미세 조류 가루의 양을 측정하는 단계(여기에서, 미세 조류 가루는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태인, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물임), 및 (b) 상기 양의 미세 조류 가루와 하나 이상의 식용 성분, 그리고 종래의 식료품 형태 중에 존재하는 오일, 지방 또는 계란의 양보다 적은 양의 오일, 지방 또는 계란을 합하여, 미세 조류 가루로 식료품을 형성하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 25 중량% 미만으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루로 제조된 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 10 중량% 미만으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 가루로 제조된 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루로 제조된 식료품은 계란을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일을 제외한 오일을 함유하지 않는다.

[0023] 본 발명은 또한 신규의 음료 및 이를 제조하는데 사용되는 원료를 추가로 포함하는데, 상기 음료 및 원료는 다양한 성분과 다양한 종의 미세 조류를 함유한다. 본 발명에 사용된 미세 조류 바이오매스의 속성으로서는, 영양 공급 물질, 예를 들어 카로티노이드, 식이 섬유, 토코트리엔올 및 토코페롤과, 다양한 지질 조성물, 특히 낮은 수준의 포화 지질을 포함한다. 본 발명에 사용된 미세 조류 바이오매스의 속성으로서는, 두유 및 우유죽과 같은 대체 유제품에 비하여 개선된 구강 촉감과 같은 구조상 속성을 포함한다. 신규의 음료는 미세 조류 내에서 발견되는 고 영양 물질용인 전달 시스템을 제공한다. 본 발명은 미세 조류를 주성분으로 하여 완성된 음료(예를 들어, 냉장이 필요한 액체 및 에멀전과, 냉장하지 않아도 되는 액체 및 에멀전)와, 미세 조류를 주성분으로 하는 신규 물질을 성분으로 포함시켜, 현재 음료의 특성을 증진시키는 조성물의 새로운 카테고리를 제공한다.

[0024] 제5 측면에서, 본 발명은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일 및/또는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 균질물 또는 전 세포의 형태인 적어도 40 건조중량%의 단백질을 함유하는 미세 조류 바이오매스 및 식용 액체를 포함하는 음료를 제공한다. 몇몇 경우에서, 음료는 미세 조류 바이오매스와 식용 액체를 분산시킴으로써 형성된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미분된 균질물의 형태이다. 하나의 구체예에서, 균질물 내 입자의 평균 크기는 100 μ m 미만이다. 하나의 구체예에서, 균질물 내 입자의 평균 크기는 1~15 μ m이다.

[0025] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 질량 분광 분석법으로 검출가능한 조류 독소를 함유하지 않는다. 하나의 구체예에서, 음료는 저온 살균된 것이다. 몇몇 구체예에서, 음료는 외인성 단백질 공급원 및/또는 락토스를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 외인성 단백질 공급원은 유청 단백질이다. 몇몇 경우에서, 음료는 락토스를 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 식용 액체는 두유, 우유죽 또는 아몬드 밀크이다.

[0026] 몇몇 구체예에서, 음료는 우유, 주스, 스무디, 영양 음료, 에그 노그(egg nog) 및 식사 대용 음료로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 45~75 건조중량%가 트리글리세라이드 오일이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50중량%는 단일불포화 오일이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50중량%는 18:1 지질이며, 글리세로지질의 형태로 함유되어 있다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 5중량% 미만은 도코사헥산산(DHA)(22:6)이다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 60%~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.

[0027] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 단당류 조성은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g 함유한다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리엔올을 포함하여, 전체 토코트리엔올을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.

[0028] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 제조된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류의 단일 균주로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류는 클로렐라 속에 속하는 종이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이데스 균주이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 색소 침착 현상이

발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행(American Type Culture Collection, ATCC)에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.

[0029] 제6 측면에서, 본 발명은 전 세포 플레이크 또는 분말 형태 미세 조류 바이오매스, 또는 트리글리세롤 오일의 함량이 적어도 25%인 분말 형태의 미분된 균질물, 및 식용 액체를 혼합하여 음료를 형성하는 단계를 포함하는, 음료 제조 방법을 제공한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 처음에 제2의 식용 액체와 혼합되어 슬러리를 형성하고, 이후 이 슬러리는 식용 액체와 혼합되어 음료를 형성하게 된다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 방법은 외인성 단백질 공급원 및/또는 락토스를 첨가하여 음료를 형성하는 단계를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 외인성 단백질 공급원은 유청 단백질이다. 몇몇 경우에서, 상기 방법은 음료를 저온 살균하는 단계를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스 및 식용 액체는 함께 혼합되어 안정적인 분산액을 형성한다.

[0030] 다양한 구체예에서, 본 발명의 방법에 의해 제조된 음료는 우유, 주스, 스무디, 영양 음료 및 식사 대용 음료로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에서, 식용 액체는 두유, 우유죽 또는 아몬드 밀크이다.

[0031] 제7 측면에서, 본 발명은 (a) 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일 및/또는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 균질물 또는 전 세포의 형태인 적어도 40 건조중량%의 단백질을 함유하는 미세 조류 바이오매스, (b) 식용 액체, 및 (c) 식료품에서 사용하기 적당한 생 미생물을 포함하는 발효 식료품을 제공한다. 몇몇 경우에서, 생 미생물은 박테리아 배양물이다. 하나의 구체예에서, 식용 액체는 우유이다. 하나의 구체예에서, 우유는 동물로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 우유는 동물 이외의 공급원으로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 발효 식료품은 요구르트이다. 몇몇 경우에서, 요구르트는 액체 음료의 형태이다.

[0032] 본 발명은 기존에 존재하는 동일한 유형의 제품과 비교하였을 때 신규 특성을 가지는 미세 조류 함유 베이킹 제품을 추가로 포함한다. 지방과 콜레스테롤을 줄이고 섬유소 함량은 늘린 이들 식품을 제형화 및 제조하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 다양한 구체예로서는 기존에 존재하는 동일한 유형의 제품보다 칼로리가 낮은 식품을 제조하는 것을 포함하여, 건강에 좋은 오일 함유 미세 조류 바이오매스 및 오일에 이익이 되도록 계란, 버터, 동물 지방 및 포화 오일을 제거 또는 감소시키는 것을 포함한다. 또한 신규의 베이킹 가공된 식품 및 중간 물질, 예를 들어 케이크 및 브레드 믹스(bread mix)를 제조하기 위한 원료를 생산하는 방법도 제공되어 있다.

[0033] 제8 측면에서, 본 발명은 트리글리세라이드 오일 함량이 적어도 16 중량%이며, 전 세포 플레이크 또는 전 세포 분말, 또는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 균질물의 형태를 가지는 미세 조류 바이오매스, 식용 액체 및 하나 이상의 기타 식용 성분의 혼합물을 베이킹함으로써 형성된 식료품을 제공한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 가루의 형태인데, 이는 분말의 형태이며, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루는 미세 조류 바이오매스의 미분된 균질물이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 균질물의 슬러리 형태이다.

[0034] 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 질량 분광 분석법으로 검출가능한 조류 독소를 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 식료품의 수분 활성(Aw)은 0.3 내지 0.95이다. 몇몇 경우에서, 식료품의 섬유소 함량은 기타 종래의 동일 식료품에 비하여 적어도 1.5배 높다. 몇몇 경우에서, 식료품은 브라우니, 쿠키, 케이크와 케이크 유사 제품, 크래커, 빵 및 스낵 칩으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에서, 빵은 피자 크러스트, 브레드스틱(breadstick), 브리오슈(brioche) 또는 비스킷이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 45~75 건조중량%가 트리글리세라이드 오일이다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50 중량%는 단일불포화 오일이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50 중량%는 18:1 지질로서, 글리세로지질의 형태로 함유되어 있다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 5 중량% 미만은 도코사헥산산(DHA)(22:6)이다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 60%~75%는 글리세로지질의 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.

[0035] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 단당류의 조성은 0.1~3%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 20~70 μ g

/g의 루테인을 포함하여 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g 함유한다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리엔올을 포함하여, 전체 토코트리엔올을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.

[0036] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 중속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 제조된다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 미세 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이데스 균주이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.

[0037] 제9 측면에서, 본 발명은 트리글리세라이드 오일 함량이 적어도 16 중량%이며, 전 세포 플레이크 또는 전 세포 분말, 또는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 균질물의 형태인 미세 조류 바이오매스 및 적어도 하나의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 성분 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 식품 성분은 이 식품 성분 조성물에 액체를 첨가한 후 베이킹함으로써, 재구성된 식료품으로 전환될 수 있다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 트리글리세라이드 오일의 함량은 45~75 건조중량%이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하며, 이 단백질은 적어도 60%의 소화성 조 단백질(crude protein)을 포함한다.

[0038] 제10 측면에서, 본 발명은 베이킹된 제품을 제조하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 트리글리세라이드 오일 함량이 적어도 25 중량%이고, 전 세포 플레이크 또는 전 세포 분말 또는 분말 형태의 미분된 균질물의 형태인 미세 조류 바이오매스, 식용 액체 및 적어도 하나의 기타 식용 성분을 혼합하는 단계, 및 이 혼합물을 베이킹하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에서, 베이킹된 제품으로는 브라우니, 쿠키, 케이크, 빵, 피자 크러스트, 브레드 스틱, 크래커, 비스킷, 파이 크러스트 또는 스낵 칩이 있다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 주로 지방, 오일 또는 계란인 기타 식용 성분 또는 식용 액체와 혼합되지 않는다.

[0039] 제11 측면에서, 본 발명은 트리글리세라이드 오일의 함량이 적어도 10 중량%이고, 전 세포 플레이크 또는 전 세포 분말, 또는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 균질물의 형태인 미세 조류 바이오매스, 식용 액체 및 가루를 포함하는 식료품을 제공한다. 몇몇 경우에서, 식료품은 팽창제(leavening agent)를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 팽창제는 화학적 팽창제이다. 하나의 구체예에서, 팽창제는 생물학적 팽창제이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 45 건조중량% 내지 70 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 40%의 단백질을 포함한다.

[0040] 본 발명은 지질의 수준이 높은 미세 조류 바이오매스를 함유하는 식품을 추가로 포함한다. 식품의 예로서는 스스, 드레싱, 스프레드, 마요네즈, 및 미세 조류를 함유하는 기타 식용 물질을 포함하는데, 여기에서 상기 식용 물질은 통상적으로 포화 지방 및 오일의 전달과 연관되어 있다. 본 발명은 또한 동일한 유형의 통상 식품과 비교하였을 때 칼로리 부담이 줄어든, 미세 조류 함유 식품을 추가로 제공하며, 다양한 구체예에서 신규 식품은 식품의 전지체(full fat version)와 유사하거나 동일한 관능적 특성을 갖는다. 본 발명은 또한 신규 식품을 제형화 및 제조하는 방법과, 이 신규 식품을 제조하기 위한 미세 조류를 주성분으로 하는 중간 물질을 생산하는 방법을 제공하기도 한다. 신규의 식품과 중간 물질은 현존하는 발효법과 식품 가공 장치를 사용하여 제조될 수 있으며, 현존하는 식료품을 원하는 구조와 관능적 특성을 가지는 건강에 더 좋은 미세 조류 유래 식품으로 대체할 수 있다.

[0041] 제12 측면에서, 본 발명은 식용 액체 중에 에멀전화된 트리글리세라이드 오일을 적어도 16 건조중량% 포함하며, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물을 적어도 10 중량% 함유하는, 식품 또는 식품 성분 조성물을 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 조성물은 스스, 마요네즈, 스프 또는 드레싱이다. 몇몇 경우에서, 상기 조성물은 미세 조류 바이오매스 중에 함유된 오일을 제외한 오일 및 지방을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 상기 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 오일을 제외한 오일 또는 지방을 25 중량% 미만으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 상기 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 오일을 제외한 오일 또는 지방을 10 중량% 미만으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 상기 조성물은 수중유 에멀전이다. 하나의 구체예에서, 상기 조성물은 유중수 에멀전이다.

[0042] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 질량 분광 분석법으로 검출가능한 수준의 조류 독소를 함유하지 않는다. 몇몇 구

체에서, 미세 조류 바이오매스는 45~75 건조중량%가 트리글리세라이드 오일이다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50 중량%는 단일불포화 오일이다. 몇몇 경우에서 트리글리세라이드 오일의 적어도 50 중량%는 18:1 지질로서, 글리세로지질의 형태로 함유되어 있다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 5 중량% 미만은 도코사헥산산(DHA)(22:6)이다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 60%~75%는 글리세로지질의 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.

[0043] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 단당류 조성은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g 함유한다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리엔올을 포함하여, 전체 토코트리엔올을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.

[0044] 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 제조된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 클로렐라속, 프로토테카(*Prototheca*) 속 또는 파라클로렐라(*Parachlorella*) 속에 속하는 종인 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류는 클로렐라 속에 속하는 종이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이데스 균주이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.

[0045] 제13 측면에서, 본 발명은 조류 가루를 분산시켜 형성된 슬러리를 제공하는데, 여기에서 상기 슬러리는 수용액 중 분말 형태로서, 트리글리세라이드 오일을 적어도 16 건조중량% 포함하며, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이고, 또한 상기 조류 가루는 슬러리의 10~50 중량%를 차지한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 오일 함량은 5~55 건조중량%의 트리글리세라이드 오일이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하며, 이 단백질은 적어도 60%의 소화성 조 단백질을 포함한다.

[0046] 제14 측면에서, 본 발명은 미세 조류 바이오매스를 포함하는 식료품을 제조하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 (a) 종래의 식료품 형태 중 오일, 지방 또는 계란의 함량을 기준으로 하여, 식료품 중에 포함되는 미세 조류 바이오매스의 함량을 측정하는 단계(여기에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함함), 및 (b) 상기 양의 미세 조류 바이오매스와 하나 이상의 식용 성분, 및 종래 형태의 식료품 중에 존재하는 오일, 지방 또는 계란의 양보다 적은 양의 오일, 지방 또는 계란을 혼합하여, 미세 조류 바이오매스를 포함하는 식료품을 형성하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루를 포함하는 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 10 중량% 미만으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루를 포함하는 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 주성분으로 하는 식품 성분을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루를 포함하는 식료품은 계란을 함유하지 않는다. 몇몇 구체예에서, 식료품은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일 이외의 오일을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스의 함량은 종래 레시피 중 오일 또는 지방의 중량 또는 부피를 기준으로 하여 25~100%이다.

[0047] 제15 측면에서, 본 발명은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 혼합하는 단계를 포함하는, 저 지방 식품을 제조하는 방법을 제공하는데, 여기에서 식용 성분 중 적어도 하나는 천연 지방 또는 오일이 격감되었다. 몇몇 경우에서, 천연 지방 또는 오일이 격감된 식용 성분은 난백이다. 몇몇 경우에서, 천연 지방 또는 오일이 격감된 식용 성분은 지방이 격감된 유제품이다. 하나의 구체예에서, 유제품은 지방이 감소되었거나 지방을 함유하지 않는 우유이다.

[0048] 제16 측면에서, 본 발명은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분들을 혼합하여, 저 지방 식료품을 형성하는 단계를 포함하는, 저 지방 식품을 제조하는 방법을 제공하는데, 여기에서 상기 저지방 식료품은 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 10% 이하로 함유한다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스와 혼합되는 하나 이상의 식용 성분은 주로 오일, 지방 또는 계란으로

구성된 성분을 포함하지 않는다.

- [0049] 본 발명은 계란을 주성분으로 하는 식료품의 제조와 관련된 방법 및 조성물을 추가로 포함하는데, 여기에서 상기 제조는 미세 조류로부터 생산되며, 상이한 형태를 가지는 다양한 원료를 함유한다. 몇몇 형태는 단일불포화 오일, 식이 섬유, 카로티노이드, 및 소화성 조 단백질을 높은 수준으로 포함한다. 본원은 수화 난제품에서 고온에서의 장기간 저장 동안 식품 안정성을 강화시키는 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명의 미세 조류 유래 물질은 종속 영양 조건 하에서 생산된, 다양한 속, 종 및 균주의 미세 조류로 제조된, 건조 또는 수화 균질물로서 제공된다. 본 발명의 난제품 중 포화 지방 및 콜레스테롤의 중량/중량 수준은 감소된 반면에, 식이 섬유의 중량/중량 수준은 증가한다. 액체 또는 건조된 계란과 액체 또는 건조된 조류의 배합물, 그리고 이 배합물을 제조 및 제형화하는 방법이 제공된다. 콜레스테롤 수치가 상당히 낮은 난제품을 제조하기 위한, 난백과 미세 조류의 독특한 조합도 제공된다. 몇몇 구체예에서, 식이 섬유를 첨가하고 기타 미세 조류의 수분 보유 특성을 부가하여, 분말 형태인 계란의 질감상 특성을 액체 상태의 계란의 질감상 특성과 더욱 유사하게 개질한다.
- [0050] 제17 측면에서, 본 발명은 액체 및 선택적으로는 기타 식용 성분을 첨가하여 식료품을 제형화하기 위한 것으로서, 건조된 난제품 및 조류 가루를 포함하는 식품 성분 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 조류 가루는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 하나의 구체예에서, 건조된 난제품은 건조된 전란이다. 하나의 구체예에서, 건조된 난제품은 건조된 난백이다. 하나의 구체예에서, 건조된 난제품은 건조된 난황이다. 몇몇 경우에서, 식품 성분 조성물은 분말로 만들어진 난제품, 또는 팬 케이크나 와플 믹스이다.
- [0051] 몇몇 경우에서, 조류 가루는 미세 조류 바이오매스를 미분하여 에멀전을 형성하고, 이 에멀전을 건조시킴으로써 형성된다. 하나의 구체예에서, 조류 가루 입자의 평균 크기는 100 μ m 미만이다. 하나의 구체예에서, 조류 가루 입자의 평균 크기는 1~15 μ m이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 제조된다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 질량 분광 분석법으로 검출가능한 조류 독소를 함유하지 않는다.
- [0052] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 45~75 건조중량%가 트리글리세라이드 오일이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50 중량%는 단일불포화 오일이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 적어도 50 중량%는 18:1 지질로서, 이는 글리세로지질의 형태로 함유되어 있다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 5 중량% 미만은 도코사헥산산(DHA)(22:6)이다. 몇몇 경우에서, 트리글리세라이드 오일의 60~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.
- [0053] 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 당당류 조성은 0.1~3%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여, 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리엔올을 포함하여, 전체 토코트리엔올을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.
- [0054] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 미세 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이테스 균주이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류의 단일 균주로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행(American Type Culture Collection, ATCC)에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이테스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이테스 25-32이다.
- [0055] 제18 측면에서, 본 발명은 액체와 선택적으로는 기타 식용 성분을 첨가하여 식료품을 제형화하기 위한 것으로서, 난제품과 조류 가루를 혼합하여 형성된 식품 성분 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 조류 가루는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 하나의 구체예에서, 상기 식품 성분 조성물은 파스타이다.

- [0056] 제19 측면에서, 본 발명은 액체 상태인 난제품과 조류 가루 슬러리를 포함하는 식품 성분 조성물을 제공하는데, 여기에서 조류 가루는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 몇몇 경우에서, 상기 액체 상태인 난제품 으로서는 액체 전란, 액체 난백, 액체 난황 및 액체 계란 대용물(liquid egg substitute)이 있다. 하나의 구체 예에서, 식품 성분 조성물은 가열 시 스크램블된(scrambled) 난제품을 제형화하기 위한 것이다.
- [0057] 제20 측면에서, 본 발명은 건조 난제품과 미세 조류 가루를 포함하는 식품 성분을, 액체 및 선택적으로는 기타 식용 성분과 혼합하고, 이를 조리하는 단계를 포함하는 식료품을 제조하는 방법을 제공하며, 여기에서 상기 미세 조류 가루는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 몇몇 경우에서, 식료품은 분말 난제품 또는 팬 케이크 또는 와플 믹스이다.
- [0058] 제21 측면에서, 본 발명은 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하고, 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 함유하는 미세 조류 바이오매스 균질물과 액체 난제품을 제공하는 단계, 및 이 균질물과 난제품을 모두 건조하여 식품 성분 조성물을 제공하는 단계를 포함하는 식품 성분 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 방법은 조류 바이오매스를 미분하여 균질물을 제공하는 단계를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 식품 성분 조성물은 가열 시 스크램블된 난제품으로서 제형화하기 위한 것이다.
- [0059] 제22 측면에서, 본 발명은 난제품과 미세 조류 가루 또는 이 미세 조류 가루의 슬러리, 및 적어도 하나의 기타 식용 성분을 혼합하고, 이를 가열함으로써 형성된 식품 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 미세 조류 가루는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 하나의 구체예에서, 난제품은 액체 난제품이다. 몇몇 경우에서, 상기 액체 난제품은 액체 전란, 액체 난황, 액체 난백 또는 액체 계란 대용물이다. 하나의 구체예에서, 난제품은 건조된 난제품이다. 몇몇 경우에서, 건조된 난제품은 건조된 전란, 건조된 난황 또는 건조된 난백이다. 몇몇 구체예에서, 적어도 하나의 기타 식용 성분은 식용 액체를 포함한다. 하나의 구체예에서, 식품 조성물은 스크램블된 계란이다.
- [0060] 제23 측면에서, 본 발명은 식용 액체 및 선택적으로는 기타 식용 성분을 첨가하여 식료품을 제형화하기 위한 것으로서, 난제품 및 조류 가루를 포함하는 식품 성분 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 조류 가루는 20 건조중량% 이하의 트리글리세라이드 오일과 적어도 40 건조중량%의 단백질질을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다.
- [0061] 본 발명은 또한 균주에 의해서 생산된 바이오매스의 착색 정도를 감소시키기에 충분한 비유전자 이식 돌연변이 방법이 행하여진 미세 조류의 독특한 신규 균주를 추가로 포함한다. 이러한 균주로부터 생산된 바이오매스는 베이킹된 제품, 글루텐 불포함 식품, 음료, 고 지질 조류 가루 및 기타 식품의 제조에 사용될 수 있다. 카로티노이드와 엽록소와 같은 색소는 통상적으로 색(예를 들어, 황색, 적색, 오렌지색 및 녹색)과 연관되지 않은 식품, 예를 들어 마요네즈, 요구르트 및 화이트 소스에 포함될 때 소비자가 받아들이기에 바람직하지 않을 수 있다. 일부 색소, 예를 들어 엽록소는 또한 바람직하지 않은 기호 프로파일(taste profile)을 형성할 수도 있다. 감소된 색소 미세 조류 바이오매스의 사용은 건강에 좋은 지질 프로파일(healthy lipid profile)을 가지도록 제조될 수 있는 식료품의 범위까지 확장된다. 색소 침착이 감소된, 본 발명의 고 단백질 함유 바이오매스는 또한 제품, 예를 들어 인조육, 영양 바 및 식사 대용 음료에 포함되기도 한다. 색소 침착이 감소된 미세 조류는 또한 다량의 바이오매스를, 고도로 색소 침착된 미세 조류 바이오매스를 사용하여 획득할 수도 있는 임의의 식료품에 포함될 수도 있다. 색소 침착이 감소된 신규의 미세 조류를 제조하는 방법이 본원에 개시되어 있다. 본 발명에 의해 제공된 균주는 또한 건강에 좋은 중성 착색 추출 트리글리세라이드 오일의 제조에도 유용하다.
- [0062] 제24 측면에서, 본 발명은 적어도 0.1%w/w의 미세 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일, 및 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소된 색 돌연변이체를 제공하는 미세 조류 균주를 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스를 제공하는 미세 조류 균주는 비슷한 조건 하에서 성장한 클로렐라 프로토테코이데스와 비교하였을 때 착색 정도가 감소하였다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스를 제공하는 미세 조류 균주는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 생장 및 가공된다.

- [0063] 몇몇 구체예에서, 식품 조성물은 샐러드 드레싱, 난제품, 베이킹된 제품, 빵, 바, 파스타, 소스, 스프 드링크, 음료, 냉동 디저트, 도우, 버터 대용 식품 또는 스프레드로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 식용 성분은 곡물, 과일, 채소, 단백질, 허브 또는 향신료로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 구체예에서, 식품 조성물은 식품에 사용할 수 있는 보존제를 추가로 포함한다.
- [0064] 제25 측면에서, 본 발명은 적어도 0.1%w/w의 미세 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하고, 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 미세 조류 균주로 제조된다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.
- [0065] 제26 측면에서, 본 발명은 식품 제조에 적당한 미세 조류 균주를 제공하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 (a) 미세 조류 균주를 돌연변이시키는 단계, (b) 동일한 조건 하에서 생장한 원래 균주와 비교하였을 때 착색 정도가 감소한 돌연변이 콜로니를 동정하는 단계, 및 (c) 트리글리세라이드 오일 함량이 적어도 25 건조중량%이고/이거나 단백질 함량이 적어도 40 세포 건조중량%인 조건 하에서, 상기 돌연변이된 균주를 배양하는 단계를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 상기 방법은 배양된 세포를 수집하는 단계 및 미세 조류 바이오매스를 드립 건조하는 단계를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 건조된 미세 조류 바이오매스는 전체 카로티노이드를 5mcg/g 미만으로 포함한다. 하나의 구체예에서, 건조된 미세 조류 바이오매스는 전체 카로티노이드를 2mcg/g 미만으로 포함한다. 하나의 구체예에서, 건조된 미세 조류 바이오매스는 전체 카로티노이드를 1.1mcg/g 미만으로 포함한다.
- [0066] 몇몇 경우에서, 본 발명의 방법은 클로렐라 속에 속하는 종인 미세 조류 균주를 사용하여 수행된다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 클로렐라 프로토테코이데스이다. 몇몇 경우에서, 돌연변이 균주는 종속 영양 조건 하에서 배양된다. 몇몇 구체예에서, 돌연변이 균주는 종속 영양 조건 하에서 생장할 수 있다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.
- [0067] 제27 측면에서, 본 발명은 미세 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 혼합하는 단계를 포함하는, 식료품을 제형화하는 방법을 제공하는데, 여기에서 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일 및/또는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하며, 상기 미세 조류 바이오매스의 착색 정도는 동일한 조건 하에서 생장한 클로렐라 프로토테코이데스의 바이오매스와 비교하였을 때 감소하였다. 몇몇 경우에서, 식료품은 샐러드 드레싱, 난제품, 베이킹된 제품, 빵, 바, 파스타, 소스, 스프 드링크, 음료, 냉동 디저트, 도우, 버터 대용 식품 또는 스프레드로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0068] 제28 측면에서, 본 발명은 적어도 10 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 분말의 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물을 포함하는 식품 성분 조성물을 제공하는데, 상기 바이오매스를 제공하는 미세 조류 균주는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 균주는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 생장 및 가공되었다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 45 건조중량% 내지 70 건조중량%의 오일을 포함한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함한다.
- [0069] 몇몇 경우에서, 식품 성분 조성물은 항산화제를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 식품 성분 조성물은 유도제를 추가로 포함한다.
- [0070] 몇몇 구체예에서, 식품 조성물은 클로렐라 속에 속하는 미세 조류 종인 미세 조류 균주로부터 유래하는 바이오매스를 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류 균주는 클로렐라 프로토테코이데스이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 균주는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.
- [0071] 본 발명은 미세 조류 함유 글루텐 감소 및 글루텐 불포함 완제 식품 조성물, 그리고 글루텐 감소 및 글루텐 불포함 식품의 대규모 제조용 미세 조류 함유 식품 성분을 추가로 포함한다. 글루텐이 감소하였거나 아예 포함하지 않는 본 발명의 식품과 성분은 또한 주로 단일불포화된 조류 오일을 대체함으로써 건강에 좋지 않은 오일 및

지방을 감소시키거나 제거하여, 건강상 이점을 증가시켰다. 신규 식품 조성물은 또한 기존의 글루텐 불포함 식품보다 더 바람직한 감각적 특성 및 유통 기한을 가진다. 본원에 개시된 글루텐 감소 또는 불포함 식품과 성분은 또한 현존하는 글루텐 불포함 식품보다 식이 섬유 수준이 높으며, 콜레스테롤을 감소시켰거나 아예 함유하지 않고, 건강에 좋은 오일 함량이 높다. 뿐만 아니라, 셀리악-스프루(Celiac-Sprue)와 같은 식품 알레르기 및 질병의 증상을 줄여서, 글루텐 함유 제품에 대한 민감성(rate of sensitivity)이 증가하는 것과 관련된 문제를 해결하는 방법에 관하여도 개시되어 있다. 뿐만 아니라, 본원에는 미세 조류 함유 글루텐 불포함 식품 및 이와 같은 식품을 제형화하기 위한 성분을 제형화 및 제조하는 방법에 관하여도 개시되어 있다.

[0072] 제29 측면에서, 본 발명은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 미세 조류 바이오매스 및 적어도 하나의 기타 글루텐 불포함 가루 또는 글루텐 불포함 곡물 제품을 혼합함으로써 형성된 식료품을 제공한다. 몇몇 경우에서, 글루텐 불포함 가루 또는 글루텐 불포함 곡물 제품은 다음과 같은 것 중 적어도 하나를 포함한다: 아마란스 가루(amaranth flour), 칩 가루, 메밀 가루, 쌀 가루, 이집트 콩 가루, 거친 옥수수 가루(cornmeal), 옥수수 가루(maize flour), 기장 가루, 감자 가루, 감자 전분 가루, 퀴노아 가루, 수수 가루, 대두 가루, 콩 가루, 헵과 가루, 타피오카(카사바) 가루, 테프 가루, 아티초크 가루, 아몬드 가루, 아콘 가루, 코코넛 가루, 밤 가루, 옥수수 가루(corn flour) 및 토란 가루.

[0073] 몇몇 경우에서, 식료품은 미세 조류 플레이크, 조류 분말 또는 미세 조류 가루의 형태인 미세 조류 바이오매스로 형성되는데, 여기에서 상기 미세 조류 가루는 분말 형태, 또는 식용 액체 중에 가루를 분산시켜 형성된 슬러리 형태로서, 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 대부분이 용해된 세포이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 가루이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 가루의 평균 입자 크기는 1 내지 100 μ m이다. 하나의 구체예에서, 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 25 건조중량% 내지 40 건조중량%가 탄수화물이다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 단당류 조성은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여, 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스의 엽록소 함량은 200ppm 미만이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리엔올을 포함하여, 전체 토코트리엔올을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 상기 트리글리세라이드 오일은 5 건조중량% 미만이 도코사헥산산(DHA)(22:6)이다.

[0074] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 가루의 형태이며, 이 가루는 비저블 오일을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 가루의 형태이며, 유도체를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 가루의 형태이며, 이 가루는 항산화제를 추가로 포함한다.

[0075] 다양한 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 오로지 미세 조류의 단일 균주로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 미세 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이데스이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 미세 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 배양 및 가공된 조류로부터 유래한다.

[0076] 몇몇 경우에서, 식료품은 베이킹된 제품, 빵, 시리얼, 크래커 또는 파스타이다. 몇몇 구체예에서, 베이킹된 제품은 브라우니, 케이크와 케이크 유사 제품, 및 쿠키로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 구체예에서, 상기 식료품은 글루텐을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 식품에 사용할 수 있는 보존제가 미세 조류 바이오매스에 첨가된다. 몇몇 경우에서, 식료품은 미세 조류 바이오매스에 의해 제공되는 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 식료품은 난황을 함유하지 않는다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 약 0.5%w/w 내지 1.2%w/w의 조류 인지질을 갖는다. 몇몇 경우에서, 상기 인지질은 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민 및 포스파티딜이노시톨의 조합을 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 식료품은 미조리 제품이다. 하나의 구체예에서, 상기 식료품은 조리된 제품이다.

- [0077] 제30 측면에서, 본 발명은 미세 조류 가루 및 이 미세 조류 가루 이외의 기타 글루텐 불포함 가루를 적어도 하나를 포함하는, 글루텐 불포함 가루 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 미세 조류 가루는 분말 형태인 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물을 포함하고, 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 함유한다. 몇몇 경우에서, 적어도 하나의 기타 글루텐 불포함 가루는 아마란스 가루, 칡 가루, 메밀 가루, 쌀 가루, 이집트 콩 가루, 거친 옥수수 가루(cornmeal), 옥수수 가루(maize flour), 기장 가루, 감자 가루, 감자 전분 가루, 퀴노아 가루, 수수 가루, 대두 가루, 콩 가루, 헵과 가루, 타피오카(카사바) 가루, 테프 가루, 아티초크 가루, 아몬드 가루, 아콘 가루, 코코넛 가루, 쌀 가루, 옥수수 가루(corn flour) 및 토란 가루로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 가루 중 바이오매스 입자의 평균 크기는 1 내지 100 μ m이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 가루의 수분 함량은 10 중량% 이하, 또는 5 중량% 이하이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 45 건조중량% 내지 70 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 함유한다. 하나의 구체예에서, 오일의 60~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 상기 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.
- [0078] 몇몇 구체예에서, 상기 글루텐 불포함 가루 조성물은 탄수화물 함량이 25 건조중량% 내지 40 건조중량%인 미세 조류 바이오매스를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스의 탄수화물 성분은 25 건조중량% 내지 35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2 건조중량% 내지 8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 단당류 조성은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 20~70 μ g/g의 루테인을 포함하여, 전체 카로티노이드를 20 내지 115 μ g/g으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스의 엽록소 함량은 200ppm 미만이다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 전체 토코페롤을 1~8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토코트리에놀을 포함하여, 전체 토코트리에놀을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.
- [0079] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 가루는 비저블 오일을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 글루텐을 함유하지 않는 가루는 유도제를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 글루텐을 함유하지 않는 가루는 항산화제를 추가로 포함한다.
- [0080] 몇몇 경우에서, 본 발명의 미세 조류 바이오매스는 오로지 하나의 미세 조류 균주로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 조류는 클로렐라 프로토테코이테스이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 배양 및 가공된 조류로부터 유래한다.
- [0081] 제31 측면에서, 본 발명은 (a) 글루텐 소화 장애(gluten intolerance)를 가지고 있는 개체의 식단 중 글루텐 함유 식료품을, 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 미세 조류 바이오매스 및 적어도 하나의 기타 글루텐 불포함 식품 성분을 혼합하여 생산된 동일한 유형의 식료품으로 대체하는 단계(여기에서, 상기 동일한 유형의 식료품은 글루텐을 함유하지 않음), 및 (b) 상기 동일한 유형의 식료품을 글루텐 소화 장애를 가지고 있는 개체에 제공하여, 상기 개체 내 글루텐 소화 장애 증상 중 적어도 하나를 감소시키는 단계를 포함하는, 글루텐 소화 장애 증상을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0082] 제32 측면에서, 본 발명은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 미세 조류 바이오매스와 적어도 하나의 기타 식용 글루텐 불포함 성분을 혼합하여 식료품을 제조하는 단계를 포함하는, 글루텐 불포함 식료품을 제조하는 방법을 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 45 건조중량% 내지 70 건조중량%의 오일을 함유한다. 몇몇 경우에서, 오일의 60~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 상기 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.
- [0083] 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 오로지 하나의 미세 조류 균주로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 조류는 클로렐라 프로토테코이테스이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 배양 및 가

공된 조류로부터 유래한다.

- [0084] 본 발명은 미세 조류를 주성분으로 하는 식품을 제공함으로써 포만감을 유도하는 방법을 추가로 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 식이 섬유 및/또는 소화성 조 단백질 및/또는 저포화 트리글리세라이드 오일(low saturation triglyceride oil)을 높은 수준으로 함유한다. 사람으로 하여금 포만감을 한층 더 많이 느끼게 하여 칼로리 섭취를 줄이기 위해서 유리 오일 및 섬유소를 방출시키기 위한 균질화 방법이 개시되어 있다. 이와 같은 물질을 사람에게 제공하는 것은 칼로리 추가 섭취를 감소시키기 충분한 수준의 포만감을 느끼게 하면서, 미세 조류를 주성분으로 하며 심장 건강에 좋은 성분을 제공함에 따른 추가의 이점을 갖는다.
- [0085] 제33 측면에서, 본 발명은 사람의 체 내에서 포만감을 유도하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 하나 이상의 부가 식용 성분과 혼합된 미세 조류 바이오매스를 포함하는 식료품을 투여하는 단계를 포함하며, 여기에서 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일과 적어도 10 건조중량%의 전체 식이 섬유를 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 45 건조중량% 내지 70 건조중량%의 오일을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 트리글리세라이드 오일의 60~75%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 하나의 구체예에서, 상기 트리글리세라이드 오일은 2% 미만인 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.
- [0086] 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 25 건조중량% 내지 45 건조중량%의 탄수화물을 함유한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스의 탄수화물 성분은 25~35 건조중량%가 식이 섬유이고, 2~8 건조중량%가 수크로스를 포함하는 유리당이다. 하나의 구체예에서, 바이오매스의 식이 섬유 성분 중 단당류 조성은 0.1~4%가 아라비노스, 5~15%가 만노스, 15~35%가 갈락토스이고 50~70%가 글루코스이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 약 20%의 가용성 섬유소와 약 10%의 불용성 섬유소를 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스 중 상기 식이 섬유 대 트리글리세라이드 오일의 비율은 약 3:5이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 20~70 $\mu\text{g/g}$ 의 루테인을 포함하여, 전체 카로티노이드를 20 내지 115 $\mu\text{g/g}$ 으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스의 엽록소 함량은 2ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 2~6mg/100g의 알파 토크페놀을 포함하여, 전체 토크페놀을 1~8mg/100g으로 함유한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 0.10~0.25mg/g의 알파 토크트리에놀을 포함하여, 전체 토크트리에놀을 0.05~0.30mg/g으로 함유한다.
- [0087] 몇몇 구체예에서, 하나 이상의 부가 식용 성분은 곡물, 과일, 채소, 단백질, 허브 및 향신료로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에서, 상기 식료품은 난제품, 바, 베이킹된 제품, 빵, 파스타, 스프, 음료 및 디저트로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 구체예에서, 식료품은 식사 내용으로 적당한 영양 음료이다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 비저בל 오일을 함유하지 않는다.
- [0088] 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 가루로 가공되는데, 여기에서 이 미세 조류 가루는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 분말 형태의 균질물이다. 하나의 구체예에서, 상기 가루는 유도체를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 가루의 수분 함량은 10 중량% 이하이다. 몇몇 경우에서, 상기 가루에 포함된 미세 조류 바이오매스의 평균 입자 크기는 1 내지 100 μm 이다. 하나의 구체예에서, 상기 가루는 항산화제를 추가로 포함한다.
- [0089] 다양한 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용된 미세 조류 바이오매스는 오로지 하나의 미세 조류 균주로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 미세 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이테스이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 배양 및 가공된 조류로부터 유래한다.
- [0090] 몇몇 경우에서, 식료품은 적어도 0.5%w/w의 미세 조류 바이오매스를 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질과 20 건조중량% 이하의 트리글리세라이드 오일을 포함한다. 하나의 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 중 식이 섬유 대 단백질의 비율은 약 3:10이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 약 10 건조중량%의 가용성 섬유소와 약 4 건조중량%의 불용성 섬유소를 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 엽록소를 200ppm 이하 함유한다. 하나의 구체예에서, 상기 단백질은 적어도 40%의 소화성 조 단백질이다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 1~3g/100 전체 스테놀을 포함한다.

- [0091] 제34 측면에서, 본 발명은 포만감을 유도하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 개체의 식단 중 종래의 식료품 1가지 이상을 동일한 유형의 미세 조류 함유 식료품 1 가지 이상으로 대체하는 단계를 포함하며, 여기에서 상기 동일한 유형의 미세 조류 함유 식료품(들)은 적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일 및 적어도 10 건조중량%의 전체 식이 섬유를 포함하는 미세 조류 바이오매스를 함유하고, 개체에 의해 섭취되는 칼로리는 대체 식단에 있어서는 동일하거나 더 낮으며, 이 개체는 포만감을 더 많이 느끼게 된다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 45~70%의 트리글리세라이드 오일을 함유한다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스 중 식이 섬유 대 트리글리세라이드 오일의 비율은 약 3:5이다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 추가로 포함한다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스 중 식이 섬유 대 단백질의 비율은 약 3:10이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 함유 식료품은 적어도 0.5%w/w의 미세 조류 바이오매스를 포함한다.
- [0092] 몇몇 구체예에서, 종래의 식료품은 난제품, 바, 베이킹된 제품, 빵, 파스타, 스프, 음료 및 디저트로 이루어진 군으로부터 선택된다. 하나의 구체예에서, 상기 음료는 식사 대용으로 적당한 영양 음료이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 함유 식료품은 종래의 식료품과 비교하였을 때 오일, 지방 또는 계란을 동일한 수준으로 함유하거나 적게 함유한다.
- [0093] 제35 측면에서, 본 발명은 미세 조류 식료품을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 개체가 포만감을 느끼게끔 유도하는 방법을 제공하는데, 여기에서 상기 미세 조류 식료품은 종래의 식료품에 함유된 오일, 지방 또는 계란 중 일부 또는 이들 전부가 미세 조류 바이오매스(적어도 16 건조중량%의 트리글리세라이드 오일과 적어도 10 건조중량%의 전체 식이 섬유를 포함함)로 대체되었다는 점을 제외하고는 종래의 식료품과 동일하다.
- [0094] 본 발명은 단백질 및 섬유소 함량이 높은 미세 조류 바이오매스를 추가로 포함하는데, 여기에서 상기 바이오매스는 종속 영양 발효를 통하여 제조된다. 본원에 제공된 물질은 인조육과 육류 인헨서(meat enhancer), 그리고 소화성 단백질 및 식이 섬유를 첨가함으로써 이익을 얻게 되는 기타 식료품의 제조에 유용하다. 질감 및 수분 보유 특성을 포함하는 식품의 구조적 특성은 이와 같은 물질을 사용함으로써 증강된다. 본 발명의 고 단백질 및 고 섬유소 식품 재료는 옥수수 전분, 사탕 수수, 글리세롤 및 해중합 셀룰로스를 포함하는 식용 및 비식용 종속 영양 발효 공급 원료로부터 제조될 수 있다.
- [0095] 제36 측면에서, 본 발명은 미세 조류 가루를 제공하는데, 이 미세 조류 가루는 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하고, 분말의 형태인 미세 조류 바이오매스의 균질물로서, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질과 20 건조중량% 미만의 트리글리세라이드 오일을 포함하며, 상기 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 종속 영양 배양 및 가공된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 입자의 평균 크기는 100 μ m 미만이다. 몇몇 경우에서, 분말 입자의 평균 크기는 1~15 μ m이다. 몇몇 구체예에서, 분말은 미세 조류 바이오매스를 미분하여 에멀전을 형성하고, 이 에멀전을 건조함으로써 형성된다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류 가루의 수분 함량은 10 중량% 이하이다. 몇몇 경우에서, 상기 조류 바이오매스는 적어도 20 건조중량%의 탄수화물을 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 조류 바이오매스는 적어도 10 중량%의 식이 섬유를 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 단백질은 적어도 40%의 소화성 조 단백질이다.
- [0096] 몇몇 구체예에서, 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 상기 조류는 클로렐라 프로토타코이데스이다. 몇몇 경우에서, 상기 조류 바이오매스는 오로지 하나의 미세 조류 균주로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 상기 조류 바이오매스는 검출가능한 양만큼의 조류 독소를 함유하지 않는다. 하나의 구체예에서, 상기 바이오매스의 엽록소 함량은 200ppm 미만이다. 몇몇 경우에서, 상기 바이오매스는 전체 스테롤을 1~3g/100g으로 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 바이오매스는 0.18~0.35mg/100g의 알파 토크페놀을 포함하여, 토코페놀을 0.15~0.8mg/100g으로 함유한다. 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때, 색소 침착 정도가 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다.
- [0097] 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 가루는 식품에 사용할 수 있는 보존제를 추가로 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 식품에 사용할 수 있는 보존제는 항산화제이다.
- [0098] 제37 측면에서, 본 발명은 전술한 미세 조류 가루와 사람이 섭취하는데 적당한 적어도 하나의 기타 단백질 제품이 혼합되어 포함된 식품 성분을 제공하는데, 여기에서 상기 식품 성분은 적어도 50 건조중량%의 단백질을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 상기 적어도 하나의 기타 단백질 제품은 식물성 공급원으로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 식물성 공급원은 대두, 완두콩, 콩, 우유, 유청, 쌀 및 밀로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0099] 몇몇 경우에서, 상기 식품 성분의 미세 조류 바이오매스는 클로렐라 속에 속하는 종인 조류로부터 유래한다. 하나의 구체예에서, 상기 조류는 클로렐라 프로토태코이데스이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 색소 침착 현상이 발생한 원래 균주와 비교하였을 때 색소 침착이 감소한 색 돌연변이체인 조류로부터 유래한다.
- [0100] 제38 측면에서, 본 발명은 전술한 미세 조류 가루와 적어도 하나의 기타 식용 성분을 혼합하여 형성된 식품 조성물을 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 식품 조성물은 채식주의자를 위한 인조육, 단백질 바 또는 영양 음료이다.
- [0101] 제39 측면에서, 본 발명은 적어도 40 건조중량%의 단백질과 20 건조중량% 미만의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 미세 조류 바이오매스를 적어도 하나의 기타 식용 성분과 혼합함으로써 형성된 식품 조성물을 제공하는데, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 종속 영양 배양 및 가공된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 플레이크, 조류 분말, 조류 가루 (이는 분말 형태인 대부분 또는 전부가 용해된 세포를 함유하는 미세 조류 바이오매스의 균질물임) 또는 슬러리 (이는 식용 액체 중 조류 가루의 분산액임)의 형태이다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 조류 가루 또는 슬러리이다. 몇몇 구체예에서, 상기 적어도 하나의 기타 식용 성분은 육제품이다. 몇몇 경우에서, 상기 식품 조성물은 미조리 제품이다. 몇몇 경우에서, 상기 식품 조성물은 조리된 제품이다.
- [0102] 제40 측면에서, 본 발명은 적어도 40 건조중량%의 단백질과 트리글리세라이드 오일 20 건조중량% 미만을 포함하는 미세 조류 바이오매스를 적어도 하나의 기타 식물성 단백질 공급원과 혼합하는 단계를 포함하는 채식주의자를 위한 인조육을 제조하는 방법을 제공하며, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 종속 영양 배양 및 가공된 미세 조류로부터 유래한다.
- [0103] 제41 측면에서, 본 발명은 적어도 40 건조중량%의 단백질 및 20 건조중량% 미만의 트리글리세라이드 오일을 포함하는 미세 조류 바이오매스와 육제품을 혼합하는 단계를 포함하는 세분 육제품을 제조하는 방법을 제공하는데, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 종속 영양 배양 및 가공된 미세 조류로부터 유래한다.
- [0104] 제42 측면에서, 본 발명은 적어도 13 중량%의 전체 식이 섬유를 포함하는 미세 조류 바이오매스 및 적어도 하나의 식용 성분을 혼합함으로써 형성된 식품 조성물을 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 13 내지 35 중량%의 전체 식이 섬유를 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 10 내지 25%의 가용성 섬유소를 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 4 내지 10%의 불용성 섬유소를 포함한다.
- [0105] 제43 측면에서, 본 발명은 (a) 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하는 미세 조류 바이오매스를 탈지하는 단계, 및 (b) 이 탈지된 미세 조류 바이오매스로부터 가용성 당을 제거하여, 조류 단백질 농축물을 제조하는 단계를 포함하는, 조류 단백질 농축물을 제조하는 방법을 제공한다.
- [0106] 제44 측면에서, 본 발명은 (a) 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하는 미세 조류 바이오매스를 탈지하는 단계, 및 (b) 이 탈지된 미세 조류 바이오매스로부터 가용성 당을 제거하여, 조류 단백질 농축물을 제조하는 단계를 포함하는 방법에 의해 생산된 조류 단백질 농축물을 제공한다.
- [0107] 제45 측면에서, 본 발명은 조류 단백질 분리물을 제공하는데, 여기에서 최소 단백질 함량은 90 건조중량%이고, 이 조류 단백질 분리물은 적어도 40 건조중량%의 단백질을 포함하는 미세 조류 바이오매스로 제조된다.
- [0108] 본 발명은 사람이 섭취하는 신유의 트리글리세라이드 오일을 추가로 포함한다. 통상적으로, 카놀라, 대두 및 올리브와 같은 농업용 물질은 식용 오일의 공급원이 되어 왔으며, 이러한 물질은 상기 작물이 경작될 수 있는 지형에 따라서 제한된다. 본 발명의 오일은 현존하는 농업상 방법의 부산물 또는 목적을 가지고 생산한 것으로서, 최대한으로 다양한 지리학적 지역으로부터 생산되는, 옥수수 전분, 사탕 수수, 글리세롤 및 해중합 셀룰로스를 포함하는 식용 및 비식용 종속 영양 발효 공급원 으로 제조될 수 있다. 본원에 개시된 식용 오일은 포화도가 낮은 것과 단일불포화도가 높은 것이 있으며, 또한 색소 침착이 감소한 미세 조류 균주를 사용하여 색소 침착이 감소된 형태로서 제조될 수 있다. 본원에 개시된 식용 오일은 다양한 유형의 오일 생산 미세 조류를 사용하여 제조될 수 있다.
- [0109] 제46 측면에서, 본 발명은 사람이 섭취하기 적당한 정제 미세 조류 트리글리세라이드 오일을 제공하는데, 이 오일은 적어도 50%의 올레산과 5% 미만의 DHA를 포함하고, 상기 미세 조류 오일은 검출가능한 미세 조류 독소를 함유하지 않으며 우수 의약품 제조 관리 기준 조건에 따라서 제조된다. 몇몇 경우에서, 상기 트리글리세라이드

오일은 조리 응용에 사용하기 적당한 병이나 에어로졸 분사 캔에 포장된다. 몇몇 경우에서, 상기 오일은 부피가 50ml 초과인 오일 제품의 형태로 포장된다. 하나의 구체예에서, 상기 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.

[0110] 몇몇 경우에서, 미세 조류 오일은 오로지 단일의 미세 조류 균주로부터 정제되었다. 몇몇 경우에서, 상기 미세 조류는 클로렐라 속으로부터 유래하는 종이다. 하나의 구체예에서, 상기 미세 조류는 클로렐라 프로토테코이데스이다.

[0111] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 트리글리세라이드 오일은 항산화제를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 오일은 40~70 μ g/g의 루테인을 포함하여, 40 내지 230 μ g/g의 전체 카로티노이드를 함유한다. 하나의 구체예에서, 상기 오일은 2ppm 미만의 엽록소를 함유한다. 몇몇 경우에서, 상기 오일은 4~12mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 2~16mg/100g의 전체 토코페롤을 함유한다. 몇몇 경우에서, 상기 오일은 0.2~0.5mg/g의 알파 토코트리엔올을 포함하여, 0.10~0.6mg/g의 전체 토코트리엔올을 함유한다.

[0112] 제47 측면에서, 본 발명은 청구항 제1항의 미세 조류 트리글리세라이드 오일과 액체를 포함하는 식품 스프레드를 제공하는데, 여기에서, 상기 오일 및 액체는 안정적인 에멀전으로 형성된다. 하나의 구체예에서, 상기 식품 스프레드는 유화제를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 식품 스프레드는 주위 온도에서 도포 가능하다. 몇몇 경우에서, 상기 식품 스프레드는 5~10°C에서 도포 가능하다.

[0113] 제48 측면에서, 본 발명은 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 생산된 정제 미세 조류 트리글리세라이드 오일을 대상으로 화학 반응 또는 효소 반응을 진행시켜, 마가린을 생산함으로써 형성된 마가린을 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 화학 반응은 수소화이다. 몇몇 경우에서, 상기 화학 반응 또는 효소 반응은 미세 조류 트리글리세라이드 오일과 상이한 지질 프로필을 가지는 글리세로지질과의 에스테르 교환 반응이다. 몇몇 경우에서, 미세 조류 트리글리세라이드 오일로부터 유래하며, 상이한 지질 프로필을 가지는 글리세로지질은 대두, 평지씨, 카놀라, 야자, 야자 핵, 코코넛, 옥수수, 올리브, 해바라기, 목화씨, 쿠파아, 땅콩, 양 구슬 냉이, 겨자 씨, 캐슈넛, 귀리, 루핀, 양마, 금잔화, 삼, 커피, 아마씨, 헤이즐넛, 등대풀, 호박씨, 고수, 동백, 참깨, 잇꽃, 쌀, 유동, 코코아, 코프라, 양귀비, 아주까리, 피칸, 호호바, 자트로파, 마카다미아, 브라질 너트 및 아보카도로 이루어진 군으로부터 선택되는 오일 중 하나 이상으로부터 유래한다.

[0114] 제49 측면에서, 본 발명은 사람이 섭취하는데 적당한 정제 트리글리세라이드 오일을 제공하는데, 여기에서 상기 오일은 미세 조류로부터 정제되고, 4°C에서는 주로 액체이며, 상기 오일은 검출가능한 미세 조류 독소를 함유하지 않고 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 제조된다.

[0115] 제50 측면에서, 본 발명은 검출가능한 수준의 인지질을 함유하지 않고, 2ppm 미만의 엽록소를 함유하는 정제 미세 조류 트리글리세라이드 오일을 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 오일은 다음과 같은 성분 중 적어도 하나를 추가로 포함한다: (a) 약 12~13ppm의 천연 tert-부틸하이드로퀴논(TBHQ); (b) 1.34%의 유리 지방산; (c) 0.1% 미만의 칼 피셔 모이스처(Karl Fischer Moisture); (d) 0.1% 미만의 모노글리세라이드; (e) 3% 미만의 디글리세라이드; (f) 약 5.58mg/100g의 알파 토코페롤을 포함하여, 약 6mg/100g의 전체 토코페롤; 및 (g) 약 0.24mg/g의 전체 토코트리엔올.

[0116] 제51 측면에서, 본 발명은 사람이 섭취하기에 적당한 미세 조류 트리글리세라이드 오일을 제조하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 (a) 적어도 25 건조중량%의 트리글리세라이드 오일을 함유하는 미세 조류 바이오매스로부터 오일을 추출하는 단계, 및 (b) 이 추출된 오일을 대상으로 하여 다음과 같은 단계 중 하나 이상의 단계를 수행하는 단계를 포함한다: 유리 지방산을 제거하는 단계; 표백 단계; 및 탈취 단계(여기에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 생장 및 가공되며, 상기 트리글리세라이드 오일은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일임). 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스로부터 오일을 추출하는 단계는 180°F를 넘지 않는 온도에서 수행된다. 몇몇 구체예에서, 상기 방법은 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 수행된다.

[0117] 제52 측면에서, 본 발명은 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 제조되었으며 검출가능한 미세 조류 독소를 함유하지 않는 탈지 미세 조류 바이오매스를 포함하는, 사람이 섭취하기 적당한 증량제를 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 증량제는 베이킹된 제품에 포함된다. 하나의 구체예에서, 상기 증량제는 음료에 포함된다.

[0118] 제53 측면에서, 본 발명은 전술한 증량제와 적어도 하나의 기타 식용 성분을 혼합함으로써 형성된 식료품을 제

공한다.

[0119] 제54 측면에서, 본 발명은 검출가능한 미세 조류 독소를 함유하지 않는 탈지 미세 조류 바이오매스를 제공하는 데, 여기에서 상기 미세 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준 조건 하에서 배양 및 가공된 것이다.

[0120] 제55 측면에서, 본 발명은 탈지 미세 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 혼합함으로써 형성된 동물 식료품을 제공하는데, 여기에서 상기 탈지 미세 조류 바이오매스는 동물 식료품의 전체 성분의 적어도 0.1 건조중량%를 차지한다. 몇몇 경우에서, 상기 하나 이상의 기타 식용 성분은 곡물을 포함한다. 하나의 구체예에서, 상기 동물 식품은 가축용으로 제형화된다.

[0121] 본 발명의 상기 및 기타 측면과 구체예는 첨부 도면, 바로 다음에 기술되는 도면의 간단한 설명, 및 이하에 기술된 본 발명의 상세한 설명에 기술되어 있으며, 또한 이하 실시예에 예시되어 있기도 하다. 전술한 특징들 및 본 출원 전반에 걸친 특징 중 임의의 것 또는 전부는 본 발명의 다양한 구체예로 결합될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0122] 도 1은 선택된 미세 조류 균주의 지질 프로필을 총 지질 함량의 백분율로 나타내는 것이다. 각각의 균주 번호와 상응하는 종/균주는 실시예 1의 표 1에 나타내었다.

도 2는 전란 단백질의 아미노산 프로필과 비교한, 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스의 아미노산 프로필을 나타내는 것이다.

도 3은 60분 동안 증기 테이블 상에 놓아둔 조류 가루를 함유하는 액체 전란과 이를 함유하지 않는 액체 전란의 감각 스코어를 나타내는 것이다. 계란의 외관, 질감 및 구강 촉감을 10분 마다 평가하였다.

도 4는 수 분산액 중 조류 가루(약 50 건조중량%의 지질 함유)를 광학 현미경으로 관찰한 결과를 나타내는 것이다. 화살표는 평균 크기의 조류 가루 입자 각각을 나타내는 것이고, 보다 큰 화살표 머릿 부분은 분산액을 형성한 후에 응집되었거나 또는 덩어리를 형성한 조류 가루 입자를 나타내는 것이다.

도 5의 A-C는 약하게 혼합한 직후(A); 300bar의 압력 하에서 균질화한 직후(B); 및 1000bar의 압력 하에서 균질화한 직후(C)에 재현탁한 수성 조류 가루 입자의 크기 분포를 나타내는 것이다.

도 6은 조류 가루, 전지 대조군, 저 지방 대조군 및 무지방 대조군을 함유하는 식료품의 감각 패널 평가 결과를 나타내는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0123] 본 발명의 상세한 설명은 독자의 편의를 위해서 섹션 및 부분 섹션으로 나누어 기술하였다. 섹션 I은 본원에 사용된 다양한 용어에 대한 정의를 제공한다. 섹션 II의 A-E 파트는 미세 조류 바이오매스를 제조하는 방법에 관하여 기술하고 있는데, 예를 들어 적당한 유기체(A), 색소 침착이 일어나지 않거나 또는 상당 수준 감소한 미세 조류 균주를 생산하는 방법(B), 배양 조건(C), 농도 조건(D) 및 본 발명에 따라서 생산된 바이오매스의 화학 조성(E)에 관하여 기술하고 있다. 섹션 III의 A-D 파트는 본 발명의 미세 조류 바이오매스를 조류 플레이크(A), 조류 분말(B), 조류 가루(C), 및 조류 오일(D)로 가공하는 방법에 관하여 기술하고 있다. 섹션 IV는 본 발명의 다양한 식품과, 기타 식품 성분과 미세 조류 바이오매스를 혼합하는 방법에 관하여 기술하고 있다.

[0124] 본원에 기술된 방법은 모두 GMP 또는 이와 균등한 규정에 따라서 수행될 수 있다. 미국에서, 사람이 먹을 식품을 제조, 포장 또는 보관하는 것에 관한 GMP 규정은 21 C.F.R.110에 성문화되어 있다. 이와 같은 조항 및 여기에 따르는 부속 조항은 모든 목적을 위해서 전체적으로 본원에 참조로 포함된다. 미국 내 GMP 조건, 및 다른 사법권에 속하는 이와 균등한 조건은 식품이 오염되었거나(즉, 식품이 식품 제조에 부적합한 조건 하에서 제조되었거나), 아니면 비위생적인 조건 하에서 제조, 포장 또는 보관되어, 식품이 오염될 가능성이 있는지 또는 건강에 유해하게 될 수 있는지 여부를 확인하는데 적용할 수 있다. GMP 조건은 질병 통제; 인력 훈련 및 청결; 건물 및 설비의 유지 및 위생적인 작동; 적당한 위생 설비 및 편의 시설의 제공; 장비 및 도구의 디자인, 구성, 유지 및 청결 상태; 적절한 위생 원칙에 따라, 식료품을 수용, 조사, 운반, 분배, 제조, 생산, 포장 및 저장함에 있어서 모든 합리적인 예방책을 확보하기 위해 적당한 수준의 통제 방법을 제공하여, 임의의 오염원으로 오염되는 것을 예방하는 것; 및 물리적, 화학적 오염 또는 원치 않는 미생물 오염, 그리고 식품 및 용기의 훼손에 대해 식품을 보호할 조건 하에 완제된 식품의 보관 및 운반을 통제하는 규정을 충실히 지키는 것을 포함할 수 있다.

[0125] I. 정의

- [0126] 이하 달리 언급이 없는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속한 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되고 있는 의미를 갖는다. 본원에 사용된 용어들 중 다수의 것의 일반적인 정의는 문헌 [Singleton *et al.*, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology* (2nd ed., 1994); *The Cambridge Dictionary of Science and Technology* (Walker ed., 1988); *The Glossary of Genetics*, 5th Ed., R. Rieger *et al.* (eds.), Springer Verlag (1991); 및 Hale & Marham, *The Harper Collins Dictionary of Biology* (1991)]에서 살펴볼 수 있다.
- [0127] “면적 %(area percent)”은 샘플 중 모든 지방산이 지방산 메틸 에스테르(FAME)로 전환된 후 검출을 수행하는 FAME GC/FID 검출 방법을 이용하여 관찰된 피크의 면적을 의미한다. 예를 들어, 개별 피크는 14개의 탄소 원자를 가지며 불포화 결합이 없는 지방산(C14:0)과 임의의 기타 지방산, 예를 들어 C14:1을 비교하여 관찰한다. FAME의 각 군에 대한 피크 면적은 혼합물 중 조성%에 정비례하며, 샘플 중에 존재하는 모든 피크의 합을 바탕으로 계산된다(즉, [특정 피크 아래의 면적 / 측정된 피크 전부의 총 면적] × 100). 본 발명의 오일 및 세포의 지질 프로필을 언급하였을 때, “적어도 4%의 C8-C14”란, 세포 또는 추출된 글리세로지질 조성물 중 총 지방산의 적어도 4%가 8, 10, 12 또는 14개 탄소 원자를 포함하는 사슬 길이를 가지는 것을 의미한다.
- [0128] “무균성(axenic)”은 살아있는 기타 유기체에 의해 유기체의 배양물이 오염되지 않은 상태를 의미한다.
- [0129] “베이킹된 제품(baked goods)”은 통상적으로 베이커리에서 찾아볼 수 있는 식품으로서, 오븐을 사용하여 제조되며 일반적으로 팽창제를 함유하는 것을 의미한다. 베이킹된 제품으로서는 브라우니, 쿠키, 파이, 케이크 및 패스트리를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0130] “생물 반응기” 및 “발효조”는 세포가 통상적으로 현탁액 중에서 배양되는 발효 탱크 또는 용기와 같은 밀폐 장치 또는 부분 밀폐 장치를 의미한다.
- [0131] “빵”은 밀가루, 액체, 그리고 일반적으로 팽창제를 함유하는 식품을 의미한다. 빵은 다른 조리 방법으로도 제조할 수 있지만, 일반적으로는 오븐 내에서 베이킹되어 제조된다. 팽창제는 본질적으로 화학 물질 또는 유기 물질/생물학적 물질일 수 있다. 전형적으로, 유기 팽창제는 효모이다. 상기 팽창제가 본질적으로 화학 물질인 경우(예를 들어, 베이킹 파우더 및/또는 베이킹 소다), 이로써 제조된 식품을 “퀵 브레드(quick bread)”라고 칭한다. 크래커 및 기타 크래커 유사 제품은 팽창제를 함유하지 않는 빵의 일례이다.
- [0132] “셀룰로스 물질”은 셀룰로스가 소화된 결과 생성되는 물질, 특히 글루코스 및 자일로스를 의미한다. 셀룰로스 소화는 전형적으로 이당류, 올리고당, 리그닌, 푸르푸랄 및 기타 화합물과 같은 부가적인 화합물을 생성한다. 셀룰로스 물질의 공급원으로서, 예를 들어 사탕 수수 바가스, 사탕 무 필프, 옥수수 대, 우드 칩, 톱밥 및 스위치 그래스(switchgrass)를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0133] “공동 배양(co-culture)” 및 이의 변형어, 예를 들어 “공동 배양하다” 및 “공동 발효하다”는 2 종류 이상의 세포가 배양 조건 하에 동일한 생물 반응기 내에 존재하는 것을 의미한다. 본 발명의 목적을 위하여 사용되는 2 종류 이상의 세포는 전형적으로 둘 다 미생물인 경우, 전형적으로 둘 다 미세 조류인 경우를 말하는 것이지만, 어떤 경우에는 하나의 비-미세 조류 세포를 포함한다. 몇몇 경우에서, 공동 배양에 적당한 배양 조건으로서 2 종류 이상의 세포 성장을 조장하고/조장하거나 이 세포를 번식시키는 것을 포함하며, 다른 경우에는 2 종류 이상의 세포 중 하나만의, 또는 일부만의 성장 및/또는 증식을 촉진함과 동시에, 나머지 세포의 성장은 유지시키는 것을 포함한다.
- [0134] “보조 인자”는 효소가 자체의 효소 활성을 나타내는데 필요한 분자로서 기질 이외의 분자를 의미한다.
- [0135] “종래의 식료품”은 예를 들어, 사람이 섭취할 수 있도록 만들어진 조성물로서, 조류 바이오매스 또는 기타 조류 성분을 함유하지 않고, 보통은 기타 식용 성분을 비롯하여, 식료품과 연관된 성분, 특히 식물성 오일, 동물성 지방 및/또는 계란(들)을 포함하는 조성물을 의미한다. 종래 식료품으로서는 가게 및 레스토랑에서 시판되고 있는 식료품과 가정에서 만든 식료품을 포함한다. 종래 식료품은 종종 기타 식용 성분(들)과 함께, 비-조류 공급원 및/또는 계란(들)으로부터 유래하는 오일 또는 지방을 넣을 것을 특징하는 종래 레시피에 따라서 제조된다.
- [0136] “조리된 식품”은 일정한 기간 동안, 예를 들어 오븐 내에서 가열된 식품을 의미한다.
- [0137] “크림 상태의 샐러드 드레싱”은 점도가 크고 떨어지는 속도(pour-rate)가 느린, 안정된 분산액인 샐러드 드레싱을 의미한다. 일반적으로, 크림 상태의 샐러드 드레싱은 불투명하다.
- [0138] “배양하다”, “배양물”, 및 “발효하다” 및 이와 관련된 변형어들은 배양 조건을 적용시켜 하나 이상의 세

포, 전형적으로는 미세 조류의 생장 및/또는 번식을 고의로 조장하는 것을 의미한다. 의도된 조건으로서는 (사람의 직접적인 개입 없이) 자연적으로 미생물이 생장 및/또는 번식하는 것은 제외한다.

- [0139] “세포 용해(cytolysis)”는 저장성 환경에서 세포가 용해되는 것을 의미한다. 세포 용해는 삼투압 또는 물의 이동을 통해 발생하는 현상으로서, 세포 내부가 수분 저류 상태가 되도록 만들어, 이 세포가 내부에 있는 물의 삼투압을 견디지 못하고 파열되는 경우이다.
- [0140] “식이 섬유”는 미세 조류를 포함하는 식물 및 기타 세포벽을 포함하는 유기체에서 발견되는 비전분 탄수화물을 의미한다. 식이 섬유는 가용성(물에 용해 가능) 또는 불용성(물에 용해 불가)일 수 있다. 가용성 및 불용성 섬유소는 전체 식이 섬유를 구성한다.
- [0141] “탈지 밀(delipidated meal)”은 오일 추출 과정을 수행하여, 오일 추출 이전의 바이오매스에 비해서 적은 양의 오일을 함유하는 조류 바이오매스를 의미한다. 탈지 밀 중 세포는 대부분이 용해된다. 탈지 밀은 용매(헥산) 추출된 조류 바이오매스를 포함한다.
- [0142] “소화성 조 단백질”은 소화 효소에 의해 소화된 이후에 유리 질소(아미노산)로 될 수 있거나, 체 내 활용 가능한 단백질의 일부이다. 펩신과 같은 소화 효소들을 사용하여 샘플을 분해하고, 분해 후 유리 아미노산을 측정함으로써, 소화성 조 단백질을 시험관 내에서 측정할 수 있다. 사료/식품 샘플 중 단백질 수준을 측정하고, 이 샘플을 동물에게 먹인 다음, 동물 대변 중 수집된 질소의 양을 측정함으로써, 소화성 조 단백질을 생체 내에서 측정할 수 있다.
- [0143] “건조 중량” 및 “건조 세포 중량”은 물이 비교적 존재하지 않는 조건 하에서 측정한 중량을 의미한다. 예를 들어, 특정 성분을 특정 건조중량%만큼 포함하는 미세 조류 바이오매스에 대한 언급은 실질적으로 물을 전부 제거한 후 바이오매스의 중량을 기준으로 계산된 %를 의미한다.
- [0144] “식용 성분”은 먹기에 알맞은 임의의 물질 또는 조성물을 의미한다. “식용 성분”으로서는 곡물, 과일, 채소, 단백질, 허브, 향신료, 탄수화물 및 지방을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0145] “외부에서 제공된”은 분자가 세포에 제공되는 경우(배양물 중 세포 배지에 제공된 경우 포함)를 의미한다.
- [0146] “지방”은 보통의 실온 및 대기압 하에서 일반적으로 고체 상태인 지질 또는 지질의 혼합물을 의미한다. “지방”으로서는 라드 및 버터를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0147] “섬유소”는 다당류의 형태인 비전분 탄수화물을 의미한다. 섬유소는 물에 가용성이거나 물에 불용성일 수 있다. 다수의 미세 조류는 전형적으로 세포벽에 존재하는 가용성 및 불용성 섬유소를 둘 다 생산한다.
- [0148] “완제된 식료품” 및 “완제된 식품 성분”은 포장, 사용 또는 소비할 준비가 된 식품 조성물을 의미한다. 예를 들어, “완제된 식료품”은 조리되었을 수 있거나, 또는 이 “완제된 식료품”을 포함하는 성분은 상호간 혼합 또는 혼화되었을 수 있다. “완제된 식품 성분”은 전형적으로 기타 성분과 함께 사용되어 하나의 식료품을 이룬다.
- [0149] “고정 탄소 공급원”은 주위 온도 및 대기압에서 고체 또는 액체 형태로 존재하는 탄소 함유 분자(들), 전형적으로 유기 분자를 의미한다.
- [0150] “식품”, “식품 조성물”, “식료품(food product)” 및 “식량(foodstuff)”은 영양 및/또는 칼로리 공급원으로서 사람에게 의해 섭취될 것으로 예상되거나 사람이 섭취하도록 만든 임의의 조성물을 의미한다. 식품 조성물은 주로 탄수화물, 지방, 물 및/또는 단백질로 이루어져 있으며, 1인당 매일 섭취 열량의 거의 전부를 구성한다. “식품 조성물”의 최소 중량은 전형적인 정제 또는 캡슐 중량의 적어도 10배일 수 있다(전형적인 정제/캡슐 중량 범위는 100mg 이하 내지 1500mg임). “식품 조성물”은 캡슐화되지 않거나 정제 형태를 갖지 않는다.
- [0151] “글리세로지질 프로파일”은 바이오매스 또는 오일의 특정 샘플 중 상이한 탄소 사슬 길이의 분포 및 글리세로지질의 포화 수준을 의미한다. 예를 들어, 샘플의 글리세로지질 프로파일은 글리세로지질 중 대략 60%가 C18:1, 20%가 C18:0, 15%가 C16:0이고, 5%가 C14:0일 수 있다. 일반적으로 탄소 길이를 말할 때, 예를 들어 “C:18”은 포화 결합을 임의의 양만큼 포함할 수 있다는 의미인데; 예를 들어, C:18로서 지질을 20%(중량/질량부) 함유하는 미세 조류 바이오매스는 C18:0, C18:1, C18:2 등을 동일한 양 또는 다양한 양으로 포함할 수 있으며, 이 경우 상기 지질의 총량은 바이오매스의 20%를 차지하는 것이다. 임의의 포화 결합 유형의 %를 말할 때, 예를 들어 “18:1 글리세로지질 형태 중 적어도 50%가 단일불포화되었다”라는 말은 글리세로지질의 지방족 측쇄의 적어도

50%가 18:1이되, 반드시 트리글리세라이드의 적어도 50%가 트리올레인(하나의 글리세롤 주쇄에 3개의 18:1 사슬이 부착되어 있는 것)이라는 의미는 아니며; 이와 같은 프로필은 18:1과 기타 측쇄의 혼합을 함께 가지되, 다만 전체 측쇄 중 적어도 50%는 18:1인 글리세로지질을 포함할 수 있다.

- [0152] “우수 의약품 제조 관리 기준” 및 “GMP”는 21 C.F.R.110(사람의 식품에 관한 기준) 및 111(식이 보충제에 관한 기준)에 제시된 규정에 의해 확립된 조건, 또는 미합중국을 제외한 국가에서 확립된, 상기 규정에 필적하는 규정에 제시된 규제 조건을 의미한다. U.S. 규정은 사람이 섭취하는 식료품 및 식이 보충제의 제조자, 가공자 및 포장자를 규제하기 위하여, 연방 식품, 의약품 및 화장품 조례의 관리 하에 미국 식품 의약국에 의해서 반포된 것이다.
- [0153] “생장”은 고정 탄소 공급원이 세포 내 오일로 전환됨으로 인하여 세포 중량이 증가하는 것을 포함하여, 세포 크기, 총 세포 함량 및/또는 세포 질량 또는 개별 세포의 중량이 증가하는 것을 의미한다.
- [0154] “균질물”은 물리적으로 분쇄된 바이오매스를 의미한다. 균질화는 입자를 더욱 작고 더욱 균일한 크기를 갖도록 세분하는 단계, 추가로 가공할 수 있는 분산액을 형성하는 단계를 포함하는 유체 역학적 과정이다. 균질화는 안정성, 유통 기한, 소화율 및 풍미를 개선하기 위하여 몇 가지 식품과 유제품을 처리하는데 사용된다.
- [0155] “증가된 지질 수율”은 예를 들어, 배양물 1ℓ 당 세포의 건조 중량을 증가시키고, 지질을 함유하는 세포의 %를 증가시키며/증가시키거나, 단위 시간 당 배양물 부피 1ℓ 당 지질의 총량을 늘림으로써, 증가된 미세 조류 배양물의 지질/오일 생산성을 의미한다.
- [0156] “현장에서(in situ)”는 “제자리에서” 또는 “원 위치에서”를 의미하는 것이다. 예를 들어, 배양물은 촉매를 분비하는 제1 유형의 미세 조류 세포 및 기질을 분비하는 제2 유형의 미생물 세포를 함유할 수 있는데, 여기에서 상기 제1 유형 및 제2 유형의 세포는, 물질을 분리 또는 가공하기 위한 추가의 단계를 필요로 하지 않고 현장에서 진행되는 공동 배양물 중 특정 화학 반응에 필요한 성분을 생산한다.
- [0157] “지질”은 무극성 용매(예를 들어, 에테르 및 헥산) 중에서 가용성이고, 물에서는 비교적 또는 완전히 불용성인 분자 군 중 임의의 것을 의미한다. 지질 분자는 대부분 본질적으로 소수성인 탄화수소의 긴 꼬리로 이루어져 있으므로, 상기와 같은 특성들을 갖는다. 지질의 예로서는 (포화 및 불포화) 지방산; 글리세라이드 또는 글리세로지질(예를 들어, 모노글리세라이드, 디글리세라이드, 트리글리세라이드 또는 중성 지방, 및 포스포글리세라이드 또는 글리세로인지질); 및 비글리세라이드(스핑고지질, 토크페롤, 토크트리에놀, 콜레스테롤 및 스테로이드 호르몬을 포함하는 스테롤 지질, 테르페노이드를 포함하는 프레놀 지질, 지방 알코올, 왁스 및 폴리케티드)를 포함한다.
- [0158] “용해물”은 용해된 세포의 함유물을 함유하는 용액을 의미한다.
- [0159] “용해”는 세포 내부 함유물 중 최소한 일부를 방출하기에 충분한만큼 미생물의 세포막 및 선택적으로는 세포벽을 파괴하는 것을 의미하는데, 이 용해는 종종 미생물의 일체성을 손상시키는 물리적 기작 또는 삼투압에 의한 기작에 의해 이루어진다.
- [0160] “용해하는 것”은 세포 내부 함유물 중 최소한 일부를 방출하기에 충분한만큼 생물 유기체 또는 세포의 세포막 및 선택적으로는 세포벽을 파괴하는 것을 의미한다.
- [0161] “미세 조류”는 염록체를 함유하며, 광합성을 수행할 수 있거나 수행할 수 없는 진핵 미생물 유기체를 의미한다. 미세 조류로서는 고정 탄소 공급원을 에너지로서 대사하지 못하는 절대 광 독립 영양 생물, 그리고 고정 탄소 공급원이 있을 경우에만 살 수 있는 종속 영양 생물, 예를 들어 광합성을 수행할 수 없는 절대 종속 영양 생물을 포함한다. 미세 조류는 클라미도모나스(*Chlamydomonas*)와 같은 세포 분열 직후에 자매 세포로부터 분리된 단일 세포 유기체, 그리고 예를 들어 2개의 개별 세포 유형에 속하는 단순 다세포 광합성 미생물인 볼복스(*Volvox*)와 같은 미생물을 포함한다. “미세 조류”는 또한 클로렐라(*Chlorella*), 파라클로렐라(*Parachlorella*) 및 두날리엘라(*Dunaliella*)와 같은 세포를 포함한다.
- [0162] “미세 조류 바이오매스”, “조류 바이오매스” 및 “바이오매스”는 미세 조류 세포의 생장 및/또는 증식에 의해 생산된 물질을 의미한다. 바이오매스는 세포 및/또는 세포 내 함유물, 그리고 세포 외 물질을 함유할 수 있다. 세포 외 물질로서는 세포에 의해 분비된 화합물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0163] “미세 조류 오일” 및 “조류 오일”은 미세 조류 세포에 의해 생산된 지질 성분 중 임의의 것, 예를 들어 트리아실글리세롤을 의미한다.

- [0164] “미분된”은 고압 하에서 바이오매스를 대상으로 균질화(또는 이와 균등한 방법)를 수행한 결과, 입자 크기의 적어도 50%(입자 크기 중앙값)가 이 입자의 최장 길이 또는 균등한 부피의 구 지름이 10 μ m 이하인 경우를 의미한다. 전형적으로, 이러한 입자 중 적어도 50 내지 90% 이상에서 최장 길이 또는 균등한 부피의 구 지름은 5 μ m 미만이다. 임의의 경우에서, 미분된 바이오매스의 평균 입자 크기는 원상태 미세 조류 세포의 평균 입자 크기보다 작다. 언급된 입자 크기는 균질화로부터 얻어진 입자의 크기를 말하는 것으로, 건조 과정 중에 일어날 수 있는 입자의 뭉침 현상으로 유발 가능한 왜곡 현상을 막기 위해서, 건조를 수행하기 전과 균질화를 수행한 후에 실질적으로 측정하는 것이 바람직하다. 입자 크기를 측정하는 몇 가지 기술, 예를 들어 레이저 회절법을 통하여, 개별 입자보다는 뭉친 입자의 크기를 측정하며, 또한 건조 후에는 입자의 겉보기 크기가 더욱 클 수 있다(예를 들어, 평균 입자 크기는 1~100 μ m). 입자는 전형적으로 형태가 거의 구형이기 때문에, 균등한 부피를 가지는 구의 지름과 입자의 최장 길이는 거의 동일하다.
- [0165] “미생물(microorganism)” 및 “미생물(microbe)”은 임의의 현미경적 단세포 유기체를 의미한다.
- [0166] “영양 보충식”은 고 칼로리에 대하여, 특정 영양소를 제공함으로써 식단을 보충하기 위해 제조된 조성물을 의미한다. 영양 보충식은 다음과 같은 성분 중 임의의 하나 이상을 함유할 수 있다: 비타민, 미네랄, 허브, 아미노산, 필수 지방산 및 기타 물질. 영양 보충식은 전형적으로 타정 또는 캡슐화된다. 하나의 타정 또는 캡슐화된 영양 보충식은 전형적으로 1일 15g 이하의 수준으로 섭취된다. 영양 보충식은 식단을 보충하기 위하여 식품 조성물(예를 들어 요구르트 또는 스무디)과 혼합될 수 있는, 즉석 혼합 가능한 사제로서 제공될 수 있으며, 전형적으로는 1일 25g 이하의 수준으로 섭취된다.
- [0167] “오일”은 유기체, 예를 들어 미세 조류, 기타 식물 및/또는 동물에 의해 생산된 임의의 트리아실글리세라이드(또는 트리글리세라이드 오일)를 의미한다. “지방”과 구별하여 “오일”은 달리 언급이 없는 한, 보통의 실온과 대기압에서 일반적으로 액체인 액체를 의미한다. 예를 들어, “오일”에는 식물, 예를 들어 대두, 평지씨, 카놀라, 야자, 야자 핵, 코코넛, 옥수수, 올리브, 해바라기, 목화씨, 쿠파아, 땅콩, 양 구슬 냉이, 겨자 씨, 캐슈넛, 귀리, 루핀, 양마, 금잔화, 삼, 커피, 아마씨, 헤이즐넛, 등대풀, 호박씨, 고수, 동백, 참깨, 잇꽃, 쌀, 유동, 코코아, 코프라, 양귀비, 아주까리, 피칸, 호호바, 자트로파, 마카다미아, 브라질 너트 및 아보카도와 이의 조합(이에 한정되는 것은 아님)으로부터 유래하는 식물성 오일 또는 종자 오일을 포함한다.
- [0168] “삼투압 충격”은 삼투압의 급작스러운 감소로 인하여 용액 중 세포가 파열되는 것을 의미하는 것으로서, 세포 내 세포 성분이 용액으로 방출되는 것을 유도하는데 이용될 수 있다.
- [0169] “저온 살균”은 식료품 중 미생물의 생장을 늦추기 위한 가열 방법을 의미한다. 전형적으로, 저온 살균은 단시간에 고온(비등점 아래)에서 수행된다. 본원에 기술된 바에 의하면, 저온 살균은 식료품 중 원치않는 미생물의 수를 줄일 수 있을 뿐만 아니라, 식품 중에 존재하는 임의의 효소를 불활성화시킬 수도 있다.
- [0170] “다당류” 및 “글리칸”은 글리코시드 결합에 의해 서로 결합된 단당류로 이루어진 임의의 탄수화물을 의미한다. 셀룰로스는 임의의 식물 세포벽을 구성하는 다당류의 일례이다.
- [0171] “포트(port)”는 가스, 액체 및 세포와 같은 물질을 유입 또는 유출시킬 수 있는 생물 반응기의 개구를 의미하는 것으로서; 이 포트는 일반적으로 배관(tubing)에 연결되어 있다.
- [0172] “대부분 캡슐화된”은 언급된 성분, 예를 들어 조류 오일 중 50% 초과, 전형적으로는 75 초과 내지 90%가, 예를 들어 미세 조류 세포를 포함할 수 있는 언급된 용기 내에서 격리된 상태로 존재하는 것을 의미한다.
- [0173] “대부분 원상태인 세포” 및 “대부분 원상태인 바이오매스”는 원상태 세포를 50% 초과, 그리고 때때로 75, 90 및 98% 초과가 포함하는 세포 군집을 의미한다. 본 문맥에서 “원상태(intact)”는 세포의 세포 내 성분을 감싸고 있는 세포 막 및/또는 세포벽의 물리적 연속성이, 세포의 세포내 성분을 세포 막의 투과성을 초과할 정도로 배양물에 방출하는 방식이라면 어떠한 방식으로든 파괴되지 않는 경우를 의미한다.
- [0174] “대부분 용해된 세포”는 세포의 50% 초과, 전형적으로는, 75 초과 내지 90%가 파괴되어, 세포의 세포 내 성분이 더 이상 세포 막으로 완전히 둘러싸인 상태가 아닌 경우를 의미한다.
- [0175] “증식”은 생장과 번식 둘 다의 조합을 의미한다.
- [0176] “번식”은 유사 분열 또는 기타 세포 분열을 통하여 세포 수가 증가하는 것을 의미한다.
- [0177] “일반 성분 분석(proximate analysis)”은 지방, 질소/단백질, 조 섬유소(주요 성분이 셀룰로스 및 리그닌인 섬유소), 수분 및 회분(ash)에 대하여 식량을 분석하는 것을 의미한다. 가용성 탄수화물(전체 식이 섬유 및 유

리당)은 100에서 일반 성분 분석을 통해 알려진 수치를 전부 공제함으로써 계산할 수 있다(공제법에 의한 탄수화물 질량).

[0178] “조음과 분해”는 세포와 같은 생물학적 물질을 음파 에너지로 파괴하는 것을 의미한다.

[0179] “푸르푸랄 중”은 기본 구조상 특징이 동일한 2-푸란카복살데히드 및 이의 유도체를 의미한다.

[0180] “여물(stover)”은 곡물을 수확한 후 남은 작물의 마른 줄기 및 잎을 의미하는 것이다.

[0181] “사람이 섭취하기 적당한”은 조성물이 사람의 건강에 나쁜 영향을 미치지 않고서 식사 섭취의 형태로 사람에게 의해 소비될 수 있는 경우를 의미하는 것으로서, 이 경우에는 소화된 물질이 위장관 내에 흡수됨으로 인하여 칼로리를 상당 수준 섭취할 수 있다.

[0182] “조리되지 않은 제품”은 가열되지는 않았지만 이미 가열된 성분을 하나 이상 포함할 수 있는 조성물을 의미한다.

[0183] 부피를 기준으로 한 비율인 “V/V” 또는 “v/v”는 조성물 중 하나의 물질의 부피 대 조성물의 부피의 비를 의미한다. 예를 들어, 조성물이 5%v/v의 미세 조류 오일을 포함한다고 함은 곧 조성물 부피의 5%가 미세 조류 오일로 구성되어 있고(예를 들어, 부피가 100mm³인 조성물은 미세 조류 오일을 5mm³만큼 함유함), 이 조성물 부피의 나머지(예를 들어, 상기 예의 경우 95mm³)는 다른 성분으로 구성되어 있음을 의미한다.

[0184] 중량을 기준으로 한 비율인 “W/W” 또는 “w/w”는 조성물 중 하나의 물질의 중량 대 조성물의 중량의 비를 의미한다. 예를 들어, 조성물이 5%w/w의 미세 조류 바이오매스를 포함한다고 함은 곧 조성물 중량의 5%가 미세 조류 바이오매스로 구성되어 있고(예를 들어, 중량이 100mg인 조성물은 미세 조류 바이오매스를 5mg만큼 함유함), 이 조성물 중량의 나머지(예를 들어, 상기 예의 경우 95mg)는 다른 성분으로 구성되어 있음을 의미한다.

[0185] II. 미세 조류 바이오매스의 제조 방법

[0186] 본 발명은 사람이 섭취하기 적당하며, 지질 및/또는 단백질 성분을 포함하는 영양분이 풍부한 조류 바이오매스, 이 바이오매스와 식용 성분을 혼합하는 방법, 그리고 이 바이오매스를 함유하는 식품 조성물을 제공한다. 본 발명은 부분적으로는, 오일 함량이 높고/높거나 기능성이 우수한 조류 바이오매스가 제조될 수 있으며, 바이오매스의 오일 및/또는 단백질 함유물이 전체적 또는 부분적으로 종래의 식료품에 존재하는 오일 및/또는 지방 및/또는 단백질을 대체할 수 있는 식료품에 상기와 같이 제조된 바이오매스가 포함될 수 있다는 발견을 바탕으로 한다. 대부분 단일불포화된 오일을 포함할 수 있는 조류 오일은, 종래 식료품에서 종종 찾아볼 수 있는 포화 수소화 지방(트랜스 지방) 및 다중 불포화 지방과 비교하였을 때, 건강상 이점을 제공한다. 조류 오일은 또한 트랜스 지방을 함유하지 않는, 건강에 좋으며 안정적인 조리용 오일로서 사용될 수도 있다. 조류 바이오매스의 나머지는 적어도 식료품이 조리될 때까지 오일을 캡슐화할 수 있으므로, 오일의 유통 기한을 증가시킬 수 있다. 세포가 원상태로 남아 있는 미조리 제품에 있어서, 바이오매스는 또한 오일에서 발견되는 천연 항산화제와 함께, 불쾌한 냄새, 맛, 그리고 질감의 원인이 되는 오일의 산화를 막아준다. 바이오매스는 또한 오일 및/또는 단백질 이외에도 몇 가지 유익한 미세 영양소, 예를 들어 조류 유래 식이 섬유(가용성 및 불용성 탄수화물 둘 다), 인지질, 당단백질, 식물성 스테롤, 토코페롤, 토코트리엔올 및 셀레늄을 제공한다.

[0187] 본 섹션은 우선, 본 발명의 방법에 사용하기 적당한 미세 조류의 종류(파트 A), 색소 침착이 되지 않거나 그 정도가 상당 수준 감소한 미세 조류 균주를 제조하는 방법(파트 B), 그 다음으로는 바이오매스를 번식시키는데 사용되는 배양 조건(파트 C), 그 다음으로는, 추가의 가공을 위해 바이오매스를 제조하는데 사용되는 농축 단계(파트 D)에 대해 다루고 있으며, 그리고 본 발명의 방법에 따라서 제조된 바이오매스의 화학 조성에 대한 설명을 바탕으로 결론을 내리고 있다(파트 E).

[0188] A. 본 발명의 방법에 사용되는 미세 조류

[0189] 천연 상태에서 높은 수준의 적당한 오일 및/또는 지질 및/또는 단백질을 생산하는 미세 조류가 바람직하지만, 적당한 오일 및/또는 지질 및/또는 단백질을 생산하는 다양한 종의 미세 조류를 본 발명의 방법에 따라서 사용할 수 있다. 본 발명에 사용되는 미세 조류를 선택하는데 영향을 주는 고려 사항들로서는, 식료품 생산에 적당한 오일, 지질 또는 단백질을 생산하는 것 이외에도 다음의 것을 포함한다: (1) 높은 수준의 지질(또는 단백질) 함량(세포 중량%로 나타냄); (2) 생장의 용이함; (3) 번식의 용이함; (4) 바이오매스 가공의 용이함; (5) 글리세로지질의 프로필; 및 (6) 조류 독소의 부재(이하 실시예 5에서는 건조된 미세 조류 바이오매스 및 이 바이오매스로부터 추출된 오일 또는 지질이 조류 독소를 함유하지 않는다는 사실을 입증하고 있음).

- [0190] 몇몇 구체예에서, 미세 조류의 세포벽은 식품 가공시(예를 들어, 조리시) 파괴되어 활성 성분을 방출하거나 소화가 될 수 있어야 하는데, 이러한 구체예에서, 동물, 예를 들어 사람이나 기타 단위 동물의 위장관 내에서 소화가 쉽게 되는 세포벽을 가지는 미세 조류의 균주가 바람직하며, 상기 조류 바이오매스가 미조리 식료품 중에 사용되는 경우에는 특히 그러하다. 일반적으로, 세포벽 내 셀룰로스/헤미셀룰로스 함량이 높은 미세 조류 균주의 소화성은 감소한다. 소화성은 표준 펩신 소화성 검정법을 이용하여 평가할 수 있다.
- [0191] 특정 구체예에서, 미세 조류는 오일이 적어도 10 건조중량% 이상인 세포를 포함한다. 다른 구체예에서, 미세 조류는 적어도 25~35 건조중량% 이상의 오일을 함유한다. 일반적으로, 이와 같은 구체예에서, 미세 조류에 더욱 많은 오일이 함유될수록, 바이오매스는 더욱 많은 영양소를 함유하게 될 것이므로, 적어도 40 건조중량%, 적어도 50 건조중량%, 75 건조중량% 이상의 오일을 함유하도록 배양될 수 있는 미세 조류가 특히 바람직하다. 본 발명의 방법에 사용하기 바람직한 미세 조류는 종속 영양 조건 하에서(빛이 존재하지 않는 조건 하에서 당을 먹이로 하여) 생장할 수 있거나, 또는 절대 종속 영양체이다. 지질은 원치않는 맛 또는 불쾌한 냄새를 낼 수도 있으며, 또한 안정성이 불량하거나 구강 촉감이 나쁠 수도 있으므로, 모든 유형의 지질이 식품 및/또는 준의약 식품에 사용하기 바람직한 것은 아니며, 이러한 고려 사항들은 본 발명의 방법에 사용되는 미세 조류의 선택에 영향을 미치게 된다.
- [0192] 일반적으로 클로렐라 속에 속하는 미세 조류가 본 발명의 방법에 유용하다. 클로렐라는 녹조 식물(*Chlorophyta*) 문에 속하는 단일 세포 녹조류 속이다. 클로렐라 세포는 일반적으로 구형의 형태이며, 지름은 약 2~10 μ m이고 편모를 가지고 있지 않다. 클로렐라 중 일부 종은 천연적으로 종속 영양성이다. 바람직한 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용된 미세 조류로서는 클로렐라 프로토테코이데스, 클로렐라 엘립소이데아(*Chlorella ellipsoidea*), 클로렐라 미누티시마(*Chlorella minutissima*), 클로렐라 조피니아네시(*Chlorella zofinienesi*), 클로렐라 루테오비리디스(*Chlorella luteoviridis*), 클로렐라 케슬러리(*Chlorella kessleri*), 클로렐라 소로키니아나(*Chlorella sorokiniana*), 클로렐라 푸스카 var. 바큐올라타(*Chlorella fusca* var. *vacuolata*), 클로렐라 sp., 클로렐라 cf. 미누티시마(*Chlorella* cf. *minutissima*) 또는 클로렐라 에머소니(*Chlorella emersonii*)가 있다. 클로렐라, 특히 클로렐라 프로토테코이데스는 지질의 조성이 높기 때문에 본 발명의 방법에 사용하기에 바람직한 미생물이다. 본 발명의 방법에 사용하기에 특히 바람직한 클로렐라 프로토테코이데스 종으로서의 이하 실시예에 예시한 것을 포함한다.
- [0193] 본 발명의 방법에 사용하기 적당한 클로렐라의 기타 종으로서, 아니트라타(*anitrata*), 안타크티카(*Antarctica*), 아우레오비리디스(*aureoviridis*), 칸디다(*candida*), 캡슐레이트(*capsulate*), 데시케이트(*desiccate*), 엘립소이데아(*ellipsoidea*)(균주 CCAP 211/42 포함), 에머소니(*emersonii*), 푸스카(*fusca*)(var. 바큐올라타 포함), 글루코트로파(*glucotropha*), 인퓨저눔(*infusionum*)(var. 악토피라(*actophila*) 및 var. 옥세노필라(*auxenophila*) 포함), 케슬러리(*kessleri*)(UTEX 균주 397,2229,398 중 임의의 것 포함), 로보포라(*lobophora*)(균주 SAG 37.88 포함), 루테오비리디스(*luteoviridis*)(균주 SAG 2203 및 var. 아우레오비리디스 및 루테센스(*lutescens*) 포함), 미니아타(*miniata*), cf. 미누티시마, 미누티시마(UTEX 균주 2341 포함), 뮤타빌리스(*mutabilis*), 녹터나(*nocturna*), 오발리스(*ovalis*), 파르바(*parva*), 포토필라(*photophila*), 프링스헤이미(*pringsheimii*), 프로토테코이데스(UTEX 균주 1806, 411, 264, 256, 255, 250, 249, 31, 29, 25 또는 CCAP 211/8D, 또는 CCAP 211/17 및 var. 악시디콜라 중 임의의 것 포함), 레굴라리스(var. 미니마(*minima*) 및 움브리카타(*umbricata*) 포함), 레이스글리(*reisiglii*)(균주 CCP 11/8 포함), 사카로필라(*saccharophila*)(균주 CCAP 211/31, CCAP 211/32 및 var. 엘립소이데아 포함), 살리나(*salina*), 심플렉스(*simplex*), 소로키니아나(*sorokiniana*)(균주 SAG 211.40B 포함), sp. (UTEX 균주 2068 및 CCAP 211/92 포함), 스파에리카(*sphaerica*), 스티그마토포라(*stigmatophora*), 트레복시오이데스(*trebouxioides*), 바니엘리(*vanniellii*), 불가리스(*vulgaris*)(균주 CCAP 211/11K, CCAP 211/80 및 에프.터티아(*f. tertia*) 및 var. 오토트로피카(var.*autotrophica*), 비리디스(*viridis*), 불가리스, 불가리스 에프. 터티아(*vulgaris f. tertia*), 불가리스 에프. 비리디스(*vulgaris f. viridis*) 포함), 잔텔라(*xanthella*), 및 조핑기엔시스(*zofingiensis*)로 이루어진 군으로부터 선택되는 종을 포함한다.
- [0194] 본 발명에 사용되는 클로렐라 종(및 기타 미세 조류 속에 속하는 종)은 자체의 게놈 중 임의의 표적 부위를 본원에서 확인된 종의 동일한 부위와 비교하여 확인할 수 있는데; 바람직한 종으로서의 본원에서 확인된 종과의 동일성을 나타내거나 최소한 매우 높은 수준의 상동성을 나타내는 것이 있다. 예를 들어, 특정 클로렐라 종 또는 균주는 프라이머를 사용하는 핵 DNA 및/또는 염록체 DNA를 증폭 및 서열 결정하고, 또한 게놈의 적당한 부위를 사용하는 방법, 예를 들어 문헌[Wu et al., Bot. Bull. Acad. Sin. 42:115-121 (2001), Identification of *Chlorella* spp. isolates using ribosomal DNA sequences]에 개시된 방법을 이용하여 확인할 수 있다. 잘 확립

된 계통 발생학적 분석법, 예를 들어 리보솜 내부 전사 스페이서(ITS1 및 ITS2 rDNA), 23S rRNA, 18S rRNA 및 기타 보존된 계통 부위를 증폭 및 서열 결정하는 방법은, 클로렐라뿐만 아니라, 본원에 개시된 방법에 사용하기 적당한 기타 오일 및 지질 생산 미세 조류의 종을 확인하기 위해서 당업자에 의해 활용될 수 있다. 조류의 확인 방법 및 분류 방법에 관한 예로서는 문헌[*Genetics*, 170(4):1601-10 (2005) and *RNA*, 11(4):361-4 (2005)]을 참조한다.

[0195] 그러므로, 계통 DNA 비교는 본 발명에 사용하기 적당한 미세 조류 종을 확인하는데 사용될 수 있다. 보존된 계통 DNA 부위, 예를 들어 23S rRNA를 암호화하는 DNA(이에 한정되는 것은 아님)는, 예를 들어 본 발명에 사용된 바람직한 미세 조류와 분류학상으로 관련되어 있을 수 있으며, 이와 같이 바람직한 종의 상응하는 부위와 비교 대상이 될 수 있는 미세 조류 종으로부터 증폭될 수 있다. 높은 수준의 유사도를 나타내는 종을 선택하여 본 발명의 방법에 사용한다. 클로렐라 속 내 종들 간 DNA 서열 비교 방법에 관한 예시적인 예를 이하에 제시하였다. 몇몇 경우에서, 본 발명에 사용하기 바람직한 미세 조류는 서열 번호 1~23 및 26~27에 나열된 서열 중 적어도 하나와의 뉴클레오티드 동일성이 적어도 65%인, 23S rRNA를 암호화하는 계통 DNA 서열을 가진다. 다른 경우에서, 본 발명에 사용하기 바람직한 미세 조류는 서열 번호 1~23 및 26~27에 나열된 서열 중 적어도 하나 이상과의 뉴클레오티드 동일성이 적어도 75%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상인, 23S rRNA를 암호화하는 계통 DNA 서열을 가진다. 조류 바이오매스를 기타 성분과 혼합하여 식품 조성물을 제형화하기 전에 이 조류 바이오매스 및/또는 식품 조성물의 유전자형을 분석하는 것은 또한 조류 바이오매스가 두 가지 이상의 미세 조류 균주로부터 유래하는지 여부를 확인하기 위한, 신뢰성있는 방법이기도 하다.

[0196] 뉴클레오티드 또는 아미노산의 동일성%를 측정하기 위해 서열 비교를 함에 있어서, 전형적으로 하나의 서열은 테스트 서열과 비교되는 기준 서열로서의 역할을 한다. 서열 비교 알고리즘을 적용함에 있어서, 테스트 서열과 기준 서열을 컴퓨터에 입력하였을 때, 필요에 따라서는 부분 서열 좌표가 지정되고, 서열 알고리즘 프로그램 매개 변수가 지정된다. 이후, 서열 비교 알고리즘은 지정된 프로그램 매개 변수를 바탕으로 하여, 테스트 서열(들)에 대한 서열 동일성%를 기준 서열과 비교하여 계산한다. 비교용 서열에 관한 최적 정렬은, 예를 들어 국소 상동성 알고리즘(Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981)), 상동성 정렬 알고리즘(Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970)), 유사성 검색법(Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444 (1988)), 이와 같은 알고리즘의 연산화된 실행(GAP, BESTFIT, FASTA 및 TFASTA; Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), 또는 시각적 관찰(일반적으로 문헌[Ausubel *et al.*, *상동* 참조]에 의해 수행될 수 있다. 서열 동일성% 및 서열 유사성%를 측정하는데 적당한 기타 알고리즘의 예로서는 BLAST 알고리즘이 있는데, 이에 관하여는 문헌[Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990)]에 개시되어 있다. BLAST 분석법을 수행하기 위한 소프트웨어는 국립 생물 정보 센터(National Center for Biotechnology Information; 웹 주소: www.ncbi.nlm.nih.gov)를 통하여 공중이 이용 가능하다.

[0197] 클로렐라 이외에도, 본 발명의 방법에 다른 미세 조류 속이 사용될 수도 있다. 바람직한 구체예에서, 상기 미세 조류는 파라클로렐라 케슬러리(*Parachlorella kessleri*), 파라클로렐라 베이저링키(*Parachlorella beijerinckii*), 네오클로리스 올레아번덴스(*Neochloris oleabundans*), 브락티아코커스(*Bracteococcus*), 예를 들어 비.그란디스(*B. grandis*), 비.신나바리나스(*B. cinnabarinus*), 그리고 비.아에리우스(*B. aerius*), 브락테오코커스(*Bracteococcus*) sp. 또는 세네데스무스 레베센스(*Scenedesmus rebescens*)로 이루어진 군으로부터 선택되는 종이다. 미세 조류 종의 기타 비제한적인 예로서는, 아크난테스 오리엔탈리스(*Achnanthes orientalis*); 아그메넬럼(*Agmenellum*); 암피프로라 히알라인(*Amphiprora hyaline*); 암포라(*Amphora*), 예를 들어 에이.코페이포르미스(*A. coffeiformis*), 예를 들어 에이.씨.리네아(*A.c. lineae*), 에이.씨.펑타타(*A.c. punctata*), 에이.씨.테일러리(*A.c. taylori*), 에이.씨.티누이스(*A.c. tenuis*), 에이.씨.델리카티시마(*A.c. delicatissima*), 에이.씨.델리카티시마 카피타타(*A.c. delicatissima capitata*); 아나바에나(*Anabaena*); 안키스트로데스무스(*Ankistrodesmus*), 예를 들어 에이.팔카투스(*A. falcatus*); 보에켈로비아 후글란디(*Boeckelia hooglandii*); 보로디넬라(*Borodinella*); 보트리오코커스 브라우니(*Botryococcus braunii*), 예를 들어 비.수데티쿠스(*B. sudeticus*); 브락테오코커스(*Bracteococcus*), 예를 들어 비.아에리우스(*B. aerius*), 비.그란디스(*B. grandis*), 비.신나바리나스(*B. cinnabarinus*), 비.마이너(*B. minor*), 및 비.메디온뉴클레아투스(*B. medionucleatus*); 카테리아(*Carteria*); 카에토세로스(*Chaetoceros*), 예를 들어 씨.그라실리스(*C. gracilis*), 씨.뮤엘러리(*C. muelleri*), 및 씨.뮤엘러리 서브살썸(*C. muelleri subsalsum*); 클로로코쿰(*Chlorococcum*), 예를 들어 씨.인퓨저눔(*C. infusionum*); 클로로고늄(*Chlorogonium*); 크루모나스(*Chroomonas*); 크리소스파에라(*Chrysosphaera*); 크리코스파에라(*Cricosphaera*); 크립테코디늄 코니(*Cryptocodium cohnii*); 크립토모나스(*Cryptomonas*); 사이클로텔라(*Cyclotella*), 예를 들어 씨.크립티카(*C. cryptica*) 및 씨.메네기니

아나(*C. meneghiniana*); 더날리엘라(*Dunaliella*), 예를 들어 디.바르다일(*D. bardawil*), 디.비오쿨라타(*D. bioculata*), 디.그래놀라테(*D. granulate*), 디.마리타임(*D. maritime*), 디.미누타(*D. minuta*), 디.파르바(*D. parva*), 디.페어르세이(*D. peircei*), 디.프리몰렉타(*D. primolecta*), 디.살리나(*D. salina*), 디.테리콜라(*D. terricola*), 디.터티올렉타(*D. tertiolecta*), 및 디.비리디스(*D. viridis*); 에레모스파에라(*Eremosphaera*), 예를 들어 이.비리디스(*E. viridis*); 엘립소이돈(*Ellipsoidon*); 유글레나(*Euglena*); 프란세이아(*Franceia*); 프라길라리아(*Fragilaria*), 예를 들어 에프.크로토넨시스(*F. crotonensis*); 글레오캡사(*Gleocapsa*); 글로에오타미온(*Gloeothamnion*); 하이메노모나스(*Hymenomonas*); 이소크라이시스(*Isochrysis*), 예를 들어 아이.에이에프에프.갈바나(*I. aff. galbana*) 및 아이.갈바나(*I. galbana*); 레포신클리스(*Lepocinclis*); 마이크랙티늄(*Micractinium*)(UTEX LB 2614 포함); 모노라피디움(*Monoraphidium*), 예를 들어 엠.미누텀(*M. minutum*); 모노라피디움(*Monoraphidium*); 나노클로리스(*Nannochloris*); 나노클로롭시스(*Nannochloropsis*), 예를 들어 엔.살리나(*N. salina*); 나비쿨라(*Navicula*), 예를 들어 엔.악셉타타(*N. acceptata*), 엔.비스칸테라에(*N. biskanterae*), 엔.슈도테넬로이데스(*N. pseudotenelloides*), 엔.펠리쿨로사(*N. pelliculosa*), 및 엔.사프로필라(*N. saprophila*); 네오클로리스 올레아번단스(*Neochloris oleabundans*); 네프로클로리스(*Nephrochloris*); 네프로셀미스(*Nephroselmis*); 닛치아 커뮤니스(*Nitzschia communis*); 닛츠쉴아(*Nitzschia*), 예를 들어 엔.알렉산드리나(*N. alexandrina*), 엔.커뮤니스(*N. communis*), 엔.디시파타(*N. dissipata*), 엔.프러스툴럼(*N. frustulum*), 엔.한츠쉴아나(*N. hantzschiana*), 엔.인콘스피큐아(*N. inconspicua*), 엔.인터미디아(*N. intermedia*), 엔.마이크로세팔라(*N. microcephala*), 엔.푸실라(*N. pusilla*), 엔.푸실라 엘립티카(*N. pusilla elliptica*), 엔.푸실라 모노엔시스(*N. pusilla monoensis*), 및 엔.쿼드랭글라(*N. quadrangular*); 오크로모나스(*Ochromonas*); 오시스티스(*Oocystis*), 예를 들어 오.파르바(*O. parva*) 및 오.푸실라(*O. pusilla*); 오실라토리아(*Oscillatoria*), 예를 들어 오.림네티카(*O. limnetica*) 및 오.서브브레비스(*O. subbrevis*); 파라클로렐라(*Parachlorella*), 예를 들어 피.베이저링키(*P. beijerinckii*)(균주 SAG 2046 포함) 및 피.케슬러리(*P. kessleri*)(SAG 균주 11.80, 14.82, 21.11H9 중 임의의 것 포함); 파셰리아(*Pascheria*), 예를 들어 피.악시도필라(*P. acidophila*); 파블로바(*Pavlova*); 파거스(*Phagus*); 포르미디움(*Phormidium*); 플라티모나스(*Platymonas*); 플루로크라이시스(*Pleurochrysis*), 예를 들어 피.카르테라에(*P. carterae*) 및 피.덴타테(*P. dentate*); 프로토테카(*Prototheca*), 예를 들어 피.스태그노라(*P. stagnora*)(UTEX 327 포함), 피.포르토리센시스(*P. portoricensis*), 및 피.모리포르미스(*P. moriformis*)(UTEX 균주 1441, 1435, 1436, 1437, 1439 포함); 슈도클로렐라 아쿠아티카(*Pseudochlorella aquatica*); 피라미모나스(*Pyramimonas*); 피로보트리스(*Pyrobotrys*); 로도코커스 오파쿠스(*Rhodococcus opacus*); 사르시노이드 크라이소파이트(*Sarcinoid chrysophyte*); 세네데스무스(*Scenedesmus*), 예를 들어 에스.아르마투스(*S. armatus*) 및 에스.루베센스(*S. rubescens*); 쉬조키티리움(*Schizochytrium*); 스피로자이라(*Spirogyra*); 스피룰리나 플라텐시스(*Spirulina platensis*); 스티코코커스(*Stichococcus*); 시네코코커스(*Synechococcus*); 테트라에드론(*Tetraedron*); 테트라셀미스(*Tetraselmis*), 예를 들어 티.수에시카(*T. suecica*); 탈라시오시라 웨이스플로기(*Thalassiosira weissflogii*); 및 비리디엘라 프리데리치아나(*Viridiella fridericihana*)로 이루어진 종 및 속의 군으로부터 선택되는 종을 포함한다.

[0198] 몇몇 구체예에서, 식품 조성물 및 식품 성분, 예를 들어 조류 가루는, 서열 번호 1, 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 5, 서열 번호 6, 서열 번호 7, 서열 번호 8, 서열 번호 9, 서열 번호 10, 서열 번호 11, 서열 번호 12, 서열 번호 13, 서열 번호 14, 서열 번호 15, 서열 번호 16, 서열 번호 17, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 20, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 23, 서열 번호 26 및 서열 번호 27로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 서열과의 동일성이 적어도 90% 또는 95%인 23S rRNA 게놈 서열을 가지는 조류로부터 유래한다.

[0199] B. 색소 침착이 발생하지 않거나 상당 수준 감소된 미세 조류 균주를 생산하는 방법

[0200] 클로렐라와 같은 미세 조류는 광합성에 의해 성장할 수 있거나 또는 종속 영양 조건 하에서 성장할 수 있다. 미세 조류가 종속 영양 조건, 즉 탄소 공급원이 고정 탄소 공급원이고, 빛이 존재하지 않는 조건 하에서 성장할 때, 보통 녹색을 띠는 미세 조류는 황색을 띠게 되고, 또한 녹색 색소가 침착되지 않거나 침착 정도가 상당 수준 감소하게 된다. 녹색 색소 침착이 감소한(또는 침착이 일어나지 않는) 미세 조류는 식품 성분으로서 유리할 수 있다. 녹색 색소 침착이 감소한(또는 침착이 일어나지 않는) 미세 조류의 한 가지 이점은, 이 미세 조류에서 염록소 냄새가 덜 난다는 점이다. 녹색 색소 침착이 감소한(또는 침착이 일어나지 않는) 미세 조류의 또 다른 이점은, 식품 성분으로서 미세 조류를 식량에 첨가하면 소비자에게 매력적이지 않을 수 있는 녹색을 띠지 않게 될 것이라는 점이다. 종속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류의 녹색 색소 침착이 감소하는 현상은 일시적인 것이다. 광 영양 성장 조건으로 다시 돌아가면, 광영양 성장 및 종속 영양 성장 둘 다 가능한 미세 조류에서는 녹색 색소 침착이 다시 발생하게 될 것이다. 뿐만 아니라, 녹색 색소 침착이 감소하더라도, 종속 영양 조건 하

에서 성장한 미세 조류는 황색을 띠게 되고, 또한 이는 소비자가 식량의 색이 백색 또는 밝은 색일 것으로 예상하는 몇몇 식품에 사용하기 적당하지 않을 수 있다. 그러므로, 종속 영양 조건 하에서 성장할 수 있으며(그 결과, 녹색 색소 침착이 감소하였거나 색소 침착이 일어나지 않으며), 또한 황색 색소 침착도 감소한(그 결과, 식품에 사용시 중간색을 띠게 된) 미세 조류 균주를 생산하는 것이 유리하다.

[0201] 이와 같이 색소 침착이 상당 수준 감소하였거나 색소 침착이 일어나지 않는 미세 조류 균주를 생산하는 하나의 방법으로서, 돌연변이 유발법을 수행한 후 원하는 표현형을 가지는 균주를 스크리닝하는 방법이 있다. 몇 가지 돌연변이 유발법이 공지되어 있으며, 당업계에서 수행되고 있다. 예를 들어, Urano et al.의 문헌[Urano et al., *J Bioscience Bioengineering* (2000) v. 90(5): pp. 567-569]에는 UV 조사에 의해 생성된 클로렐라 엘립소이테아의 황색 및 백색 돌연변이체에 관하여 개시되어 있다. Kamiya의 문헌[Kamiya, *Plant Cell Physiol.* (1989) v. 30(4): 513-521]에는 클로렐라 불가리스 11h(M125)의 무색 균주에 관하여 개시되어 있다.

[0202] UV 조사에 의한 돌연변이 유발법 이외에도, 색소 침착이 감소한(또는 색소 침착이 일어나지 않는) 미세 조류를 생산하기 위해서는 화학적 돌연변이 유발법도 사용할 수 있다. 에틸 메탄설폰에이트(EMS) 또는 N-메틸-N'-니트로-N-니트로구아니딘(NTG)과 같은 화학적 돌연변이원은 효모, 진균, 마이코박테리아 및 미세 조류를 포함하는 다양한 미생물에 대한 유효 화학 돌연변이원인 것으로 확인되었다. 돌연변이 유발법은 또한 몇 회(round)에 걸쳐서 수행될 수도 있는데, 이 경우 미세 조류는 돌연변이원(UV 또는 화학 물질 또는 둘 다)에 노출되며, 이후 색소 침착 표현형이 원하는 정도로 감소한 균주를 스크리닝해 낸다. 그 다음, 원하는 표현형을 나타내는 콜로니를 찍어서 평판 상에 선을 긋고(streak), 다시 분리하여 돌연변이가 한 세대에서 다음 세대까지 지날 때 안정적인지 여부와, 콜로니가 혼합 군집이 아닌 순수한 군집인지 여부를 확인한다.

[0203] 하나의 특정 예에서, 클로렐라 프로토테코이데스는 UV와 화학적 돌연변이 유발법을 조합하여 색소 침착이 일어나지 않게 되거나 또는 색소 침착이 감소한 균주를 생산하는데 사용되었다. 클로렐라 프로토테코이데스를 NTG를 사용하는 화학적 돌연변이 유발법 중 하나의 단계에 노출시켰으며, 콜로니를 색 돌연변이체에 대해 스크리닝하였다. 이후, 색 돌연변이가 일어나지 않은 콜로니를 대상으로 UV 조사법 중 하나의 단계를 진행시키고 나서, 다시 색 돌연변이체에 대해 스크리닝하였다. 하나의 구체예에서, 색소 침착이 일어나지 않은 클로렐라 프로토테코이데스 균주를 분리하였는데, 이 균주는 부다페스트 조약에 따라서, 미국 버지니아 20110-2209, 매너사, 10801 유니버시티 불러바드 소재, 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 특허 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 33-55이다. 다른 구체예에서, 색소 침착이 감소한 클로렐라 프로토테코이데스 균주를 분리하였는데, 이 균주는 부다페스트 조약에 따라서, 미국 버지니아 20110-2209, 매너사, 10801 유니버시티 불러바드 소재, 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 특허 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 클로렐라 프로토테코이데스 25-32이다.

[0204] C. 미세 조류 배양용 배지 및 배양 조건

[0205] 본 발명의 방법에 따라서 미세 조류를 액체 배지 중에서 배양하여 바이오매스를 번식시켰다. 본 발명의 방법에 있어서, 미세 조류 종은 빛이 없는 조건 하에 고정 탄소 및/또는 고정 질소 공급원을 함유하는 배지 중에서 성장한다. 이와 같은 생장은 종속 영양 생장이라고 알려져 있다. 예를 들어, 미세 조류의 몇몇 종에 있어서, 장기간, 예를 들어 10~15일 이상의 장기간 동안 제한된 질소 조건 하에서 이루어지는 종속 영양 생장 결과, 세포 내에 지질이 축적되어 그 함량이 높아진다.

[0206] 미세 조류 배양 배지는 전형적으로 성분, 예를 들어 고정 탄소 공급원(이하에 기술함), 고정 질소 공급원(예를 들어, 단백질, 대두 가루, 효모 추출물, 옥수수 침지액, 암모니아(순수한 형태 또는 염의 형태), 나이트레이트 또는 질산염(nitrate salt)), 미량 원소(예를 들어, 아연, 붕소, 코발트, 구리, 망간 및 몰리브덴, 예를 들어 각각 $ZnCl_2$, H_3BO_3 , $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 및 $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 의 형태를 띠는 것), 선택적으로 pH 유지용 완충액, 및 포스페이트(인의 공급원; 기타 포스페이트 염도 사용 가능)를 함유한다. 기타 성분으로는 특히 바닷물에 서식하는 미세 조류를 위한 염, 예를 들어 염화나트륨을 포함한다.

[0207] 특정 구체예에서, 클로렐라 프로토테코이데스 배양에 적당한 배지로서는 프로테오스 배지를 포함한다. 이 배지는 무균성 배양에 적합하며, 부피 1ℓ 인 배지(pH 약 6.8)는 프로테오스 펩톤 1g을 브리스톨 배지(Bristol Medium) 1리터에 첨가함으로써 제조될 수 있다. 브리스톨 배지는 수용액 중에 2.94mM $NaNO_3$, 0.17mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.3mM $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.43mM, 1.29mM KH_2PO_4 , 및 1.43mM $NaCl$ 을 포함한다. 1.5% 아가 배지의 제조를 위해, 아가 15g이 이 용액 1ℓ 에 첨가될 수 있다. 이 용액을 덮어서 고압 증기 멸균한 다음, 사용 전에 냉장실 온도에 보관하여 둔다. 클로렐라 프로토테코이데스를 자체의 오일 함량(건조중량%)이 높아질 때까지 생장 및 번식시키

기 위한 기타 방법에 관하여는, 예를 들어 문헌[Miao 및 Wu, *J. Biotechnology*, 2004, 11:85-93 및 Miao and Wu, *Biosource Technology* (2006) 97:841-846](55 건조 세포 중량%의 오일을 생산하는 발효 방법에 관하여 예시되어 있음)에 개시되어 있다. 오일 함량이 높은 조류는 전형적으로 질소 제한 하에 과량의 탄소 공급원을 제공하면서 발효 기간을 늘림으로써 생산될 수 있다.

[0208] 고체 및 액체 성장 배지는 일반적으로 다양한 공급처로부터 구입할 수 있으며, 다양한 미생물 군주에 적당한 특정 배지를 제조하는 방법에 관한 지침은 예를 들어 온라인 상(즉, 오스틴 소재, 텍사스 대학교의 조류 배양 수집소(UTEX)가 운영하고 있는 사이트인 <http://www.utex.org/>)에서 살펴볼 수 있다. 예를 들어, 다수의 신선한 수 배지(water media)로서는 1/2, 1/3, 1/5, 1X, 2/3, 2X CHEV 다이아톰 배지(Diatom Medium); 1:1 DYIII/PEA + Gr+; Ag 다이아톰 배지; 앨런 배지(Allen Medium); BG11-1 배지; 볼드(Bold) 1NV 및 3N 배지; 보트리오크스 배지(Botryococcus Medium); 브리스틀 배지; 추 배지(Chu's Medium); CR1, CR1-S 및 CR1+ 다이아톰 배지; 시아니듐 배지(Cyanidium Medium); 시아노피션 배지(Cyanophycean Medium); 데스미드 배지(Desmid Medium); DYIII 배지; 유글레나 배지(Euglena Medium); HEPES 배지; J 배지; 몰트 배지(Malt Medium); MES 배지; 개질된 볼드 3N 배지; 개질된 COMBO 배지; N/20 배지; 오크로모나스 배지(Ochromonas Medium); P49 배지; 폴리토멜라 배지(Polytomella Medium); 프로테오스 배지; 눈조류 배지(Snow Algae Media); 토양 추출물 배지(Soil Extract Medium); 토양수(Soilwater): BAR, GR-, GR-/NH₄, GR+, GR+/NH₄, PEA, Peat, 및 VT 배지; 스피루리나 배지; Tap 배지; 트레부시아 배지(Trebouxia Medium); 볼보카션 배지(Volvocacean Medium); 볼보카션-3N 배지; 볼복스 배지(Volvox Medium); 볼복스-텍스트로스 배지; 워리스 배지(Waris Medium); 및 워리스 + 토양 추출물 배지를 포함한다. 다양한 염수 배지로서는 다음과 같은 것을 포함한다: 1%, 5%, 및 1X F/2 배지; 1/2, 1X 및 2X 에르트슈라이버 배지(Erdschreiber's Medium); 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1X, 5/3 및 2X 토양 + 해양수 배지; 1/4 ERD; 2/3 풍부 해양수 배지; 20% 앨런 + 80 % ERD; 인공 해양수 배지; BG11-1 + .36% NaCl 배지; BG11-1 + 1% NaCl 배지; 볼드 1NV:에르트슈라이버 (1:1) 및 (4:1); 브리스틀-NaCl 배지; 데이즐라테일스 해양수 배지(Dasycladales Seawater Medium); 1/2 및 1X 풍부 해양수 배지, 예를 들어 ES/10, ES/2 및 ES/4; F/2+NH₄; LDM 배지; 개질 1X 및 2X CHEV; 개질 2 X CHEV + 토양; 개질 인공 해양수 배지; 포르피리듐 배지(Porphridium Medium); 및 SS 다이아톰 배지.

[0209] 본 발명의 방법에 사용하기 적당한 기타 배지는, 상기 URL을 참고로 하거나 또는 미생물 배양물을 관리하는 기타 기구, 예를 들어 SAG, CCAP 또는 CCALA로부터 자문을 얻어서 용이하게 확인할 수 있다. SAG는 괴팅엔 대학교(독일 괴팅엔 소재)에 존재하는 조류 배양 수집소를 의미하며, CCAP는 스코틀랜드 해양 과학 협회(영국 스코틀랜드 소재)에 의해 운영되고 있는 조류 및 원생 동물 배양 수집소를 의미하고, CCALA는 식물학 학교(체코 공화국 트레본 소재)의 조류 실험실에 존재하는 배양 수집소를 의미한다.

[0210] 본 발명의 방법에 유용한 미생물은 전세계 다양한 지역과 환경에서 발견된다. 다른 종으로부터 분리되어 진화의 분기점을 생성한 결과, 최적의 조건에서 임의의 특정 미생물 종으로부터 유래하는 오일 및/또는 지질 및/또는 단백질을 생산하고, 성장할 수 있는 특정 성장 배지를 예측하는 것은 쉽지 않거나 불가능할 수도 있지만, 당업자는 본원에 개시된 바를 참고로 하여 통상의 테스트를 통해 적당한 배지를 용이하게 찾을 수 있다. 몇몇 경우에서, 임의의 미생물 군주는 특정 성장 배지 상에서 성장할 수 없을 수도 있는데, 그 이유는 몇 가지 억제 성분이 존재하거나 특정 미생물 군주가 필요로 하는 몇 가지 필수 영양소가 존재하지 않기 때문이다. 이하 실시예는 지질의 수준(건조 세포 중량%)을 높게 축적하기 위해 미세 조류의 다양한 종을 배양하는 예시적인 방법을 제공하고 있다.

[0211] 고정된 탄소 공급원은 배지의 중요한 성분이다. 본 발명에 사용하기 적당한 고정 탄소 공급원으로서, 예를 들어 글루코스, 프럭토스, 수크로스, 갈락토스, 자일로스, 만노스, 람노스, 아라비노스, N-아세틸글루코사민, 글리세롤, 플로리도사이드, 글루쿠론산 및/또는 아세테이트를 포함한다. 본 발명에 따라서 미세 조류를 배양하는데 사용되는 기타 탄소 공급원으로서 혼합물, 예를 들어 글리세롤과 글루코스의 혼합물, 글루코스와 자일로스의 혼합물, 프럭토스와 글루코스의 혼합물, 그리고 수크로스와 해중합 사탕 무 펄프의 혼합물을 포함한다. 미세 조류를 배양하는데 사용하기 적당한 기타 탄소 공급원으로서 흑액, 옥수수 전분, 해중합 셀룰로스 물질(예를 들어, 옥수수대, 사탕 무 펄프 및 스위치그래스로부터 유래), 락토스, 유청, 당밀, 감자, 쌀, 수수, 수크로스, 사탕 무, 사탕 수수 및 밀을 포함한다. 하나 이상의 탄소 공급원(들)은 적어도 약 50 μM, 적어도 약 100 μM, 적어도 약 500 μM, 적어도 약 5mM, 적어도 약 50mM, 그리고 적어도 약 500mM의 농도로 공급될 수 있다.

[0212] 그러므로 다양한 구체예에서, 성장 배지에 사용된 고정 탄소 에너지 공급원은 글리세롤 및/또는 5탄당 및/또는 6탄당, 예를 들어 글루코스, 프럭토스 및/또는 자일로스를 포함하는데, 이는 수크로스 및/또는 셀룰로스 물질, 예를 들어 해중합 셀룰로스 물질로부터 유래할 수 있다. 미국 특허출원공개 제20090035842호, 제20090011480호,

제20090148918호에는 각각, 클로렐라에 속하는 다수의 종과 하나의 종에 속하는 다수의 균주는 수크로스, 해중합 셀룰로스 물질, 그리고 글리세롤의 존재하에 성장할 수 있다고 개시되어 있으며, 이에 관하여는 PCT 특허출원공개 제2008/151149호에도 개시되어 있다(상기 문헌의 각각은 본원에 참조로 포함됨).

[0213] 그러므로 본 발명의 하나의 구체예에서, 미생물은 공급 원료로서 해중합 셀룰로스 바이오매스를 사용하여 배양된다. 기타 공급 원료, 예를 들어 옥수수 전분, 또는 사탕 수수나 사탕 무로부터 유래하는 수크로스와는 대조적으로, 셀룰로스 바이오매스(또는 해중합된 형태의 것)는 사람이 섭취하기에 적당하지 않으며, 잠재적으로는 저렴한 비용으로 구입할 수 있는데, 이 점이 본 발명의 목적에 특히 유리하다. 미세 조류는 해중합 셀룰로스 물질을 원료로 하여 증식할 수 있다. 셀룰로스 물질은 일반적으로 셀룰로스 40~60 건조중량%; 헤미셀룰로스 20~40 건조중량%; 및 리그닌 10~30 건조중량%를 포함한다. 적당한 셀룰로스 물질로서는 1차 식품 또는 섬유소 제품이 존재하는 들판으로부터 분리한 것이 아닌, 초본 및 목본 에너지 작물, 그리고 농작물, 즉 식물의 일부, 주로 줄기와 잎으로부터 유래하는 잔류물을 포함한다. 그 예로서는 농업 폐기물, 예를 들어 사탕 수수 바가스, 왕겨, 옥수수 섬유소(줄기, 잎, 겉 껍질 및 속대 포함), 밀짚, 벼짚, 사탕 무 펄프, 감귤 펄프, 감귤 껍질; 임업 폐기물, 예를 들어 견목재 및 연목재 티닝 결과물(thinnings), 및 통나무 작업으로부터 얻어지는 견목재 및 연목재 잔류물; 폐목재, 예를 들어 제재소 폐기물(목재칩, 톱밥) 및 펄프 폐기물; 도시 폐기물, 예를 들어 도시 고형 폐기물 중 폐지 분획, 도시 폐목재 및 도시 녹지 폐기물, 예를 들어 도시 벌초물; 그리고 목공 폐기물을 포함한다. 부가의 셀룰로스로서는 특별히 경작한 셀룰로스 작물, 예를 들어 스윗치그래스, 하이브리드 현사시나무, 그리고 역새속, 섬유소 줄기(fiber cane) 및 섬유소 수수(fiber sorghum)를 포함한다. 이러한 물질로부터 생산된 5탄당으로서의 자일로스를 포함한다. 실시예 20에는 옥수수 대와 사탕 무 펄프로부터 유래하는 셀룰로스 유래당을 사용하여, 중속 영양 조건 하에서 성공적으로 배양된 클로렐라 프로토타코이데스에 관하여 기술되어 있다.

[0214] 일부 미생물은 셀룰로스 물질을 대사해서, 탄소원으로서 셀룰로스 물질을 직접 이용할 수 있다. 그러나, 셀룰로스 물질은 전형적으로 접촉 가능한 표면적을 증가시키거나, 미생물이 탄소 공급원으로 이용하는 체제로서 셀룰로스가 처음에 분해되도록 처리될 필요가 있다. 효소 분해를 위하여 셀룰로스 물질을 제조 또는 전처리하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 이 방법은 2개의 주요 카테고리로 분류된다: (1) 셀룰로스 물질을 더 작은 입자로 분해하여, 접촉 가능한 표면적을 증가시키는 것; 및 (2) 셀룰로스 물질을 화학적으로 처리하여 효소 분해에 이용할 수 있는 기질을 생성하는 것.

[0215] 접촉 가능한 표면적을 증가시키는 방법으로서의 고온의 증기를 이용하여 셀룰로스 물질을 분해하는 단계를 포함하는 증기 폭발법(steam explosion)을 포함한다. 이 방법에서는 고온의 조건이 조성되어야 하기 때문에 셀룰로스 물질 중 일부 당이 소실될 수 있으므로, 효소 분해에 이용할 수 있는 탄소 공급원을 환원시켜야 한다(예를 들어, Chahal, D.S. et al., *Proceedings of the 2nd World Congress of Chemical Engineering*; (1981) and Kaar et al., *Biomass and Bioenergy* (1998) 14(3): 277-87). 암모니아를 폭발시키면, 낮은 온도에서도 셀룰로스 물질을 폭발시킬 수 있지만, 이와 같은 과정을 수행하는 데에는 비용이 더 많이 들고, 암모니아가 후속 효소 분해 과정을 방해할 수도 있다(예를 들어, Dale, B.E. et al., *Biotechnology and Bioengineering* (1982); 12: 31-43). 다른 폭발 기술은, 초임계 이산화탄소 폭발을 이용하여, 셀룰로스 물질을 더욱 작은 단편으로 분해하는 것을 포함한다(예를 들어, Zheng et al., *Biotechnology Letters* (1995); 17(8): 845-850).

[0216] 셀룰로스 물질을 화학적으로 처리하여 효소 분해에 사용할 수 있는 기질을 생성하는 방법에 관하여도 당업계에 공지되어 있다. 미국 특허 제7,413,882호에는 베타-글루코시다제를 발효액으로 분비하는 유전자 조작 미생물을 사용하는 것과, 이 발효액으로 셀룰로스 물질을 처리함으로써 셀룰로스 물질이 글루코스로 가수 분해되는 것을 촉진하는 것에 관하여 개시되어 있다. 또한, 셀룰로스 물질을 강산과 강염기로 처리하여, 후속 효소 분해 작용을 돕도록 처리할 수도 있다. 미국 특허 제3,617,431호에는 알칼리 분해 방법을 사용하여 셀룰로스 물질을 분해하는 것에 관해 개시되어 있다.

[0217] 클로렐라는 자일로스와 글루코스, 예를 들어 해중합 셀룰로스 물질을 조합하여 함유하는 배지 상에서 증식할 수 있으며, 놀랍게도 일부 종은 글루코스나 자일로스 둘 중 어느 하나만이 존재하는 조건 하에서 배양되었을 때보다 이들 두 가지가 모두 존재하는 조건 하에서 배양되었을 때 생산 수준이 더욱 높다. 그러므로 임의의 미세 조류는 탄소원으로서 또 다른 비식용 공급 원료, 예를 들어 셀룰로스 물질(또는 전처리된 셀룰로스 물질) 또는 글리세롤을 이용할 수 있고, 그 결과 식용 오일을 생산할 수 있다. 이로써 (옥수수 글루코스와 사탕 수수 및 사탕 무로부터 유래하는 수크로스와는 대조적으로) 보통은 사람의 먹이 사슬의 일부를 차지하고 있지 않은 비식용 셀룰로스 및 글리세롤을 사람의 하루 식단의 일부를 차지하고 있는 영양분 및 칼로리를 공급할 수 있는 고 영양가의 식용 오일로 전환할 수 있다. 그러므로, 본 발명은 비식용 공급 원료를 고 영양가 식용 오일, 식료품 및 식

품 조성물로 전환하는 방법을 제공한다.

[0218] (인버타제가 분비되거나, 아니면 유기체가 수크로스 운반체도 발현하는 경우) 분비 가능한 수크로스 인버타제를 발현하는 유기체와 공동 배양되었거나 또는 수크로스 인버타제를 함유하는 배지에서 배양되었거나, 또는 외인성 수크로스 인버타제 유전자를 발현하는 미세 조류는 사탕 수수 또는 기타 수크로스 공급원으로부터 유래하는 페당밀의 존재 하에 증식할 수 있다. 이와 같이 저가치이면서도 수크로스를 함유하는 폐기물 제품을 이용함으로써, 식용 오일 생산시 비용을 상당 수준 절약할 수 있다. 그러므로 본원에 개시된 바와 같이, 수크로스 공급 원료상에서 미세 조류를 배양하는 방법과 식품 조성물 및 영양 보충식을 제형화하는 방법은 저 영양 수크로스를 고 영양 오일(올레산, DHA, ARA 등)과 이러한 오일을 함유하는 바이오매스로 전환하는 수단을 제공한다.

[0219] 상기 언급한 특허 공보에 자세히 기술되어 있는 바와 같이, 다수의 별개 클로렐라 종 및 균주는, 정제된 시약 등급의 글리세롤에서 뿐만 아니라, 바이오디젤 에스테르 교환 반응으로부터 유래하는 부산물로서 산성화되었거나(acidulated) 산성화되지 않은(non-acidulated) 글리세롤 부산물에서 매우 잘 증식한다. 놀랍게도 일부 클로렐라 균주는 글루코스가 존재할 때보다 글리세롤이 존재할 때 세포 분열을 더욱 빨리 수행한다. 2단계 성장 과정, 즉 처음에는 세포에 글리세롤을 공급하여 세포의 밀도를 신속하게 증가시키고나서, 글루코스를 공급하여 지질을 축적시키는 과정은 지질이 생산되는 효율을 개선시킬 수 있다.

[0220] 지질 함량(건조 세포 중량%)을 증가시키는 또 다른 방법은 미세 조류에 대한 공급 원료로서 아세테이트를 사용하는 것을 포함한다. 아세테이트는 지방산 합성을 개시하는 대사 시점에 직접 공급되므로(즉, 아세틸-CoA로서 공급); 배양물 중에 아세테이트를 공급하면 지방산의 생산을 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 미생물은 미생물 지질 및/또는 지방산 수율을, 특히 아세테이트가 존재하지 않을 때의 수율에 비하여 증가시키기에 충분한 양만큼의 아세테이트의 존재 하에 배양된다. 아세테이트 공급물은 지질의 건조 세포 중량%가 높은 미세 조류 바이오매스를 생산하는 방법으로서 본원에 제공된 방법의 유용한 성분이다.

[0221] 다른 구체예에서, 지질 경로 효소(예를 들어, 지방산 합성 효소)에 대한 하나 이상의 보조 인자(들)의 존재 하에 지질 생산 미세 조류를 배양함으로써 지질의 수율은 증가한다. 일반적으로, 보조 인자(들)의 농도는 이 보조 인자(들)가 존재하지 않을 때의 미생물 지질의 수율에 비하여 미생물 지질(예를 들어, 지방산) 수율을 증가시키기에 충분하다. 특정 구체예에서, 보조 인자(들)는 보조 인자(들)를 분비하는 미생물을 배양물 중에 포함시키거나 또는 보조 인자(들)를 배양 배지에 첨가함으로써 배양물에 제공된다. 대안적으로, 미세 조류는 보조 인자의 합성에 관여하는 단백질을 암호화하는 외인성 유전자를 발현하도록 조작될 수 있다. 임의의 구체예에서, 적당한 보조 인자로서는 지질 경로 효소가 필요로 하는 임의의 비타민, 예를 들어 바이오틴 또는 판토텐에이트를 포함한다.

[0222] 미세 조류로부터 유래하는 고 지질 바이오매스는 이 미세 조류 바이오매스를 적은 양으로 첨가하더라도 동량의 지질을 식품 조성물에 포함시킬 수 있기 때문에, 상기 고 지질 바이오매스는 저 지질 바이오매스와 비교하였을 때 식료품 중에 포함되기에 유리한 물질이다. 고 지질 미세 조류로부터 유래하는 건강에 좋은 오일은 저 지질 바이오매스와 비교하였을 때 기타 속성, 예를 들어 질감 및 맛을 변질시키지 않으면서 식료품에 첨가될 수 있기 때문에, 상기 고 지질 바이오매스가 유리한 것이다. 본 발명의 방법에 의해 제공된, 지질이 풍부한 바이오매스는 전형적으로 적어도 25 건조 세포 중량%의 지질을 함유한다. 이와 같은 방법의 조건은 세포 즉 지질의 중량%를 증가시키도록 조절할 수 있다. 예를 들어, 임의의 구체예에서 미세 조류는 과량의 고정 탄소원, 예를 들어 글루코스를 제공하면서, 제한된 농도의 영양소, 예를 들어 질소, 인 또는 황이 하나 이상 존재하는 조건 하에서 배양된다. 질소를 제한하면 미생물 지질의 수율이 질소가 과량으로 공급된 배양물 중의 미생물 지질의 수율에 비하여 증가하는 경향이 있다. 특정 구체예에서, 지질 수율의 증가 수준은 적어도 약 10%, 적어도 약 50%, 적어도 약 100%, 적어도 약 200% 또는 적어도 약 500%이다. 미생물은 전체 배양 기간 중 특정 기간 동안이나 전체 기간 동안 제한된 양의 영양소가 존재하는 조건 하에서 배양될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 영양소의 농도는 전체 배양 기간 중에 제한 농도와 비제한 농도 사이를 적어도 2회 순환한다.

[0223] 정상 성장 단계에서, 세포는 오일을 축적하지만 세포 분열은 하지 않는다. 본 발명의 하나의 구체예에서, 성장 단계는 고정 질소원을 제외한 원 성장 배지의 모든 성분을 세포에 계속하여 공급함으로써 유지된다. 고정 질소원을 제외하고 원래부터 세포에 공급된 모든 영양소를, 예를 들어 장기간 동안 이 세포에 공급함으로써 미세 조류 세포를 배양하면 건조 세포 중량을 기준으로 한 지질의 백분율이 더욱 증가하게 된다.

[0224] 다른 구체예에서, 고 지질 바이오매스는 모든 고정 질소가 장기간(예를 들어, 적어도 1주일 또는 적어도 2주일) 동안 소모된 후에 고정 탄소원을 세포에 공급함으로써 생산된다. 몇몇 구체예에서는, 고정 탄소원이 존재하고

고정 질소원은 존재하지 않는 조건 하에서 20일 이상의 기간 동안 세포가 성장하면, 이 세포는 오일을 축적할 수 있게 된다. 본원에 개시된 조건 또는 당업계에 공지된 조건 하에서 성장한 미세 조류는 지질을 적어도 약 20 건조중량% 포함할 수 있고, 때로는 상기 지질을 35 건조중량%, 45 건조중량%, 55 건조중량%, 65 건조중량% 및 심지어 75 건조중량% 이상 포함할 수 있다. 그러므로, 미세 조류 지질 생산 결과 생산된 지질의 백분율(건조 세포 중량%)은 세포가 탄소를 소비하고 오일을 축적하되 세포 분열은 하지 않는 중속 영양 성장 상태로 세포를 유지시킴으로써 증가할 수 있다.

[0225] 조류로부터 유래하는 고 단백질 바이오매스는 식품에 첨가하기 유리한 또 다른 물질이다. 본 발명의 방법은 또한 단백질을 적어도 30 건조 세포 중량% 함유하는 바이오매스를 제공할 수도 있다. 성장 조건은 단백질인 세포의 중량%를 증가시키도록 조정할 수 있다. 바람직한 구체예에서, 미세 조류는 질소 풍부 환경 및 과량의 고정 탄소 에너지, 예를 들어 글루코스 또는 전술한 기타 탄소 공급원 중 임의의 것의 존재 하에서 배양된다. 질소가 과량으로 존재하는 조건은 미생물 단백질 수율을 질소가 과량으로 제공되지 않는 배양물 중 미생물 단백질 수율보다 증가시키는 경향이 있다. 단백질을 최대한으로 생산하기 위하여, 미생물은 전체 배양 기간 동안 과량의 질소가 존재하는 조건 하에서 배양되는 것이 바람직하다. 적당한 미생물 질소원은 유기 질소원 및/또는 무기 질소원으로부터 유래할 수 있다.

[0226] 유기 질소원은 1900년대 초반부터 미생물 배양물에 사용되어 왔다. 곰팡이로부터 페니실린을 생산함에 있어서는 유기 질소원, 예를 들어 옥수수 침지액을 사용하는 것이 일반화되어 있다. 연구자들은 배양 배지 중에 옥수수 침지액을 포함시키면 유기체 생장이 증가하며 또한 생산물(예를 들어, 페니실린)의 수율도 증가한다는 사실을 알게 되었다. 옥수수 침지액을 분석한 결과, 이것은 질소 및 비타민, 예를 들어 B-복합체 비타민, 리보플라빈 판토텐산, 니아신, 이노시톨 및 무기 영양소, 예를 들어 칼슘, 철, 마그네슘, 인 및 칼륨의 풍부한 공급원이라는 사실을 알 수 있었다(Liggett 및 Koffler, *Bacteriological Reviews* (1948);12(4): 297-311). 유기 질소 공급원, 예를 들어 옥수수 침지액은 효모, 박테리아, 진균 및 기타 미생물의 발효 배지 중에 사용되어 오고 있다. 유기 질소원의 비제한적 예로서는 효모 추출물, 펩톤, 옥수수 침지액 및 옥수수 침지 분말이 있다. 바람직한 무기 질소원의 비제한적인 예로서는, 예를 들어 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 및 NH_4OH 를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 하나의 구체예에서, 본 발명을 수행하기 위한 배양 배지는 무기 질소원만을 함유한다. 다른 구체예에서, 본 발명을 수행하기 위한 배양 배지는 유기 질소원만을 함유한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명을 수행하기 위한 배양 배지는 유기 및 무기 질소원의 혼합물을 함유한다.

[0227] 본 발명의 방법에 있어서, 생물 반응기 또는 발효조는 미세 조류의 생리적 사이클의 여러가지 단계를 거치게 만 들어 미세 조류 세포를 배양하는데 사용된다. 예를 들어, 지질 생산 미세 조류 세포 접종물이 배지에 포함되는 데; 이 경우, 이 미세 조류는 세포가 번식을 시작하기 전 단계인 유도기(유도 단계)에 있다. 유도기를 지나면, 번식율은 꾸준히 증가하여 대수기 또는 지수기에 돌입하게 된다. 지수기에 들어서면 영양소, 예를 들어 질소가 감소함으로 인해 번식이 느려지고, 독성 물질이 증가하며, 또한 퀴럼 센싱 기작(quorum sensing mechanism)이 진행된다. 이와 같이 번식이 느려진 후에는 번식이 아예 멈춰버리게 되고, 세포는 세포에 제공된 특정 환경에 따라서 정지 단계 또는 정지 성장 단계로 돌입하게 된다. 단백질 풍부 바이오매스를 얻기 위해서, 전형적으로 배양물은 지수 단계 말 동안 또는 그 직후에 수집한다. 지질 풍부 바이오매스를 얻기 위해서는 배양물은 전형적으로 지수 단계 말로부터 한참 지난 후에 수집하는데, 이때 지수 단계는 질소나 (탄소 이외의) 다른 중요 영양소를 고갈시켜 세포가 과량으로 존재하는 탄소원을 지질로 전환하도록 만들어 줌으로써 일찍 종결될 수 있다. 배양 조건 매개 변수는 총 오일 생산량, 생산된 지질 중의 조합 및/또는 특정 오일의 생산량을 최적화하도록 조작할 수 있다.

[0228] 중속 영양 성장 및 번식 방법에 사용하는 생물 반응기는 다수의 이점을 제공한다. 알 수 있는 바와 같이, 본원에 개시된 중속 영양 성장 및 번식 방법에 있어서 고정 탄소원을 사용할 때에는 광합성 성장법에서 세포가 빛을 이용할 수 있도록 만들 필요가 없다. 식품에 사용될 바이오매스를 생산하기 위해서, 미세 조류는 액체, 예를 들어 현탁 배양물 중에서 다량으로 발효시키는 것이 바람직하다. 생물 반응기, 예를 들어 강철 발효조(5000리터 들이, 10,000리터 들이, 40,000리터 들이 및 이보다 대용량의 발효조가 본 발명의 다양한 구체예에 사용됨)는 매우 대용량의 배양물을 수용할 수 있다. 생물 반응기는 또한 전형적으로 배양 조건, 예를 들어 온도, pH, 산소 분압 및 이산화탄소 수준을 제어할 수 있다. 예를 들어, 생물 반응기는 전형적으로 배관에 부착되어 있는 포트 를 사용하여 조건을 변경함으로써, 액체 배양물을 통해 기체상 성분, 예를 들어 산소 또는 질소가 기포를 형성할 수 있도록 만들 수 있다.

[0229] 생물 반응기는 미세 조류가 증식되어 그 수가 증가하는 동안의 시간을 통틀어서 배양 배지가 이 생물 반응기를

통과하여 흐르도록 배치될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 예를 들어 배지는 세포 접종 후이되 이 세포가 원하는 밀도에 도달하기 전에 생물 반응기에 주입될 수 있다. 다른 경우에서, 생물 반응기는 배양의 시작 단계에 있는 배양 배지로 채워지며, 배양물이 접종된 후에는 배양 배지만이 주입된다. 다시 말하면, 미세 조류 바이오매스는 미세 조류가 증식하여 그 수가 증가하는 시간 동안 수성 배지 중에서 배양되지만; 일정량의 수성 배양 배지는 이 시간 전반에 걸쳐서 생물 반응기를 통과하여 흐르는 것은 아니다. 그러므로, 몇몇 구체예에서 수성 배양 배지는 접종 후 생물 반응기를 통과하여 흐르지 않는다.

[0230] 장치, 예를 들어 스피닝 블레이드(spinning blade) 및 임펠러(impeller), 요동 기구(rocking mechanism), 교반 바, 가압 기체를 주입하는 수단이 장착된 생물 반응기를 사용하여, 미세 조류 배양물을 혼합할 수 있다. 혼합은 연속적이거나 간헐적일 수 있다. 예를 들어, 몇몇 구체예에서는 상기 미세 조류의 수가 원하는만큼 증가하게 될 때까지 미세 조류를 증식시키기 위해 가스 및 배지가 도입될 때의 양상인 난기류 양상을 유지시키지 않는다.

[0231] 상기 간단히 언급한 바와 같이, 생물 반응기에는 종종 예를 들어 미세 조류 배양물 중 기체 함량을 조작할 수 있는 다양한 포트가 장착된다. 예를 들어, 생물 반응기 내 내용물 중 일부는 액체보다는 기체일 수 있으며, 이 생물 반응기의 기체 유입구는 기체를 반응기로 펌핑할 수 있게 해준다. 생물 반응기로 유리하게 펌핑될 수 있는 기체로서는 공기, 공기/CO₂ 혼합 기체, 비활성 기체, 예를 들어 아르곤, 및 기타 기체를 포함한다. 생물 반응기는 전형적으로 사용자가, 기체가 생물 반응기로 도입되는 속도를 제어할 수 있도록 장치된다. 전술한 바와 같이, 생물 반응기로의 기체 유입량이 증가하면, 배양물이 더욱 잘 혼합될 수 있다.

[0232] 기체 유입량이 증가하면 배양물의 탁도에도 영향을 미친다. 수성 배양 배지가 존재하는 평선 아래에 기체 도입구를 배치해서, 생물 반응기로 유입되는 기체가 배양물 표면에 기포를 형성하게 만듦으로써 난기류가 형성될 수 있다. 하나 이상의 기체 배출구가 기체를 배출할 수 있도록 함으로써, 생물 반응기 내에 압력이 상승하는 것을 막을 수 있다. 바람직하게, 기체 배출구는 오염 미생물이 생물 반응기에 도입하는 것을 막아주는 “일방향(one-way)” 밸브로 이어진다.

[0233] 본원에 개시된 생물 반응기, 배양 조건 및 종속 영양 생장 및 번식 방법에 관한 구체예는 미생물 생장과 지질 및/또는 단백질 생산의 효율을 개선시키기에 적당한 임의의 방식으로 조합할 수 있다.

[0234] D. 발효후 미세 조류의 농축

[0235] 전술한 방법에 따라서 제조된 미세 조류 배양물은 발효 배지 중에 미세 조류 바이오매스를 생산한다. 식품 조성물로서 사용되는 바이오매스를 제조하기 위해서, 바이오매스를 발효 배지로부터 농축 또는 수집한다. 이 발효 배지로부터 미세 조류 바이오매스를 수집하는 시점에서 바이오매스는 수성 배양 배지 중에 현탁된, 대부분이 원상체인 세포를 포함한다. 바이오매스를 농축하기 위해서, 탈수 단계가 수행된다. 탈수 또는 농축은 발효액 또는 기타 액체 배지로부터 바이오매스를 분리하는 것을 말하는데, 이 때문에 이 과정을 고체-액체 분리 과정이라고도 부른다. 그러므로, 탈수 중 배양 배지는 (예를 들어, 바이오매스를 보유하고 있는 필터로부터 발효액을 배수함으로써) 바이오매스로부터 분리되거나, 또는 이 바이오매스가 배양 배지로부터 분리된다. 일반적인 탈수 방법으로는 원심 분리, 여과 및 물리적 압력을 사용하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 개별적으로 수행되거나 또는 임의의 방식으로 병행될 수 있다.

[0236] 원심 분리는 혼합물을 분리하는데 원심력을 사용하는 것을 포함한다. 원심 분리시에는 혼합물 성분의 밀도가 클수록 원심 분리 축으로부터 멀리 이동하는 반면에, 혼합물 성분의 밀도가 작을수록 원심 분리 축을 향하여 이동한다. 유효 중력을 증가시킴으로써(즉, 원심 분리 속도를 증가시킴으로써) 밀도가 큰 물질, 예를 들어 고체는 밀도가 작은 물질, 예를 들어 액체와 분리되므로, 밀도에 따라서 물질이 분리된다. 바이오매스 및 발효액 또는 기타 수용액의 원심 분리는 미세 조류 세포를 포함하는 농축 페이스트를 형성한다. 원심 분리는 세포 내 수분을 거의 제거하지 않는다. 실제로, 원심 분리후에는 바이오매스 중에 상당량의 표면 수분 또는 유리 수분이 여전히 존재할 수 있으므로(예를 들어, 70% 이상), 원심 분리는 건조 단계로 간주하여서는 안된다.

[0237] 여과는 탈수에 이용할 수도 있다. 본 발명에 적당한 여과의 일례로서는 십자류 여과(cross-flow filtration)이라고도 알려진 접선 흐름 여과(tangential flow filtration; TFF)가 있다. 접선 흐름 여과는 막 시스템과 유동력을 이용하여 액체로부터 고체를 분리하는 분리 기술이다. 적당한 여과 방법의 예에 관하여는 맥스셀 아게 테크놀로지스(MaxCell A/G Technologies) 0.45μm 중공 사막 필터를 사용하는 것에 관하여 개시되어 있는 문헌 [Geresh, Carb. Polym. 50; 183-189 (2002)]을 참조한다. 또한, 예를 들어 밀리포어 펠리콘(Millipore Pellicon)[®] 장치(100kD, 300kD, 1000kD(카탈로그 번호: P2C01MC01), 0.1μm(카탈로그 번호: P2VVPV01), 0.22μm(카탈로그 번호: P2GVPPV01), 및 0.45μm 막(카탈로그 번호: P2HVMPV01) 장착)도 사용할 수 있다. 농축물

은 필터를 거의 통과하지 않는 것이 바람직하며, 이 농축물 중에 존재하는 생산물은 필터 재료에 부착되지 않는 것이 바람직하다. TFF는 또한 중공 사막 여과 시스템을 사용하여 수행될 수도 있다. 공극 크기가 적어도 약 0.1 마이크로미터인 필터, 예를 들어 공극 크기가 약 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.2, 0.22, 0.45 또는 적어도 약 0.65 마이크로미터인 필터가 적당하다. TFF 공극의 크기는 발효액 중 용질 및 세포 조각이 통과할 수 있되, 미생물 세포는 통과하지 못하는 크기인 것이 바람직하다.

[0238] 탈수는 또한 바이오매스를 탈수시키기에는 충분하되, 세포는 거의 용해하지는 못할 만큼의 물리적 압력을 바이오매스에 직접 가하여, 미생물 바이오매스로부터 액체 발효액을 분리하도록 수행할 수도 있다. 미생물 바이오매스를 탈수하기 위한 물리적 압력은, 예를 들어 벨트 필터 프레스(belt filter press)를 사용하여 가하여질 수 있다. 이 벨트 필터 프레스는, 지름이 점점 작아지는 사문석 롤에 걸려있는 2개의 팽팽한 벨트 사이를 통과하는 슬러리(예를 들어, 발효조 또는 생물 반응기로부터 직접 취한 미생물 바이오매스)에 물리적 압력을 가하는 탈수 장치이다. 상기 벨트 필터 프레스는 실제로 3개의 대역으로 나눌 수 있다: 중력 대역(gravity zone)(배출 유리물/액체가 중력에 의하여 다공성 벨트를 통과해 배출되는 대역); 웨지 대역(wedge zone)(고체에 압력을 가할 준비를 하는 대역); 및 가압 대역(pressure zone)(중력에 의해 배출된 고체에 조절 가능한 압력을 가하는 대역).

[0239] 농축 후, 미세 조류 바이오매스를 이하에 기술된 바와 같이 가공하여 진공 포장된 케이크, 조류 플레이크, 조류 균질물, 조류 분말, 조류 가루 또는 조류 오일을 생산할 수 있다.

[0240] E. 미세 조류 바이오매스의 화학 조성물

[0241] 본원에 개시된 배양 방법에 의해 생산된 미세 조류 바이오매스는 미세 조류 오일 및/또는 단백질, 및 발효 중에 있는 배양 배지의 미생물에 의해 생산되었거나 미생물에 의해 포함된 기타 성분을 포함한다.

[0242] 오일/지질 축적%(건조중량%)가 높은 미세 조류 바이오매스는 당업계에 공지된 방법을 비롯한 상이한 배양 방법을 이용하여 생산된다. 본 발명에 따르면, 오일/지질의 축적%가 높은 미세 조류 바이오매스가 유용하다. 지질을 56.6 건조 세포 중량(DCW)%까지 함유하는 클로렐라 불가리스 배양물(고 농도의 철(Fe)을 이용하여 독립 영양 조건 하에서 성장한 정지기 배양물)에 관하여는 문헌[Li et al., *Bioresource Technology* 99(11):4717-22 (2008)]에 개시되어 있다. 질소 결핍 조건 하에 광생물 반응기 내에서 성장한 나노클로롭시스 sp.(*Nanochloropsis* sp.) 및 카에토세로스 칼시트란스(*Chaetoceros calcitrans*) 배양물(지질 함량은 각각 60 DCW% 및 39.8 DCW%임)에 관하여도 문헌[Rodolfi et al., *Biotechnology & Bioengineering* (2008)]에 개시되어 있다. 지질을 약 30DCW% 함유하는 파리에토클로리스 인사이스(*Parietochloris incise*) 배양물(광영양 및 저 질소 조건 하에서 성장함)에 관하여는 문헌[Solovchenko et al., *Journal of Applied Phycology* 20:245-251 (2008)]에 개시되어 있다. 클로렐라 프로토테코이데스는 질소 결핍 및 특정 종속 영양 조건 하에서 성장하였을 때 55DCW%까지의 지질을 생산할 수 있다(Miao 및 Wu, *Bioresource Technology* 97:841-846 (2006)). 기타 클로렐라 종, 예를 들어 클로렐라 에머소니, 클로렐라 소로키니아나 및 클로렐라 미뉴티시마는 저 질소 배지 조건 하에 교반 탱크 생물 반응기 내에서 성장할 때 오일을 63DCW%까지 축적하는 것으로 개시되어 있다(Illman et al., *Enzyme and Microbial Technology* 27:631-635 (2000)). 이보다 더 높은 DCW%의 지질을 생산하는 균주에 관하여도 보고된 바 있는데, 예를 들어 NaCl의 양이 증가한 조건 하에서 성장한 더말리엘라 터티올렉타(*Dumaliella tertiolecta*) 배양물의 경우에는 지질을 70% 축적하고(Takagi et al., *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101(3): 223-226 (2006)), 보트리오코커스 브라우니 배양물의 경우에는 지질을 75% 축적한다고 한다(Banerjee et al., *Critical Reviews in Biotechnology* 22(3): 245-279 (2002)).

[0243] 종속 성장 결과, 엽록소 함량은 (광영양 시스템, 예를 들어 개방된 연못이나 밀폐된 광 생물 반응기 시스템에 비하여) 비교적 낮아진다. 엽록소 함량이 낮아지면 일반적으로 미세 조류의 관능적 특성이 개선되므로, 식료품에 더 많은 조류 바이오매스(또는 이로부터 생산된 오일)가 포함될 수 있게 된다. 종속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류(예를 들어, 클로렐라)에서 엽록소의 함량이 감소하게 되면, 광영양 조건 하에서 성장한 미세 조류에 비하여 바이오매스 중 녹색 색소가 감소하게 된다. 그러므로 엽록소 함량이 줄어들면, 광영양 조건 하에서 성장한 미세 조류를 함유하는 식료품과 관련하여 종종 원치 않는 녹색으로 착색되는 것을 막을 수 있으며, 또한 이로써 식료품에 조류 바이오매스가 포함될 수 있도록 하거나 또는 이 식료품에 포함된 조류 바이오매스의 양이 증가할 수 있게 된다. 적어도 하나의 구체예에서, 식료품은 광영양 조건 하에서 성장한 미세 조류와 비교하였을 때 엽록소 함량이 감소한, 종속 영양 조건 하에서 성장한 미세 조류를 함유한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 가루의 엽록소 함량은 5ppm 미만, 2ppm 미만 또는 1ppm 미만이다.

[0244] 본원에 개시되어 있는 배양 방법으로 생산되었으며, 본 발명에 따라서 유용한 오일 풍부 미세 조류 바이오매스는 적어도 10DCW%의 미세 조류 오일을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 상기 미세 조류 바이오매스는 적어도

15DCW%, 25~35DCW%, 30~50DCW%, 50~55DCW%, 50~65DCW%, 54~62DCW%, 56~60DCW%, 적어도 75DCW% 또는 적어도 90DCW%의 미세 조류 오일을 포함한다.

[0245] 본원에 개시된 바이오매스의 미세 조류 오일(또는 이 바이오매스로부터 추출된 미세 조류 오일)은 하나 이상의 개별 지방산 에스테르 측쇄를 가지는 글리세로지질을 포함할 수 있다. 글리세로지질은 1개, 2개 또는 3개의 지방산 분자로 에스테르화되었으며, 길이와 포화도가 다양할 수 있는 글리세롤 분자로 이루어져 있다. 조류 오일의 특정 배합물은 단일 종의 조류 내에서 생산될 수 있거나, 아니면, 2가지 이상의 종의 미세 조류로부터 유래하는 바이오매스(또는 조류 오일)을 함께 혼합함으로써 생산될 수 있다.

[0246] 그러므로, 오일 조성물, 즉 글리세로지질 중 지방산 성분의 특성을 가지며 특정 비율만큼 이 지방산을 함유하는 오일 조성물은 또한 적어도 2개의 개별 미세 조류 종으로부터 유래하는 바이오매스(또는 오일)를 혼합함으로써 조작될 수도 있다. 몇몇 구체예에서, 적어도 2개의 개별 미세 조류 종은 글리세로지질의 프로필이 상이하다. 미세 조류의 개별 종은 바람직하게는 종속 영양 조건 하에서 본원에 개시된 바와 같이 함께 또는 별도로 배양되어 각각의 오일을 생산할 수 있다. 상이한 종의 미세 조류는 세포의 글리세로지질 내 개별 지방산 성분을 상이한 백분율로 함유할 수 있다.

[0247] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 오일은 주로 단일불포화 오일, 예를 들어 18:1 (올레인)오일(특히, 트리글리세라이드 형태)로 이루어져 있다. 몇몇 경우에서, 조류 오일은 적어도 20 중량%의 단일불포화 오일이다. 다양한 구체예에서, 조류 오일은 적어도 25 중량% 또는 부피%, 적어도 50 중량% 또는 부피%, 적어도 75 중량% 또는 부피% 이상의 단일불포화 오일, 예를 들어 18:1이다. 몇몇 구체예에서, 단일불포화 오일은 18:1, 16:1, 14:1 또는 12:1이다. 몇몇 경우에서, 조류 오일은 60~75%, 64~70% 또는 65~69%의 18:1 오일이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 오일은 에스테르화된 올레산 또는 에스테르화된 (특히 트리글리세라이드 형태의) 알파-리놀렌산을 적어도 10 중량% 또는 부피%, 적어도 20 중량% 또는 부피%, 적어도 25 중량% 또는 부피% 또는 적어도 50 중량% 또는 부피% 이상으로 포함한다. 적어도 하나의 구체예에서, 조류 오일은 10 중량% 또는 부피% 미만, 5 중량% 또는 부피% 미만, 3 중량% 또는 부피% 미만, 2 중량% 또는 부피% 미만 또는 1 중량% 또는 부피% 미만의 에스테르화된 (특히, 트리글리세라이드 형태의) 도코사헥산산(DHA)(22:6)을 포함하거나, 또는 실질적으로 이를 포함하지 않는다. 예를 들어, 크립테코디눔 코니에서 고함량 DHA 미세 조류를 생산하는 방법의 일례에 관하여는 미국 특허 제 7,252,979호, 제6,812,009호 및 제6,372,460호를 참조한다. 몇몇 구체예에서, 추출된 오일 또는 미세 조류 가루 중에 함유된 오일의 지질 프로필은 2% 미만이 14:0, 13~16%가 16:0, 1~4%가 18:0, 64~70%가 18:1, 10~16%가 18:2, 0.5~2.5%가 18:3이고, 2% 미만이 탄소 사슬 길이가 20 이상인 오일이다.

[0248] 고 단백질 미세 조류 바이오매스는 상이한 배양 방법을 이용하여 생산하였다. 단백질 함량이 높은 미세 조류 바이오매스가 본 발명에 유용하다. 예를 들어, 다양한 미세 조류 종의 단백질 함량에 관하여는 보고된 바 있다(문헌[Becker, *Biotechnology Advances* (2007) 25:207-210]의 표 1 참조). 테트라셀미스 수에시카(*Tetraselmis suecica*)의 반 연속 광독립 영양 배양물 중 갱신율(renewal rate)을 제어하면 세포 당 단백질 함량이 영향을 받는 것으로 보고된 바 있다(가장 높은 경우는 약 22.8% 단백질)(Fabregas, et al., *Marine Biotechnology* (2001) 3:256-263).

[0249] 본원에 개시되어 있으며, 고 단백질과 관련된 본 발명의 구체예에 따라서 유용한 배양 방법으로 생산된 미세 조류 바이오매스는 전형적으로 단백질을 적어도 30 건조 세포 중량% 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 40 건조 세포 중량%, 적어도 50 건조 세포 중량% 또는 75 건조 세포 중량% 이상의 단백질을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 30~75 건조 세포 중량%의 단백질 또는 40~60 건조 세포 중량%의 단백질을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 중 단백질은 적어도 40%의 소화성 조 단백질을 포함한다. 다른 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 중 단백질은 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90%의 소화성 조 단백질을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 중 단백질은 40~90%의 소화성 조 단백질, 50~80%의 소화성 조 단백질 또는 60~75% 소화성 조 단백질을 포함한다.

[0250] 미세 조류 바이오매스(및 이로부터 추출된 오일)는 또한 미세 조류에 의해 생산되었거나, 배양 배지로부터 유래하는 바이오매스에 포함된 기타 성분을 포함할 수도 있다. 이와 같은 기타 성분은 사용된 배양 조건과 미세 조류 종(그리고 실행 가능하다면 바이오매스로부터 미세 조류 오일을 회수하는데 사용된 추출 방법)에 따라서 여러 가지 양으로 존재할 수 있다. 일반적으로, 고 단백질 미세 조류 바이오매스 중 엽록소 함량은 고 지질 미세 조류 바이오매스 중 엽록소 함량보다 높다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 중 엽록소 함량은 200ppm 미만 또는 100ppm 미만이다. 기타 성분으로는 인지질(예를 들어, 조류 레시틴), 탄수화물, 가용성 및 불용성 섬유소, 당 단백질, 식물성 스테롤(예를 들어, β -시토스테롤, 캠페스테롤, 스티그마스테롤, 에르고스테롤 및

브라시카스테롤), 토코페롤, 토코트리에놀, 카로티노이드(예를 들어, α -카로틴, β -카로틴 및 라이코펜), 잔토필스(예를 들어, 루테인, 제아잔틴, α -크립토잔틴 및 β -크립토잔틴), 단백질, 다당류(예를 들어, 아라비노스, 만노스, 갈락토스, 6-메틸 갈락토스 및 글루코스), 그리고 다양한 유기 또는 무기 화합물(예를 들어, 셀레늄)을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0251] 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 10ppm의 셀레늄을 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 25%w/w의 조류 다당류를 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 15%w/w의 조류 당단백질을 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스 또는 이 바이오매스로부터 유래하는 오일은 0~200mcg/g, 0~115mcg/g 또는 50~115mcg/g의 전체 카로티노이드를 포함하며, 특정 구체예에서, 전체 카로티노이드 함량의 20~70mcg/g 또는 50~60mcg/g는 루테인이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 0.5%의 조류 인지질을 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스 또는 조류 바이오매스로부터 유래하는 오일은 적어도 0.10mg/g, 0.02~0.5mg/g 또는 0.05~0.3mg/g의 전체 토코트리에놀을 함유하며, 특정 구체예에서 0.05~0.25mg/g은 알파 토코트리에놀이다. 몇몇 경우에서, 바이오매스 또는 조류 바이오매스로부터 유래하는 오일은 0.125~0.35mg/g의 전체 토코트리에놀을 함유한다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스로부터 유래하는 오일은 적어도 5.0mg/100g, 1~8mg/100g, 2~6mg/100g 또는 3~5mg/100g의 전체 토코페롤을 함유하며, 특정 구체예에서 2~6mg/100g은 알파 토코페롤이다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스로부터 유래하는 오일은 5.0/100g 내지 10mg/100g의 토코페롤을 함유한다.

[0252] 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스의 기타 성분 조성물은 고 지질 바이오매스와 비교하였을 때 고 단백질 바이오매스라는 점에서 상이하다. 특정 구체예에서, 고 단백질 바이오매스는 100g당 0.18~0.79mg의 전체 토코페롤을 함유하고, 특정 구체예에서, 고 단백질 바이오매스는 약 0.01~0.03mg/g의 토코트리에놀을 함유한다. 몇몇 경우에서, 고 단백질 바이오매스는 또한 100g당 1~3g의 전체 스테롤을 함유하고, 특정 구체예에서 100g당 1.299~2.46g의 전체 스테롤을 함유한다. 클로렐라 프로토태코이데스 중 토코트리에놀 및 토코페롤 조성물에 관한 상세한 설명은 이하 실시예에 포함되어 있다.

[0253] 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 20~45 건조중량%의 탄수화물을 포함한다. 다른 구체예에서, 바이오매스는 25~40 건조중량% 또는 30~35 건조중량%의 탄수화물을 포함한다. 탄수화물은식이 섬유 및 유리당, 예를 들어 수크로스 및 글루코스일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 중 유리당은 1~10 건조중량%, 2~8 건조중량% 또는 3~6 건조중량%로 존재한다. 임의의 구체예에서, 유리당 성분은 수크로스를 포함한다.

[0254] 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 10%의 가용성 섬유소를 포함한다. 다른 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 20~25%의 가용성 섬유소를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 30%의 불용성 섬유소를 포함한다. 다른 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 50% 내지 적어도 70%의 불용성 섬유소를 포함한다. 전체 식이 섬유는 가용성 섬유소와 불용성 섬유소를 합한 것이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 40%의 전체 식이 섬유를 포함한다. 기타 구체예에서, 미세 조류 바이오매스는 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%의 전체 식이 섬유를 포함한다.

[0255] 하나의 구체예에서, 전체 섬유소 중 단당류의 함량(전체 탄수화물 - 유리당)은 아라미노스가 0.1~3%; 만노스가 5~15%; 갈락토스가 15~35%; 그리고 글루코스가 50~70%이다. 다른 구체예에서, 전체 섬유소 중 단당류의 함량은 아라비노스가 약 1~1.5%; 만노스가 약 10~12%; 갈락토스가 약 22~28%; 그리고 글루코스가 55~65%이다.

[0256] III. 미세 조류 바이오매스의 완제된 식품 성분으로의 가공

[0257] 본 발명의 방법에 따라서 생산된 농축 미세 조류 바이오매스 자체는 완제된 식품 성분으로서 추가의 개질 없이도, 아니면 최소한으로 개질하여 식량으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 케이크는 진공 포장되거나 동결될 수 있다. 대안적으로, 바이오매스는, 진공이 걸린 동결건조(freeze-drying) 챔버 내에서 바이오매스를 동결시키는 방법인, 동결 건조법(lyophilization), 즉 “동결건조” 방법을 통하여 건조할 수 있다. 동결건조 챔버에 진공을 걸어주면, 바이오매스로부터 물이 승화되며(1차 건조), 이후 탈착(2차 건조)된다. 그러나, 본 발명은 농축 미세 조류 바이오매스에 행하여질 수 있는 본 발명의 가공 방법에 의해 특성이 강화된, 다양한 미세 조류 유래 완제 식품 성분을 제공한다.

[0258] 대부분이 원상태거나 균질화된 형태를 가지는 미세 조류 바이오매스를 건조하면, 본원에 개시된 조성물을 추가로 가공하는 것을 촉진하거나 또는 본원에 개시된 방법에 바이오매스를 사용하는데 유리하다. 건조는 대부분이 원상태인 바이오매스로부터 유리 또는 표면 수분/물을 제거하는 것, 또는 (예를 들어, 미분화에 의해) 균질화된 바이오매스 슬러리로부터 표면 수분을 제거하는 것을 의미한다. 조류 바이오매스가 건조되었는지 여부에 따라서

(그렇다면, 어떤 건조 방법을 사용하였는지에 따라서) 식료품에 상이한 질감 및 풍미가 제공될 수 있다. 본원에 개시된 배양 미세 조류로부터 생산된 바이오매스를 건조하면, 완제된 식료품 또는 식품 성분의 원치않는 성분일 수 있는 수분이 제거된다. 몇몇 경우에서, 바이오매스를 건조하면 미세 조류 오일 추출 방법을 더욱 효율적으로 촉진할 수 있다.

[0259] 하나의 구체예에서, 농축된 미세 조류 바이오매스는 플레이크 형태가 되도록

[0260] 드럼 건조하여 조류 플레이크로 제조된다(본 섹션의 파트 A 참조). 다른 구체예에서, 농축된 미세 조류 바이오매스는 분사 건조 또는 플래쉬 건조되어(즉, 압축 공기에 의한 건조 방법으로 건조되어), 대부분이 원상태인 세포를 함유하는 분말을 형성하게 되고, 그 결과 조류 분말이 제조된다(본 섹션의 파트 B 참조). 다른 구체예에서, 농축된 미세 조류 바이오매스는 미분(균질화)되어 대부분이 용해된 세포인 균질물을 형성하며, 이후 상기 균질물은 분사 또는 플래쉬 건조되어 조류 가루로 제조된다(본 섹션의 파트 C 참조). 다른 구체예에서, 오일은 농축된 미세 조류 바이오매스로부터 추출되며, 그 결과 조류 오일이 생산된다(본 섹션의 파트 D 참조).

[0261] 몇몇 구체예에서, 가루, 플레이크 또는 분말의 건조 후 수분 함량은 15 중량% 이하, 10 중량% 이하, 5 중량% 이하, 또는 2~6 중량% 또는 3~5 중량%이다.

[0262] A. 조류 플레이크

[0263] 본 발명의 조류 플레이크는 가열된 회전 드럼의 표면에 필름의 형태로 도포된 농축 미세 조류 바이오매스로 제조된다. 이후 건조된 고체는 나이프나 블레이드로 긁어내지는데, 그 결과 작은 플레이크가 생성된다. 미국 특허 제6,607,900호에는 사전 원심 분리(농축) 단계를 거치지 않고 드럼 건조기를 사용하여 미세 조류 바이오매스를 건조하는 방법에 관하여 개시되어 있는데, 이러한 방법은 본 발명의 방법에 따라서 사용될 수 있다.

[0264] 바이오매스는 건조 과정 중에 고열에 노출될 수 있으므로, 건조하기 전에 이 바이오매스에 항산화제를 첨가하는 것이 유리할 수 있다. 항산화제를 첨가하면 건조 중 바이오매스를 보호하게 될 뿐만 아니라, 보관시 건조된 미세 조류 바이오매스의 유통 기한도 연장될 것이다. 바람직한 구체예에서, 항산화제는 후속 공정, 예를 들어 건조 또는 균질화를 수행하기 이전에 미세 조류 바이오매스에 첨가된다. 사용하기 적당한 항산화제에 관하여는 이하에 상세히 기술되어 있다.

[0265] 뿐만 아니라, 만일 탈수된 미세 조류 바이오매스를 생산하는 단계와 추후 가공 단계 사이의 시간 간격이 상당히 길다면, 건조를 수행하기 이전에 바이오매스를 저온 살균하는 것이 유리할 수 있다. 바이오매스를 생산하는 단계와 건조하는 단계 사이의 시간 간격이 상당히 길다면, 리파제로부터 유리 지방산이 생성될 수 있다. 바이오매스를 저온 살균하면, 이와 같은 리파제를 불활성화시키게 되고, 생성된 건조 바이오매스 제품에서 “비누” 향이 나는 것을 막을 수 있다. 그러므로 하나의 구체예에서, 본 발명은 저온 살균된 미세 조류 바이오매스를 제공한다. 다른 구체예에서, 저온 살균된 미세 조류 바이오매스는 조류 플레이크이다.

[0266] B. 조류 분말

[0267] 본 발명의 조류 분말(또는 미세 조류 분말)은 압축 공기 건조기 또는 분사 건조기를 사용하여 농축 미세 조류 바이오매스로 제조된다(예를 들어, 미국 특허 제6,372,460호 참조). 분사 건조기에 있어서, 액체 현탁액 중 물질은 미세한 수적 분산물의 형태로서 가열된 기류 중에 분사된다. 포집되어 있던 물질은 신속하게 건조되어 건조 분말이 생성된다. 몇몇 경우에서, 펄스 연소 건조기는 또한 최종 건조된 물질이 분말 질감을 내도록 만드는데 사용될 수도 있다. 다른 경우에서, 분사 건조법을 수행한 후 유동층 건조기를 병용하면, 건조 미생물 바이오매스가 최적의 조건을 갖추도록 만들 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제6,255,505호 참조). 대안으로서, 조류 분말 생산에 압축 공기 건조기도 사용할 수 있다. 압축 공기 건조기는 고온의 공기류에서 건조될 물질을 포집하여 비말 동반하게 된다. 이 물질이 고온의 공기 내에 포집될 때, 수분은 신속하게 제거된다. 이후, 건조된 물질은 다습한 공기로부터 분리되고, 이 다습한 공기는 추후 재순환되어 추가로 건조된다.

[0268] C. 조류 가루

[0269] 본 발명의 조류 가루는 물리적으로 용해되어 균질화된 후, 균질물 분사 건조 또는 플래쉬 건조되어(또는 다른 압축 공기 건조 시스템을 사용하여 건조되어) 분말 형태가 된, 농축 미세 조류 바이오매스로부터 제조된다. 조류 가루를 생산하는 경우 세포는 용해되어 자체의 오일을 방출하여야 하며, 또한 세포벽과 세포 내 성분은 미분되거나 적어도 입자 크기라도 감소하여야 한다. 균질화 직후에, 또는 실질적으로 이보다후에 측정된 입자의 평균 크기는 10 μ m 이하, 25 μ m 이하 또는 100 μ m 이하인 것이 바람직하다. 몇몇 구체예에서, 평균 입자 크기는 1~10 μ m, 1~15 μ m, 10~100 μ m 또는 1~40 μ m이다. 몇몇 구체예에서, 평균 입자 크기는 10 μ m 초과 및 100 μ m 이하이다. 몇

몇 구체예에서, 평균 입자 크기는 0.1~100 μ m이다.

[0270] 미분법에 관한 논의를 통하여 알 수 있는 바와 같이, 그리고 특히, 레이저 회절법(개별 입자보다는 입자 덩어리를 측정하는 방법)과 같은 기술에 의해 측정하였을 때, 입자의 평균 크기는 균질화가 수행된 직후, 또는 실질적으로 이보다 후(예를 들어, 2주 내)에 측정하여, 뭉침 현상으로 인해 입자 크기 측정 결과가 왜곡될 가능성을 없애거나 최소화하는 것이 바람직하다. 실제로, 균질화에 따른 예멸전은 일반적으로 물질의 입자 크기를 바꾸지 않고 냉장실 내에 적어도 2주 동안 보관할 수 있다. 입자 크기를 측정하는 몇 가지 기술, 예를 들어 레이저 회절법을 통해서는 개별 입자보다 입자 덩어리의 크기가 측정된다. 측정된 입자 덩어리의 평균 크기는 개별 입자보다 크다(예를 들어, 1~100마이크론). 수 중 분산된 미세 조류 가루를 광학 현미경으로 관찰한 결과, 개별 입자 및 입자 덩어리 둘 다를 확인할 수 있다(도 4 참조). (예를 들어, 핸드 블렌더(hand blender)를 사용하여) 충분히 배합함으로써 조류 가루를 수 중에 분산시키되, 원래의 균질화 방법을 반복 수행하지 않으면 덩어리는 분해될 수 있으며, 또한 레이저 회절법은 일반적으로 상기 분해된 덩어리의 평균 입자 크기가 10 μ m 이하임을 확인할 수 있다. 전자 현미경 사진으로 입자 크기를 자동으로 분석하는 소프트웨어가 시판되고 있으며, 이 소프트웨어는 입자 크기를 측정하는데도 사용될 수 있다. 다른 경우와 마찬가지로 이 경우에도, 평균 입자 크기는 예를 들어 평균, 기하학적 평균, 중앙값 또는 최빈치와 같이 당업계에서 평균치로서 인식되고 있는 임의의 측정값을 의미하는 것일 수 있다. 입자 크기는 당업계에 인식되고 있는 임의의 측정 기준, 예를 들어 입자의 최장 길이 또는 균등한 부피를 가지는 입자의 지름에 의해 측정될 수 있다. 입자는 전형적으로 그 형태가 구에 가까우므로, 이와 같은 측정 기준은 본질적으로 동일할 수 있다.

[0271] 균질화 이후, 생성된 오일, 물, 그리고 미분 입자는 유화되므로, 건조 전에 오일은 분산액으로부터 분리되지 않는다. 예를 들어, 가압 분쇄기는 제한된 오리피스 밸브를 통하여 세포 함유 슬러리를 펌핑함으로써 이 세포를 용해하는데 사용될 수 있다. 고압(1500bar 이하)을 적용한 후, 배출 노즐을 통해 바로 팽창시킨다. 세포 분쇄는 3가지 상이한 기작에 의해 수행될 수 있는데: 즉, 밸브 상 충돌(impingement), 오리피스 내 액체의 고전단 현상, 그리고 방출시 압력의 급강하로 인한 세포의 폭발(explosion)이 그것이다. 이 방법은 세포 내 분자를 방출한다. 니로(Niro)(니로 소아비 GEA(Niro Soavi GEA)) 균질화기(또는 기타 임의의 고압 균질화기)는, 세포를 길이가 대부분 0.2~5 마이크로인 입자로 가공하는데 사용될 수 있다. 고압(약 1000bar) 하에서 조류 바이오매스를 가공하면, 전형적으로 세포의 90% 이상이 용해되고, 이로써 입자 크기는 5 마이크로 미만으로 감소하게 되는 것이다.

[0272] 대안적으로, 볼 밀(ball mill)이 사용될 수 있다. 볼 밀의 경우, 세포는 작은 연마성 입자, 예를 들어 비드를 사용하여 현탁액 중에서 교반된다. 세포는 전단력, 비드 사이의 분쇄 및 비드와의 충돌로 인해 파괴된다. 이 비드는 세포를 파괴하여 세포 성분을 방출시킨다. 하나의 구체예에서, 조류 바이오매스는 다이노-밀 ECM 울트라(Dyno-mill ECM Ultra)(CB Mills) 볼 밀을 사용하여 파괴되고, 그 결과 안정한 예멸전이 생성된다. 세포는 또한, 예를 들어 배합(예를 들어, 고속 블렌더 또는 웨어링 블렌더(Waring blender) 사용), 프렌치 프레스, 또는 세포벽이 약한 경우에는 원심 분리법을 사용하여 전단력으로 세포를 파괴할 수 있다. 적당한 볼 밀에 관하여는 (예를 들어, 볼의 크기와 블레이드에 관한 세부 사항을 포함하고 있는) 미국 특허 제5,330,913호에 개시되어 있다.

[0273] 균질화에 의한 즉석 생성물은 그 크기가 오일 및 수 중에 현탁된 원래 세포의 크기보다 작은 입자의 슬러리이다. 상기 입자는 세포 조각을 나타낸다. 오일 및 물은 세포에 의해 방출된다. 부가의 물은 균질화 이전의 세포를 함유하는 수성 매질에 의해 부여될 수 있다. 입자는 미분된 균질물의 형태인 것이 바람직하다. 이를 그대로 방치하면, 작은 입자들 중 일부는 응집될 수 있다. 그러나, 작은 입자의 균일한 분산액은 미세 결정질의 안정화제, 예를 들어 미세 결정질의 셀룰로스로 시딩(seeding)함으로써 보존될 수 있다.

[0274] 조류 가루를 생산하기 위해서 슬러리를 분사 건조 또는 플래쉬 건조하면, 물이 제거되고, 그 결과 세포 조각과 오일을 함유하는 건조 분말 유사 물질이 생성된다. 비록 가루(즉, 분말 유사 물질과 같이 분쇄된 세포) 중 오일 함량은 적어도 10 건조 분말 중량%, 적어도 25 건조 분말 중량% 또는 적어도 50 건조 분말 중량%일 수 있지만, 이 분말의 감촉 및 외관은 유분기가 있기보다는 보송보송할 수 있으며(예를 들어, 비저블 오일이 겹쳐됨), 또한 진탕시 자유롭게 유동될 수도 있다. 다양한 유도체(실리카 유래 제품, 예를 들어 침전 실리카, 발연 실리카, 규산 칼슘 및 소듐 알루미늄 실리케이트 포함)도 첨가될 수 있다. 이와 같은 물질들을 고 지방, 흡습 또는 점성 분말에 첨가하면, 건조 및 포장 후 입자들이 케이크를 형성하는 것을 방지하고, 건조 분말이 자유롭게 유동하는 것을 촉진하며, 건조기 표면에 있는 물질이 달라붙는 것, 크기가 증가하는 것 그리고 산화되는 것을 감소시킬 수 있다. 모두 FDA 지정 최대 수준에서 식품에 사용 허가가 난 물질들이다. 건조 후, 분말 중 물 또는 수분 함량은 전형적으로 10 중량% 미만, 5 중량% 미만, 3 중량% 미만 또는 1 중량% 미만이다. 또 다른 건조기, 예를 들

어 압축 공기 건조기 또는 펄스 연소 건조기도 조류 가루를 생산하는데 사용될 수 있다.

[0275] 조류 가루의 오일 함량은 조류 바이오매스의 % 오일에 따라서 달라질 수 있다. 조류 가루는 오일 함량이 다양한 조류 바이오매스로부터 생산될 수 있다. 임의의 구체예에서, 조류 가루는 동일한 오일 함량을 가지는 조류 바이오매스로부터 생산된다. 다른 구체예에서, 조류 가루는 오일 함량이 상이한 조류 바이오매스로부터 생산된다. 후자의 경우, 오일 함량이 다양한 조류 바이오매스는 혼합된 후, 균질화 단계가 수행된다. 다른 구체예에서, 오일 함량이 다양한 조류 가루가 처음에 생산되고, 이후에는 다양한 비율로 배합되어 오일을 최종적으로 원하는 함량으로 함유하는 조류 가루 제품이 제조된다. 추가의 구체예에서, 지질 프로파일 상이한 조류 바이오매스는 함께 혼합된 후 균질화되어 조류 가루로 생산될 수 있다. 다른 구체예에서, 지질 프로파일 상이한 조류 가루가 처음에 생산된 후, 다양한 비율로 모두 배합되어, 최종적으로 원하는 지질 프로파일을 가지는 조류 가루 제품이 생산된다.

[0276] 본 발명의 조류 가루는 광 범위한 식품 제조에 유용하다. 오일 함량, 섬유소 함량 및 미분된 입자로 인하여, 조류 가루는 다기능 식품 성분이 될 수 있다. 조류 가루는 베이킹된 제품, 퀵 브레드(quick bread), 효모 도우 제품, 난제품, 드레싱, 소스, 영양 음료, 조류 우유, 파스타 및 글루텐 불포함 제품에 사용될 수 있다. 글루텐 불포함 제품은 조류 가루 및 기타 글루텐 불포함 제품, 예를 들어 아마란스 가루, 칩 가루, 메밀 가루, 쌀 가루, 이집트 콩 가루, 거친 옥수수 가루(cornmeal), 옥수수 가루(maize flour), 기장 가루, 감자 가루, 감자 전분 가루, 퀴노아 가루, 수수 가루, 대두 가루, 콩 가루, 헵과 가루, 타피오카(카사바) 가루, 테프 가루, 아티초크 가루, 아몬드 가루, 아콘 가루, 코코넛 가루, 밤 가루, 옥수수 가루(corn flour) 및 토란 가루를 사용하여 생산될 수 있다. 조류 가루는, 기타 글루텐 불포함 성분과 함께, 글루텐 불포함 식료품, 예를 들어 베이킹된 제품(케이크, 쿠키, 브라우니 및 케이크 유사 제품(예를 들어, 머핀), 빵, 씨리얼, 크래커 및 파스타를 제조하는데 유용하다. 조류 가루를 사용하여 이와 같은 식료품 등을 제조하는 방법에 관한 부연 설명은 이하 실시예에 기술되어 있다.

[0277] 조류 가루는 종래의 지방 공급원(예를 들어, 오일, 버터 또는 마가린) 및 계란 대신에 베이킹된 제품에 사용될 수 있다. 베이킹된 제품과 글루텐을 함유하지 않는 제품은 수분 함량이 높으며, 버터와 계란으로 만든 종래의 베이킹된 제품과 별 차이가 없는 장벽 구조(cumb structure)를 가진다. 수분 함량이 높기 때문에, 이러한 베이킹된 제품의 유통 기한은 길고, 조류 가루를 사용하지 않고 제조된 종래의 베이킹된 제품에 비해 원래의 질감을 더욱 오래 유지한다.

[0278] 식품의 수분 활성(Aw)은 제조된 식료품의 유통 기한이 지났는지 아닌지 여부에 대한 지표일 수 있다. 수분 활성(0~1)은 식료품에 존재하는 수분이 어떻게 효율적으로 화학 반응 또는 물리 반응에 참여할 수 있는지 여부를 측정하는 기준이 된다. Aw 스펙트럼을 나타내는 몇몇 통상 식품의 수분 활성은 다음과 같다: 신선한 과일/육류/우유(1.0~0.95); 치즈(0.95~0.90); 마가린(0.9~0.85); 너트 (0.75~0.65); 꿀(0.65~0.60); 염장육(0.85~0.80); 잼(0.8~0.75); 파스타(0.5); 쿠키(0.3); 그리고 건조 채소/크래커(0.2). 대부분의 박테리아는 수분 활성 0.91 미만에서는 성장하지 않을 것이다. 수분 활성 0.80 미만에서, 대부분의 곰팡이가 성장하지 못하며, 수분 활성 0.60 미만에서는 어떠한 미생물도 성장하지 못한다. 수분 활성을 측정함으로써, 잠재적인 부패원을 예측할 수 있다. 수분 활성은 또한, 식품의 색, 맛 그리고 향에 중요한 영향을 미칠 수 있는 식품 내 효소와 비타민의 활성을 측정하는데 중요한 역할을 할 수도 있다.

[0279] 조류 가루는 또한 스무디, 소스 또는 드레싱에 사용되는 지방 증량제로서의 역할도 할 수 있다. 조류 가루 조성물은 지방 함량이 높은 식료품에 필적할만한 관능적 특성과 구강 촉감을 부여하는 능력이 독특하다. 이는 또한 조류 가루가 질감 개질제로서의 역할을 하는 능력도 갖고 있음을 말해주는 것이다. 조류 가루로 만들어진 드레싱, 소스 및 음료는 지방/오일 수준이 대략 종래 식료품의 절반에 해당함에도 불구하고, 종래의 고 지방 레시피와 매우 유사한 불투명도 및 레올로지를 갖는다. 조류 가루는 또한 우수한 유화제로서, 농후도, 불투명도 및 점도를 필요로 하는 식품 제조물, 예를 들어 소스, 드레싱 및 스프에 사용하기 적당하다. 뿐만 아니라, 본원에 개시된 본 발명의 조류 가루에서 파악되는 지질 프로파일은, 트랜스 지방은 포함하지 않으며, 건강에 좋은 불포화 지방의 수준은 버터나 마가린(또는 기타 동물성 지방)에 비하여 높다는 것이다. 그러므로, 조류 가루로 제조된 제품은, 종래의 지방 공급원을 원료로 종래의 레시피를 사용하여 제조된 동일한 식료품의 관능적 특성 및 구강 촉감이 훼손되지 않으면서, 지방(건강에 좋은 지방) 함량은 감소할 수 있다. 관능 패널(sensory panel)로써 지방 함량이 저 지방 대조군과 동일한 조류 가루로 제조된 식료품을 평가하였다. 무지 대조군 및 전지 대조군도 테스트하였다. 도 6은 조류 가루의 지방 증량 특성을 나타내는 것이다. 조류 가루 제품은 전지 대조군과 비교하였을 때, 구체적으로, 농후도, 입안을 감싸는 느낌(mouthcoating) 및 타액 관능 카테고리(saliva sensory

category)와 융합되는 양상 면에서 유사하였다.

- [0280] 조류 가루는 또한, 전형적으로 식품 서비스 셋팅에 사용되는 분말 또는 액체 계란에 첨가될 수도 있다. 분말 난 제품과 조류 가루를 혼합하면, 그 자체는 분말인데, 이것을 전형적으로 식용 액체 또는 기타 식용 성분과 혼합한 후 조리하면 식료품을 형성할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 조류 가루는, 이후 분사 건조될 액체 제품과 혼합되어 분말 식품 성분(예를 들어, 분말 계란, 분말 소스 믹스, 분말 스프 믹스 등)으로 제조될 수 있다. 이와 같은 경우에서, 균질화 후이되 건조 전에 조류 가루와 액체 제품을 혼합해서 슬러리 또는 분산액을 만들고, 그 다음, 이 혼합물을 분사 건조하여 분말 식품 성분을 제조하는 것이 유리하다. 이와 같은 공동 건조 방법(co-drying process)은 건조된 형태의 2가지 성분을 혼합하는 방법과 비교하였을 때, 분말 식품 성분의 균질성을 증가시킬 것이다. 조류 가루를 첨가하면 분말형 및 액체형 계란의 외관, 질감 및 구강 촉감이 개선될 뿐만 아니라, 이와 같이 개선된 외관, 질감 및 구강 촉감은 시간이 경과함에 따라서, 심지어는 준비된 계란을 증기 테이블 상에 놓아두었을 때조차도 유지된다. 구체적인 제조 방법과 관능 패널 결과를 이하 실시예에 기술하였다.
- [0281] 조류 가루는 가루를 하나 이상의 식용 성분과 액체, 예를 들어 물과 혼합하여 재구성된 식료품을 제형화하는데 사용될 수도 있다. 재구성된 식료품은 음료, 드레싱(예를 들어, 샐러드 드레싱), 소스(예를 들어, 치즈 소스) 또는 중간 재료, 예를 들어 이후 베이킹될 수 있는 도우일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 추후 재구성된 식료품에 전단력이 가하여진다(예를 들어, 가압 분쇄 또는 균질화). 가루의 오일 함량이 높으면 재구성 과정에서 응집 현상을 일으킬 수 있기 때문에, 상기 과정은 완전된 제품 중 조류 가루의 입자 크기를 감소시키는 효과가 있다. 재구성된 식료품 중 바람직한 조류 가루 입자 크기는 평균적으로 1~15 마이크로미터이다.
- [0282] D. 조류 오일
- [0283] 하나의 측면에서, 본 발명은 GMP 조건 하에서 적어도 15 건조중량%의 오일을 포함하는 조류 바이오매스로부터 이 오일을 수집함으로써 조류 오일을 생산하는 방법에 관한 것인데, 여기에서 조류 오일은 50% 초과가 18:1 지질이다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 적어도 2가지의 미세 조류 개별 종의 혼합물을 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류의 개별 종들 중 적어도 2가지는 별도로 배양되었다. 적어도 하나의 구체예에서, 미세 조류의 개별 종들 중 적어도 2가지는 글리세로지질 프로필이 상이하다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 성장한 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류의 적어도 2가지의 개별 종들 전부는 적어도 15 건조중량%의 오일을 함유한다.
- [0284] 하나의 측면에서, 본 발명은 적어도 10 건조중량% 또는 적어도 15 건조중량%의 오일을 함유하는 조류 세포로부터 얻은 조류 오일과 하나 이상의 기타 식용 성분을 혼합하여, 식품 조성물을 생산하는 단계를 포함하는, 식품 조성물 제조 방법에 관한 것이다. 몇몇 경우에서, 상기 방법은 GMP 조건 하에서 조류 오일을 생산하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0285] 조류 오일은 (어떤 용도보다도) 식료품에 사용되는 용해 바이오매스로부터 분리될 수 있다. 오일 추출 이후 잔류하는 조류 바이오매스를 탈지 밀(delipidated meal)이라고 부른다. 탈지 밀은, 추출 전에 미세 조류에 함유되어 있던 오일의 건조 중량 또는 부피보다 낮은 건조 중량 또는 부피의 오일을 함유한다. 전형적으로, 오일의 50~90%가 추출되므로, 탈지 밀은, 예를 들어 추출 전 바이오매스에 함유되어 있던 오일 함량의 10~50%의 오일을 함유한다. 그러나, 이 바이오매스는, 단백질과 전술한 기타 구성 성분의 함량 면에서 여전히 영양소 수치가 높다. 그러므로, 탈지 밀은 동물 사료 또는 사람의 식품에 사용될 수 있다.
- [0286] 본 발명의 방법에 관한 몇몇 구체예에서, 조류 오일은 적어도 50%w/w의 올레산으로서, 5% 미만의 DHA를 함유한다. 본 발명의 방법에 관한 몇몇 구체예에서, 조류 오일은 적어도 50%w/w의 올레산으로서, 0.5% 미만의 DHA를 함유한다. 본 발명의 방법에 관한 몇몇 구체예에서, 조류 오일은 적어도 50%w/w의 올레산으로서, 글리세로지질(길이가 18 초과인 탄소 사슬 함유)을 5% 미만 함유한다. 몇몇 경우에서, 조류 오일이 유래되는 조류 세포는 적어도 2가지의 개별 미세 조류 종으로부터 얻어진 세포의 혼합물을 포함한다. 몇몇 경우에서, 미세 조류의 개별 종 중 적어도 2가지는 별도로 배양되었다. 적어도 하나의 구체예에서, 미세 조류의 개별 종 중 적어도 2가지는 글리세로지질의 프로필이 상이하다. 몇몇 경우에서, 조류 세포는 종속 영양 조건 하에서 배양된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류의 적어도 2가지의 개별 종들은 모두 적어도 10 건조중량% 또는 적어도 15 건조중량%의 오일을 함유한다.
- [0287] 하나의 측면에서, 본 발명은 적어도 50%의 단일불포화 오일을 함유하고, DHA를 1% 미만 함유하며, GMP 조건 하에서 제조된 조류 오일에 관한 것이다. 몇몇 경우에서, 단일불포화 오일은 18:1 지질이다. 몇몇 경우에서, 조류

오일은 오일의 단위 투여형을 전달하는 캡슐 내에 포장된다. 몇몇 경우에서, 조류 오일은 미세 조류의 개별 종들 중 적어도 2가지의 혼합물로부터 유래된다. 몇몇 경우에서, 미세 조류의 개별 종들 중 적어도 2가지는 별도로 배양되었다. 적어도 하나의 구체예에서, 미세 조류의 개별 종들 중 적어도 2가지의 글리세로지질 프로파일은 상이하다. 몇몇 경우에서, 조류 오일은 종속 영양 조건 하에서 배양된 조류 세포로부터 유래한다. 몇몇 구체예에서, 조류 오일은 이전 섹션(“미세 조류 바이오매스의 화학적 조성물”)에서 논의된 바와 같은 성분과 동일한 성분을 함유한다.

[0288] 하나의 측면에서, 본 발명은 60% 초과 18:1 지질, 및 적어도 0.20mg/g의 토크트리에놀을 포함하는 오일에 관한 것이다.

[0289] 하나의 측면에서, 본 발명은 60% 초과 18:1 에스테르(바람직하게는 트리글리세라이드)와, 적어도 0.20mg/g의 토크트리에놀을 포함하는 지방산 알킬 에스테르 조성물에 관한 것이다.

[0290] 본 발명의 조류 오일은 추출에 의해 농축 및 세정된 미세 조류 바이오매스로 제조된다. 이 바이오매스 중 세포는 추출 전에 용해된다. 선택적으로, 본 발명의 미세 조류 바이오매스는 용해(세포 파괴) 이전에 건조(오븐 건조 또는 동결 건조 등)될 수도 있다. 대안적으로, 세포는 발효가 종결되었을 때 발효액의 일부분 또는 전부로부터 분리하지 않고서 용해될 수 있다. 예를 들어, 세포가 용해될 때 이 세포에 있어서, 세포 대 세포의 액체의 비율은 1:1 v:v 미만일 수 있다.

[0291] 지질을 함유하는 미세 조류는 용해되어 용해물을 생산할 수 있다. 본원에 상세히 기술된 바와 같이, 미생물을 용해하는 단계(세포 용해 단계라고도 칭함)는 임의의 편리한 수단, 예를 들어 열 유도 용해법, 염기를 첨가하는 방법, 산을 첨가하는 방법, 프로테아제 및 아밀라제와 같은 다당류 분해 효소와 같은 효소, 사용하는 방법, 초음파를 사용하는 방법, 물리적 압력을 바탕으로 하는 용해법, 및 삼투압 충격을 이용한 용해법에 의해서 수행될 수 있다. 이와 같이 미생물을 용해하는 방법은 각각 하나의 방법으로서 수행될 수 있거나, 아니면 동시에 또는 연속으로 병행될 수 있다. 세포 파괴 정도는 현미경 분석법에 의해 관찰될 수 있다. 상기 방법 중 하나 이상의 방법을 사용하면, 전형적으로 70% 초과 90%의 세포가 파괴되는 것을 확인할 수 있다. 바람직하게, 세포는 80% 초과, 더욱 바람직하게는 90% 초과, 그리고 가장 바람직하게는 약 100%가 파괴된다.

[0292] 본 발명에 따라서 미세 조류에 의해 생산된 액체와 오일은 추출에 의해서 회수될 수 있다. 몇몇 경우에서, 추출은 유기 용매 또는 오일을 사용하여 수행될 수 있으며, 아니면 용매를 사용하지 않는 추출 방법을 사용하여 수행될 수 있다.

[0293] 미세 조류 오일의 유기 용매 추출법에 있어서, 바람직한 유기 용매는 헥산이다. 전형적으로, 유기 용매는 용해물 성분을 사전에 분리하지 않고서도 용해물에 직접 첨가된다. 하나의 구체예에서, 전술한 방법 중 하나 이상의 방법에 의해 생산된 용해물은 지질 성분이 유기 용매와 함께 용액을 생성할 수 있는 충분한 기간동안 유기 용매와 접촉하게 된다. 몇몇 경우에서, 용액을 추가로 정제함으로써 원하는 특정 지질 성분을 회수할 수 있다. 상기 혼합물을 여과한 다음, 헥산은, 예를 들어 순환 증발법(rotovaporation)에 의해 제거된다. 헥산 추출법에 관하여는 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Frenz et al., *Enzyme Microb. Technol.*, 11:717 (1989)]을 참조한다.

[0294] 미아오(Miao)와 우(Wu)는 클로렐라 프로토테코이데스 배양물로부터 미세 조류 지질을 회수하는 방법(세포를 원심 분리에 의해 수집하고, 증류수로 세정한 다음, 동결 건조법에 의해서 건조하는 방법)에 관하여 기술하고 있다. 생성된 세포 분말은 막자사발 내에서 분쇄된 후, n-헥산으로 추출된다(Miao 및 Wu, *Biosource Technology* 97:841-846 (2006)).

[0295] 몇몇 경우에서, 미세 조류 오일은 액화법(예를 들어, 문헌[Sawayama et al., *Biomass and Bioenergy* 17:33-39 (1999) 및 Inoue et al., *Biomass Bioenergy* 6(4):269-274 (1993)] 참조); 오일 액화법(예를 들어, 문헌[Minowa et al., *Fuel* 74(12):1735-1738 (1995)] 참조); 또는 초임계 CO₂ 추출법(예를 들어, 문헌[Mendes et al., *Inorganica Chimica Acta* 356:328-334 (2003)] 참조)을 이용하여 추출할 수 있다. 초임계 CO₂ 추출법에 의해 추출된 오일의 예에 관하여는 이하에 기술하였다. 초임계 CO₂ 추출법으로 추출된 조류 오일은 조류 바이오매스로부터 유래하는 스테롤 및 카로티노이드를 전부 함유하고, 천연의 조건에서는 추출 방법에 따라 인지질을 함유하지 않는다. 이 방법으로부터 유래한 잔류물은 본질적으로 오일은 함유하지 않지만, 예비 추출 조류 바이오매스의 단백질 및 탄수화물은 여전히 보유하는 탈지 조류 바이오매스를 포함한다. 그러므로, 잔류하는 탈지 조류 바이오매스는 조류 단백질 농축물/분리물을 생산하는데 사용되는 공급액 및 식이 섬유 공급원으로서 적당

하다.

[0296] 오일 추출법은 용해물 성분을 사전에 분리하지 않고 오일을 이 용해물에 직접 첨가하는 것을 포함한다. 오일이 첨가된 후, 용해물은 자발적으로 또는 원심 분리 등에 의하여 상이한 층으로 분리된다. 이 층들은 밀도가 작아지는 순서대로 포함될 수 있다(즉, 무거운 고체 펠릿, 수성 상, 에멀전 상 그리고 오일 상). 에멀전 상은 지질과 수성 상의 에멀전이다. 만일, 수성 매질이 일정 부피를 갖고 에멀전 상 및 오일 상 중 어느 하나 또는 둘 다와 관련된 기타 요인들이 존재한다면, 용해물에 대한 첨가 오일의 백분율(w/w 또는 v/v)에 따라서 원심 분리력이 생길 수 있다. 세포 용해물 또는 오일을 포함하는 에멀전상은 미생물에 의해 생산된 지질이 오일 층에서 가용화되어 이중 혼합물을 형성하는데 충분한 시간 동안 항온 처리 또는 처리된다.

[0297] 다양한 구체예에서, 추출 방법에서 사용된 오일은 대두, 평지씨, 카놀라, 야자, 야자 핵, 코코넛, 옥수수, 식물성 폐유, 중국 탈로(Chinese tallow), 올리브, 해바라기, 목화 씨, 튀김 닭의 지방, 우지, 돈지, 미세 조류, 대형 조류, 쿠파아, 아마, 땅콩, 초이스 화이트 그리즈(choice white grease)(라드), 양 구슬 냉이, 겨자 씨, 캐슈넛, 귀리, 루핀, 양마, 금잔화, 삼, 커피, 아마씨, 헤이즐넛, 등대풀, 호박씨, 고수, 동백, 참깨, 잇꽃, 쌀, 유동, 코코아, 코프라, 양귀비, 아주까리, 피칸, 호호바, 자트로파, 마카다미아, 브라질 너트 및 아보카도에서 유래된 오일로 이루어진 군으로부터 선택된다. 용해물에 첨가된 오일의 양은 전형적으로, 오일과 혼합되는 용해물의 5% 초과(v/v 및/또는 w/w으로 측정됨)이다. 그러므로, 오일의 바람직한 v/v 또는 w/w는 세포 용해물의 5% 초과, 10% 초과, 20% 초과, 25% 초과, 50% 초과, 70% 초과, 90% 초과 또는 적어도 95%이다.

[0298] 용해물을 냉각함으로써 유기 용매 또는 오일을 거의 사용하지 않거나 약간만 사용하는, 용매 비 사용 추출 방법을 통하여 용해물로부터 지질을 추출할 수도 있다. 특히, 온도가 실온과 65℃ 사이라면, 초음파 처리법도 사용할 수 있다. 원심 분리 또는 침강법을 통해 얻어진 용해물은 여러 층으로 분리될 수 있는데, 이 층 중 하나는 수성 지질 층이다. 다른 층들은 고체 펠릿, 수성층 및 지질층을 포함할 수 있다. 지질은, 에멀전을 동결해동시키거나 또는 냉각시킴으로써 에멀전층으로부터 추출될 수 있다. 이와 같은 방법에서, 임의의 유기 용매 또는 오일을 첨가할 필요는 없다. 만일 임의의 용매나 오일이 첨가되면, 이는 용해물의 5%v/v 또는 %w/w 미만일 수 있다.

[0299] **IV. 미세 조류 바이오매스 또는 이로부터 유래하는 물질을 기타 식품 성분들과 혼합하는 방법**

[0300] 하나의 측면에서, 본 발명은 적어도 0.1%w/w의 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 조성물에 관한 것으로서, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 적어도 10 건조중량%의 오일을 포함하고, 선택적으로 상기 오일의 적어도 90%는 글리세로지질이다. 몇몇 구체예에서, 조류 바이오매스는 적어도 25 건조중량%, 적어도 40 건조중량%, 적어도 50 건조중량% 또는 적어도 60 건조중량%의 오일을 함유한다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 10~90 건조중량%, 25~75 건조중량%, 40~75 건조중량% 또는 50~70 건조중량%의 오일을 함유하는데, 선택적으로 상기 오일의 적어도 90%는 글리세로지질이다. 적어도 하나의 구체예에서, 오일의 적어도 50 중량%는 단일불포화 글리세로지질 오일이다. 몇몇 경우에서, 오일의 적어도 50 중량%는 글리세로지질 형태인 18:1 지질이다. 몇몇 경우에서, 오일의 5 중량% 미만은 도코사헥산산(DHA)(22:6)이다. 적어도 하나의 구체예에서, 오일의 1 중량% 미만은 DHA이다. 다중 불포화 지방산(PUFA) 수준이 낮은 조류 지질 함유물은 바이오매스의 화학적 안정성을 보장하기에 바람직하다. 바람직한 구체예에서, 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 성장하며, 녹색 색소 침착은 감소하였다. 다른 구체예에서, 미세 조류는 색소 침착이 일어나지 않거나 그 정도가 줄어든 색 돌연변이체다.

[0301] 다른 측면에 의하면, 본 발명은 적어도 0.1%w/w의 조류 바이오매스와 하나 이상의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 조성물에 관한 것으로서, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 적어도 30 건조중량%의 단백질, 적어도 40 건조중량%의 단백질, 적어도 45 건조중량%의 단백질, 적어도 50 건조중량%의 단백질, 적어도 55 건조중량%의 단백질, 적어도 60 건조중량%의 단백질 또는 적어도 75 건조중량%의 단백질을 포함한다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 30~75 건조중량% 또는 40~60 건조중량%의 단백질을 함유한다. 몇몇 구체예에서, 조류 단백질의 적어도 40%가 소화성이거나, 조류 단백질의 적어도 50%가 소화성이거나, 조류 단백질의 적어도 60%가 소화성이거나, 조류 단백질의 적어도 70%가 소화성이거나, 조류 단백질의 적어도 80%가 소화성이거나, 또는 조류 단백질의 적어도 90%가 소화성이다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 종속 영양 조건 하에서 성장한다. 적어도 하나의 구체예에서, 조류 바이오매스는 질소 풍부 조건 하에서 성장한다. 다른 구체예에서, 미세 조류는 색소 침착이 일어나지 않거나 그 정도가 줄어든 색 돌연변이체다.

[0302] 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 대부분이 원상태인 세포를 포함한다. 몇몇 구체예에서, 식품 조성물은 대부분 또는 전부가 바이오매스의 세포 내에 캡슐화된 오일을 포함한다. 몇몇 경우에서, 식품 조성물은 대부분이 원

상태인 미세 조류 세포를 포함한다. 몇몇 경우에서, 조류 오일은 대부분이 바이오매스의 세포 내에 캡슐화되어 있다. 다른 경우에서, 바이오매스는 대부분이 용해된 세포(예를 들어, 균질물)를 포함한다. 전술한 바와 같이, 이와 같은 균질물은 슬러리, 플레이크, 분말 또는 가루로 제공될 수 있다.

[0303] 본 발명의 식품 조성물에 관한 몇몇 구체예에서, 조류 바이오매스는 적어도 10ppm의 셀레늄을 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 15%w/w의 조류 다당류를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 5%w/w의 조류 당단백질을 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 0~115mcg/g의 전체 카로티노이드를 포함한다. 몇몇 경우에서, 바이오매스는 적어도 0.5%w/w의 조류 인지질을 포함한다. 모든 경우에서, 전술한 바와 같이, 상기 성분들은 진정 세포 성분으로서 세포 외 성분이 아니다.

[0304] 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물의 조류 바이오매스는 항산화제의 성질을 가지는 성분을 함유한다. 강력한 항산화제 성질은 조류 바이오매스 내에 존재하는 다수의 항산화제에 의해 부여되는 것인데, 이와 같은 항산화제로서는 카로티노이드, 필수 미네랄, 예를 들어 아연, 구리, 마그네슘, 칼슘 및 망간을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 조류 바이오매스는 또한 기타 항산화제, 예를 들어 토코트리에놀 및 토코페롤을 함유하는 것으로 파악되었다. 이와 같은 비타민 E군의 일원은 중요한 항산화제로서, 기타 건강상의 이익, 예를 들어 뇌졸중으로 인한 손상에 대한 보호 효과, 동맥 폐색증의 역전, 유방암 및 전립선 암 세포의 생장 억제, 콜레스테롤 수치의 감소, 제II형 당뇨병 발병 위험의 감소 및 녹내장성 손상에 대한 보호 효과를 제공한다. 토코트리에놀 및 토코페롤의 천연 공급원은 야자, 해바라기, 옥수수, 대두 및 올리브 오일로부터 생산되는 오일 중에서 찾아볼 수 있으나, 본원에 제공된 조성물의 토코트리에놀 수준은 상기 공지된 물질의 경우에 비하여 상당히 높다.

[0305] 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 적어도 5mg/100g, 적어도 7mg/100g 또는 적어도 8mg/100g의 전체 토코페롤을 포함하는 조류 오일을 함유한다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 적어도 0.15mg/g, 적어도 0.20mg/g 또는 적어도 0.25mg/g의 전체 토코트리에놀을 포함하는 조류 오일을 함유한다.

[0306] 전술한 조성물 및/또는 방법에 관한 특정 구체예에서, 미세 조류는 카로티노이드를 생산할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류에 의해 생산된 카로티노이드는 미세 조류에 의해 생산된 지질 또는 오일과 공동으로 추출될 수 있다(즉, 오일 또는 지질은 카로티노이드를 함유할 것이다). 몇몇 구체예에서, 미세 조류에 의해 생산된 카로티노이드는 잔토필이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류에 의해 생산된 카로티노이드는 카로틴이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류에 의해 생산된 카로티노이드는 카로틴과 잔토필의 혼합물이다. 다양한 구체예에서, 미세 조류에 의해 생산된 카로티노이드는 아스타잔틴, 루테인, 제아잔틴, 알파-카로틴, 트랜스-베타 카로틴, cis-베타 카로틴, 라이코펜 및 이의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 카로티노이드를 포함한다. 클로렐라 프로토테코이데스로부터 유래하는 오일의 카로티노이드 프로파일의 비제한적인 예에 관하여는 이하 실시예에 기술되어 있다.

[0307] 본 발명의 식품 조성물에 관한 몇몇 구체예에서, 조류 바이오매스는 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 배양 및 건조된 조류로부터 유래한다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 하나 이상의 기타 식용 성분, 예를 들어 곡물, 과일, 채소, 단백질, 지질, 허브 및/또는 향신료 성분(이에 한정되는 것은 아님)과 혼합된다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물로서는 샐러드 드레싱, 난제품, 베이킹된 제품, 빵, 바, 파스타, 소스, 스프 드링크, 음료, 냉동 디저트, 버터 또는 스프레드가 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 식품 조성물은 알약 또는 분말이 아니다. 몇몇 경우에서, 본 발명에 의한 식품 조성물의 중량은 적어도 50g 또는 적어도 100g이다.

[0308] 바이오매스는 하나 이상의 기타 식용 성분과 혼합되어, 식료품으로 제조될 수 있다. 상기 바이오매스는 단일 조류 공급원(예를 들어, 균주) 또는 다수의 공급원(예를 들어, 상이한 균주)으로부터의 조류 바이오매스에서 유래할 수 있다. 바이오매스는 또한 조성 프로파일 상이한 단일 종의 조류로부터 유래할 수도 있다. 예를 들어, 제조자는 완제된 식료품 중 오일 함량 및 단백질 함량이 원하는 수준으로 정확하게 도달할 때까지 오일 함량이 높은 미세 조류와 단백질 함량이 높은 미세 조류를 배합할 수 있다. 식품 제조자가 이와 같은 조합 과정을 수행함으로써, 완제된 제품을 소매로 판매하거나 식품 서비스용으로 사용되도록 만들 수 있다. 대안적으로, 제조자는 예를 들어 종래의 레시피를 수정함으로써, 조류 바이오매스를 하나의 제품으로서 판매할 수 있으며, 소비자는 이 조류 바이오매스를 식료품에 포함할 수 있다. 상기 두 가지 경우 중 어느 하나의 경우에서, 조류 바이오매스는 전형적으로 다수의 종래 식료품에 사용되는 오일, 지방 또는 계란 등의 전부 또는 일부를 대체하는 데 사용된다.

[0309] 하나의 측면에서, 본 발명은 적어도 0.1%w/w의 조류 바이오매스와, 하나 이상의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 조성물에 관한 것으로서, 여기에서 상기 조류 바이오매스는 적어도 40 건조중량%의 단백질을 함유하는 조류 바이오매스와, 40 건조중량%의 지질을 함유하는 조류 바이오매스를 배합하여, 원하는 건조중량%의 단백질과 지

질로 이루어진 배합물이 생산되도록 제형화된다. 몇몇 구체예에서, 바이오매스는 동일한 조류 균주로부터 유래한다. 대안적으로, 1% 미만의 지질(DHA)을 함유하는 지질을 적어도 40 건조중량% 함유하는 조류 바이오매스는, 적어도 5%의 지질(DHA)을 함유하는 지질을 적어도 20 건조중량% 함유하는 조류 바이오매스와 배합되어, 적어도 10 건조중량%의 지질과 1 건조중량%의 DHA를 함유하는 건조 바이오매스의 배합물(응집체 형)로 제조된다.

[0310] 하나의 측면에서, 본 발명은 조류 배양물을 GMP 조건 하에서 건조하여, 적어도 15 건조중량%의 오일을 포함하는 조류 바이오매스를 제공하는, 조류 바이오매스 제조 방법에 관한 것으로서, 여기에서 상기 조류 오일은 50% 초과가 단일불포화 지질이다.

[0311] 하나의 측면에서, 본 발명은 GMP 조건 하에서 제조된, 적어도 15 건조중량%의 오일 함유 조류 바이오매스에 관한 것으로서, 여기에서 상기 조류 오일 중 50% 초과는 18:1 지질이다. 하나의 측면에서, 본 발명은 GMP 조건 하에서 제조된 오일을 적어도 40 건조중량% 함유하는 조류 바이오매스에 관한 것이다. 하나의 측면에서, 본 발명은 GMP 조건 하에서 제조된 오일을 적어도 55 건조중량% 함유하는 조류 바이오매스에 관한 것이다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 정제로 포장되어 바이오매스의 단위 투여형으로서 전달된다. 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 조류 바이오매스와 기타 식용 성분을 혼합하는 것에 관한 지시 사항이 제공되는 라벨이 부착된 채로 포장되거나, 아니면 이 라벨을 별도로 포함하여 포장된다.

[0312] 하나의 측면에서, 본 발명은 전술한 바와 같이, 미세 조류 바이오매스 및/또는 이 미세 조류 바이오매스로부터 유래하는 물질을 이하에 기술한 바와 같이 적어도 하나의 기타 완제된 식품 성분과 혼합하여 식품 조성물 또는 식량을 형성하는 방법에 관한 것이다. 다양한 구체예에서, 본 발명의 방법에 의하여 제조된 식품 조성물로서는 난제품(분말형 또는 액체형), 파스타 제품, 드레싱 제품, 마요네즈 제품, 케이크 제품, 빵 제품, 에너지 바, 유제품, 주스 제품, 스프레드 또는 스무디를 포함한다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 알약 또는 분말이 아니다. 다양한 구체예에서, 본 발명의 식품 조성물의 중량은 적어도 10g, 적어도 25g, 적어도 50g, 적어도 100g, 적어도 250g 또는 적어도 500g 이상이다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류 바이오매스 및/또는 이 미세 조류 바이오매스로부터 유래하는 제품을 혼합하여 제조된 식품 조성물은 미조리 제품이다. 다른 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 조리된 제품이다.

[0313] 다른 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 조리된 제품이다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 조류 바이오매스에 의해 제공되는 오일을 제외한 오일 또는 지방을 25 중량% 미만으로 함유한다. 포화 트리글리세라이드(TAG 또는 트랜스 지방) 형태의 지방은, 마가린과 같은 스프레드를 제조할 때 진행되는 바와 같이, 식물성 오일이 수소화될 때 제조된다. 조류 바이오매스 중에 함유된 지방에는 트랜스 지방이 함유되어 있지 않다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 오일을 제외한 오일 또는 지방을 10 중량% 미만으로 함유한다. 적어도 하나의 구체예에서, 본 발명의 식품 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 오일을 제외한 오일 또는 지방을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 오일 이외의 오일을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 계란 또는 난제품을 함유하지 않는다.

[0314] 하나의 측면에서, 본 발명은 식품 조성물을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 여기에서 종래의 식료품 중에 존재하는 지방 또는 오일은 적어도 10 중량%의 오일을 함유하는 조류 바이오매스로 완전히 또는 부분적으로 대체된다. 하나의 구체예에서, 상기 방법은 바이오매스 중에 함유된 조류 오일의 비율과 종래의 식료품 중에 함유된 오일 또는 지방 양을 이용하여, 대체용 조류 바이오매스의 양을 측정하는 단계, 및 이 조류 바이오매스와 종래의 식료품 중에 함유된 오일 또는 지방의 양보다 적은 양의 적어도 하나의 기타 식용 성분을 혼합하여 식품 조성물을 생산하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에서, 적어도 하나의 기타 성분과 혼합된 조류 바이오매스의 양은, 종래의 식료품 중에 함유된 오일 및/또는 지방의 질량 또는 부피의 1~4배이다.

[0315] 몇몇 구체예에서, 전술한 방법은 오일 또는 지방과 혼합된 적어도 하나의 기타 식용 성분을 함유하는 종래의 식료품에 대한 레시피를 제공하는 단계, 그리고 상기과 같이 1~4배의 질량 또는 부피를 가지는 조류 바이오매스를 종래의 식료품 중에 함유된 지방 또는 오일의 질량 또는 부피만큼의 적어도 하나의 다른 식용 성분과 혼합하는 단계를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 방법은 GMP 조건 하에서 조류 바이오매스를 제조하는 단계를 추가로 포함한다.

[0316] 몇몇 경우에서, 미세 조류 바이오매스 및/또는 이 미세 조류 바이오매스로부터 유래하는 제품을 혼합하여 생산된 식품 조성물은 적어도 0.1%w/w 또는 %v/v, 적어도 0.5%w/w 또는 %v/v, 적어도 1%w/w 또는 %v/v, 적어도 5%w/w 또는 %v/v, 적어도 10%w/w 또는 %v/v, 적어도 25%w/w 또는 %v/v 또는 적어도 50%w/w 또는 %v/v의 미세 조류 바이오매스 또는 미세 조류 오일을 포함한다. 몇몇 구체예에서, 본원에 개시된 바와 같이 제조된 식품 조

성물은 미세 조류 바이오매스 또는 이 미세 조류 바이오매스로부터 유래하는 제품을 적어도 2%w/w, 적어도 5%w/w, 적어도 10%w/w, 적어도 25%w/w, 적어도 50%w/w, 적어도 75%w/w, 적어도 90%w/w 또는 적어도 95%w/w 포함한다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 5~50 중량% 또는 부피% 또는 10~40 중량% 또는 부피% 또는 15~35 중량% 또는 부피%의 조류 바이오매스 또는 이 조류 바이오매스로부터 유래하는 제품을 포함한다.

[0317] 전술한 바와 같이, 미세 조류 바이오매스는 전형적으로 식료품 중에 포함되는 기타 성분을 대신할 수 있다. 몇몇 구체예에서, 본 발명의 식품 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일 또는 미세 조류 공급원으로부터 유래하는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 50 중량% 미만, 40 중량% 미만 또는 30 중량% 미만 함유한다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일 또는 미세 조류 공급원으로부터 유래하는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 25 중량% 미만, 20 중량% 미만, 15 중량% 미만, 10 중량% 미만 또는 5 중량% 미만 함유한다. 적어도 하나의 구체예에서, 본 발명의 식품 조성물은 바이오매스에 의해 제공되는 미세 조류 오일 또는 미세 조류 공급원으로부터 유래하는 미세 조류 오일을 제외한 오일 또는 지방을 함유하지 않는다. 몇몇 경우에서, 본 발명의 식품 조성물은 계란, 버터, 또는 필적할만한 종래의 식료품에 보통 포함되는 기타 지방/오일 또는 적어도 하나의 기타 성분을 함유하지 않는다. 일부 식료품은 유제품(예를 들어, 버터, 크림 및/또는 치즈)을 함유하지 않는다.

[0318] 식품 조성물을 제조하는데 사용되는 조류 바이오매스의 양은, 종래 식료품 중 대체될 비조류 오일, 지방, 계란 등의 양과, 조류 바이오매스 중에 함유된 오일의 백분율에 의존적이다. 그러므로, 적어도 하나의 구체예에서, 본 발명의 방법은 바이오매스 중 일정 비율의 오일로부터 유래하는 적어도 하나의 기타 식용 성분, 그리고 종래의 식료품 중 적어도 하나의 기타 식용 성분과 보통 혼합되는, 일정 비율의 오일 및/또는 지방과 혼합될 조류 바이오매스의 양을 측정하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 만일 조류 바이오매스가 50%w/w 미세 조류 오일이면, 종래 레시피 중에 함유된 오일 또는 지방을 완전히 대체하는 것이 바람직하며, 이후 오일은 예를 들어 2:1의 비율로 대체될 수 있다. 상기 비율은 질량에 의해 측정될 수 있는데, 편의상 계량컵이나 계량 스푼을 이용하여 부피를 측정하는 것이 더욱 용이하며, 상기 대체 과정은 부피를 기준으로 이루어질 수 있다. 일반적인 경우에서, 대체될 오일 또는 지방의 부피 또는 질량은 조류 바이오매스의 (100/100-X) 부피 또는 질량(여기에서, X는 바이오매스 중 미세 조류 오일의 백분율임)을 기준으로 하여 대체된다. 비록 전부를 대체할 필요는 없으며, 원하는 비율만큼의 오일 및/또는 지방은 포함시키고 나머지는 맛과 영양상 요구에 따라서 대체되기도 하지만, 일반적으로는 종래의 레시피에서 대체될 오일 및 지방은 조류 바이오매스로 전부 대체될 수 있다. 조류 바이오매스는 유화제의 역할을 하는 단백질과 인지질을 함유하므로, 계란과 같은 식품은 전체적으로나 부분적으로 조류 바이오매스로 대체될 수 있다. 만일 계란이 전체적으로 바이오매스로 대체되면, 때때로 부가의 유화제(들) 및/또는 부가의 물 또는 기타 액체(들)를 사용하여 식품 조성물의 유화 특성을 증가시킴으로써, 상기 계란에 의해 제공되었던 성분들의 손실을 보상하는 것이 바람직하거나 또는 이러한 것이 필요하다. 계란은 모두 지방으로 이루어진 것은 아니므로, 계란을 대체할 바이오매스의 양은 순수한 오일이나 지방을 대체하는 성분의 양보다 적을 수 있다. 계란의 평균 중량은 약 58g이며, 이는 약 11.2%의 지방을 포함한다. 그러므로, 50 중량%의 미세 조류 오일을 포함하는 조류 바이오매스 약 13g은 전체 계란 중 지방 성분 전부를 대체하는데 사용될 수 있다. 식료품 중 계란 성분 전부 또는 일부를 대체하면 콜레스테롤을 감소시킬 수 있다는 부가의 이점이 있다.

[0319] 간단히 말해서, 대체율을 일정 질량 또는 일정 부피의 바이오매스로 대체되는 오일, 지방 및/또는 계란의 질량 또는 부피로 환산하여 제공할 수도 있다. 몇몇 방법에 있어서, 종래의 레시피 중에 함유된 오일, 지방 및/또는 계란의 질량 또는 부피는, 오일, 지방 및/또는 계란의 질량 또는 부피의 5~150%, 25~100% 또는 25~75%로 대체된다. 대체율은 식료품, 식료품의 원하는 영양 프로필, 식료품의 전체적인 질감 및 외관, 그리고 바이오매스의 오일 함량과 같은 요인들에 의존적이다.

[0320] 조리된 식품에 있어서, 백분율(즉, 중량 또는 부피)은 조리 전과 후에 측정될 수 있다. 조리 과정 중에는 액체가 손실되기 때문에, 조류 바이오매스의 백분율은 조리 과정 중에 증가할 수 있다. 일부 조류 바이오매스 세포는 조리 과정중에 용해될 수 있기 때문에, 조리된 제품 중 조류 바이오매스 함량을 직접 측정하는 것은 어려울 수 있다. 그러나, 상기 함량은 미세 원료품으로 전환되는 바이오매스의 질량 또는 부피를 바탕으로 하여 간접적으로 측정될 수 있으며(완제품의 (바이오매스 건조 고체를 바탕으로 한) 중량% 또는 부피%), 또한 조류 바이오매스에 특이적인 성분들, 예를 들어 조류 바이오매스를 통해서만 운반되는 게놈 서열 또는 화합물, 예를 들어 임의의 카르티노이드를 분석하는 방법에 의해서도 간접적으로 측정될 수 있다.

[0321] 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스와 적어도 하나의 기타 식용 성분을 종래의 식료품 중에 존재하는 오일, 지방 또는 계란 등의 비례 함량(proportional amount)을 초과하는 양으로 혼합하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 종래의 식료품 중에 함유된 오일 및/또는 지방의 질량 또는 부피를 이 질량 또는 부피의 1, 2, 3 또는 4배

이상인 조류 바이오매스 질량 또는 부피로 대체할 수 있다. 본 발명의 방법에 관한 몇몇 구체예는 오일 또는 지방과 혼합되어 있는 적어도 하나의 기타 식용 성분을 함유하는 종래 식료품의 레시피를 제공하는 단계, 그리고 종래 식료품 중 지방 또는 오일의 질량 또는 부피의 1~4배에 해당하는 질량 또는 부피만큼의 바이오매스를 적어도 하나의 기타 식용 성분과 혼합하는 단계를 포함한다.

[0322] (대부분이 원상태이거나 균질화되었거나 미분된) 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일을 적어도 하나의 기타 식용 성분과 혼합하여 식료품을 형성한다. 몇몇 식료품에 있어서, 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일은 1~20, 2~10 또는 4~8가지의 기타 식용 성분과 혼합된다. 식용 성분은 주요 식품 군, 예를 들어 과일, 채소, 두과, 육류, 어류, 곡물(예를 들어, 밀, 쌀, 귀리, 옥수수 가루, 보리), 허브, 향신료, 물, 채소 발효액, 주스, 와인 및 식초(이에 한정되는 것은 아님)로부터 선택될 수 있다. 몇몇 식품 조성물에 있어서, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개의 식품 군은 또한 조류 바이오매스나 조류 오일과 마찬가지로 제공된다.

[0323] 오일, 지방 및 계란 등은 또한 식품 조성물에 혼합될 수도 있지만, 전술한 바와 같이, 오일, 지방 또는 계란은 일반적으로 종래의 식료품에 비하여 적은 양(예를 들어, 50 질량% 또는 부피% 미만, 25 질량% 또는 부피% 미만 또는 10 질량% 또는 부피% 미만)으로 존재한다. 본 발명의 몇 가지 식료품은 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일에 의해 제공되는 오일 이외의 오일을 함유하지 않는다. 몇 가지 식료품은 조류 바이오매스에 의해 제공되는 지방 이외의 지방을 함유하지 않는다. 몇 가지 식료품은 조류 바이오매스 또는 조류 오일에 의해 제공되는 지방 이외의 지방을 함유하지 않는다. 몇 가지 식료품은 조류 바이오매스 또는 조류 오일에 의해 제공되는 오일 및 지방 이외의 오일 및 지방 둘 다를 함유하지 않는다. 몇 가지 식료품은 조류 바이오매스에 의해 제공되는 오일 및 지방 이외의 오일 및 지방 둘 다를 함유하지 않는다. 몇 가지 식료품은 계란을 함유하지 않는다. 몇몇 구체예에서, 미세 조류에 의해 생산된 오일은 배양 조건 또는 균주 선택에 따라서 특정 지방산 성분(들)을 특정 수치로 포함하도록 개질될 수 있다.

[0324] 몇몇 경우에서, 식품 조성물을 제조하는데 사용된 조류 바이오매스는 적어도 2가지의 별도 미세 조류 종의 혼합물을 포함한다. 몇몇 경우에서, 별도 미세 조류 종 중 적어도 2가지는 별도로 배양된다. 적어도 하나의 구체예에서, 별도 미세 조류 종 중 적어도 2가지의 글리세로지질의 프로파일은 상이하다. 몇몇 경우에서, 전술한 방법은 종속 영양 조건 하에서 조류를 배양하는 단계와 이 조류로부터 바이오매스를 제조하는 단계를 추가로 포함한다. 몇몇 경우에서, 별도 미세 조류 종 적어도 2가지는 모두 적어도 10 건조중량% 또는 적어도 15 건조중량%의 오일을 함유한다. 몇몇 경우에서, 식품 조성물은 별도의 동일 종 바이오매스 제조물들 2가지의 배합물을 함유하는데, 여기에서 상기 제조물 중 하나는 적어도 30 건조중량%의 오일을 함유하고, 다른 하나는 15 건조중량% 미만의 오일을 함유한다. 몇몇 경우에서, 식품 조성물은 별도의 동일 종 바이오매스 제조물들 2가지의 배합물을 함유하는데, 여기에서 상기 제조물 중 하나는 적어도 50 건조중량%의 오일을 함유하고, 다른 하나는 15 건조중량% 미만의 오일을 함유하며, 또한 이 경우 상기 종은 클로렐라 프로토타코이테스이다.

[0325] 기타 종래의 식품에서 오일, 지방 또는 계란 대체물로서 조류 바이오매스를 사용하는 것 이외에도, 조류 바이오매스는 보통 오일을 함유하지 않는 식품, 예를 들어 스무디에 있어서 대체물로서 사용될 수 있다. 오일과 제품(주로 탄수화물임)을 혼합하면, 오일과 관련하여 이점을 얻을 수 있으며, 또한 오일과 탄수화물을 혼합하면, 탄수화물의 혈당 지수를 낮출 수 있는 이점을 얻을 수 있다. 바이오매스 내에 캡슐화된 오일을 제공하면, 오일이 산화되는 것을 막을 수 있다는 점에서 유리하며, 또한 스무디의 맛과 질감을 개선할 수도 있다.

[0326] 조류 바이오매스로부터 추출된 오일은 바이오매스 자체와 동일한 방식으로 사용될 수 있는데, 즉 종래의 레시피에 있어서, 오일, 지방 또는 계란 등에 대한 대체물로서 사용된다. 상기 오일은 종래의 오일 및/또는 지방을 중량/중량 또는 부피/부피 기준 약 1:1 비율로 대체하는데 사용될 수 있다. 상기 오일은 선택적으로는 부가의 물 및/또는 유화제와 함께, 계란 1개 당 조류 오일 약 1티스푼만큼을 대신 넣음으로써 계란을 대체하는데 사용될 수 있다(여기에서, 58g 계란 중 평균적으로 약 11.2%는 지방이고, 조류 오일의 밀도는 약 0.915g/ml이며, 티스푼의 부피가 약 5ml일 경우, 계란 1개 당 조류 오일은 1.2티스푼만큼 함유되어 있다). 상기 오일은 또한 드레싱, 소스, 스프, 마가린, 커피 크림 및 쇼트닝 등에 포함될 수도 있다. 오일은 특히 식료품에 사용하기 유용한데, 이 경우, 원하는 맛, 질감 및/또는 외관을 얻기 위해서는 오일과 기타 식품 성분을 혼합할 필요가 있다. 식료품 중 오일의 중량부 또는 부피부 함량은 적어도 5, 10, 25, 40 또는 50%일 수 있다.

[0327] 적어도 하나의 구체예에서, 조류 바이오매스로부터 추출된 오일은 또한 식품 제조업자, 레스토랑 및/또는 소비자에 의해 조리용 오일로서 사용될 수도 있다. 이와 같은 경우, 조류 오일은 종래의 조리용 오일, 예를 들어 홍화씨 오일, 카놀라 오일, 올리브 오일, 포도씨 오일, 옥수수 오일, 해바라기씨 오일, 코코넛 오일, 야자유 또는

기타 종래에 조리용 오일로서 사용되는 임의의 오일을 대체할 수 있다. 다른 종류의 오일을 사용할 때와 마찬가지로, 조류 바이오매스로부터 생성된 오일 역시 추가의 정제 과정을 거쳐, 자체의 조리 적합성을 증가시킬 수 있다(예를 들어, 발연점 상승). 오일을 가성 소다로 중화시키면, 유리 지방산을 제거할 수 있다. 유리 지방산은 제거 가능한 소다 유제를 생성한다. 오일의 색은 화학 물질, 예를 들어 카본 블랙 및 표백토로 표백함으로써 제거될 수 있다. 표백토 및 화학 물질은 여과에 의해 오일로부터 분리될 수 있다. 오일은 또한 증기로 처리함으로써 탈취될 수 있다.

[0328] 대부분이 원상태인 바이오매스, 균질화 또는 미분된 바이오매스(슬러리, 플레이크, 분말 또는 가루의 형태) 및 정제된 조류 오일 모두를 기타 식품 성분과 혼합하여 식료품을 형성할 수 있다. 상기 성분들은 모두 바람직한 영양 프로필(비교적 높은 단일불포화 결합 함량)을 가지는 오일 공급원이다. 대부분이 원상태고, 균질화 및 미분된 바이오매스는 또한 전술한 바와 같은 고품질 단백질(아미노산 조성에 균형이 맞은 단백질), 탄수화물, 섬유소 및 기타 영양소를 제공한다. 이와 같은 식품 중 임의의 것이 포함된 식품은 베건(vegan) 또는 채식주의자를 위한 식품으로서 제조될 수 있다. 단백질 공급원으로서 미세 조류 바이오매스(대부분이 원상태이거나 균질화(또는 미분)된 미세 조류 바이오매스, 또는 이들 두 가지 경우의 미세 조류 바이오매스)를 사용함에 있어서 또 다른 이점은, 상기 미세 조류 바이오매스가 주요 알레르기원 공급원, 예를 들어 대두, 계란 또는 유제품으로부터 유래하지 않는, 베건/채식주의자의 단백질 공급원이 된다는 점이다.

[0329] 본 발명에 따라서 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일과 혼합될 수 있는 기타 식용 성분으로서는, 곡물, 과일, 채소, 단백질, 육류, 허브, 향신료, 탄수화물 및 지방을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일과 혼합되어 식품 조성물을 형성하는 기타 식용 성분은 생산될 식료품과 이 식료품에서 기대되는 맛, 질감 그리고 기타 특성에 따라서 달라진다.

[0330] 일반적으로 조류 오일 공급원 중 임의의 것이 임의의 식료품에 사용될 수 있지만, 상기 공급원은 부분적으로 이 오일이 식품의 질감, 외관 또는 맛보다는 영양이나 칼로리와 관련된 목적으로 주로 제공되는지 여부, 또는 이 오일이 기타 식품 성분과 함께 식품의 영양 가치 또는 칼로리 프로필을 개선하기 보다는 식품에서 기대되는 맛, 질감 또는 외관을 부여하기 위해서 제공된 것인지 여부에 따라서 달라지는 것이 바람직하다.

[0331] 식료품은 원하는 바에 따라서 종래의 방법에 의해 조리될 수 있다. 조리 시간과 온도에 따라서, 조리 방법은 일부 세포벽을 파괴하여 오일을 방출시키고, 이로 인해서 혼합물 중 다른 성분과 혼합되도록 만들 수 있다. 그러나, 최소한 일부 조류 세포는 종종 조리가 되더라도 원상태로 남는다. 대안적으로, 식료품은 조리 과정 없이 바로 사용될 수 있다. 이와 같은 경우, 조류 벽은 원상태 그대로 유지되어 오일이 산화되는 것을 막아준다.

[0332] 만일 조류 바이오매스가 대부분이 원상태인 세포를 포함하는 형태로 제공되거나 아니면 균질화된 분말로서 제공되면, 이 조류 바이오매스는 건조 성분으로서 제공될 수 있으며, 다른 건조 성분들, 예를 들어 밀가루와의 혼합이 잘 될 수 있다는 점에서 오일, 지방 또는 계란과 다르다. 하나의 구체예에서, 조류 바이오매스는 25~40 건조중량%의 오일을 함유하는 건조 균질물로서 제공된다. 바이오매스 균질물은 또한 슬러리로서 제공될 수도 있다. 건조 성분(및 만일 사용된다면, 바이오매스 균질물 슬러리)을 혼합한 후, 액체, 예를 들어 물을 첨가할 수 있다. 바이오매스의 비오일 성분으로 인하여, 그리고/또는 물이 기타 성분, 예를 들어 계란에 의해 공급되지 않기 때문에, 일부 식료품 중 액체의 필요량은 종래의 식료품 중 액체의 필요량보다 약간 많다. 그러나, 물의 양은 종래 조리법에서와 같이 용이하게 측정할 수 있다.

[0333] 하나의 측면에서, 본 발명은 적어도 10 건조중량%의 조류 오일을 함유하는 조류 바이오매스 적어도 0.5%w/w와 적어도 하나의 기타 식용 성분을 포함하는 식품 성분 조성물에 관한 것으로서, 여기에서 상기 식품 성분은 상기 식품 성분 조성물에 액체를 첨가함으로써 재구성된 식료품으로 전환될 수 있다. 하나의 구체예에서, 액체는 물이다.

[0334] 균질화되었거나 미분된 고 오일 바이오매스는 액체 및/또는 에멀전화된 식료품(유중수 및 수중유 에멀전), 예를 들어 소스, 스프, 드링크, 샐러드 드레싱, 버터 및 스프레드 등에 사용하기 특히 유리한데, 여기에서 바이오매스에 의해 제공되는 오일은 다른 액체와 함께 에멀전을 생성한다. 레올로지가 개선되었다는 이점을 가지는 식품, 예를 들어 드레싱, 소스 및 스프레드에 관하여는 이하 실시예에 기술하였다. 균질화된 바이오매스를 사용하면, 원하는 질감(예를 들어, 구강 촉감), 맛 그리고 외관(예를 들어, 불투명도)을 가지는 에멀전 중 오일 함량(전체 식품의 중량 또는 부피 기준)이, 종래의 오일을 사용하여 제조된 종래 식품의 오일 함량에 비해서 낮아지므로, 이 균질화된 바이오매스는 지방 증량제로서도 사용될 수 있다. 이러한 양상은 저칼로리(즉, 다이어트) 제품에도 유용하다. 정제된 조류 오일은 또한 이와 같은 액체 및/또는 유화된 제품에 유리하다. 균질화되었거나 미분된 고 오일 바이오매스 및 정제된 조류 오일은, 베이킹된 제품 중 기타 식용 성분들과 잘 혼합되어, 종래의

오일, 지방 및/또는 계란으로 제조되었으므로, 영양 프로파일 개선되고(예를 들어, 고함량의 단일불포화 오일, 및/또는 고함량 또는 고품질의 단백질, 및/또는 고함량의 섬유소 및/또는 기타 영양소), 맛, 외관 및 질감이 다른 유사 제품과 유사하거나 이보다 좋아진다.

[0335] 대부분이 원상태를 유지하고 있는 바이오매스는, 식품의 영양 프로파일(예를 들어, 높은 오일 함량, 상이한 오일 함량(예를 들어, 단일불포화 오일이 더 많은 경우), 높은 단백질 함량, 높은 칼로리량, 높은 기타 영양소 함량)을 바꾸거나 증가시키는 것이 바람직한 경우에 특히 유용하다. 이러한 식품은 예를 들어 소모성 질환을 앓고 있는 환자나 운동 선수에게 유용할 수 있다. 대부분이 원상태인 바이오매스는 증량제로서 사용될 수 있다. 증량제는 예를 들어 고가의 식품(예를 들어, 육류 헬퍼(meat helper) 등), 또는 모의 식품이나 모조 식품, 예를 들어 채식주의자용 인조육의 양을 증가시키는데 사용될 수 있다. 모의 또는 모조 식품은 풍미와 부피가 일반적으로 상이한 공급원에 의해 제공된다는 점에서 천연 식품과 상이하다. 예를 들어, 천연 식품, 예를 들어 육류의 풍미가 증량제에 부여되면 풍미를 보유했을 수 있게 된다. 대부분이 원상태인 바이오매스는 이와 같은 식품에서 증량제로서 사용될 수 있다. 대부분이 원상태인 바이오매스는 수분 결합 특성이 우수하여, 건조 식품의 재수화를 촉진할 수 있기 때문에, 이 바이오매스는 또한 건조 식품, 예를 들어 파스타에 특히 유용하다. 대부분이 원상태인 바이오매스는 또한, 예를 들어 베이킹된 제품 중에서 보존제로서 유용하다. 대부분이 원상태인 바이오매스는 수분 보유력을 개선할 수 있으므로 유통 기한도 늘릴 수 있다.

[0336] 분쇄 또는 미분된 조류 바이오매스는 또한 결합제나 증량제로서 작용하여, 식료품의 영양 프로파일을 변경 또는 개선하는데 유용할 수도 있다. 분쇄된 조류 바이오매스는 다른 단백질 공급원, 예를 들어 육류, 대두 단백질, 유청 단백질, 밀 단백질, 콩 단백질, 쌀 단백질, 완두콩 단백질, 우유 단백질 등과 혼합될 수 있는데, 이 경우 상기 조류 바이오매스는 결합제 및/또는 증량제로서 작용을 한다. 분쇄 또는 미분된 조류 바이오매스는 또한 수분 보유력을 개선하여 유통 기한을 늘릴 수도 있다. 수분 보유력이 증가하면, 글루텐 불포함 제품, 예를 들어 글루텐 불포함 베이킹된 제품에 특히 바람직하다. 분쇄된 조류 바이오매스를 사용하여 글루텐 불포함 쿠키를 제조하는 것에 관한 상세한 설명과 추후 유통 기한에 관한 연구는 이하 실시예에 기술되어 있다.

[0337] 몇몇 경우에서, 조류 바이오매스는 계란 제조물에 사용될 수 있다. 몇몇 구체예에서, 종래의 건조 분말 계란 제조물에 첨가되어 더욱 부드러운 계란 스ك램블을 제조하는데 사용되는 조류 바이오매스(예를 들어, 조류 가루)의 수분 함량 및 질감은, 조류 바이오매스를 사용하지 않고 제조된 건조 분말형 계란보다 증가 및 개선되었다. 다른 구체예에서, 조류 바이오매스를 액체 전란에 첨가하면, 제조된 후 증기 테이블상에 놓아둔 계란의 전체 질감 및 수분 함량이 개선 및 증가한다. 진술한 제조 방법에 관한 구체예는 이하 실시예에 기술되어 있다.

[0338] 조류 바이오매스(대부분이 원상태이고/원상태이거나 균질화 또는 미분된 조류 바이오매스) 및/또는 조류 오일은 사실상 임의의 식품 조성물에 포함될 수 있다. 이와 같은 식품 조성물에 관한 몇 가지 예로서는 베이킹된 제품, 예를 들어 케이크, 브라우니, 옐로우 케이크(yellow cake), 브리오슈를 포함하는 빵, 슈가 쿠키를 포함하는 쿠키, 비스킷 및 파이를 포함한다. 기타 예로서는 종종 건조된 형태로 제공되는 제품, 예를 들어 파스타 또는 분말형 드레싱, 건조 커피 크림, 대체육(commuted meat) 및 인조육을 포함한다. 대부분이 원상태인 바이오매스를 이와 같은 제품에 결합제 및/또는 증량제로서 포함하면 수화가 개선될 수 있으며, 또한 대부분이 원상태인 바이오매스의 수분 결합능으로 인해 수율이 증가할 수도 있다. 재수화된 식품, 예를 들어 건조 분말형 계란으로 만들어진, 스ك램블된 계란은 또한 질감과 영양 프로파일 개선될 수도 있다. 기타 예로서는 액체 식료품, 예를 들어 소스, 스프, (즉석) 드레싱, 커피 크림, 우유 드링크, 주스 드링크, 스무디를 포함한다. 기타 액체 식료품으로는 식사 대용으로 사용되는 영양 음료 또는 조류 밀크를 포함한다. 기타 식료품으로서는 쇼트닝, 마가린/스프레드, 너트 버터(nut butter)와 나쵸 소스와 같은 치즈 제품을 포함하는 버터 또는 치즈 등을 포함한다. 기타 식료품으로서는 에너지 바, 초콜렛 당과 제품-레시틴 대체 식품, 식사 대용 바, 그레놀라 바 류의 제품을 포함한다. 식료품의 다른 유형으로서는 배터(batter) 및 코팅(coating)이 있다. 식품을 감싸고 있는 오일 층을 제공함으로써, 대부분이 원상태인 바이오매스 또는 균질물은 조리 매질(cooking medium)로부터 유래하는 부가 오일이 식품에 침투하는 것을 방지한다. 그러므로, 상기 식품은 원치않는 오일(예를 들어, 트랜스 지방, 포화 지방 및 조리용 오일로부터 유래하는 부산물)을 사용하지 않고, 코팅 중 단일불포화 오일 함량이 높다는 이점을 가질 수 있다. 또한 바이오매스를 코팅하면, 조리용 오일과 이의 부산물이 흡착되는 것이 줄어들기 때문에, 식품에 원하는 질감(예를 들어, 바삭함)과 더욱 깔끔한 풍미를 제공할 수도 있다.

[0339] 미조리 식품에 있어서, 바이오매스 중 대부분의 조류 세포는 원상태로 남게 된다. 이로써 조류 오일이 산화되는 것을 막아주어, 유통 기한을 연장하고 다른 성분과의 불리한 상호 작용을 최소화한다는 이점을 얻을 수 있다. 식료품의 성질에 따라서, 세포에 의해 부여되는 보호 작용으로 인해, 냉장 보관이나 진공 포장 등을 수행할 필요성이 줄어들 수 있거나 또는 이러한 처리가 필요하지 않을 수도 있다. 세포를 원상태로 유지시키면 오일과 소

비자의 구강 내에서의 직접적인 접촉을 피할 수 있는데, 이로써 원치 않을 수 있는 기름진 느낌 또는 느끼함이 줄어들게 된다. 영양 보충식으로서 오일이 더 많이 사용되는 식료품에 있어서, 이러한 결과는 제품의 관능적 특성을 개선하는데 유리할 수 있다. 그러므로, 대부분이 원상태인 바이오매스는 이와 같은 제품에 사용하기 적당하다. 그러나, 오일이 원하던 구강 촉감을 부여하는 미조리 제품(예를 들어, 수용액, 예를 들어 식초의 에멀전), 예를 들어 샐러드 드레싱에 있어서, 정제된 조류 오일이나 미분된 바이오매스를 사용하는 것이 바람직하다. 조리된 식품에 있어서, 본질적으로 원상태인 바이오매스를 이루는 조류 세포들 중 일부가 용해될 수 있지만, 기타 조류 세포는 원상태로 유지될 수 있다. 용해된 세포 대 원상태인 세포의 비율은 조리 방법에 적용되는 온도와 조리 시간에 따라서 달라진다. 다른 성분과 균일한 형태로 분산된 오일 분산액이 맛, 질감 및/또는 외관에 바람직한 조리 식품(예를 들어, 베이킹된 제품)에 있어서, 미분된 바이오매스 또는 정제된 조류 오일을 사용하는 것이 바람직하다. 조리 식품에 있어서, 조류 바이오매스는, 식품의 질감보다는 주로 식품의 영양상 가치를 개선하거나 칼로리 수치를 줄이기 위해서, 오일 및/또는 단백질 그리고 기타 영양소를 제공하는데 사용된다.

[0340] 조류 바이오매스는 또한 식료품(예를 들어, 식사 대용 드링크 또는 스무디)의 포만감 지수를, 조류 바이오매스를 사용하지 않고 제조된 종래의 유사 제품에 비하여 증가시키는데에도 유용할 수 있다. 포만감 지수는, 칼로리 수치가 같은 상이한 식품들이 식욕을 만족시켜주는 정도에 관한 척도이다. 이러한 지수는 테스트되는 식품을 공급한 후, 일정한 간격으로 다른 식품에 대한 식욕을 측정함으로써 측정할 수 있다. 추후, 다른 식품에 대한 식욕이 줄어들수록 포만감 지수는 높은 것이다. 포만감 지수의 값은, 흰빵을 수치 100으로 놓고 매긴 등급을 바탕으로 하여 표현할 수 있다. 포만감 지수가 높은 식품은 다이어트에 유용하다. 기작을 이해하는 것과는 별도로, 조류 바이오매스는 소정량의 칼로리에 비해서 식품의 단백질 및/또는 섬유소 함량을 증가시킴으로써 식품의 포만감 지수를 높이는 것으로 생각된다.

[0341] (대부분이 원상태이고 균질화 또는 미분된) 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일은 또한, 영양 보충식 또는 식이 보충제로 제조될 수도 있다. 예를 들어, 조류 오일은 어유(fish oil)와 유사한 방식으로 소화성 캡슐 내에 캡슐화될 수 있다. 이러한 캡슐은 병으로 포장되어, 매일 일정량 섭취할 수 있다(예를 들어, 1일 1~4 캡슐 또는 1~4 정). 캡슐은 조류 바이오매스 또는 조류 오일의 단위 투여형을 함유할 수 있다. 이와 유사하게, 바이오매스는 선택적으로 약학적 부형제 또는 기타 부형제와 함께 정제로 압착될 수도 있다. 정제는, 예를 들어 병이나 블리스터 팩(blister pack) 내에 포장되어, 매일 일정 투여량만큼 섭취할 수 있다(예를 들어, 1일 1~4정). 몇몇 경우에서, 정제 또는 기타 투여형은 바이오매스나 조류 오일의 단위 투여형을 포함한다. 캡슐 및 정제 제품, 그리고 기타 보충제를 제조하는 방법은 21 C.F.R. 111 또는 다른 사법권에 의해 확립된 동등한 규정에 성문화되어 있는 바와 같이, 영양 보충식에 적당한 GMP 조건 하에서 수행되는 것이 바람직하다. 조류 바이오매스는 다른 분말과 혼합되어, (예를 들어, 물, 주스, 우유 또는 기타 액체와) 즉석으로 혼합 가능한 물질인 사세로서 제공될 수 있다. 조류 바이오매스는 또한 요구르트와 같은 제품에 혼합될 수도 있다.

[0342] 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일은 영양 보충식에 포함될 수 있긴 하지만, 전술한 기능성 식료품은 알약, 캡슐 또는 분말 형태인 전형적인 영양 보충식과는 구별되는 특징을 갖는다. 이와 같은 식료품의 1회 섭취량은 전형적으로, 중량 및 공급된 칼로리 둘 다로 환산하였을 때, 영양 보충식의 1회 섭취량보다 더 많다. 예를 들어, 식료품을 한번에 포장 또는 섭취할 때, 중량 100g 이상 및/또는 적어도 열량 100 칼로리의 단위로 포장 또는 섭취한다. 전형적으로, 식료품은 단백질, 탄수화물 또는 액체로 적어도 하나의 성분을 함유하며, 종종 이러한 성분을 2가지 또는 3가지 함유한다. 식료품 중 단백질 또는 탄수화물은 종종 식료품 칼로리의 적어도 30%, 50% 또는 60%를 공급한다.

[0343] 전술한 바와 같이, 조류 바이오매스는 제조자에 의해 제조될 수 있으며, 또한 상업상 세팅용 또는 가정 소비용으로 소비자, 예를 들어 레스토랑이나 개인에게 판매될 수 있다. 이와 같은 조류 바이오매스는 식료품에 대한 우수 의약품 제조 관리 기준(GMP) 조건 하에서 제조 및 포장되는 것이 바람직하다. 대부분 원상태이거나 균질화 또는 미분된 상태(분말)인 조류 바이오매스는 종종 건조된 상태로 밀폐 용기, 예를 들어 밀봉 백에 포장된다. 균질화되었거나 미분된 바이오매스(슬러리 형태)는 기타 용기들 중에서도 통에 포장되는 것이 편리할 수 있다. 선택적으로, 조류 바이오매스를 진공 상태로 포장하면 유통 기한이 증가할 수 있다. 포장된 조류 바이오매스는 냉장할 필요가 없다. 전술한 바와 같이, 포장된 조류 바이오매스는 사용 지시 사항, 예를 들어 종래 레시피 중 소정량의 오일, 지방 또는 계란을 대체하는데 얼마나 많은 조류 바이오매스를 사용해야 하는지에 대한 지시 사항을 포함할 수 있다. 간단히 말해서, 상기 지시 사항을 통하여, 오일 또는 지방은 바이오매스의 질량 또는 부피를 기준으로 2:1의 비율로 대체될 것이며, 계란은 바이오매스 11g씩에 비례해서 대체되거나, 또는 계란 1개당 조류 오일 1티스푼의 비율로 대체될 것임을 알 수 있다. 전술한 바와 같이, 기타 비율, 예를 들어 바이오매스 10~175 질량% 또는 부피% 대 종래 레시피 중 오일 및/또는 지방 및/또는 계란의 질량 또는 부피의 비율도 적용

할 수 있다. 지시 사항에는, 밀봉된 포장을 개봉할 때부터 조류 바이오매스를 밀폐 용기, 예를 들어 널리 시판되고 있는 용기(예를 들어, 글래드(Glad)) 안에 넣어 보관하도록 지시되어 있으며, 선택적으로는 냉장 보관도 동반할 것이 지시되어 있기도 하다.

[0344] 조류 바이오매스(대부분 원상태이거나 균질화 또는 미분된 분말)는 또한, 다른 건조 성분(예를 들어, 당, 밀가루, 건조 과일, 풍미제)과 혼합된 상태로 포장될 수 있으며, 또한 완제품의 균일성을 확보하기 위해 분할 포장할 수도 있다. 이후, 상기 혼합물은, 소비자나 식품 공급 업체에 의해 단순히 액체, 예를 들어 물이나 우유를 첨가하고, 선택적으로는 오일이나 지방을 첨가하지 않고 혼합 및/또는 조리함으로써 식료품으로 전환될 수 있다. 몇몇 경우에서, 액체를 첨가하여 건조된 조류 바이오매스 조성물을 재구성한다. 조리는 선택적으로 마이크로웨이브 오븐, 대류 오븐, 증기 오븐 또는 쿡탑을 사용하여 수행될 수도 있다. 이와 같은 혼합물은 케이크, 빵, 팬케이크, 와플, 드링크 및 스낵 등을 제조할 때 사용될 수 있다. 이러한 혼합물은 소비자가 이용하기 편리하고, 냉장하지 않고서도 유통 기한을 늘릴 수 있다는 이점을 갖는다. 이와 같은 혼합물은 전형적으로 액체를 첨가하여 혼합물을 식료품으로 전환하는 것에 관한 지시 사항을 포함하고 있는 밀봉 용기 내에 포장된다.

[0345] 이와 유사하게, 식품 성분으로 사용되는 조류 오일은 식품에 관한 GMP 조건 하에서 제조 및 포장되는 것이 바람직하다. 조류 오일은 전형적으로 증기에 사용되었던 오일과 유사하게, 병이나 기타 용기 내에 포장된다. 용기에는, 식료품에 포함된 증기 오일, 지방 또는 계란 대신 오일을 조리용 오일로서 사용하는 것에 관한 지시 사항이 기재되어 있는 라벨이 부착되어 있을 수 있다. 오일을 밀봉 용기 내에 포장할 때, 이 오일을 거의 변패시키지 않으면서 유통 기한을 늘릴 수 있다(적어도 1년). 개봉 후에는, 주로 단일불포화 오일로 구성된 조류 오일은 산화에 매우 비 감수성이다. 그러나, 오일 중 사용하지 않은 부분은, 낮은 온도에 보관하고/보관하거나 햇빛을 직접 쬌지 않는다면(예를 들어, 밀폐된 장소, 예를 들어 찬장에 보관하면) 산화가 발생하는 정도가 줄어들고 장기 보관할 수 있다. 오일 포장에 포함된 지시 사항에는 이와 같이 바람직한 보관 정보도 포함될 수 있다.

[0346] 선택적으로, 조류 바이오매스 및/또는 조류 오일은 유통 기한을 최대 만들기 위해 식품용으로서 승인된 보존제/항산화제, 예를 들어 카로티노이드(예를 들어, 아스타잔틴, 루테인, 제아잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴 및 라이코펜), 인지질(예를 들어, N-아실포스파티딜에탄올아민, 포스파티딘산, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜콜린, 포스파티딜이노시톨 및 리소포스파티딜콜린), 토코페롤(예를 들어, 알파-토코페롤, 베타-토코페롤, 감마-토코페롤 및 델타-토코페롤), 토코트리엔올(예를 들어, 알파-토코트리엔올, 베타-토코트리엔올, 감마-토코트리엔올 및 델타-토코트리엔올), 부틸화 하이드록시톨루엔, 부틸화 하이드록시아니솔, 폴리페놀, 로즈마린산, 몰식자산 프로필, 아스코르브산, 아스코르브산나트륨, 솔빈산, 벤조산, 메틸 파라벤, 레볼린산, 아시신산, 아세트산, 시트르산 및 바이오플라보노이드(이에 한정되는 것은 아님)를 함유할 수 있다.

[0347] 대부분이 원상태인 바이오매스, 균질화 또는 미분된 바이오매스(슬러리, 플레이크, 분말 또는 가루) 또는 조류 오일을 사람의 영양 보충을 위한 식품에 포함하는 것에 관한 사항은 일반적으로 인간을 제외한 동물의 식료품에도 적용시킬 수 있다.

[0348] 바이오매스는 상기와 같은 식품에 고품질 오일 또는 단백질을 부여하거나, 또는 이 둘 다를 부여한다. 조류 오일의 함량은 조류 단백질 함량의 경우와 같이, 적어도 10 중량% 또는 적어도 20 중량%인 것이 바람직하다. 대부분이 원상태인 바이오매스로부터 조류 오일 및/또는 단백질을 얻는 것은 때때로 고 활동형 동물(high performance animal), 예를 들어 경주견이나 경주마의 사료 제조에 유리하다. 대부분이 원상태인 바이오매스는 또한 보존제로서도 유용하다. 조류 바이오매스 또는 오일은 전형적으로 동물 사료에서 발견되는 기타 성분들(예를 들어, 육류, 육류 풍미제, 지방산, 채소, 과일, 전분, 비타민, 미네랄, 항산화제, 프로바이오틱) 및 이의 임의의 조합물과 혼합된다. 이러한 식품은 또한 반려 동물 특히, 라이프 스타일이 활동적인 동물에 적합하다. 고양이 사료에는 타우린을 혼합할 것을 추천한다. 증기의 동물 사료와 마찬가지로, 사료는, 먹이고자 하는 동물에 적당한 한입 크기의 입자로서 제공될 수 있다.

[0349] 탈지 밀(delipidated meal) 특히, 고 단백질-함유 조류 바이오매스로 제조된 탈지 밀은 조류 단백질 농축물 및/또는 분리물 생산용 공급 원료로서 유용하다. 조류 단백질 농축물 및/또는 분리물은 대두 단백질 농축물/분리물을 생산하는데 사용되는 표준적인 방법을 이용하여 생산될 수 있다. 조류 단백질 농축물은 탈지 조류 바이오매스 또는 밀로부터 가용성 당을 제거함으로써 제조된다. 잔류 성분은 주로 단백질 및 불용성 다당류일 것이다. 탈지 밀로부터 가용성 당을 제거함으로써 단백질 함량은 증가하게 되고, 이에 따라서 조류 단백질 농축물이 생산된다. 조류 단백질 농축물은 적어도 45 건조중량%의 단백질을 함유할 것이다. 바람직하게, 조류 단백질 농축물은 적어도 50~75 건조중량%의 단백질을 함유할 것이다. 조류 단백질 분리물은 또한 대두 단백질 분리물을 생산하는데 사용되는 표준적인 방법을 이용하여 제조될 수도 있다. 이러한 방법은 일반적으로, 온도 조절 단계 및

NaOH를 사용하는 염기 pH 추출 단계를 포함한다. 추출 단계를 수행한 후, 액체 및 고체는 서로 분리되고, 단백질을 HCl을 사용하여 액체 분획에서 침전된다. 고체 분획은 다시 추출될 수 있으며, 생성된 액체 분획은 풀링(pooling)된 후 HCl로 침전될 수 있다. 이후, 상기 단백질은 중화되어 분사 건조되고, 그 결과, 단백질 분리물이 생산된다. 조류 단백질 분리물은 전형적으로 적어도 90 건조중량%의 단백질을 함유할 것이다.

[0350] 탈지 밀은 가축, 예를 들어 반추 동물, 가금류, 돼지 및 농사용 가축이 먹는 동물용 사료로서 유용하다. 탈지 밀은 식품용 또는 기타 목적용 정제 조류 오일을 제조할 때 생성되는 부산물이다. 오일 함량이 감소한 밀은 여전히 고품질의 단백질, 탄수화물, 섬유소, 회분 및 기타 동물 사료에 적당한 영양소를 함유한다. 세포는 대부분이 용해되기 때문에, 탈지 밀은 이와 같은 동물들이 용이하게 소화할 수 있다. 탈지 밀은 선택적으로 동물 사료 중 기타 성분, 예를 들어 곡물과 혼합될 수도 있다. 탈지 밀의 분말은 균질하므로, 시판되고 있는 압출기 또는 익스팬더를 사용하여 펠릿으로 압착될 수 있다.

[0351] 이하 실시예는 본 발명을 예시하기 위하여 제시된 것으로, 본 발명을 한정하는 것은 아니다.

[0352] 실시예

[0353] 실시예 1

[0354] 오일 함량을 높이기 위한 미세 조류 배양

[0355] 20 건조 세포 중량% 이상의 오일을 얻기 위해 진탕 플라스크 내에 미세 조류 균주를 배양하였다. 사용한 플라스크 배지는 다음과 같았다: K_2HPO_4 : 4.2g/L, NaH_2PO_4 : 3.1g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.24g/L, 시트르산 일수화물: 0.25g/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$: 0.025g/L, 효모 추출물: 2g/L 및 2% 글루코스. 저온 보존 세포를 실온에서 해동하고, 배지 4.5ml에 세포 500 μ l를 첨가한 후, 이를 6웰 평판에서 28℃ 및 7일 동안 진탕하며(200rpm) 생장시켰다. 미리 중량을 측정하여 에펜도르프 튜브(Eppendorf tube) 내에서 배양물 1ml를 14,000rpm에서 5분 동안 원심 분리하여 건조 세포 중량을 측정하였다. 배지 상청액을 따라 버리고 남은 세포 펠릿을 탈이온수 1ml로 세정하였다. 배양물을 다시 원심 분리하고 상청액을 따라 버린 후, 세포 펠릿을 -80℃에 놓아두어 이를 동결시켰다. 이후, 샘플을 24시간 동안 동결 건조시키고 나서 건조 세포 중량을 계산하였다. 배양물 중 지질의 총량을 측정하기 위하여, 배양물 3ml를 따라낸 후, 제조자의 프로토콜에 따라서 안콤 시스템(Ankom system; Ankom Inc., Macedon, NY)을 사용하여 분석을 수행하였다. 제조자의 프로토콜에 따라서 안콤 XT10(Ankom XT10) 추출기로 샘플을 용매 추출하였다. 전체 지질의 양은 산 가수 분해된 건조 샘플의 질량과 용매 추출된 건조 샘플의 질량 사이의 차이를 통해 알아냈다. 오일의 건조 세포 중량% 측정 수치를 이하 표 1에 나타내었다.

표 1

[0356] 오일의 건조 세포 중량

종명	균주명	오일 %	도 1의 균주 번호
클로렐라 프로토테코이데스	UTEX 250	34.24	1
클로렐라 프로토테코이데스	UTEX 25	40.00	2
클로렐라 프로토테코이데스	CCAP 211/8D	47.56	3
클로렐라 케슬러리	UTEX 397	39.42	4
클로렐라 케슬러리	UTEX 2229	54.07	5
클로렐라 케슬러리	UTEX 398	41.67	6
파라클로렐라 케슬러리	SAG 11.80	37.78	7
파라클로렐라 케슬러리	SAG 14.82	50.70	8
파라클로렐라 케슬러리	SAG 21.11 H9	37.92	9
프로토테카 스테그노라	UTEX 327	13.14	10
프로토테카 모리포르미스	UTEX 1441	18.02	11
프로토테카 모리포르미스	UTEX 1435	27.17	12
클로렐라 미뉴티시마	UTEX 2341	31.39	13
클로렐라 sp.	UTEX 2068	45.32	14
클로렐라 sp.	CCAP 211/92	46.51	15
클로렐라 소로키니아나	SAG 211.40B	46.67	16
파라클로렐라 베이저링키	SAG 2046	30.98	17
클로렐라 루데오비리디스	SAG 2203	37.88	18
클로렐라 불가리스	CCAP 211/11K	35.85	19
클로렐라 레이시글리	CCAP 11/8	31.17	20

클로렐라 엘립소이테아	CCAP 211/42	32.93	21
클로렐라 사카로필라	CCAP 211/31	34.84	22
클로렐라 사카로필라	CCAP 211/32	30.51	23

[0357] 전술한 조건을 이용하여 클로렐라 프로토테코이데스의 추가 균주도 생장시켜, 실시예 2에 간단히 기술된 표준적인 기체 크로마토그래피(GC/FID) 방법으로 상기 클로렐라 프로토테코이데스 균주 각각의 지질 프로필을 측정하였다. 지질 프로필은 이하에 요약하였다. 수치는 전체 지질의 면적%로서 표현된다. UTEX 수집 번호는 오스틴 소재 텍사스 대학교의 UTEX 조류 수집소(1 University Station A6700, Austin, Texas 78712-0183)의 조류 균주의 번호이다. CCAP 수집 번호는 조류 및 원생 동물 배양 수집소(SAMS Research Services, Ltd. Scottish Marine Institute, OBAN, Argyll PA37 1QA, Scotland, United Kingdom)의 조류 균주의 번호이다. SAG 수집번호는 괴팅겐 대학교의 조류 배양 수집소(Nikolausberger Weg 18, 37073 Göttingen, Germany)의 조류 균주의 번호이다.

[0358] 수집소

[0359]	번호	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1
[0360]	UTEX 25	0.0	0.6	8.7	0.3	2.4	72.1	14.2	1.2	0.2	
[0361]	UTEX 249		0.0	0.0	9.7	0.0	2.3	72.4	13.7	1.9	0.0
[0362]	UTEX 250		0.0	0.6	10.2	0.0	3.7	69.7	14.1	1.4	0.0
[0363]	UTEX 256		0.0	0.9	10.1	0.3	5.6	64.4	17.4	1.3	0.0
[0364]	UTEX 264		0.0	0.0	13.3	0.0	5.7	68.3	12.7	0.0	0.0
[0365]	UTEX 411		0.0	0.5	9.6	0.2	2.8	71.3	13.5	1.5	0.2
[0366]	CCAP 211/17	0.0		0.8	10.5	0.4	3.3	68.4	15.0	1.6	0.0
[0367]	CCAP 221/8d	0.0		0.8	11.5	0.1	3.0	70.3	12.9	1.2	0.0
[0368]	SAG 221 10d	0.0		1.4	17.9	0.1	2.4	55.3	20.2	2.7	0.0

[0369] 상기 균주들은 모두 클로렐라 프로토테코이데스이지만, 균주 중 일부 간에는 지질 프로필에 차이가 있음을 상기 데이터를 통하여 알 수 있다.

[0370] 실시예 2

[0371] 오일 함량이 높은 조류 바이오매스를 생산하기 위해서, 3개의 상이한 배지 제조물로 세 가지 발효 공정을 수행하였다. 제1 제조물(배지 1)은 문헌[Wu et al. 1994 *Science in China*, vol. 37, No. 3, pp. 326-335]에 기술된 배지들에 따라서 제조하였으며, 이 제조물은 1리터 당 다음과 같은 성분들로 이루어져 있다: KH_2PO_4 , 0.7g; K_2HPO_4 , 0.3g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.3g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3mg; 티아민 하이드로클로라이드, 10 μg ; 글루코스, 20g; 글리신, 0.1g; H_3BO_3 , 2.9mg; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1.8mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 220 μg ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 80 μg ; 및 $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 22.9mg. 제2 배지(배지 2)는 실시예 1에 기술된 플라스크 배지로 제조하였으며, 이 배지는 1리터 당 다음과 같은 성분들로 이루어져 있다: K_2HPO_4 , 4.2g; NaH_2PO_4 , 3.1g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.24g; 시트르산 일수화물, 0.25g; 염화칼슘 탈수물, 25mg; 글루코스, 20g; 효모 추출액, 2g. 제3 배지(배지 3)는 하이브리드로서 1리터 당 다음과 같은 성분들로 이루어져 있다: K_2HPO_4 , 4.2g; NaH_2PO_4 , 3.1g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.24g; 시트르산 일수화물, 0.25g; 염화칼슘 탈수물, 25mg; 글루코스, 20g; 효모 추출물, 2g; H_3BO_3 , 2.9mg; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1.8mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 220 μg ; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 80 μg ; 및 $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 22.9mg. 3개의 배지 제조물을 모두 제조하고 나서, 이를 실험실 규모의 발효조 용기에 넣고 121°C에서 30분 동안 고압 증기 멸균기로 멸균하였다. 멸균된 글루코스를 각각의 용기에 넣고 고압 증기 멸균한 다음, 이를 냉각시켰다.

[0372] 각각의 발효조에 접종한 접종물은 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)로서, 이는 접종된 발효조의 배지와 온도 조건을 이용하여 2개의 플라스크단에서 제조하였다. 각각의 발효조에 지수기 중간 단계의 배양물 10%(v/v)를 접종하였다. 상기 실험실 규모 발효조 3개를 실험 기간 동안 28°C에 놓아두었다. 배지 1에서의 미세 조류 세포 생장은 또한, 23°C의 온도에서 평가하였다. 상기 모든 발효조에 대한 평가를 위하여, pH는 6.6~6.8로 유지시켰

으며, 이 경우 배지는 500rpm에서 교반하고, 기류 속도는 1vvm으로 하였다. 발효 배양물을 11일 동안 배양하였다. 바이오매스 축적량(건조 세포 중량)은 750nm에서의 광학 밀도로 측정하였다.

[0373] 지질/오일 농도는 표준 기체 크로마토그래피 방법을 이용하는 직접 에스테르 교환 반응으로 측정하였다. 간단히 말하면, 바이오매스를 함유하는 발효액 샘플을 블롯팅 페이퍼(blotting paper) 상에 블롯팅한 후, 이를 원심 분리 튜브에 옮겨담아, 65~70℃의 진공 오븐에서 1시간 동안 건조하였다. 샘플을 건조시킨 다음, 메탄올 중 5% H₂SO₄ 2ml를 상기 튜브에 첨가하였다. 그 다음, 상기 튜브를 가열 블록(65~70℃)에서 3시간 30분 동안 가열하였는데, 이 때, 간헐적으로 튜브에 와동 처리 및 초음파 처리하였다. 이후, 헵탄 2ml를 첨가하고, 튜브를 격렬하게 진탕시켰다. 여기에 6% K₂CO₃ 2ml를 첨가하고 나서, 튜브를 격렬하게 진탕시켜 혼합한 후, 이를 2분 동안 800rpm에서 원심 분리하였다. 그 다음, 상청액을 Na₂SO₄ 건조제를 함유하는 GC 바이알에 옮기고 나서, 표준 기체 크로마토그래피법을 수행하였다. 오일/지질 %는 건조 세포 중량을 기준으로 계산하였다. 다음과 같은 배지들을 사용하여 생장시킨 세포의 건조 세포 중량은 각각 다음과 같았다: 배지 1(23℃) = 9.4g/L; 배지 1(28℃) = 1.0g/L; 배지 2(28℃) = 21.2g/L; 그리고 배지 3(28℃) = 21.5g/L. 다음과 같은 배지들을 사용하여 생장시킨 세포의 지질/오일 농도는 다음과 같았다: 배지 1(23℃) = 3g/L; 배지 1(28℃) = 0.4g/L; 배지 2(28℃) = 18g/L; 및 배지 3(28℃) = 19g/L. 다음과 같은 배지들을 사용하여 생장시킨 세포의 건조 세포 중량을 기준으로 하는 오일%는 다음과 같았다: 배지 1(23℃) = 32%; 배지 1(28℃) = 40%; 배지 2(28℃) = 85%; 및 배지 3(28℃) = 88%. 3개의 상이한 배지 제조물을 사용하여 생산된 조류 바이오매스의 지질 프로필(28℃)(내부 표준에 대해 정규화한 후의 면적%)을 이하 표 2에 요약하였다.

표 2

[0374] 상이한 배지 조건 하에서 생장한 클로렐라 프로토테코이데스의 지질 프로필

	배지1 28℃ (면적%)	배지 2 28℃ (면적%)	배지 3 28℃ (면적%)
C14:0	1.40	0.85	0.72
C16:0	8.71	7.75	7.43
C16:1	--	0.18	0.17
C17:0	--	0.16	0.15
C17:1	--	0.15	0.15
C18:0	3.77	3.66	4.25
C18:1	73.39	72.72	73.83
C18:2	11.23	12.82	11.41
C18:3 알파	1.50	0.90	1.02
C20:0	--	0.33	0.37
C20:1	--	0.10	0.39
C20:1	--	0.25	--
C22:0	--	0.13	0.11

[0375] 실시예 3

[0376] 식료품용 바이오매스의 제조

[0377] 상기 실시예 1~2 중 임의의 실시예에 기술된 바와 같이 미세 조류를 배양하여 미세 조류 바이오매스를 생산하였다. 미세 조류 바이오매스를 발효조, 플라스크 또는 기타 생물 반응기로부터 수집하였다.

[0378] GMP 절차는 다음과 같다. 의학적 검사 또는 관찰 결과에 따라서 식품, 식품-접촉 표면 또는 식품 포장 재료를 오염시킬 가능성이 있는 임의의 기타 비정상적인 미생물 오염원, 또는 감염된 상처, 빨갇게 부은 상처 또는 종기를 비롯한 개방 병소를 가지고 있거나 가지고 있는 것으로 보이거나, 또는 병을 앓고 있거나 앓고 있는 것으로 보이는 사람은, 병태가 치료될 때까지 오염 발생 가능성이 있는 임의의 작업으로부터 제외될 것이다. 참가자들에게는 자신들의 감독관에게 건강 상태를 보고하도록 지시한다. 미세 조류 바이오매스, 바이오매스-접촉 표면 그리고 바이오매스-포장 재료와 직접 접촉하면서 일하는 사람들은 모두 미세 조류 바이오매스의 오염을 방지하는데 반드시 따라야 할 위생 관리 규정을 준수한다. 청결함을 유지하는 방법으로는 다음과 같은 것을 포함하

나, 이에 한정되는 것은 아니다: (1) 바이오매스, 바이오매스-접촉 표면 또는 바이오매스 포장 재료가 오염되는 것을 막도록 하기 위하여, 작업에 적당한 겜을 입는 것. (2) 작업 인력의 청결함을 적절하게 유지시키는 것. (3) 작업을 시작하기 전, 작업 장소를 떠날 때마다, 그리고 손이 더러워졌거나 오염될 수 있었을 때라면 언제든지, 적당한 손소독 시설에서 철저하게 손을 씻는 것(그리고, 원치않는 미생물로 오염되는 것을 막기 위해서 필요하다면 위생 처리하는 것). (4) 바이오매스, 장치 또는 용기로 떨어질 수 있는, 확실하게 채워지지 않은 장신구 및 기타 사물을 모두 제거하고, 바이오매스를 손으로 조작하는 동안, 충분히 위생 처리하지 못한 손 장신구를 제거하는 것. 만일 손 장신구를 제거할 수 없다면, 원상태, 청결한 상태 그리고 위생 처리 조건 하에 유지될 수 있으며, 바이오매스, 바이오매스 접촉 표면 또는 바이오매스-포장 재료에 의해 오염되는 것을 효율적으로 막아주는 재료로 상기 손 장신구를 커버할 수 있다. (5) 만일 장갑이 바이오매스 취급시 사용될 때, 이 장갑을 원상태로 청결하게, 그리고 위생 처리 조건 하에 유지시키는 것. 상기 장갑은 불투과성 재료이어야 한다. (6) 적당한 경우, 헤어넷, 헤어밴드, 캡, 수염 커버(beard covers) 또는 기타 머리카락이 빠지는 것을 효율적으로 막아주는 도구를 착용하는 것. (7) 기타 인력의 소유물과 의복을 바이오매스가 노출되거나 장비 또는 도구가 세정되는 지역 이외의 지역에 보관하는 것. (8) 다음과 같은 행위들을, 바이오매스가 노출될 수 있거나 장비 또는 도구가 세척되는 지역 이외의 지역에 국한하는 것: 바이오매스 먹기, 껌 씹기, 음료 마시기 또는 담배 피우기. (9) 바이오매스, 바이오매스 접촉 표면 또는 바이오매스-포장 재료가 미생물 또는 외부 물질, 예를 들어 땀, 머리카락, 화장품, 담배, 화학 물질 및 피부에 도포된 약(이에 한정되는 것은 아님)으로 오염되는 것을 막는데 필요한 기타 임의의 주의 사항들을 지키는 것. 선택적으로 미세 조류 바이오매스는 이를 대상으로 세포 분쇄 방법을 수행하여, 용해물을 생성할 수 있으며/있거나 선택적으로는 건조되어 미세 조류 바이오매스 조성물로 제조될 수도 있다.

[0379] 실시예 4

[0380] 고 오염 함량 조류 플라이크를 제조하기 위한 클로렐라 프로토테코이데스의 배양

[0381] 실시예 2 및 실시예 3에 기술된 방법에 따라서, 5,000L들이 발효 탱크를 사용하여 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250) 바이오매스를 제조하였다. 글루코스(옥수수 시럽) 농도는 상기 과정 전반에 걸쳐 모니터링하였다. 글루코스 농도가 낮으면, 발효 탱크에 글루코스를 더 첨가하였다. 질소가 모두 소모된 후, 세포는 지질을 축적하기 시작하였다. 본 과정 전반에 걸쳐서 바이오매스 샘플을 취하여 지질 수준을 모니터링하고, 바이오매스가 원하던 지질 함량(40 건조 세포 중량% 이상)을 가지게 될 때 이 과정을 중단하였다. 이러한 경우, 지질 함량이 약 50 건조 세포 중량% 이상이 되었을 때 바이오매스를 수집하였다.

[0382] 미세 조류 바이오매스를 조류 플라이크로 가공하기 위해서, 수집한 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스를 원심 분리법으로 배양 배지로부터 분리하고 나서, 약 150~170℃에서 표준적인 방법으로 드럼 건조기 상에서 건조하였다. 생성된 드럼 건조 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스(지질 함량이 약 50 건조 세포 중량%인 고품질 지질 바이오매스)를 포장하여, 조류 플라이크로 사용하기 위해 보관하여 두었다.

[0383] 실시예 5

[0384] 건조된 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스 중 조류 독소 부재

[0385] 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250) 바이오매스 샘플을 실시예 4에 기술된 방법으로 생장 및 제조하였다. 액체 크로마토그래피-질량 분석법/질량 분석법(LC-MS/MS)을 통하여, 건조 바이오매스를 대상으로 오염 조류 및 남조류 독소가 존재하는지 여부에 대해 분석하였다. 문헌에 공표되었으며, 또한 국제 식품 규정에서 언급된 조류 및 남조류 독소의 모든 균을 대상으로 하여 분석을 수행하였다. 분석 결과를 통하여, 바이오매스 샘플은 테스트되었던 조류 또는 남조류 독소 중 어느 것도, 검출가능한 수준으로 함유하지 않았음을 알 수 있다. 그 결과를 이하 표 3에 요약하였다.

표 3

[0386] 조류 및 남조류 독소에 대한 LC-MS/MS 분석 결과

독소 카테고리	독소	결과	검출 한계 (LC/MS)
기억 상실성 패독(ASP) 독소	도모산	검출 안됨	1 μ g/g
설사성 패류독(DSP) 독소	오카다산 및 다이노피시톡신	검출 안됨	0.1 μ g/g

	펙테노톡신	검출 안됨	0.1 μ g/g
	예소톡신	검출 안됨	0.1 μ g/g
	아자스피라사이드	검출 안됨	0.1 μ g/g
	짐노다이민	검출 안됨	0.1 μ g/g
마비성 패독(PSP) 독소	삭시톡신	검출 안됨	(HPLC/FD) 0.3 μ g/g
	네오삭시톡신	검출 안됨	(HPLC/FD) 0.3 μ g/g
	디카바모일 삭시톡신	검출 안됨	(HPLC/FD) 0.3 μ g/g
	고니오톡신	검출 안됨	(HPLC/FD) 0.3 μ g/g
신경성 패독(NSP) 독소	브레베톡신	검출 안됨	0.1 μ g/g
남조류 독소	마이크로시스틴	검출 안됨	0.1 μ g/g
	MC-RR, MC-LR, MC-YR, MC-LA, MC-LW 및 MC-LF		
	노둘라린	검출 안됨	0.1 μ g/g
	아나톡신-a	검출 안됨	0.5 μ g/g
	실린드로스피몹신	검출 안됨	0.2 μ g/g
	베타-메틸아미노-L-알라닌	검출 안됨	2.5 μ g/g

[0387] 실시예 6

[0388] 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스 중 섬유소 함량

[0389] ACOC 인터내셔널(ACOC International)(AOAC 방법 991.43)에서 공식화한 방법에 따라서, 실시예 4 및 실시예 17에 기술한 방법을 사용하여 생장 및 제조된 건조 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250) 바이오매스 샘플을 대상으로 하여 일반 성분 분석을 수행하였다. 두 샘플에 대해 총 지방 함량(지질/오일)을 측정하기 위하여 산 가수분해를 수행한 결과, 고 지질 조류 바이오매스에 대한 지방 함량은 약 50%이고, 고 단백질 조류 바이오매스에 대한 지방 함량은 약 15%였다. 고 지질 조류 바이오매스 및 고 단백질 조류 바이오매스에 대한 미정제 섬유소 함량은 2%였다. 고 지질 조류 바이오매스와 고 단백질 조류 바이오매스 둘 다에 있어서, (중량 측정법에 의해 측정된) 수분 함량은 5%였다. 무기 회분을 대상으로 도가니 소각법(crucible burning)으로 측정하여 분석한 회분 함량은, 고 지질 조류 바이오매스의 경우에는 2%였으며, 고 단백질 조류 바이오매스의 경우에는 4%였다. 각각의 바이오매스를 소각할 때 방출된 질소의 양으로 측정한 조 단백질의 함량은, 고 지질 바이오매스의 경우에는 5%였으며, 고 단백질 바이오매스의 경우에는 50%였다. 탄수화물 함량은 상기 지방, 미정제 섬유소, 수분, 회분 및 조 단백질에 대해 공지된 수치들을 취하여, 이를 100에서 공제하였을 때의 차로써 계산하였다. 고 지질 바이오매스에 대해 계산된 탄수화물 함량은 36%였으며, 고 단백질 바이오매스에 대해 계산된 탄수화물 함량은 24%였다.

[0390] 상기 두 조류 바이오매스의 탄수화물 함량에 대하여 추가 분석을 실시한 결과, 샘플 중 유리당(대부분이 수크로스임)은 약 4~8%(w/w)였음을 알 수 있었다. 고 지질 함유 조류 바이오매스 분취액 다수 개를 유리당에 대해 테스트한 결과(프럭토스, 글루코스, 수크로스, 말토스 및 락토스에 대한 분석), 수크로스의 양은 2.83~5.77%였으며; 말토스는 미검출~0.6%였고; 글루코스는 미검출~0.6%였다. 검정된 분취액들 중 임의의 분취액에서는 다른 당 즉, 프럭토스, 말토스 및 락토스는 검출되지 않았다. 고 단백질 함유 조류 바이오매스의 분취액 다수 개도 유리당에 대해 테스트하였으며, 분취액들 중 임의의 분취액에서는 수크로스만이 검출되었다(6.93~7.95%).

[0391] ACOC 인터내셔널(AOAC 방법 991.43)에서 공식화한 방법에 따라서, 상기 두 개의 조류 바이오매스의 (조류 바이오매스 탄수화물 분획 내) 식이 섬유 총 함량에 대한 분석을 수행하였다. 고 지질 바이오매스는 전체 29.44%의 식이 섬유 중 가용성 섬유소를 19.58%, 그리고 불용성 섬유소를 9.86% 함유하였다. 고 단백질 바이오매스는 전체 14.59%의 식이 섬유 중 가용성 섬유소를 10.31%, 그리고 불용성 섬유소를 4.28% 함유하였다.

[0392] 조류 바이오매스의 단당류 분석

[0393] 실시예 4에 기술된 방법에 따라서 생장 및 제조하였으며, 지질 함량이 약 50 건조 세포 중량%인 건조 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250) 바이오매스 샘플을, 산성 메탄올 분해법에 의해 샘플로부터 생산된 단당류 메틸 글리코시드의 per-O-트리메틸실릴(TMS) 유도체를 대상으로 한 혼합 기체 크로마토그래피/질량 분광 분석법(GC/MS)를 이용하여, 단당류(글리코실) 조성에 대해 분석하였다. 요약하면, 처음에, 메탄올 중 1M HCl에서 메탄올 분해를 수행하여 건조 클로렐라 프로토테코이데스 샘플로부터 메틸 글리코시드를 제조한 후(80℃, 18~22분), 메탄올 중 아세트산 무수물 및 피리딘으로 다시 N-아세틸화하여 아미노 당을 검출하였다. 이후, 80℃에서 30분 동안

샘플을 트리-실(Tri-Sil; Pierce)로 처리하여 이 샘플을 per-O-트리메틸실릴화하였다. 이와 같은 방법에 대해서는 이미 문헌[Merkle 및 Poppe (1994) *Methods Enzymol.* 230:1-15 및 York et al. (1985) *Methods Enzymol.* 118:3-40]에 개시된 바 있다. 5975b MSD에 인터페이스된 HP 6890 GC 상에서 TMS 메틸 글리코시드를 대상으로 GC/MS 분석을 수행하였다(올 테크 EC-1(A11 Tech EC-1) 발연 실리카 모세관 컬럼(30m × 0.25 mm ID) 사용). 당당류의 체류 시간을 표준치와 비교하여 이 당당류를 동정하고, 이와 같은 당당류의 탄수화물 특징을 당당류 질량 스펙트럼에 의해 입증하였다. 클로렐라 프로토테코이데스의 당당류(글리코실) 조성은 다음과 같았다: 아라비노스 1.2 몰%, 만노스 11.9 몰%, 갈락토스 25.2 몰% 및 글루코스 61.7 몰%. 이와 같은 결과들을 전체 탄수화물 몰%로서 나타내었다.

[0394] 실시예 7

[0395] 조류 바이오매스의 아미노산 프로파일

[0396] 실시예 4에 기술된 방법에 따라서 생장 및 제조하였으며, 지질 함량이 약 50 건조 세포 중량%인 건조 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250) 바이오매스 샘플을 대상으로 하여, ACOC 인터내셔널에서 공식화한 방법에 따라서, 아미노산 함량에 대해 분석하였다(트립토판 분석: AOAC 방법 988.15; 메티오닌 및 시스틴 분석법: AOAC 방법 985.28 및 기타 아미노산: AOAC 방법 994.12). 건조 조류 바이오매스로부터 유래하는 아미노산 프로파일(전체 단백질 %로 나타냄)을 건조 전란의 아미노산 프로파일(전란(Protein Factory Inc., New Jersey)에 대한 제품 명세서로부터 파악되는 프로파일)과 비교하였는데, 그 결과를 통하여, 상기 2개의 공급원은 단백질 영양 가치가 거의 동일하였음을 알 수 있었다. 클로렐라 프로토테코이데스 샘플의 (전체 단백질에 대한) 상대적인 아미노산 프로파일을 통하여, 바이오매스는 메티오닌(2.25%), 시스테인(1.69%), 리신(4.87%), 페닐알라닌(4.31%), 루신(8.43%), 이소루신(3.93%), 트레오닌(5.62%), 발린(6.37%), 히스티딘(2.06%), 아르기닌(6.74%), 글리신(5.99%), 아스파르트산(9.55%), 세린(6.18%), 글루탐산(12.73%), 프롤린(4.49%) 하이드록시프롤린(1.69%), 알라닌(10.11%), 티로신(1.87%) 및 트립토판(1.12%)을 함유한다는 것을 알 수 있다. 조류 바이오매스와 전란의 아미노산 프로파일을 비교한 결과를 도 2에 나타내었다.

[0397] 실시예 8

[0398] 클로렐라 프로토테코이데스 UTEX 250 바이오매스의 카로티노이드, 인지질, 토코트리에놀 및 토코페롤 조성

[0399] 실시예 4에 기술된 방법을 사용하여 생산된 조류 바이오매스 샘플을 토코트리에놀과 토코페롤 함량에 대해 분석하였다(순상 HPLC(normal phase HPLC), AOCS 방법Ce 8-89 이용). 헥산 또는 다른 무극성 용매를 사용하여 상기 바이오매스의 토코트리에놀 및 토코페롤 함유 분획을 추출하였다. 토코트리에놀 및 토코페롤의 전체 조성에 대한 결과를 이하 표 4에 요약하였다.

표 4

[0400] 조류 바이오매스 중 토코트리에놀 및 토코페롤 함량

클로렐라 프로토테코이데스 UTEX 250의 토코트리에놀 및 토코페롤 조성	
토코페롤	
알파 토코페롤	6.29mg/100g
델타 토코페롤	0.47mg/100g
감마 토코페롤	0.54mg/100g
총 토코페롤	7.3mg/100g
토코트리에놀	
알파 토코트리에놀	0.13mg/g
베타 토코트리에놀	0
감마 토코트리에놀	0.09mg/g
델타 토코트리에놀	0
총 토코트리에놀	0.22mg/g

[0401] 바이오매스의 카로티노이드 함유 분획을 분리하여, HPLC 방법으로 카로티노이드에 대해 분석하였다. 동결 건조된 조류 바이오매스(실시예 3에 기술된 방법을 통해 생산)를 알루미늄 막자사발 내에서 실리콘 카바이드와 혼합하여 카로티노이드 함유 분획을 제조한 다음, 막자사발과 막자(pestle)를 사용하여 이를 매회 1분씩 4회 분쇄하였다. 이후, 분쇄된 바이오매스와 실리콘의 혼합물을 테트라하이드로푸란(THF)으로 헝구고나서 상청액을 수집하

였다. 상청액이 무색을 띠게 될 때까지 바이오매스를 반복하여 추출하였으며, 모든 추출물로부터 얻은 THF 상청액을 폴링하여, 이를 대상으로 카로티노이드 함량에 대해 분석하였다(표준적 HPLC 방법 이용). 드럼 건조기를 사용하여 건조된 조류 바이오매스의 카로티노이드 함량도 전술한 방법을 사용하여 분석하였다.

[0402] 동결 건조된 조류 바이오매스의 카로티노이드 함량은 다음과 같았다: 전체 루테인(66.9~68.9mcg/g; 이 중, 시스-루테인은 12.4~12.7mcg/g이고 트랜스-루테인은 54.5~56.2mcg/g임); 트랜스-제아잔틴(31.427~33.451mcg/g); 시스-제아잔틴(1.201~1.315mcg/g); t-알파 크립토잔틴(3.092~3.773mcg/g); t-베타 크립토잔틴(1.061~1.354mcg/g); 15-cis-베타 카로틴(0.625~0.675mcg/g); 13-시스-베타 카로틴(0.269~0.376mcg/g); t-알파 카로틴(0.269~0.376mcg/g); c-알파 카로틴(0.043~0.10mcg/g); t-베타 카로틴(0.664~0.741mcg/g); 및 9-시스-베타 카로틴(0.241~0.263mcg/g). 보고된 전체 카로티노이드의 함량은 105.819~110.815mcg/g였다.

[0403] 드럼 건조된 조류 바이오매스의 카로티노이드 함량은 상당히 낮았다: 전체 루테인(0.709mcg/g; 이 중, 트랜스-루테인은 0.091mcg/g이고, 시스-루테인은 0.618mcg/g임); 트랜스-제아잔틴(0.252mcg/g); 시스-제아잔틴(0.037mcg/g); 알파-크립토잔틴(0.010mcg/g); 베타-크립토잔틴(0.010mcg/g) 및 t-베타-카로틴(0.008mcg/g). 보고된 전체 카로티노이드의 함량은 1.03mcg/g였다. 이와 같은 데이터를 통하여, 조류 바이오매스를 건조하는데 사용된 방법은 카로티노이드 함량에 큰 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있다.

[0404] 조류 바이오매스를 대상으로 인지질 분석법도 수행하였다. 폴츠(Folch) 추출 방법(클로로포름, 메탄올 및 물의 혼합물 사용)으로 인지질을 함유하는 분획을 추출하고, AOCS 공식 방법 Ja 7b-91, 가수 분해된 레시틴의 HPLC 측정법(International Lecithin and Phospholipid Society 1999), 그리고 광 산란 검출법(International Lecithin and Phospholipid Society 1995)을 이용하는 인지질 HPLC 분석 (인지질 함량 분석)을 통하여, 오일 샘플을 분석하였다. 전체 인지질 함량(%w/w)은 1.18%였다. 조류 오일의 인지질 프로파일은 포스파티딜콜린(62.7%), 포스파티딜에탄올아민(24.5%), 리소포스파티딜콜린(1.7%) 및 포스파티딜이노시톨(11%)이었다. 조류 바이오매스로부터 인지질 함유 분획을 헥산 추출하여 유사하게 분석을 수행하였다. 전체 인지질 함량(%w/w)은 0.5%였다. 인지질 프로파일은 포스파티딜에탄올아민(44%), 포스파티딜콜린(42%) 및 포스파티딜이노시톨(14%)이었다.

[0405] 실시예 9

[0406] 조류 플레이크(고 함량 오일) 함유 식료품

[0407] 카디오/메타볼릭 헬스 바(Cardio/Metabolic Health Bar)

[0408] 카디오/메타볼릭 헬스 바 성분으로서는 즉석 귀리(quick oats)(30.725%), 쌀 강정(9.855%), 미세 과립형 설탕(수크로스)(14.590%), 연갈색 설탕(6.080%), 소금(0.550%), 카놀라 오일(10.940%), 옥수수 시럽 42 DE(7.700%), 꿀(3.650%), 물(7.700%), 레시틴(0.180%), 베이킹 소다(0.180%), 건조 조류 바이오매스(클로렐라 포로토테코이데스 UTEX 250, 48% 지질)(1.540%), 코로와이즈 식물성 스테롤(corowise plant sterol)(1.060%), 이눌린(가용성 섬유소)(4.280%) 및 사일림(불용성 섬유소)(0.970%)을 포함한다.

[0409] 지시 사항: (1) 대류에 의해서 325°F로 오븐을 예열한다. (2) 처음에 5개의 성분을 계량하여 보울에 넣어 넣는다. (3) 물, 레시틴 및 베이킹 소다를 호바트 믹서 중에서 혼합한다. (4) 꿀, 옥수수 시럽 및 카놀라 오일을 모두 혼합하고; 30~40초 동안 극초단파로 가열한다. 약수저를 사용하여 손으로 혼합하고, 이 혼합물을 호바트 믹서에 부어 넣는다. (5) 원하던 기준 식품의 풍미를 가한다. (6) 건조 건강 기능 식품(조류 바이오매스, 식물성 스테롤 및 섬유소)을 호바트 믹서에 첨가한다. (7) 나머지 건조 성분을 첨가한다. (8) 상기 혼합물을 합하여 이를 325°F에서 20~25분 동안 대류에 의해 베이킹한다.

[0410] 1일 카디오 샷(Daily Cardio Shot)(원상태인 고 오일 함량 조류 바이오매스를 함유하는 액체 식품)

[0411] 오렌지맛의 카디오 샷의 성분은 증류수(869.858g), 벤조산나트륨(0.100g), 티칼로이드 5415 분말(Ticaloid 5415 powder)(1.000g), 증류 사탕 수수 즈 유래 당 (88.500g), 건조 조류 바이오매스(40% 이상의 오일)(16.930g), 화이버솔(fibersol)-2 ADM(47.000g), 코로와이즈 ES-200 식물성 스테롤(18.300g), 시트르산 과립(1.312g), 오렌지 추출물(WONF, Flavor 884.0062U)(1.000g)로 이루어져 있다. 이 성분들을 혼합 후, 부드러워질 때까지 배합하였다.

[0412] 체중 관리용 스무디(원상태의 고 오일 함량 조류 바이오매스를 함유하는 액체 식품)

[0413] 과일을 주성분으로 하는 스무디의 성분은 증류수(815.365g), 안정화제(4.5g), 사과 즈 농축액(58g), 오렌지 즈 농축액(46.376g), 레몬즙 농축액(1.913g), 망고 껍데 농축액(42.5g), 바나나 껍데(40.656g), 패션프루트 즈 농

축액(8.4g), 아스코르브산(0.320g), 조류 플레이크(46.41g), 오렌지맛 추출물(1g), 파인애플맛 풍미제(0.4g) 그리고 망고맛 풍미제(0.16g) 로 이루어져 있다. 이 성분들을 합하여 부드러워질 때까지 배합하였다.

[0414] 카디오/메타볼릭 정제(캡슐화형/정제형으로서, 원상태의 고 오일 함량 조류 바이오매스 함유)

[0415] 메타볼릭 헬스 정제(중량 = 1.25~1.75g)의 성분은 클로렐라 프로토테코이데스 건조 미세 조류 바이오매스(UTEX 250, 40건조 세포 중량% 이상의 지질 함유)(1000mg/정제), 베타텐 베타 카로틴(두날리엘라로부터 유래하는 20% 베타 카로틴)(15mg/정제), 비타민 C(아스코르브산)(100mg/정제), 및 바이오페린(파이퍼 니그렘(piper nigrum) 생체 이용 가능성 인헨서)(2.5mg/정제)으로 이루어져 있다.

[0416] 조류 스낵 칩

[0417] 조류 스낵 칩의 성분은 비 표백 흰 밀가루(1컵), 감자 가루(1/2컵), 조류 바이오매스(40 건조 세포 중량% 이상의 지질 함유)(3테이블스푼), 소금(3/4티스푼, 맛에 따라 조절), 보리 가루(2테이블스푼), 물(1/3~1컵), 그리고 양념(예를 들어, 큐민, 커리, 랜치 드레싱)(원하는 맛에 따라서 선택)으로 이루어져 있다.

[0418] 제조 방법: 건조 성분을 혼합하고, 건조 성분에 1/3컵의 물을 첨가하였다. 물을 추가로 더 부어서(총 1컵 이하) 도우를 만들었다. 이 도우를 치대어 균질하게 만든 다음, 실온에 30분 동안 방치하였다. 방치한 도우를 잘라서 얇은 칩으로 만들고, 이를 275°F에서 20~30분 동안, 또는 바삭해질 때까지 베이킹하였다.

[0419] 조류 건포도 쿠키

[0420] 조류 건포도 쿠키 성분은 버터 또는 마가린(1/2컵, 종래 식품 레시피의 경우에는 3/4컵), 보리 플레이크 또는 오트밀(1 3/4컵), 육두구(1/4티스푼), 물이나 우유(2~3테이블스푼), 갈색 설탕(1컵), 소금(1/2티스푼), 베이킹 파우더(1/2티스푼), 바닐라(1티스푼), 시나몬(1티스푼), 건포도(선택적으로는 브랜드나 오렌지 주스 중에 미리 침지시켜 놓은 것)(3/4컵), 그리고 건조 조류 바이오매스(30% 이상의 오일)(1/3컵)로 이루어져 있다. 이 레시피로는 약 24개의 쿠키를 만들 수 있다.

[0421] 종래 식품 레시피는 계란 2개와 버터 또는 마가린 3/4컵을 필요로 한다. 건조 조류 바이오매스를 사용하는 경우에는, 버터나 마가린은 1/4컵 필요하고 계란 대신에 오일 함유 조류 바이오매스를 사용한다.

[0422] 제조 방법: 버터와 설탕을 섞어서 크림으로 만들었다. 이 크림에 거품이 일 때까지 저어주었다. 여기에 바닐라를 첨가하였다. 밀가루와 보리 플레이크 그리고 조류를 혼합하였다. 버터 혼합물과 밀가루-플레이크의 혼합물을 섞었다. 여기에 건포도를 첨가하였다. 티스푼으로 떠서 이 혼합물을 떨어뜨렸을 때, 반죽 표면이 편평해지도록 가볍게 떨어질 때, 이를 375°F에서 약 9~10분 동안 베이킹하였다.

[0423] 조류 보리 파스타

[0424] 조류를 함유하는 보리 파스타의 성분은 보리 가루(3/4컵), 건조 조류 바이오매스(지질을 적어도 20 건조 세포 중량% 함유)(2테이블스푼), 큰 계란(1개), 그리고 소금(1/2티스푼)으로 이루어져 있다.

[0425] 제조 방법: 밀가루를 보울에 넣고 여기에 조류 및 소금을 첨가하였다. 이를 휘저었다. 중앙에 계란을 넣어준 다음(우물을 만들), 이를 밀가루에 넣고 서서히 교반하였다. 만일 교반하기 어려우면, 물 1 테이블 스푼을 첨가하고 간간이 섞어주었다. 밀가루를 전부 포함하였을 때, 도우를 치대어 상태를 더욱 균질하게 만들어주었다. 이 과정을 5~8분 동안 수행하였다. 도우가 균질해졌을 때, 이 도우를 떼어내어 2개의 작은 볼로 나누고, 그 표면에 올리브 오일을 발라주었다. 이 볼을 덮개로 덮은 다음 약 30분 동안 방치하여 두었다. 도우를 편평하게 펴고 나서, 롤링 핀(rolling pin)으로 두께가 약 1/8인치가 되도록 밀어 페투치네와 유사한 모양의 파스타로 만들었다. 이 파스타를 얇은 스트립으로 저며주었다. 이를 끓고 있는 소금물에 떨어뜨렸다. 약 8~10분 동안 조리하였다. 파스타 위에 소량의 파머산 치즈를 갈아 얹어주고, 간 후추를 소량 첨가하였다.

[0426] 파스타

[0427] 본 실시예는 종래의 레시피에 따라서 제조한 파스타와, 종래 레시피에 첨가된 계란 대신 전 세포 고 지질 바이오매스(지질을 48 건조 세포 중량% 함유하는 클로렐라 프로토테코이데스(균주 UTEX 250))로 제조한 파스타를 비교하는 것이다.

표 5

[0428]

통상의 파스타 대조군 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
전란 (푼 계란)	1	55.67	24.97	1.87
소금, 테이블	1/2 tsp.	3.74	1.68	0.00
중력분	1컵	133.18	59.74	0.00
물	1~2 tbsp.	30.35	13.61	0.00
수량 : 3		222.94	100.00	1.87

표 6

[0429]

전란 대신 전세포 조류 바이오매스를 사용하여 제조된 파스타의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
전 세포 바이오매스		7.55	3.16	1.52
소금, 테이블	1/2 tsp.	3.61	1.51	0.00
중력분	1컵	146.28	61.25	0.00
물		81.37	34.07	0.00
수량 : 3		238.81	100.00	1.52

[0430]

각각의 경우, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0431]

1. 도우 후크(dough hook)가 장착된 키친 애드 보울(kitchen aid bowl) 중에서 밀가루와 소금을 혼합하였다.

[0432]

2. 계란을 저어 풀었다. 도우가 되질 때까지 가볍게 저어 푼 계란을 느린 속도로(스피드 #2) 첨가하였다.

[0433]

3. 필요하다면, 물 1~2Tbsp를 첨가하여 교반하였다.

[0434]

4. 3~4분 동안 혼합하고, 도우가 너무 끈적거린다면 밀가루를 조금 더 첨가하였다.

[0435]

5. 도우 일부를 얇은 편으로 만들 수 있도록 덜어냈다. 도우를 1시간 동안 방치한 다음 얇게 편을 땄다.

[0436]

6. 파스타 압연기(pasta sheeter)를 사용하여, 도우 편을 원하는 두께로 만들었다.

[0437]

7. 파스타를 스트립으로 잘랐다.

[0438]

8. 물이 담긴 주전자를 스토브 위에 놓고 끓였다.

[0439]

9. 파스타를 조리한 다음, 오일/버터를 발라 서로 달라붙지 않도록 만들었다. 이것에 소스를 뿌렸다.

[0440]

전 세포 바이오매스 파스타는 종래의 레시피에 의해 제조된 파스타와 유사한 질감과 외관을 가졌다. 조류의 냄새는 그다지 짙게 나지 않았다. 전세포 조류 바이오매스는 건조 파스타 수율을 높였는데, 이는 주로 수분 결합력으로 인한 것으로 생각된다. 이와 같은 관찰 결과는, 전세포 조류 바이오매스가 건조 또는 가공 식품에 있어서 훌륭한 증량제로서의 역할을 할 수 있다는 사실과 일치하는 것이다.

[0441]

조류 우유

[0442]

조류 우유는 고체를 약 8% 함유하는데, 이 고체는 심장 건강에 좋은 지질 4%, 필수 아미노산 풍부 단백질 2.5%, 탄수화물 1.5% 그리고 섬유소 0.5%로 이루어져 있으며, 또한 비타민 A와 D로 보강되었다. 조류 우유는 건강에 매우 좋은데; 배건들에게는 우유 및 두유 대용으로서 활용할 수 있다. 조류 우유는, 그냥 우유와는 달리 포화 지방 함량이 매우 낮으며, 두유와는 달리 지방이 주로 단일불포화 지방이다(C18:1 = 50% 이상). 조류 우유는 담백한 맛이 나지만; 두유처럼 “콩 비린내”는 나지 않는다. 딸기맛 또는 라즈베리맛과 같은 풍미제를 가할 수 있다.

[0443]

조류 우유의 성분으로서는 약 40% 지질(8%), 비타민 D(200단위), 비타민 A(200 단위), 잔탄 검(0.2%) 및 물(~100%)을 함유하는 건조 조류 전 세포로 이루어져 있다. 잔탄 검이 분산될 때까지 물을 가열하였다. 이후, 건조 조류 전 세포를 따뜻한 잔탄 검 용액 중에 분산시키고, 비타민을 첨가하였다. 이후, 고압 균질화기를 사용하

여 상기 용액을 균질화한 다음, 저온 살균 처리를 하였다. 조류 가루를 사용하여 이하 부가의 제조물을 포함시켰다.

[0444] 실시예 10

[0445] 조류 균질물(고 지질)의 생산

[0446] 실시예 4에 기술된 방법과 조건을 이용하여 생장한 고 지질 함유 클로렐라 프로토태코이테스를 가공하여 고 지질 조류 균질물로 만들었다. 이 미세 조류 바이오매스를 조류 균질물로 가공하기 위하여, 수집한 클로렐라 프로토태코이테스 바이오매스를 처음에는 조류 플레이크로 가공하였다(실시예 4 참조). 이후, 건조한 조류 플레이크를 탈이온수 중에서 재수화하여 고체 농도 약 40%가 되도록 만들었다. 이후, 고압 균질화기(GEA 모델 NS1001)(1000~1200 bar의 압력 수준에서 작동)를 사용하여, 바이오매스의 평균 입자 크기가 10 μ m 미만으로 될 때까지, 상기로부터 생성된 조류 플레이크 현탁액을 미분하였다. 그 결과 생성된 조류 균질물을 포장하여 사용할 때까지 보관하였다.

[0447] 실시예 11

[0448] 기능성 식료품: 지방 대체물로서 식품에 사용되는 고 지질 조류 플레이크 및 조류 균질물

[0449] 이하 실시예에서는, 고 지질(40 중량% 이상) 조류 플레이크 또는 조류 균질물을 종래 저지방 레시피의 지방 대체물로서 사용하는 것에 관하여 기술되어 있다. 실시예 4에 기술된 방법을 사용하여 고 지질 조류 플레이크를 제조하였다. 실시예 8에 기술된 방법을 사용하여 고 지질 조류 균질물을 제조하였다.

[0450] 초콜릿 브라우니

[0451] 본 실시예는 종래의 레시피 즉, 저 지방 대조군 레시피를 사용하여 제조한 초콜릿 브라우니와, 고 지질 조류 플레이크(클로렐라 프로토태코이테스(균주 UTEX 250), 지질 함량 = 48 건조 세포 중량%, 종래 레시피에서 지방의 일부를 대신함)를 사용하여 제조한 초콜릿 브라우니를 비교한 것이다.

표 7

[0452] 종래 초콜릿 브라우니 대조군의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
버터	1 스틱, 1/4lb	114.00	19.05	15.24
코코아 분말	1/4컵	48.00	8.02	0.80
전란	3	156.00	26.07	1.96
과립형 설탕	1컵	140.92	23.55	0.00
중력분	1컵	130.40	21.79	0.00
베이킹 파우더	1tsp.	3.97	0.66	0.00
바닐라 추출물	1tsp.	5.07	0.85	0.00
수량: 1팬		598.36	100.00	18.00

표 8

[0453] 저 지방 대조군의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
버터		0.00	0.00	0.00
코코아 분말	1/4컵	48.00	10.25	1.03
물		139.80	29.86	0.00
전란	0.00	0.00	0.00	0.00
과립형 설탕	1컵	140.92	30.10	0.00
중력분	1컵	130.40	27.85	0.00
베이킹 파우더	1tsp.	3.97	0.85	0.00
바닐라 추출물	1tsp.	5.07	1.08	0.00
수량: 1팬		468.16	100.00	1.03

표 9

[0454] 버터 및 계란 대신 전 조류 바이오매스를 사용하여 제조된 브라우니 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
전 세포 바이오매스		73.00	12.59	6.5
코코아 분말	1/4컵	24.00	4.14	
물	3	148.00	25.52	
과립형 설탕	1컵	183.00	31.55	
중력분	1컵	133.00	22.93	
베이킹 파우더	1tsp.	4.00	0.69	
다진 피칸	1컵	0.00	0.00	
바닐라 추출물	1tsp.	15.00	2.59	
수량: 1팬		580.00	100.00	6.5

[0455] 각각의 경우, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0456] 1. 오븐을 350°F로 예열하였다. 8×8 베이킹 팬에 오일을 칠하고 나서 밀가루를 넣었다.

[0457] 2. 작은 소스팬에서 버터를 코코아 분말과 함께 녹였다. 이를 방지하여 식혔다.

[0458] 3. 패들이 장착된 키친-에드 보울에서 계란에 거품이 일도록 계란을 저었다. 여기에 설탕을 천천히 넣었다.

[0459] 4. 실온에서, 천천히 가온한 버터/코코아 분말 혼합물을 계란 혼합물에 첨가하였다.

[0460] 5. 밀가루와 베이킹 파우더를 혼합하였다. 이 혼합물의 절반을 반죽에 첨가하였다.

[0461] 6. 나머지 가루에 피칸을 넣었다. 이 혼합물을 상기 반죽에 첨가하였다. 잘 배합이 될 때까지 이 혼합물을 천천히(속도 #2) 혼합하였다. 여기에 바닐라 추출물을 첨가하고 혼합하였다.

[0462] 7. 반죽을 팬에 붓고 넓게 펴다. 이를 20~25분 동안 베이킹하였다.

[0463] 8. 브라우니를 냉각시켰는데, 원하면 얼음을 사용하여 냉각시켰다.

[0464] (버터와 계란은 첨가하지 않은) 저 지방 대조군 브라우니는, 조류 플레이크 를 첨가하여 제조한 브라우니 또는 종래의 브라우니와 비교하였을 때, 부서지기(crumb) 구조가 상이하였다. 조류 플레이크 브라우니는 부서짐의 구조가 조밀하다는 것을 눈으로 확인할 수 있었으나, 한편으로는 전지 브라우니보다 조금 더 조밀하고 더 진득하였다. 개략적으로, 조류 플레이크로 만들어진 브라우니의 지방 함량은, 종래의 브라우니와 비교하였을 때 약 64% 감소하였다.

[0465] 엘로우 케이크

[0466] 본 실시예는 종래의 레시피, 저지방 레시피, 종래의 레시피에서 계란과 버터 대신 고 지질 조류 균질물(HL-AH)을 사용하는 레시피, 그리고 종래의 레시피에서 계란 대신 고 지질 조류 플레이크를 사용하는 레시피에 따라서 제조된 엘로우 케이크들을 비교한 것에 관한 것이다. 조류 균질물과 조류 플레이크는 둘 다 클로렐라 프토토 테코이데스(균주 UTEX 250)(지질 함량 = 48 건조 세포 중량%)으로 제조된 것이다.

표 10

[0467] 종래의 엘로우 케이크 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
버터	1컵	222.20	11.38	9.11
과립형 설탕	2 1/2컵	476.16	24.40	0.00
전란	3	148.26	7.60	0.57
바닐라 추출물	1 1/2tsp.	6.50	0.33	0.00

버터밀크, 1% MF	2 1/2컵	575.00	29.46	0.29
중력분	3 3/4컵	502.96	25.77	0.00
베이킹 파우더	2 1/4tsp.	8.35	0.43	0.00
베이킹 소다	2 1/2tsp.	12.44	0.64	0.00
수량: 2팬		1951.87	100.00	9.97

표 11

[0468]

저 지방 네가티브 대조군의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
버터	0.00	0.00	0.00	0.00
과립형 설탕	2 1/2컵	475.00	30.36	0.00
전란	0.00	0.00	0.00	0.00
바닐라 추출물	1 1/2tsp.	6.50	0.42	0.00
버터밀크, 1% MF	2 1/2컵	575.00	36.75	0.37
중력분	3 3/4컵	487.69	31.17	0.00
베이킹 파우더	2 1/4tsp.	8.52	0.54	0.00
베이킹 소다	2 1/2tsp.	11.90	0.76	0.00
수량: 2팬		1564.61	100.00	0.37

표 12

[0469]

계란 및 버터 대신 미분된 고 지질 조류 바이오매스를 사용하여 제조한 옐로우 케이크 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
버터	0.00	0.00	0.00	0.00
과립형 설탕	2 1/2컵	457.00	22.98	
미분된 HL-AH	100.00	5.03	2.41	
물(계란 및 버터 유 래) + 부가의 바닐라 추출물		308.47	15.51	
	1 1/2tsp.	20.00	1.01	
버터 밀크	2 1/2컵	575.00	28.92	
중력분	3 3/4컵	505.00	25.40	
베이킹 파우더	2 1/4tsp.	9.80	0.49	
베이킹 소다	2 1/2tsp.	13.30	0.67	
		1988.57	100.00	2.41

표 13

[0470]

계란 대체물로서 고 지질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 옐로우 케이크의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
버터	1컵	227.00	11.69	9.35
과립형 설탕	2 1/2컵	457.00	23.53	
조류 플레이크		22.50	1.16	0.56
물(계란 유래)		112.50	5.79	
바닐라 추출물	1 1/2tsp.	20.00	1.03	

버터밀크	2 1/2컵	575.00	29.61	
중력분	3 3/4컵	505.00	26.00	
베이킹 파우더	2 1/4tsp.	9.80	0.50	
베이킹 소다	2 1/2tsp.	13.30	0.68	
수량: 2팬		1942.10	100.00	9.91

[0471] 각각의 경우에서, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0472] 1. 오븐을 350°F로 예열하였다. 9 × 13 인치 팬 2개에 오일을 칠하고 나서 밀가루를 넣었다.

[0473] 2. 밀가루, 베이킹 파우더 및 베이킹 소다를 체로 쳤다. 이것을 한쪽에 놓아두었다.

[0474] 3. 키친 애드 보울에서 윤기가 돌 때까지 버터와 설탕을 크림이 되도록 만들었다. 팬 1개에 계란 하나씩을 넣어서 풀어주었다.

[0475] 4. 여기에 바닐라 추출물을 첨가하였다.

[0476] 5. 반죽에 밀가루 혼합물과 버터밀크를 번갈아서 첨가하였다. 잘 포함될 때까지 혼합하였다.

[0477] 6. 반죽을 미리 준비해 둔 팬에 부었다.

[0478] 7. 35~40분 동안, 또는 꼬챙이를 찔러서 빼냈을 때 그 꼬챙이에 아무것도 묻어나지 않을 때까지 케이크를 베이킹하였다.

[0479] 8. 냉각시켰다.

[0480] 고 지질 조류 플레이크(계란 대체물)를 사용하여 제조된 옐로우 케이크는 조직이 매우 조밀해서, 부스러기 구조물이 거의 없었다. 그러나, 고 지질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 옐로우 케이크는, 매우 조밀하고 수분이 적은 저 지방 네거티브 대조군과 비교하였을 때, 촉촉하였다. 고 지질 조류 균질물(HL-AH)(전지 케이크 중 버터와 계란 전부를 대체함)로 제조된 케이크는 매우 촉촉하고 질감에 있어서도 부드러웠으며, 또한 부스러기의 구조가 매우 조밀한 것이 종래의 레시피로 만들어진 케이크와 유사하였다. 시식 중, HL-AH로 제조된 케이크에서는, 종래의 케이크에서 나던 버터 냄새가 나지 않았다. 개략적으로, 상기 HL-AH는 종래의 옐로우 케이크 레시피에 있어서 버터와 계란의 좋은 대체물이었다. HL-AH로 제조된 케이크는 지방을 종래의 옐로우 케이크에 함유된 지방보다 약 75% 적게 함유하였지만, 부스러기의 구조, 질감 그리고 촉촉함이 우수한 케이크로 제조되었다.

[0481] 비스킷

[0482] 본 실시예는 종래 레시피에 의해 제조된 비스킷, 종래 레시피에 있어서 계란과 쇼트닝 대신 고 지질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 비스킷, 그리고 종래 레시피에서 계란과 쇼트닝 대신 고 지질 조류 균질물(HL-AH)을 사용하여 제조된 비스킷을 비교하는 것이다. 조류 플레이크와 조류 균질물 바이오매스 둘 다는 지질 함량이 48 건조 세포 중량% 인 클로렐라 프로토태코이데스(균주 UTEX 250)로부터 유래하였다.

표 14

종래의 비스킷 레시피

[0483]

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	%지방, 습윤 중량
중력분	2컵	277.73	44.59	0.00
베이킹 파우더	4tsp.	20.28	3.26	0.00
과립형 설탕	3tsp.	12.61	2.02	0.00
소금, 테이블	1/2tsp.	3.40	0.55	0.00
쇼트닝 (크리스코;Crisco)	1/2컵	82.04	13.17	13.17
전란	1	53.15	8.53	0.64
우유, 2%	2/3컵	173.68	27.88	0.56
수량: 12		622.89	100.00	14.37

표 15

[0484] 계란과 쇼트닝 대신 고 지질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 비스킷 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
중력분	2컵	275.00	46.08	
베이킹 파우더	4tsp.	17.20	2.88	
과립형 설탕	3tsp.	11.28	1.89	
소금, 테이블	1/2tsp.	3.30	0.55	
조류 플레이크		50.00	8.38	4.02
물		56.00	9.38	
우유, 2%	2/3컵	184.00	30.83	0.62
수량: 12		596.78	100.00	4.64

표 16

[0485] 고 지질 조류 균질물(HL-AH)을 사용한 비스킷 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
중력분	2컵	137.50	46.08	
베이킹 파우더	4tsp.	8.60	2.88	
과립형 설탕	3tsp.	5.65	1.89	
소금, 테이블	1/2tsp.	1.65	0.55	
HL-AH		25.00	8.38	4.02
물		28.00	9.38	
우유, 2%	2/3컵	92.00	30.83	0.62
수량: 12		298.40	100.00	4.64

[0486] 각각의 경우에서, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0487] 1. 오븐을 450°F로 예열하였다.

[0488] 2. 키친 애드 보울에서 밀가루, 베이킹 파우더, 설탕 및 소금을 혼합하였다.

[0489] 3. 굵은 부스러기가 형성될 때까지 이 혼합물에 쇼트닝을 첨가하였다(속도 #2).

[0490] 4. 계란과 우유를 섞어 풀어주었다. 건조 성분에 함수 성분을 첨가하고 이 건조 성분들이 축축해질 때까지 혼합하였다.

[0491] 5. 도우가 형성될 때까지 혼합하였다(스피드 #2, 15초 동안).

[0492] 6. 이 도우를 3/4" 두께(원한다면 시트 형태)로 밀어서 폼다. 2 1/2"의 비스킷 커터로 이 도우를 잘랐다.

[0493] 7. 이 도우를, 오일을 약간 바른 시트 팬에 놓는다. 8~10분 즉, 노릇하게 익을 때까지 베이킹한다.

[0494] 8. 조리 후 따뜻하게 먹었다.

[0495] HL-AH로 제조된 샘플은 질감과 외관에 있어서 전지 대조군과 유사한 양상을 보여주었다. 개략적으로, 상기 HL-AH 비스킷은 종래 레시피에 의해 제조된 비스킷과 가장 가까운 성질을 가졌으면서, 지방 함량이 65% 감소한 비스킷으로 생산되었으나, 여전히 종래 레시피에 의해 제조된 비스킷의 질감이 살아있었거나 그보다 더 뛰어나게 되었다.

[0496] 크립형 샐러드 드레싱

[0497] 본 실시예는 지방이 40%인 종래의 레시피 대조군, 지방이 20%인 저 지방 레시피 대조군, 그리고 지질 함량이 48 건조 세포 중량%인 클로렐라 프로토테코이데스(균주 UTEX 250)로부터 유래하는 고 지질 조류 균질물(HL-AH)(약 20중량%의 지방 함유)을 사용하는 레시피를 이용하여 제조된 마요네즈/샐러드 드레싱을 비교하는 것이다.

표 17

[0498] 40% 지방 대조군 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
카놀라 오일		200.00	40.00	40.00
액체 난황		15.00	3.00	3.00
식초, (증류, 곡류 60종 사 용)		200.00	40.00	0.00
소금, 테이블		0.00	0.00	0.00
물		85.00	17.00	0.00
		500.00	100.00	43.00

표 18

[0499] 20%지방 대조군의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
카놀라 오일		100.00	20.00	20.00
액체 난황		14.78	2.96	2.96
식초 (증류, 곡류 60종 사 용)		200.00	40.00	0.00
소금, 테이블		0.00	0.00	0.00
물		185.22	37.04	0.00
		500.00	100.00	22.96

표 19

[0500] HL-AH 크림형 샐러드 드레싱의 레시피

성분	레시피 계량 단위	중량(g)	백분율(%)	지방 %, 습윤 중량
HL-AH		200.00	40.00	19.0
물		180.00	36.00	
식초(5% 산)		120.00	24.00	
소금, 테이블		0.00	0.00	
		500.00	100.00	19.0

[0501] 각각의 경우에서, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0502] 1. 푸드 프로세서를 사용하여 난황, 산, 물 그리고 소금을 혼합하였다.

[0503] 2. 조밀한 에멀전(tight emulsion)이 형성될 때까지 오일 증으로 천천히 스트리밍(streaming)시켰다.

[0504] 3. 만일 에멀전이 너무 조밀하면, 물을 조금 더 넣었다.

[0505] 4. 푸드 프로세서 용기의 벽면을 긁어서 여기에 묻어있던 혼합물을 긁어낸 다음, 10초 동안 다시 짓이겨서 오일 액적이 고루 포함되도록 만들었다.

[0506] (카놀라 오일로 제조된) 20% 지방 대조군 드레싱은 점성을 띠지 않아서 에멀전을 형성할 수 없었다. 표면에는 거품이 형성되었는데, 이 드레싱을 얹었을 때 오일 액적이 형성되었다. HL-AH로 제조된 드레싱은 조류 바이오매스의 풍미를 냈으며, 불투명성과 점성이 우수하고, 구강 촉감은 크림같았다. 개략적으로, HL-AH는, 20% 및 40% 지방 드레싱 둘 다의 불투명성 및 점성과 비교하였을 때, 드레싱에 더욱 우수한 불투명성과 점성을 부여하였다. HL-AH는 우수한 유화제로서의 역할을 함과 아울러, 지방 함량이 절반으로 감소하였음에도 불구하고 구강 촉감이

적절하여, 지방 함량이 40%인 드레싱으로 생산되었다. 홀란데이즈 소스 레시피(종래의 레시피 대조군으로서, 지방 함량 = 80%)에서, 미분된 HL-AH(지방 함량 = 19%)를 사용하였을 때에도 유사한 결과가 얻어졌다. HL-AH로 제조된 홀란데이즈 소스는 부드럽고 맛이 풍부하였으며, 또한 구강 촉감도 크림같았고 점성도 우수하였다. 이 소스의 색은 전지 대조군보다는 약간 더 진한 황색이었다. 개략적으로, 미분된 HL-AH로 제조된 홀란데이즈 소스는 전지 대조군과 거의 동일한 제품(지방이 75% 감소)으로 생산되었다.

[0507] 모델 초콜릿 음료

[0508] 본 실시예는 종래의 레시피로 제조된 모델 초콜릿 영양 음료를, 종래 레시피 중 우유와 오일 대신 고 지질 조류 균질물(HL-AH)을 사용하여 제조된 음료, 그리고 종래의 레시피 중 우유와 오일 대신 고 지질 조류 플레이크 바이오매스를 사용하여 제조된 음료와 비교하는 것이다. 조류 플레이크 바이오매스와 HL-AH 둘 다는 지질 함량이 48 건조 세포 중량%인 클로렐라 프로토테코이데스(균주 UTEX 250)로부터 유래하였다.

표 20

[0509] 종래의 초콜릿 음료 대조군 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)	지방 %
물	278.60	835.81	83.581	
무지방 분유	17.88	53.64	5.364	
알칼리처리된 코코아 분말	11.38	34.14	3.414	0.376
대두 단백질 분리물	8.12	24.36	2.436	
말토덱스트린	5.00	15.00	1.500	
초콜릿 풍미제	1.62	4.86	0.486	
레시틴	1.14	1	0.1	
검 배합물	0.81	2.43	0.243	
인산수소이소나트륨	0.32	0.96	0.096	
수크랄로즈	0.13	0.39	0.039	
카놀라 오일	8.33	24.99	2.499	2.499
	333.33	1000.00	100.000	2.875

표 21

[0510] 우유와 오일 대신 HL-AH를 사용하여 제조된 초콜릿 음료의 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)	지방 %
물	278.60	857.23	85.723	
HL-AH	17.88	55.02	5.502	2.641
알칼리처리된 코코아 분말	11.38	35.02	3.502	0.385
대두 단백질 분리물	8.12	24.98	2.498	
말토덱스트린	5.00	15.38	1.538	
초콜릿 풍미제	1.62	4.98	0.498	
검 배합물	0.81	2.49	0.249	
인산수소이소나트륨	0.32	0.98	0.098	
수크랄로즈	0.13	0.40	0.040	
	325.00	1000.00	100.000	3.026

표 22

[0511] 우유 및 오일 대신 조류 플레이크 바이오매스를 사용하여 제조된 초콜릿 음료 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)	지방 %
물	278.60	857.23	85.723	

조류 플레이크 (48% 지질)	17.88	55.02	5.502	2.641
알칼리처리된 코코아 분말	11.38	35.02	3.502	0.385
대두 단백질 분리물	8.12	24.98	2.498	
말토덱스트린	5.00	15.38	1.538	
초콜릿 풍미제	1.62	4.98	0.498	
검 배합물	0.81	2.49	0.249	
인산수소이나트륨	0.32	0.98	0.098	
수크랄로스	0.13	0.40	0.040	
	325.00	1000.00	100.00	3.026

[0512] 각각의 경우, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0513] 1) 건조 성분들을 배합하였다.

[0514] 2) (풍미제를 제외한) 함수 성분을 주전자에 첨가하였다.

[0515] 3) 건조 성분들을 저어 주었다.

[0516] 4) 스틱 배합기로 1분 동안 짓이겼다.

[0517] 5) 스토브 위에서 200°F까지 가열하였다.

[0518] 6) 2500/500 psi에서 균질화하였다.

[0519] 7) 40°F 미만의 온도가 될 때까지 냉각시킨 다음 냉장 보관한다.

[0520] HL-AH를 함유하는 초콜릿 음료는 조류 플레이크를 함유하는 초콜릿 음료보다 점성이 더 크고, 외관도 더욱 보기 좋았으며, 또한 종래의 초콜릿 음료와 매우 흡사한 외관을 가졌다. 개략적으로, 미분된 HL-AH 샘플은 종래 초콜릿 음료 대조군과 외관상 아주 많이 유사하였으며, 점성도 우수하였고, 또한 종래의 초콜릿 음료 대조군보다는 약간 더 불투명하였다.

[0521] 실시예 12

[0522] 조류 분말(고 지질)의 제조

[0523] 실시예 4에 기술된 발효 방법과 조건에 따라서 생장한, 고 지질 함유 클로렐라 프로토테코이데스를 고 지질 조류 분말로 가공하였다. 미세 조류 바이오매스를 조류 분말로 가공하기 위해서, 수집된 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스를 배양 배지로부터 분리한 후, 원심 분리법을 이용하여 농축하고, 그 다음, 표준적인 방법에 따라서 분사 건조기를 사용하여 건조하였다. 생성된 조류 분말(분말 형태로 분사 건조된 조류 전세포)을 포장하여 사용시까지 보관하여 두었다.

[0524] 실시예 13

[0525] 조류 가루(고 지질)의 제조

[0526] 실시예 4에 기술된 발효 방법과 조건에 따라서 생장한 고 지질 함유 클로렐라 프로토테코이데스를 고 지질 조류 가루로 가공하였다. 이 미세 조류 바이오매스를 조류 가루로 가공하기 위해서, 수집한 클로렐라 프로토테코이데스 바이오매스를 원심 분리를 사용하여 배양 배지로부터 분리하였다. 이로부터 생성된, 수분 함량이 40% 이상인 농축 바이오매스를, 이 바이오매스의 평균 입자 크기가 10 μ m 미만이 될 때까지 1000~1200bar의 압력 수준에서 작동하는 고압 균질화기(GEA model NS1001)로 미분하였다. 이후, 표준적인 방법을 이용하여 조류 균질물을 분사 건조하였다. 생성된 조류 가루(분말형으로 분사 건조된 미분 조류 세포)를 포장하여 사용할 때까지 보관하여 두었다.

[0527] 고 지질 가루 샘플을 입자 크기에 대해 분석하였다. 조류 가루를 수 중 분산액으로 만들고, 하이드로 2000S(Hydro 2000S)가 장착된 맬버튼® 마스터사izer 2000 기기(Malvern® Mastersizer 2000 machine) 상에서 레이저 회절을 사용하여 조류 가루 입자 크기를 측정하였다. 상기 가루를 서서히 혼합하여 대조군 분산액을 만들고, 100bar, 300bar, 600bar 및 1000bar의 압력을 가하여 기타 분산액을 만들었다. 결과를 통하여, 조류 가루의

평균 입자 크기는 압력이 더욱 높은 조건 하에서 만들어진 조류 가루의 평균 입자 크기가 더 작다는 것을 알 수 있었다(서서히 혼합하는 경우에는 3.039 μ m, 1000 bar의 압력 조건 하에서는 2.484 μ m). 입자 크기 분포는 고압 조건 하에서 바뀌었는데, 즉, 큰 입자(10 μ m 초과)는 감소하고, 작은 입자(1 μ m 미만)는 증가하였다. 서서히 혼합 하였을 때의 입자 분포 그래프(도 5의 A), 300bar 압력 하에서의 입자 분포 그래프(도 5의 B), 그리고 1000bar 압력 하에서의 입자 분포 그래프(도 5의 C)를 도 5에 나타내었다. 도 4는 균질화 직후 수 중 분산액에 존재하는 조류 가루의 광학 현미경 사진을 나타내는 것이다. 화살표는 개개의 조류 가루 입자들(10 μ m 미만)을 가리키는 것이며, 화살표의 머리는 응집되었거나 뭉친 조류 가루 입자들(10 μ m 초과)을 가리키는 것이다.

[0528] 실시예 14

[0529] 조류 가루(고 지질) 함유 식료품

[0530] 본 실시예에는 고 지질(적어도 20 중량%, 전형적으로는 25-60 중량%의 지질 함유) 조류 가루를 종래 레시피에서 지방 대신 사용하는 것에 관하여 기술되어 있다. 부가 실시예에서는 또한, 조류 가루가 제조된 식품, 예를 들어 분말형 스크램블된 계란에 사용될 때, 수분 보유량을 늘리고 질감을 개선하는 조류 가루의 독특한 기능성에 관 하여도 입증하고 있다. 이하 실시예에서 사용된 고 지질 조류 가루를, 실시예 13에 기술된 방법에 따라서 제조 하였다.

[0531] 초콜릿 브라우니

[0532] 고 지질 조류 가루를 사용하여 기능 및 미각상 프로파일의 차이를 평가하고자, 종래의 레시피로 제조된 초콜릿 브라우니를, 조류 가루를 사용하여 제조된 브라우니 및 지방 함량이 감소한 종래의 브라우니와 비교하였다. 버터 와 계란 대신에 고 지질(약 53 건조중량%의 지질 함유) 조류 가루를 사용하였다.

표 23

[0533] 종래 브라우니 레시피

성분	중량(g)	650.00g	백분율(%)	지방 %
무염 버터	170.00	135.75	20.88	16.71
코코아 분말	50.00	39.93	6.14	0.61
전란	200.00	159.71	24.57	1.84
과립형 설탕	250.00	199.63	30.71	0.00
중력분	130.00	103.81	15.97	0.00
베이킹 파우더	4.00	3.19	0.49	0.00
소금	3.00	2.40	0.37	0.00
바닐라 추출물	7.00	5.59	0.86	0.00
	814.00	650.00	100.00	19.16

표 24

[0534] 지방을 줄인 브라우니 레시피

성분	중량(g)	650.00g	백분율(%)	지방 %
무염 버터	60.00	57.44	8.84	7.07
코코아 분말	50.00	47.86	7.36	0.74
전란	100.00	95.73	14.73	1.10
과립형 설탕	225.00	215.39	33.14	0.00
물	50.00	47.86	7.36	0.00
옥수수 시럽	50.00	47.86	7.36	0.00
중력분	130.00	124.45	19.15	0.00
베이킹 파우더	4.00	3.83	0.59	0.00
소금	3.00	2.87	0.44	0.00
바닐라 추출물	7.00	6.70	1.03	0.00
	679.00	650.00	100.00	8.91

표 25

[0535] 조류 가루 브라우니 레시피

성분	중량(g)	600.00g	백분율(%)	지방 %
조류 가루	195.00	206.72	34.45	7.30
코코아 분말	48.00	50.88	8.48	0.85
물	41.00	43.46	7.24	0.00
과립형 설탕	140.92	149.39	24.90	0.00
중력분	130.40	138.24	23.04	0.00
베이킹 파우더	4.00	4.24	0.71	0.00
소금	1.67	1.77	0.30	0.00
바닐라 추출물	5.00	5.30	0.88	0.00
	565.99	600.00	100.00	8.15

[0536] 각각의 경우에서, 베이킹 과정은 다음과 같았다:

[0537] 1. 오븐을 350°F로 예열하였다. 8" × 8" 베이킹 팬에 오일을 칠한 다음, 밀가루를 넣었다.

[0538] 2. 작은 소스 팬에서, 버터와 코코아 분말을 함께 녹인다. 이후, 이를 한쪽에 놓아두어 식혔다.

[0539] 3. 거품이 약간 일때까지 계란과 바닐라의 혼합물을 풀어주었다. 여기에 설탕과 나머지 습윤 성분들을 서서히 첨가하였다.

[0540] 4. 이 계란 혼합물에 버터/코코아 혼합물을 첨가하였다. 나머지 건조 성분들을 혼합한 다음, 이를 습윤 혼합물에 서서히 첨가하여 배합하였다.

[0541] 5. 팬에 버터를 펴 바른 후, 이를 20~25분 동안 또는 경화될 때까지 베이킹하였다.

[0542] 조류 가루로 제조된 브라우니에 있어서, 건조 성분을 합한 다음, 조류 가루를 이 건조 성분에 첨가하였다. 그 다음, 습윤 성분(물과 바닐라)을 건조 성분과 천천히 배합하였다. 반죽을 팬에 펴 넣고 이를 27~28분 동안 베이킹하였다.

[0543] 지방을 줄인 종래의 레시피에 따라서, 건조한 질감을 가지며 브라우니 본연의 질감보다는 케이크에 보다 가까운 질감을 가지는 브라우니를 만들었다. (지방을 줄인 레시피로 제조된 브라우니와 유사한 지방 백분율의 지방을 가지는, 즉, 약 8%의 지방을 가지는) 조류 가루로 제조한 브라우니는 매우 촉촉하였으며 브라우니 본연의 질감을 가졌으나, 종래의 브라우니 레시피(지방 약 19% 함유)와 비교하였을 때 부스러기 구조물이 더욱 부서지기 쉬웠다. 실시예 11에 기술된 조류 플레이크로 제조된 브라우니와 비교하였을 때, 조류 가루로 제조된 브라우니는 조직이 조밀하지는 않았으며, 부스러기 구조물도 더욱 물렸다. 개략적으로, 베이킹된 제품의 레시피에 있어서 조류 가루는 버터와 계란의 효율적인 대체물이었으며, 종래의 레시피 제품과 질감, 맛 그리고 외관이 유사한 제품을 생산하였다. 조류 가루는 조류 플레이크를 사용하였을 때에는 찾아볼 수 없었던 독특한 특징(예를 들어, 더욱 미세한 부스러기 구조, 말랑하지 않으며, 질감이 가벼움)을 나타내었다.

[0544] 크기가 각각인 글루텐 불포함 초콜릿 케이크

[0545] 난황과 버터 대신에 조류 가루를 사용하여(수중 조류 가루를 8% 함유하는 슬러리 형태), 글루텐을 함유하지 않고 밀가루를 쓰지 않은 초콜릿 케이크를 제조하였다. 다음과 같은 성분들을 팔호안의 양만큼 사용하였다: 과립형 설탕(130그램); 약간 단 초콜릿(semi-sweet chocolate)(150그램); 물(20그램); 8% 조류 가루 슬러리(100그램); 소금(2.45그램); 베이킹 파우더(4.5그램); 바닐라 추출물(4그램); 및 난백(91.5그램). 상기 초콜릿을 물과 혼합한 다음, 미지근한 물로 서서히 녹였다. 이후, 실온에서 조류 슬러리를 초콜릿 혼합물에 넣어 저어주었다. 이후, 이 초콜릿 혼합물에 설탕(난백에 대해서 설탕 5그램 별도 준비)과 바닐라를 첨가한 다음, 여기에 베이킹 파우더와 소금(난백에 대해서 소금 0.15그램 별도 준비)을 첨가하였다. 거품이 일 때까지 난백을 중간 정도의 속도로 풀어준 다음, 여기에 별도로 준비한 소금을 첨가하였다. 이후, 소프트 피크(soft peak)가 형성될 때까지 난백을 풀어주고 나서, 여기에 별도로 준비한 설탕을 첨가하였다. 된 피크(stiff peaks)가 형성될 때까지 난백을 풀어주었다. 이후, 난백을 초콜릿 혼합물에 넣어 완전히 배합될 때까지 부드럽게 섞어주었다. 그 다음, 반죽을 크기가 각각인 라미킨에 부은 다음, 375°F에서 14~15분 동안 베이킹하였다(8분 경과시 회전). 이와 같이 글루텐을 함유하지 않으며, 밀가루를 사용하지 않은 초콜릿 케이크의 질감과 외관은, 버터 및 난황으로 제조된 종래의 밀가루 불포함 초콜릿 케이크의 그것과 같았다. 상기와 같이 글루텐을 함유하지 않고 밀가루를 사용하지 않은 초콜릿 케이크 제조물에 있어서 조류 가루는 버터와 난황의 훌륭한 대체물이 되었다.

[0546] 마요네즈

[0547] 조류 가루가 유화하는 기능에 대해 평가하기 위해서, 물로 재구성되고(40w/w%) 저압(100~200 bar)에서 균질화되어 슬러리로 형성되는 조류 가루로 제조된 마요네즈를, 종래의 레시피로 제조되었으며 지방을 줄인 마요네즈와 비교하였다. 지질 함량이 약 53 건조중량%인 고 지질 조류 가루로 조류 가루 슬러리를 제조하였는데, 이 경우, 상기 조류 가루 슬러리는 종래 레시피의 오일과 난황을 완벽하게 대체하였다.

표 26

[0548] 종래의 마요네즈 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)	지방 %
대두 오일	344.00	573.33	57.33	57.33
액체 난황	60.00	100.00	10.00	2.65
증류 식초	47.50	79.17	7.92	0.00
과립형 설탕	12.00	20.00	2.00	0.00
소금	11.00	18.33	1.83	0.00
레몬즙 농축물	1.25	2.08	0.21	0.00
잔탄 겔	1.20	2.00	0.20	0.00
마늘 분말	0.50	0.83	0.08	0.00
양파 분말	0.75	1.25	0.13	0.00
물	121.80	203.00	20.30	0.00
	600.00	1000.00	100.00	59.98

표 27

[0549] 지방을 줄인 종래의 마요네즈 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)	지방 %
대두 오일	152.00	253.33	25.33	25.33
액체 난황	15.00	25.00	2.50	0.66
증류 식초	47.50	79.07	7.91	0.00
인스턴트 식품 전분	15.00	24.97	2.50	0.00
과립형 설탕	15.50	25.80	2.58	0.00
소금	11.00	18.31	1.83	0.00
레몬즙 농축물	1.25	2.08	0.21	0.00
인산	5.70	9.49	0.95	0.00
잔탄 겔	1.80	3.00	0.30	0.00
마늘 분말	0.50	0.83	0.08	0.00
양파 분말	0.75	1.25	0.13	0.00
물	333.00	555.00	55.50	0.00
	600.00	1000.00	100.00	26.00

표 28

[0550] 조류 가루 슬러리로 제조된 마요네즈 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)	지방 %
조류 가루 슬러리	344.00	499.38	49.94	26.47
액체 난황	0.00	0.00	0.00	0.00
증류 식초	47.50	79.07	7.91	0.00
인스턴트 식품 전분	15.00	24.97	2.50	0.00
과립형 설탕	15.50	25.80	2.58	0.00
소금	11.00	18.31	1.83	0.00
레몬즙 농축물	1.25	2.08	0.21	0.00
인산	5.70	9.49	0.95	0.00

잔탄 겔	1.80	3.00	0.30	0.00
마늘 분말	1.50	2.50	0.25	0.00
양파 분말	1.50	2.50	0.25	0.00
물	200.00	332.92	33.29	0.00
	600.75	1000.00	100.00	26.47

[0551]

각각의 경우에서, 과정은 다음과 같았다:

[0552]

1. 푸드 프로세서를 사용하여, 산, 물 그리고 건조 성분들을 혼합하였다.

[0553]

2. 여기에 난황을 첨가하고, 오일 또는 조류 가루 슬러리 중으로 천천히 스트리밍시켰다. 조밀한 에멀전이 형성 될 것이다. 만일 에멀전이 지나치게 조밀하면, 에멀전의 질기가 원하는 정도가 될 때까지 물을 더 넣었다.

[0554]

3. 푸드 프로세서 용기의 벽을 긁어내고, 10초 동안 다시 짓이긴 후, 여기에 임의의 오일/슬러리 액적을 포함하였다.

[0555]

조류 가루 슬러리로 제조된 마요네즈의 점성은, 종래 마요네즈와 지방을 줄인 마요네즈의 중간 정도였다. 이 조류 가루 슬러리 마요네즈의 구강 촉감은, 종래의 마요네즈의 구강 촉감과 거의 동일하였다(그러나, 총 지방 함량은 50% 미만임). 더욱 많은 양의 수분과 결합하고, 제품이 더욱 잘 “퍼 발라질 수 있도록” 조밀하게 만들기 위해서, 지방을 줄인 마요네즈와 조류 가루 슬러리 마요네즈 둘 다는 인스턴트 식품 전분을 필요로 하였다. 개략적으로, 종래의 마요네즈 레시피 중 지방 공급원(예를 들어, 오일 및 난황) 전부를 대체할 조류 가루 슬러리를 사용한 결과, 점성이 우수하고 종래의 마요네즈와 구별할 수 없을 정도로 구강 촉감이 동일한 마요네즈가 제조되었다. 조류 가루 슬러리는 종래의 마요네즈에서 찾아볼 수 있는 오일과 난황의 기능을 성공적으로 대신하여, 효율적인 유화제의 역할을 하였다.

[0556]

또 다른 경우에서, 고 지질 조류 가루 슬러리를 사용하여 지방을 줄인 허니 머스타드 딥 소스/드레싱을 제조하였다. 꿀, 머스타드, 화이트 식초, 레몬즙 풍미제 및 바다 소금을, 상기와 같이 제조한 마요네즈(딥 소스/드레싱의 질기를 적당하게 만들기 위해 약간 개질한 마요네즈)에 첨가하였다. 모든 성분을 합한 다음, 이 성분들을 균질하고 부드럽게 될 때까지 푸드 프로세서에서 혼합하였다. 최종 생산 제품은 조류 가루를 약 14 중량%만큼 함유하였으며, 또한 전체 지방 함량은 약 8%였다. 조류 가루를 함유하는 허니 머스타드 딥 소스/드레싱은 종래의 (전지) 허니 머스타드 딥 소스와 거의 동일한 정도로 크림과 같은 구강 촉감을 가졌다.

[0557]

미소 샐러드 드레싱

[0558]

크림 상태의 샐러드 드레싱 제조시 사용된 조류 가루를 평가하기 위하여, 종래의 레시피와, 상기 마요네즈 제조 방법에 기술된 바와 같은 방법으로 제조된 슬러리(40% 고체)로서 재구성된 고 지질 조류 가루를 사용하는 레시피에 따라서, 미소 샐러드 드레싱(miso salad dressing)을 제조하였다.

표 29

[0559]

종래의 미소 샐러드 드레싱 레시피

성분	중량(g)	백분율(중량%)
오일 상:		
카놀라 오일	294.00	98.00
참기름	6.00	2.00
	300.00	100
수성 상:		
식초, 청주	143.50	20.50
미소 페이스트, 레드	166.25	23.70
과립형 설탕	78.75	11.250
마늘 분말	3.5	0.50
머스타드 가루	5.25	0.75
생강 분말	5.25	0.75
잔탄 겔	1.50	0.214
소르브산칼륨	0.88	0.125
EDTA 칼슘이나트륨	0.18	0.025
물	294.95	42.136

	700.00	100.00
--	--------	--------

표 30

[0560]

조류 가루 슬러리로 제조된 미소 샐러드 드레싱 레시피

성분	중량(g)	백분율(중량%)
오일 상:		
카놀라 오일	94.0	94.00
참기름	6.00	6.00
	100.00	100
수성 상:		
조류 가루, 슬러리	125.00	13.889
식초, 청주	80.00	8.889
증류 식초	60.00	6.667
미소 페이스트, 레드	225.00	25.00
과립형 설탕	85.00	9.444
마늘 분말	3.5	0.389
머스타드 가루	5.25	0.583
생강 분말	5.25	0.583
잔탄 겔	2.70	0.300
소르브산칼륨	0.88	0.097
EDTA 칼슘이나트륨	0.18	0.019
이산화티탄	4.20	0.467
물	300.00	33.344
	900.00	100.00

[0561]

각각의 경우에서, 건조 성분을 배합한 후 방치하였다. 물, 식초 및 산을 함께 배합하여 방치하였다. 미소 페이스트는 별도로 계량하였다. 종래의 레시피에 있어서는, 오일을 합한 다음 방치하였다. 조류 가루 함유 레시피에 있어서는, 조류 가루 슬러리, 오일 및 이산화티탄을 각각 계량한 다음 혼합하였다. 이후, 물과 식초의 혼합물을 고 전단 배합기로 배합하였다. 배합이 끝난 후, 건조 성분을 물과 식초의 혼합물에 첨가하였다. 이후, 물/식초 및 건조 성분을 고 전단 배합기로 배합하면서, 여기에 오일 혼합물을 천천히 스트리밍시켰다. 이후, 드레싱을 2 분 동안 190°F로 가열한 다음, 최대 세기로 조여지도록 세팅한 콜로이드 밀로 이 드레싱이 통과하여 흐르게 하였다. 그 다음, 완제 드레싱을 병에 담고나서 사용할 때까지 냉장 보관하였다.

[0562]

종래 레시피와 조류 가루를 사용하는 레시피 둘 다를 통해서, 농후하고 불투명한 크림 상태의 샐러드 드레싱이 만들어졌다. 시각적으로, 상기 드레싱은 둘 다 색과 질감이 거의 동일하였다. 종래의 레시피로 제조된 미소 샐러드 드레싱은 약 30%의 지방을 함유하였던 반면에, 조류 가루 슬러리로 제조된 미소 샐러드 드레싱은 약 12.65%의 지방을 함유하였다. 개략적으로, 조류 가루 슬러리로 제조된 미소 드레싱은 지방을, 종래의 레시피로 제조된 미소 드레싱 지방 함량의 절반 미만으로 함유하였던 반면에, 크림과 같은 구강 촉감과 불투명성은 유지하였다.

[0563]

피자 도우/브레드 스틱

[0564]

종래의 피자 도우/브레드 스틱 레시피 그리고 5 중량% 또는 10 중량%의 조류 가루를 함유하는 피자 도우/브레드 스틱 레시피를 사용하여, 상기 조류 가루가 효모 도우에 포함될 때 이 조류 가루의 기능을 테스트하였다. 조류 가루를 함유하는 피자 도우/브레드 스틱을 전술한 마요네즈 제조 방법에 기술된 방법에 따라서, 고 지질 조류 가루 슬러리(40% 고체)를 사용하여 제조하였다.

[0565]

각각의 경우에서, 효모 7.3그램을 중력분 9.3그램과 혼합하고 나서, 따뜻한 물 58그램과 혼합하였다. 이 효모 혼합물을 실온에서 적어도 10분 동안 방치하였다. 조류 가루 슬러리를 함유하는 샘플에 있어서는, 이 슬러리를 물 167그램과 혼합하였고, 이후, 중력분 217그램 및 소금 4.9그램을 혼합기 내에서 혼합하였다. 종래의 레시피에 있어서는, 물은 밀가루와 소금하고만 혼합기 내에서 혼합한다. 이와 같이 혼합한 다음에, 효모 혼합물을 도우에 첨가하고 나서, 중력분 90그램을 추가로 첨가하였다. 이후, 상기 도우를 손으로 치냈는데, 이 때, 만일 도

우가 지나치게 질 경우 밀가루를 더 넣었다. 이 도우를 덩개로 덮은 다음, 따뜻한 장소에서 1시간 동안 부풀렸다. 부풀린 다음, 상기 도우의 일부분을 떼 내어, 피자 도우로 눌러서 펴거나 또는 브레드 스틱 모양으로 만들었다. 이후, 상기 도우를 450°F의 오븐에서 8~12분 동안 또는 익을 때까지 베이킹하였다.

[0566]

종래의 레시피에 따라 제조되었으며, 통상적인 크러스트를 가지는 피자 도우와 브레드 스틱은 질감이 쫄깃하였다. 5% 조류 가루 슬러리를 함유하는 피자 도우의 질감은 크래커와 매우 유사하였으며, 심지어 종래의 레시피에 따라 제조된 피자 도우보다도 바삭하였다. 10% 조류 가루 슬러리를 함유하는 피자 도우는 5% 조류 가루 슬러리를 함유하는 피자 도우보다 더 바삭하였다. 조류 가루 슬러리로 제조된 브레드스틱을 종래의 레시피에 따라서 제조된 브레드스틱과 비교하였을 때, 5% 조류 가루 슬러리로 제조된 브레드스틱의 중간 부분은 촉촉하고 쫄깃하였다. 10% 조류 가루 슬러리를 함유하는 브레드스틱은 5% 조류 가루 슬러리를 함유하는 브레드스틱보다 더 촉촉하였다. 상기 조류 가루를 함유하는 브레드스틱 둘 다의 베이킹 시간은 종전보다 더욱 길어졌다. 또한, 조류 가루 슬러리를 함유하는 브레드스틱에서는 조류 냄새가 거의 나지 않았는데, 이로써 식품의 전반적인 맛을 떨어뜨리지 않았다. 개략적으로, 조류 가루 슬러리는, 피자 도우를 더욱 바삭하게 만들었으며 질감도 크래커와 더 유사하게 만들었고, 또한 종래의 레시피에 따라서 제조된 브레드스틱과 비교하였을 때, 브레드스틱을 더 촉촉하게 만들기도 하였다. 다른 경우에서, 고 지질 조류 가루 슬러리(40% 고체)를 옥수수 토틸라 레시피에 넣어 이 옥수수 토틸라를 종래 레시피에 따라서 제조된 옥수수 토틸라와 비교하였다. 생성된 피자 도우와 유사하게, 조류 가루 슬러리를 함유하는 옥수수 토틸라는 질감에 있어서 크래커와 매우 유사하였으며, 종래 레시피에 따라서 제조된 토틸라보다 더욱 바삭하였다.

[0567]

브리오슈

[0568]

난황과 버터 대신에 조류 가루를 사용하고, 또한 다음과 같은 성분들을 괄호 안에 적은 양만큼 사용하여 브리오슈를 제조하였다: 약 110°F의 온수(54.77그램); 래피드 라이스 효모(rapid-rise yeast)(3.5그램); 열탕 처리 전유(scalded whole milk)(58.47그램); 조류 가루(45.5그램); 과립형 설탕(10그램); 중력분(237그램); 활성 글루텐 가루(15그램); 소금(3.5그램); 및 난백(42그램). 효모를 따뜻한 물에 간간히 섞어주고 나서 5분 동안 방치하였다. 우유의 온도가 110~115°F에 이르렀을 때, 열탕 처리한 우유를 효모 용액에 첨가한 후, 이를 혼합하였다. 여기에 설탕을 첨가한 후, 이를 섞어주어 용해시켰다. 이후, 조류 가루를 첨가하고, 완전히 섞일 때까지 혼합하였다. 나머지 건조 성분도 이것과 합하고, 효모/우유 혼합물을 이 나머지 건조 성분에 첨가하였다. 이후, 난백을 상기 혼합물에 즉시 첨가하고 나서, 푸드 프로세서로 혼합하였다(총 10회 혼합, 매회 1~2번씩 도우를 담은 상기 푸드 프로세서의 작동 버튼을 눌러줌). 이후, 3~5초 동안씩 5회 더 도우를 담은 푸드 프로세서의 작동 버튼을 눌러주고, 필요에 따라서 여기에 물을 더 넣었다. 완성된 도우는 부드럽고 약간 끈기가 있었다. 이 도우를 천으로 덮은 다음, 따뜻한 곳에 1시간 동안 방치한 결과, 원래 크기의 약 2~3배 정도로 부풀었다. 이후, 푸드 프로세서에 도우를 넣고 이 푸드 프로세서의 작동 버튼을 2~3회(회당 1~2초) 눌러주어 부풀려졌던 도우의 숨을 죽인 다음, 다시 도우의 크기가 배로 될 때까지 방치하여 두었다. 이후, 상기 도우를 꺼내어 조리대 표면에 놓은 후, 편평하게 만들어 안에 있던 공기를 빼냈다. 그 다음, 상기 도우를 눌러 펴서 정사각형으로 만들고, 도우를 말아서 가장 자리를 봉했다. 이후, 상기 도우를 팬에 넣어 크기가 배로 될 때까지 다시 팽창시킨 다음, 400°F로 예열한 오븐에 넣어 약 35분 동안 베이킹하였다. 제조된 브리오슈의 외관 및 질감은 종래 브리오슈의 외관 및 질감과 같았는데, 이는 곧, 버터나 난황을 넣지 않고 조류 가루를 사용하여도 브리오슈를 성공적으로 만들 수 있다는 것을 말해주는 것이다.

[0569]

글루텐을 함유하지 않는 빵

[0570]

조류 가루를 함유하고 글루텐은 함유하지 않는 빵을 제조하여, 조류 가루가 글루텐을 함유하지 않는 경우에도 제 기능을 발휘하는 능력, 즉, 효모 도우 상태를 테스트하였다. 글루텐을 함유하지 않으며 밀가루가 아닌, 조류 가루는, 글루텐 및/또는 밀 알레르기/과민증이 있는 사람들의 식단에 첨가하기 적당하다. 다음과 같은 성분들을 괄호 안에 적힌 양만큼 첨가하였다: 글루텐 불포함 중력분 믹스(3컵)(수수 가루 2컵, 현미 가루 2컵, 감자 전분 1컵 반, 백미 가루 반컵, 찹쌀 가루 반컵, 타피오카 가루 반컵, 아마란스 가루 반컵 및 퀴노아 가루 반컵으로 이루어짐); 건조 분유(1/3컵); 구아 검(2티스푼); 잔탄 검(1 1/4티스푼); 가미하지 않은 젤라틴 또는 아가 분말(1 1/2티스푼); 설탕(3티스푼); 소금(1티스푼); 계란 대체물(1 1/2티스푼); 빵 효모(1포장 또는 2 1/2티스푼); 전란(2개); 버터(5테이블스푼, 작은 조각으로 자름); 물 또는 플레인 클립 소다(1 1/2컵); 꿀(1테이블스푼); 및 사과 발효 식초(1티스푼). 식빵용 번철에 약간의 오일을 바르고, 찹쌀 가루를 뿌렸다. 건조 성분이 완전히 배합될 때까지 믹싱 볼에서 상기 건조 성분들을 저어주었다. 계란, 버터, 식초 및 꿀을 큰 보울에서 배합한 다음, 물 또는 클립 소다 1컵을 계란 혼합물에 첨가하였다. 혼합된 건조 성분들을 계란 혼합물과 천천히 섞어주었다. 여기에 나머지 물을 천천히 부은 다음, 나머지 건조 성분을 첨가하여 반죽의 질기가 걸쭉한 케이크 반죽의 질기

와 동일하게 될 때까지 혼합하였다. 그 다음, 이 반죽을 약 5분 동안 고속으로 혼합하였다. 이후, 반죽을 식빵용 번철에 부은 후 이를 덮개로 덮어서, 따뜻한 장소에서 1시간 동안 부풀렸다. 이후, 상기 도우를 375°F로 예열한 오븐에서 55~60분 동안 베이킹하고 나서, 15분 경과시 호일로 덮어서 크러스트가 새까맣게 타는 것을 방지하였다. 그 다음, 오븐에서 빵을 신속하게 꺼내고 나서, 와이어 랙에 놓아두어 완전히 식힌 다음 잘랐다. 글루텐을 함유하지 않는 빵의 외관 및 질감은 종래 빵 덩어리의 외관 및 질감과 동일하였다. 이는 곧, 글루텐 불포함 효모 도우에 조류 가루를 성공적으로 사용할 수 있다는 것을 입증해주는 것이다.

[0571] 소프트 베이킹(Soft-baked) 초콜릿 칩 쿠키

[0572] 종래의 소프트 베이킹 초콜릿 칩 쿠키 레시피, 지방을 줄인 소프트베이킹 초콜릿 칩 쿠키 레시피 및 (상기 마요네즈 제조에 관하여 기술한 섹션에 기술된 바와 동일한 방법을 사용하여 제조된) 고 지질 조류 가루 슬러리로 제조된 초콜릿칩 쿠키를 사용하여, 쿠키를 만들 때 조류 가루가 제 기능을 발휘하는 능력을 테스트하였다. 조류 가루 슬러리는 또한 종래의 쿠키 레시피와 지방을 줄인 쿠키 레시피 둘 다에 있어서 버터와 계란 전부를 대체하였다.

표 31

[0573] 종래의 소프트 베이킹 초콜릿 칩 쿠키 레시피

성분		중량(g)	백분율(%)	지방 %
중력분	2컵	284.00	24.88	0.00
베이킹 소다	1/2 tsp.	2.50	0.22	0.00
베이킹 파우더	1/4 tsp.	1.23	0.11	0.00
소금	1/2 tsp.	3.35	0.29	0.00
연갈색 설탕	1컵	239.00	20.94	0.00
연화된 무염 버터	1 1/2스틱	170.25	14.92	11.93
옥수수 시럽	1/4컵	82.00	7.18	0.00
전란	2	100.00	8.76	0.66
바닐라 추출물	1 tsp.	4.00	0.35	0.00
약간 단 초콜릿 칩	1 1/2컵	255.00	22.34	6.37
		1141.33	100.00	18.96

표 32

[0574] 지방을 줄인 소프트 베이킹 초콜릿 칩 쿠키 레시피

성분		중량(g)	백분율(%)	지방 %
중력분	2 1/2컵	355.00	33.58	0.00
베이킹 소다	1/2 tsp	2.50	0.24	0.00
베이킹 파우더	1/4 tsp	1.23	0.12	0.00
소금	1/2 tsp	3.35	0.32	0.00
연갈색 설탕	1컵	239.00	22.61	0.00
연화된 무염 버터	1/2 스틱	40.00	3.78	3.03
옥수수 시럽	1/4컵	82.00	7.76	0.00
전란	1	50.00	4.73	0.35
난백	1	25.00	2.37	0.00
바닐라 추출물	1 tsp	4.00	0.38	0.00
약간 단 초콜릿 칩	1 1/2컵	255.00	24.12	6.88
		1057.08	100.00	10.26

표 33

[0575] 조류 가루 슬러리를 포함하는 소프트 베이킹 초콜릿 칩 쿠키 레시피

성분		중량(g)	백분율(%)	지방 %
중력분	2 1/2컵	355.00	31.08	0.00
베이킹 소다	1/2 tsp	2.50	0.22	0.00
베이킹 파우더	1/4 tsp	1.23	0.11	0.00
소금	1/2 tsp	3.35	0.29	0.00
연갈색 설탕	1컵	239.00	20.93	0.00
조류 가루 슬러리		200.00	17.51	3.71
옥수수 시럽	1/4컵	82.00	7.18	0.00
바닐라 추출물	1 tsp	4.00	0.35	0.00
약간 단 초콜릿 칩	1 1/2컵	255.00	22.33	6.36
		1142.08	100.00	10.08

[0576] 각각의 경우에서, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0577] 1. 오븐을 350°F로 예열하였다. 보울에서 밀가루, 베이킹 소다, 베이킹 파우더 그리고 소금을 혼합하였다. 이를 방지하여 두었다.

[0578] 2. 부드러워질 때까지 버터/조류 가루 슬러리를 설탕 및 옥수수 시럽과 함께 섞어주어 크림 상태로 만들었다. (만일 존재한다면) 계란과 바닐라를 함께 넣어 풀어주었다.

[0579] 3. 천천히 건조 성분을 첨가한 다음, 도우가 형성될 때까지 이것을 혼합하였다. 여기에 초콜릿 칩을 넣고 부드럽게 섞어주었다.

[0580] 4. 도우를 1테이블스푼씩 떼어내서; 쿠키 시트에 떨어놓거나, 굴려서 동그랗게 만들어 쿠키 시트에 놓았다.

[0581] 5. 이를 16~18분 동안 또는 노릇노릇해질 때까지 베이킹하고, 베이킹 중간에 쿠키 시트를 돌려놓았다.

[0582] 종래의 레시피에 따라 제조된 쿠키는 베이킹시 잘 퍼져서, 오븐에서 꺼냈을 때에도 부드럽고 폭신한 느낌을 가졌다. 지방 함량을 줄인 쿠키의 경우, 도우는 처음 베이킹시에서는 퍼지지 않았으므로, 후속 베이킹시 도우를 편평하게 펴서 베이킹하였다. 지방 함량을 줄인 쿠키는 오븐에서 꺼냈을 때 부드러웠으며, 냉각시에는 굳어져서 조직이 조밀한 쿠키가 되었다. 지방 함량을 줄인 쿠키에서는 또한 옥수수 시럽 향이 두드러졌다. 조류 가루 쿠키는 종래의 레시피에 의해 제조된 쿠키와 유사하게 베이킹시 잘 퍼졌으며, 지방 함량을 줄인 쿠키보다 질감이 더 좋았다. 주위 온도에서 3일 경과후, 조류 가루 쿠키는, 종래의 레시피에 의해 제조된 쿠키와 지방 함량을 줄인 쿠키 둘 다보다 더 촉촉하였다. 개략적으로, 조류 바이오매스 슬러리는 쿠키 제조시 버터와 계란 대체물로서 효과적이었다. 기능상, 조류 바이오매스 슬러리는, 쿠키를 주위 온도에서 3일 동안 방지하여 두었을 때 수분을 더욱 많이 보유하게 만들었다는 점에서 쿠키의 유통 기한을 늘렸다고 볼 수 있겠다.

[0583] 글루텐-불포함 귀리 건포도 쿠키의 유통 기한에 관한 연구

[0584] 상기와 같은 초콜릿 칩 쿠키 실험을 통하여, 유통 기한이 연장되었으며, 글루텐을 함유하지 않는 귀리 건포도 쿠키를 제조하였는데, 이 경우, 이 쿠키는 실시예 13에 기술된 방법을 이용하여 제조된 고 지질 조류 가루(지질 함량이 약 53 건조중량%)를 사용하여 제조하였다. 쿠키를 베이킹한 후, 7일 동안 주위 온도에 방지하였다. 맨 처음, 베이킹 및 냉각 직후의 쿠키를 대상으로 감각 테스트와 수분 활성 테스트를 수행하였다. 제1일, 제3일 및 제7일 경과시 추가 감각 테스트 및 수분 활성 테스트를 수행하였다. 각각의 테스트 일에, 하나의 쿠키를 작은 조각으로 쪼개어, 샘플 중에 건포도와 귀리가 고르게 분포하도록 만들었다. 쿠키 하나 당 적어도 2개의 샘플을 대상으로 하여 수분 활성 테스트를 수행함으로써 측정치의 정확성을 확보하였다. 아쿠아 랩(Aqua Lab)의 모델 시리즈 3TE(Model Series 3TE; Decagon Devices, Inc.) 기기를 사용하여 제조자의 프로토콜에 따라서 수분 활성(Aw) 테스트를 수행하였다. 간단히 말하면, 수분 활성을 통해서, 제품 중 화학 결합되지 않은 유효 수분의 양을 나타내는 수증기압을 측정하게 되는데; Aw 값이 클수록, 제품은 수분을 더 많이 함유하고 있는 것이다. 이와 같은 쿠키 제조 방법에 있어서, Aw 값이 크다는 것은 유통 기한이 길다는 것과 상관되어 있다. Aw 수준의 원하는 목표치는 0.65였다.

[0585]

조류 가루 슬러리로 제조된 글루텐 불포함 귀리 건포도 쿠키 레시피

성분	중량(g)	1000.00g	백분율(%)
글루텐 불포함 가루	225.00	174.69	17.47
현미 가루	25.00	19.41	1.94
베이킹 소다	4.00	3.11	0.31
베이킹 파우더	2.00	1.55	0.16
소금	3.50	2.72	0.27
분쇄된 계피	1.30	1.01	0.10
분쇄된 옥두구	1.20	0.93	0.09
잔탄 겜	2.50	1.94	0.19
여과한 물	215.00	166.93	16.69
조류 가루	110.00	85.40	8.54
연갈색 설탕	270.00	209.63	20.96
과립형 설탕	45.00	34.94	3.49
바닐라 추출물	8.50	6.60	0.66
건포도	125.00	97.05	9.70
압착 귀리	250.00	194.10	19.41
	600.75	1000.00	100.00

[0586]

과정은 다음과 같았다:

[0587]

1. 오븐을 375°F로 예열하였다.

[0588]

2. 귀리 및 조류 가루를 제외한 건조 성분을 배합하였다. 귀리의 1/4을 물로 수화하였다. 조류 가루의 3/4을 물로 수화하고, 휴대용 믹서(hand held mixer)를 사용하여 이것을 잘 배합하였다. 귀리와 조류 가루를 10분 동안 수화하였다.

[0589]

3. 수화된 조류 가루를 건조 성분에 첨가한 다음 잘 섞어주었다. 여기에 바닐라를 넣은 후 배합되어 부드러워질 때까지 잘 섞어주었다.

[0590]

4. 여기에 귀리와 건포도를 첨가하여 균질해질 때까지 섞어주었다.

[0591]

5. 쿠키 반죽의 일부를 떼어 쿠키 시트 위에 놓고 각각의 반죽을 가볍게 눌러주었다.

[0592]

6. 오븐에서 20분 동안 쿠키를 베이킹하였는데, 이 경우, 쿠키 시트는 베이킹 중 회전시켰다.

[0593]

감각 테스트 및 수분 활성 테스트 결과를 이하 표 5에 요약하였다. 감각 테스트용 샘플을 10개의 등급으로 나누어 포인트를 매겨 평가하였다: 1~2 = 섭취하기에 적절치 못함; 3~4 = 불량; 5~6 = 양호; 7~8 = 우수; 및 9~10 = 뛰어남. 개략적으로, 조류 가루로 제조된 쿠키는 주위 온도에서 7일 동안 방치하였을 때 수분 함량이 높았으며, 맛과 질감에는 거의 나쁜 영향을 미치지 않았다.

표 35

[0594]

주위 온도에서 귀리-건포도 쿠키를 대상으로 수행한 감각 스코어 및 수분 활성 결과

	감각 스코어	감각 테스트에 대한 설명	Aw	기타
테스트 개시일	8	촉촉한 속, 바삭한 질감, 조류 바이오매스의 단점(즉, 비린내)이 최소화되었으며, 귀리-건포도 풍미가 우수하였음. 표면색이 연한 쿠키 구조 형성.	0.776	Aw는 원하던 목표치인 0.65보다 컸음

제1일	7.5	촉촉하고 부드럽지만 겉은 바삭하지는 않았음. 약간 쫄깃하되 처음처럼 단단하지는 않았음. 버터향이 약간 줄었지만, 조류 바이오매스의 단점(즉, 비린내)이 최소화되었으며, 풍미는 여전히 우수하였음.	0.717	Aw는 목표치인 0.65보다 계속 더 높음.
제3일	7	매우 촉촉하고 쫄깃하였음; 바이오매스의 단점(즉, 비린내)이 최소화되었으며, 전형적인 쿼리-건포도 풍미를 내었음. 바삭하지는 않았음.	0.735	Aw는 목표치인 0.65보다 계속 더 높음.
제7일	7.5	약간 딱딱하되, “갓 구웠을 때의 바삭함”은 느껴지지 않았음; 쿼리 속은 약간 딱딱하였음; 더욱 쫄깃하고 달콤한 쿼리의 풍미가 느껴졌음; 수분은 제품 전체에 고루 존재하였음; 제품은 여전히 맛이 매우 좋았음.	0.719	Aw는 목표치인 0.65보다 계속 더 높음.

[0595] 스크램블된 계란(분말 계란으로 제조)

[0596] 재구성된 분말형 계란을 사용하였을 때, 조류 가루가 수분을 유지하고 질감을 개선하는 능력에 대해 테스트하였다. 종래의 레시피로써 분말형 계란을 제조하였는데, 이 때, 분말형 계란의 대체물인 고 지질 조류 가루의 수준에 변화를 주었는데(5%, 10% 및 20%), 이 수준은 상기 분말형 계란의 백분율 수준(w/w)과 상응하는 수준이다. 이하 제형화에 사용된 조류 가루를 실시예 13에 기술된 방법에 따라서 제조하였는데, 이 조류 가루는 지질을 약 53 건조중량% 함유하였다.

표 36

[0597] 분말형 계란으로 만든 스크램블된 계란의 종래 레시피

성분	중량(g)	200.00g	백분율(%)	지방 %
분말형 전란	25.00	49.83	24.91	9.77
소금	0.25	0.50	0.25	0.00
분쇄된 후추	0.10	0.20	0.10	0.00
물	75.00	149.48	74.74	0.00
	100.35	200.00	100.00	9.77

표 37

[0598] 5% 조류 가루를 포함하는 분말형 계란으로 제조된 스크램블된 계란의 레시피

성분	중량(g)	200.00g	백분율(%)	지방 %
분말형 전란	23.75	47.33	23.67	9.28
조류 가루	1.25	2.49	1.25	0.66
소금	0.25	0.50	0.25	0.00
분쇄된 후추	0.10	0.20	0.10	0.00
물	75.00	149.48	74.74	0.00
	100.35	200.00	100.00	9.94

표 38

[0599] 10% 조류 가루를 포함하는 분말형 계란으로 제조된 스크램블된 계란의 레시피

성분	중량(g)	200.00g	백분율(%)	지방 %
분말형 전란	22.50	44.84	22.42	8.79
조류 가루	2.50	4.98	2.49	1.32

소금	0.25	0.50	0.25	0.00
분쇄된 후추	0.10	0.20	0.10	0.00
물	75.00	149.48	74.74	0.00
	100.35	200.00	100.00	10.11

표 39

[0600] 20% 조류 가루를 포함하는 분말형 계란으로 제조된 스크램블된 계란의 레시피

성분	중량(g)	200.00g	백분율(%)	지방 %
분말형 전란	20.00	39.86	19.93	7.81
조류 가루	5.00	9.97	4.98	2.64
소금	0.25	0.50	0.25	0.00
분쇄된 후추	0.10	0.20	0.10	0.00
물	75.00	149.48	74.74	0.00
	100.35	200.00	100.00	10.45

[0601] 모든 경우에서, 계란은 다음과 같이 제조하였다:

[0602] 1. (만일 존재한다면) 조류 가루와 분말형 계란을 혼합하였다. 이 계란과 물을 혼합하였다. 부드러워질 때까지 저어주었다. 필요하다면, 휴대용 배합기를 사용하여 멍쳐진 덩어리를 짓이겨주었다.

[0603] 2. 들러붙지 않도록 처리한 팬을 예열한 후, 여기에 계란 혼합물을 부어주었다.

[0604] 3. 계란 혼합물이 익을 때까지 조리하였는데, 원한다면 양념도 해주었다.

[0605] 모든 제조물의 색은 유사하였으며, 종래 레시피에 의한 계란 요리와 조류 가루를 함유하는 계란 요리 간에는 색상 차가 거의 없었다. 종래 레시피에 의한 계란 요리는 수분이 적었고, 기포가 많이 형성되었으며, 질감도 스펀지와 같았고, 크림과 같은 구강 촉감은 나타나지 않았다. 5% 조류 바이오매스로 제조된 계란 요리는 더 많이 촉촉하였으며, 질감도 종래 레시피에 의한 계란 요리보다 더 단단하였다. 구강 촉감은 종래의 레시피에 의한 계란 요리보다 더 크림과 가까웠다. 10% 조류 가루로 제조된 계란 요리는 종래 레시피에 의한 계란 요리보다 훨씬 더 촉촉하였으며, 신선한 계란으로 제조된 스크램블된 계란의 질감과 구강 촉감을 가졌다. 20% 조류 가루로 제조된 계란 요리는 너무 촉촉해서 조리되지 않은 것과 같은 질감을 가졌으며, 계란도 액체처럼 유동적이었다. 개략적으로, 조류 가루를 첨가하여 제조된 분말형 계란 요리는 종래 제조된 분말형 계란 요리와 비교하였을 때, 구강 촉감과 질감이 개선되었고, 촉촉함도 증가하였다. 조류 가루가 5% 및 10% 포함되었을 때, 이 조류 가루는 지방의 함량을 거의 증가시키지 않고 계란 요리에 있어서 제 기능을 발휘할 수 있었다. 조류 가루가 20% 포함되었을 때, 조류 가루는 수분을 너무 많이 제공하여, 제조된 분말형 계란의 질감을, 섭취하기에 적절치 못하게 만들었다.

[0606] 분말형 계란 방치 테스트(Powdered eggs holding test)

[0607] 조류 가루는 분말형 계란에 상당 수준의 수분을 더할 수 있으며, 또한 이 분말형 계란의 질감을 개선시킬 수 있었으므로, 다음과 같은 방치 테스트를 통해 증기 테이블에 방치하였을 때 조리된 계란이 어떻게 변하는지를 평가하였다. 분말형 계란, 5% 조류 가루 및 10% 조류 가루를 사용하여 종래 레시피에 따라 제조된 스크램블된 계란(모두 전술한 방법에 의해서 제조됨)을 10~15분 동안 수화시킨 다음, 스토브 위에서 조리하였다. 조리후, 샘플을 즉시 증기 테이블로 옮긴 다음, 160~200°F의 온도에서 30분 동안 덮개로 덮어 방치하였다. 10분마다, 신선한 샘플을 상기와 같이 방치하였던 샘플과 비교하였다. 샘플을 10개의 등급으로 나누어 포인트를 매겨 평가하였다: 1~2 = 먹기에 적절치 못함; 3~4 = 불량; 5~6 = 양호; 7~8 = 우수; 및 9~10 = 뛰어남. 테스트 결과를 이하 표 40에 요약하였다.

표 40

[0608] 분말 계란 방치 테스트의 감각 결과

	방치 시간			
변수	실험 개시	10분 경과	20분 경과	30분 경과

종래 레시피	6: 질감은 고무같고 질겼으나, 계란과 유사하였음	5: 약간 더 펄펄하고 질겼지만, 섭취하기에 적절하지 않다고 생각될 정도는 아니었음	4: 질감은 더 펄펄하고, 질겼으며, 쫄깃하였음	3: 색상면에서는 밝은 황색을 띠고, 가장자리가 단단해졌으며, 펄펄하고 질길 뿐만 아니라 고무같이 물렁거림; 섭취하기 적절치 못함
5% 조류 가루	8: 촉촉하고 부드러움	7: 처음 5% 조류 가루를 사용한 샘플보다는 약간 더 질겼으나, 섭취하기에 적절하지 않다고 생각될 정도는 아니었음	6: 처음 5% 조류 가루를 사용한 샘플보다는 펄펄하였으나, 종래의 레시피에 의해 제조된 처음 샘플보다는 촉촉하였음	5: 색상면에서는 약간 흐린 황색톤을 띠었을 뿐, 그렇다고 황색이라고 볼 수는 없는 정도였고; 펄펄하고 질기되 종래의 레시피에 의해 제조되어 30분 경과한 경우보다는 양호하였음 (가장자리가 단단하지 않았음)
10 % 조류 가루	7: 수분이 약간 많고/촉촉하며, 부드러웠음	8: 촉촉하고 부드러우며, 질기지 않았음	7: 약간 질기되, 속은 여전히 촉촉하였음. 종래의 레시피에 의해 제조된 처음 샘플보다는 촉촉하였으나, 처음 10% 조류 가루로 제조된 샘플보다는 펄펄하였음	6.5: 실험 개시시 샘플보다 약간 더 펄펄하면서 질겼지만, 종래 샘플과 5% 조류 가루 샘플을 제조한 지 30분 경과한 경우보다는 촉촉하였음; 가장자리는 펄펄해지지 않았으며, 속은 여전히 촉촉하였음

[0609] 에그 비터(Egg Beaters)[®]

[0610] 조류 가루가 스크램블된 난백의 질감과 구강 촉감을 개선하는 능력을, 에그 비터[®]를 사용하여 테스트하였다. 작은 비점착성 후라이팬을 사용하여 계란이 익을 때까지 약 1~2분 동안 에그 비터[®] 100그램을 스크램블하였다. 이때, 버터나 양념은 가하지 않았다. 샘플 중 10% w/w만큼을 (약 53 건조중량%의 지질을 함유하는 조류 가루를 사용하여 마요네즈를 제조하는 것에 관하여 전문한 바에 따른 방법을 통해 제조된) 고 지질 조류 가루 슬러리로 대체하였다. 조류 가루를 포함하는 에그 비터[®]를 대조군과 동일한 방식으로 제조하였다.

[0611] 대조군 샘플은 더욱 질었으며, 입 안에서는 물처럼 녹았다(질감이 거의 느껴지지 않았거나 전혀 느껴지지 않았음). 10% 조류 가루 슬러리를 함유하는 샘플을 조리한 결과, 신선한 계란으로 제조된 스크램블된 계란과 더 유사하였다. 10% 조류 가루 슬러리 샘플은 또한 스크램블된 계란의 질감을 더 많이 살려주었으며, 구강 촉감도 풍부했는데, 즉, 신선한 계란으로 만든 스크램블된 계란의 질감 및 구강 촉감과 유사하였다. 개략적으로, 조류 가루 슬러리를 첨가하면, 스크램블된 난백의 질감과 구강 촉감을 성공적으로 개선하였으며, 또한, 난백의 맛도 신선한 전란으로 제조된 스크램블된 계란의 맛과 더욱 가까웠다.

[0612] 액체 전란

[0613] 조류 가루가, 액체 전란을 사용하여 제조된 스크램블된 계란의 질감을 개선하고 수분을 증가시키는 능력을, 방치 실험의 감각 패널을 활용하여 테스트하였다. 제조자의 지시에 따라 액체 전란을 대조군으로서 제조하고, 이를 10% 조류 가루 슬러리(2.5% 조류 가루 및 7.5% 물 포함)로 제조된 액체 전란과 비교하였다. 상기 대조군과 10% 조류 가루 계란 둘 다를 스크램블된 계란으로 조리한 다음, 이를 증기 테이블에 총 60분 동안 방치하였다. 스크램블된 각각의 난제품 샘플을 취하여, 10분마다 감각 패널에게 테스트시켰다. 감각 패널은 스크램블된 난제품의 전체적인 외관, 수분 함량, 질감 그리고 구강 촉감에 대해 판단하였다(1~9 등급; 이 중, 1은 섭취하기에 적절치 못한 것, 3은 섭취하기에 약간 적절치 못한 것, 5는 양호한 것, 7은 섭취하기에 적절한 것, 그리고 9는 섭취하기에 아주 좋은 것을 의미함).

[0614] 개략적으로, 10% 조류 가루 슬러리(2.5% 조류 가루 고체)를 첨가하였을 때, 제조된 계란의 질감, 수분 함량, 그리고 구강 촉감이 개선되었다. 증기 테이블 상에 방치한 지 60분 경과 후, 10% 조류 가루 슬러리를 포함하는 스크램블된 난제품은, 섭취하기에 약간 부적절한 범위(감각 등급 중 2.7 등급)에 있었던 스크램블된 대조군 계란과 비교하였을 때 섭취하기에 더욱 적절하였다(감각 등급 중 5 등급). 모든 시점에서 얻은 결과를 도 3에 요약하였다.

[0615] 분말형 계란으로 제조된 팬케이크

[0616] 소매 상점에서 찾아볼 수 있는 팬케이크/와플 믹스는 하나의 성분으로서 분말형 전란을 함유한다. 분말형 계란 제조 방법에 관하여 전술한 바와 같이, 고 지질 조류 가루를 첨가하면, 제조된 난제품의 질감과 구강 촉감을 개선하였다. 고 지질 조류 가루가, 즉석 조리 팬케이크 믹스로 제조된 팬케이크의 질감과 구강 촉감을 개선하는 능력에 대해 테스트하였다.

표 41

[0617] 대조군 팬케이크의 레시피

성분	중량(g)	백분율(%)
분말형 전란	10.1	4.6
무지방 고체 우유	10.9	5
중력분	65.5	29.8
카놀라 오일	7.3	3.3
베이킹 파우더	3.6	1.6
소금	0.9	0.41
설탕	1.8	0.82
물	120	54.5
합계	220.1	

표 42

[0618] 고 지질 조류 가루를 함유하는 팬케이크의 레시피

성분	중량(g)	백분율(%)
분말형 전란	5.05	2.3
조류 가루	5.05	2.3
무지방 고체 우유	10.9	5
중력분	65.5	29.8
카놀라 오일	7.3	3.3
베이킹 파우더	3.6	1.6
소금	0.9	0.41
설탕	1.8	0.82
물	120	54.5
합계	220.1	

[0619] 상기 두 경우에서, 물은 분말형 계란, 조류 가루, 그리고 무지방 고체 우유를 재수화하는데 사용하였다. 이후, 나머지 성분들을 첨가하여 반죽이 부드러워질 때까지 저어주었다. 반죽을 뜨거운 비 접착성 팬(오일은 두르지 않음)에 부어 팬케이크 크기만하게 케이크를 구웠다. 팬케이크 반죽 윗부분에 기포가 없어질 때까지 팬케이크를 익힌 후, 뒤집어서 다 익을때까지 조리하였다.

[0620] 상기 반죽은 둘 다 외관이 유사하였으며, 상기 팬케이크는 둘 다 조리 시간이 거의 동일하였다. 조류 가루를 함유하는 팬케이크는 질감이 더 가볍고, 크립과 같았으며, 폭신하였고, 고무같이 물렁거리는 질감은 대조군 팬케이크보다 덜 하였다. 개략적으로, 분말형 전란 50 중량%를 조류 가루로 대체하면, 질감과 구강 촉감이 더욱 좋은 팬케이크를 만들 수 있었다.

[0621] 조류 우유/냉동 디저트

[0622] 고 지질 조류 가루를 사용하여 추가의 조류 우유 제형을 생산하였다. 이 조류 우유는 다음과 같은 성분들을 함유하였다: 물 88.4 중량%, 조류 가루 6.0 중량%, 유청 단백질 농축물 3.0 중량%, 설탕 1.7 중량%, 바닐라 추출물 0.6 중량%, 소금 0.2 중량%, 그리고 안정화제 0.1 중량%. 상기 성분들을 혼합한 다음, 휴대용 균질화기를 사용하여 저압에서 균질화하였다. 생성된 조류 우유를 식혀서 보관하였다. 이것의 구강 촉감은 전유의 구강 촉감과 거의 동일하였으며, 불투명성도 우수하였다. 사용된 조류 가루는 지질을 약 50% 함유하였으므로, 생성된 조류 우유는 지방을 약 3% 함유하였다. 바닐라향 두유(실크; Silk)와 비교하였을 때, 조류 우유는 두유와 거의 동

일한 구강 촉감과 불투명성을 나타냈으나, 두유의 콩 비린내는 나지 않았다.

[0623] 이후, 조류 우유를 부가의 설탕 및 바닐라 추출물과 혼합하고, 이 혼합물이 균질하게 될 때까지 배합기에서 2~4 분 동안 혼합하였다. 이 혼합물을 미리 식혀둔 아이스크림 메이커(쿠진아트; Cuisinart)에 1~2 시간 동안 넣어 두어 원하는 질기를 가지도록 만들었다. 종래의 레시피에 따라서, 하프 앤 하프(half and half) 325그램, 2% 우유 220그램, 그리고 1개의 난황으로 제조된 아이스크림을 비교용으로 제조하였다. 종래 레시피에 따라 제조된 아이스크림은, 질기가 소프트 아이스 크림의 질기와 동일하였으며, 맛도 풍부하고, 질감도 부드러웠다. 조류 우유로 제조된 아이스크림은 전체적으로 종래 레시피에 의해 제조된 아이스크림에서 찾아볼 수 있는 크림의 성질을 가지지 않았고, 구강 촉감도 달랐지만, 질기와 구강 촉감은 맛이 풍부한 아이스 밀크와 동일하였다. 전체적으로, 냉동 디저트에 조류 우유를 사용하는 것은 성공적인 시도였다: 생산된 냉동 디저트 조류 우유의 지방 함량은 종래의 아이스크림의 지방 함량에 비하여 낮았다.

[0624] 오렌지 조류 음료

[0625] 다음과 같은 성분들을 괄호 안에 기재된 양만큼 사용하여 오렌지맛나는 조류 음료를 제조하였다: 증류수(879.51그램); 과립형 설탕(30그램); 소금(1.9그램); 조류 가루(50그램); 카라기난(0.14그램); FMC 비스카린 359 안정화제(FMC Viscarin 359 Stabilizer)(0.75그램); 바닐라 추출물(6그램); 유청 단백질(에그슈탄트; Eggstend)(30그램); 및 오렌지 풍미제(1.7그램). 상기 성분들을 합하여, 회분식 균질화기로 균질화하였다(1회 통과, 300 bar). 오렌지 조류 음료를 냉각하고 보관하여 두었다. 이 음료는 드림시클(dreamcicle)과 유사한 맛이 나고 매우 부드러웠으며, 구강 촉감은 2.5 습윤 중량%의 지방을 함유하였음에도 불구하고 전유와 유사하게 크림같았다.

[0626] 계란을 함유하지 않는 에그 노그

[0627] 다음과 같은 성분들을 괄호 안에 기재된 양만큼 사용하여 계란을 함유하지 않는 에그 노그를 제조하였다: 증류수(842.5그램); 과립형 설탕(50그램); 소금(2.3그램); 조류 가루(50그램); 카라기난(0.2그램); FMC 비스카린 359 안정화제(1.0그램); 바닐라 추출물(3그램); 유청 단백질(에그슈탄트)(50그램); 및 옥두구(1그램). 상기 성분들을 합한 다음, 회분식 균질화기로 균질화하였다(1회 통과, 300 bar). 에그 노그를 식힌 다음 냉장 보관하였다. 이 에그 노그의 외관 및 구강 촉감은 종래 에그 노그의 외관 및 구강 촉감과 같았지만, 레시피에 난황과 헤비크림을 함유하지 않았으므로, 지방 함량(지방 2.5 습윤 중량%)은 상당히 감소하였다.

[0628] 치즈 소스

[0629] 다음과 같은 성분들을 괄호 안에 기재된 양만큼 사용하여 치즈 소스를 제조하였다: 40% 조류 가루 슬러리(65.9%); 잔탄 겔(0.22%); 순수 액체 전분 (0.81%); 물(26.6%); 설탕(0.25%); 소금(0.54%); 50% 아세트산(0.5%); 효소 개질 치즈 분말(5%). 상기 성분들이 부드러워질 때까지 이를 모두 혼합하였다. 이로써, 풍미 있는 치즈 소스에 조류 가루를 사용할 수 있다는 것을 성공적으로 입증할 수 있었다.

[0630] 조류 요구르트

[0631] 다음과 같은 성분들을 괄호 안에 기재된 양(총 중량(500g)%)만큼 사용하여 요구르트를 제조하였다: 조류 가루(1.25%); 탈지유(50%); 설탕(1%); 소금(0.1%); 탈이온수(47.15%) 및 발효 개시 배양물(0.5%). 이때 사용된 발효 개시 배양물(starter culture)은 유로 퀴진은 요구르트 발효 개시 배양물(Euro Cuisine Yogurt Starter Culture)으로서, 탈지유 분말, 수크로스, 아스코르브산, 락트산 박테리아(엘.불카리쿠스(*L. bulgaricus*), 에스.서모필러스(*S. thermophilus*) 및 엘.엑시도필러스(*L. acidophilus*))를 함유한다. 발효 개시 배양물을 제외한 모든 성분을 합한 후, 5~10분 동안 185°F로 가열한 다음, 얼음 수조를 이용하여 105~110°F로 냉각하였다. 이후, 상기 발효 개시 배양물을 냉각 요구르트 혼합물에 첨가하고, 웨어링 프로 YM 350 가정용 요구르트 제조기 내에서 약 8 시간 동안 항온 처리하였다. 이 요구르트는 신 맛이 났는데, 이는 곧, 살아있는 발효 개시 배양물을 사용한 발효 과정이 성공적이었음을 말해주는 것이다. 상기 요구르트의 질기는 매우 질었으며, 요구르트 음료보다는 약간 농후하였다.

[0632] 풍미를 가하지 않은 무지방 요구르트로서 조류 가루가 포함된 요구르트를 대상으로 부가 실험을 하여, 무지방 요구르트의 구강 촉감에 미치는 기여도를 평가하였다. 혼합물이 잘 혼합되고 질감이 부드러워질 때까지 5 중량%의 조류 가루를, 풍미를 가하지 않은 무지방 요구르트(파벨; Pavel)에 배합하였다. 이 요구르트는 다시 냉각한 다음 보관하여 두었다. 5% 조류 가루를 함유하는 무지방 요구르트(현 상태로는 약 2.5%의 지방을 함유함)의 구강 촉감은 풍미를 가하지 않은 전지 요구르트(파벨) 대조군(지방 함량 = 3.5%)과 같이 풍부하고 크림과 같았다.

[0633] 실시예 15

- [0634] 조류 오일
- [0635] 바이오매스로부터 유래하는 오일의 용매 추출
- [0636] 본원에 개시된 방법을 사용하여 바이오매스를 건조한 후, 본원에 개시된 방법을 사용하여 바이오매스를 분쇄하여, 이 분쇄된 바이오매스와 유기 용매, 예를 들어 헥산을, 오일이 헥산과 함께 용액을 형성하는데 충분한 시간 동안 접촉시켜, 실시예 1~4에 기술된 바와 같이 제조된 미세 조류 바이오매스로부터 조류 오일을 추출하였다. 이후, 상기 용액을 여과하고 나서, 회전 증발법에 의해 이 헥산을 제거함으로써, 추출된 오일을 회수하였다.
- [0637] 용매를 사용하지 않고 바이오매스로부터 오일을 추출하는 방법
- [0638] 바이오매스를 건조한 후, 이 바이오매스를 지방 종자 압착기에 넣고 물리적으로 분쇄하여, 실시예 1~4에 기술된 바와 같이 제조된 미세 조류 바이오매스로부터 조류 오일을 추출하였는데, 이 경우, 바이오매스로부터 조류 오일이 방출되었다. 그 다음, 이와 같이 분쇄된 바이오매스로부터 분리된 오일을 회수하였다.
- [0639] 조류 바이오매스로부터 오일을 초임계 유체 추출하는 방법
- [0640] 초임계 유체 추출법(SFE)을 이용하여 실시예 1~4에 기술된 바와 같이 성장한 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)로부터 미세 조류 오일을 추출하였다. 미세 조류 바이오매스 샘플(25.88그램)을 추출 용기에 충전하고, 원하는 총 질량만큼의 기체가 상기 용기를 완전히 통과할 때까지 일정 기간 동안 (선택된 압력 및 온도 조건에서) CO₂ 기체를 상기 용기에 통과시켰다. 이후, 고압 기류 및 추출 물질을 감압 밸브에 통과시켜 추출 가능한 물질(조류 오일)을 함유하는 수집기로 보냈다. 원하는 양만큼의 기체를 상기 추출 용기에 통과시킨 후, 수집기를 분리하였다. 상기 용기에 잔류하는 물질(즉, 잔여물)은 추출 후에 수집하였다. 조류 오일 15.68그램을 추출한 결과, 잔류물의 중량은 10.2그램이 되었다. 이 잔류물은 탈지 조류 바이오매스를 포함하는 것으로서, 흰색을 띠고 분말의 형태를 가졌다.
- [0641] 표준 HPLC 방법 및 실시예 8에 기술된 방법을 이용하여, SFE를 이용하여 생산된 조류 오일을, 항산화제(12.7 ppm tert-부틸하이드로퀴논(TBHQ)), 엽록소(1 ppm), 유리 지방산(1.34%), 켈 피셔 수분(Karl Fischer moisture)(0.05), 모노글리세라이드(0.04%), 디글리세라이드(2.52%), 인지질(무 - 검출이 안 될 정도의 수준), 토크페롤 및 스테롤, 그리고 토크트리에놀에 대해 분석하였다. 상기 조류 오일은 다음과 같은 토크페롤과 스테롤을 함유하였다: 델타 토크페롤(0.13mg/100g); 감마 토크페롤(0.20mg/g), 알파 토크페롤(5.58mg/100mg); 에르고스테롤(164mg/100g); 캄페스테롤(6.97mg/100g), 스티그마스테롤(6.97mg/100g); β-시토스테롤(5.98mg/100g); 및 기타 스테롤(176mg/100g). 상기 조류 오일은 또한 알파 토크트리에놀을 0.24mg/g 함유하였다.
- [0642] 조류 중에 있어서 지질 사슬의 다양성
- [0643] 실시예 1에서 성장한 균주의 하위 균으로부터 얻은 지질 샘플을 대상으로 지질 프로필에 대해 분석하였다(HPLC 이용). 그 결과를 도 1에 나타내었다.
- [0644] **실시예 16**
- [0645] 조류 오일을 함유하는 건강 기능 식품 및 식료품
- [0646] (a) 용매 추출법 또는 (b) 비-용매 추출법을 통해 조류로부터 추출된 오일을 캡슐화한 조류 오일 캡슐
- [0647] 완전 보호 시스템 - 천연 생성 토크트리에놀, 토크페롤, 카로티노이드, 오메가 3 및 스테롤을 제공하는 조류 오일. 이는 식물을 주성분으로 하며, 어유에 대한 비 동물성 대체물이다.

표 43

- [0648] 예시적 건강 기능 식품 조성물의 성분

심장 건강에 좋은 조류 오일 캡슐(연질 캡슐)		
성분(상표명)	설명	연질 캡슐 1개당 함유량(mg)
DHA-S 오일	조류 오일 DHA 35%	100
	--- DHA	35
피코스테롤(Phycosterols) TM - 심장 건강에 좋은 슈퍼 푸드 배합물		
	(표 12에 나열된 클로렐라 종들로부터 유래한) 압착 조류 오일	100
	- 오메가 9(올레산)	70

	- 오메가 6 (리놀레산 및 리놀렌산)	17
	루테인	0.0075
식물성 스테롤	식물성 스테롤 에스테르	400
코엔자임 Q10	코엔자임 Q10	15
비타민 E, 오일 USP BASF	D-알파 토크페릴	10
바이오페린(Biope rine)	파이퍼 니그럼(Piper nigrum)의 생체이용가능성 인핸서	2.5
부형제: 밀랍, 레시틴 및 정제수		

[0649] 조류 오일(용매 추출법 또는 비-용매 추출법을 통해 조류로부터 추출된 오일)

표 44

[0650] 예시적인 건강 기능 식품 조성물의 성분

조류 오일(연질 캡슐)		
성분	설명	연질캡슐 1개당 함유량(mg)
클로렐라 프로토테코이데스 (UTEX 250) 오일	압착 조류 오일	400
	- 오메가 9(올레산)	280
	- 오메가 6 (리놀레산 및 리놀렌산)	68
비타민 E 아세테이트, 오일 USP BASF	D-알파 토크페릴 아세테이트	10
부형제: 밀랍, 레시틴, 정제수		

[0651] 조류 오일 함유 브라우니 및 바닐라 케이크

[0652] 실시예 4에 기술된 발효 방법을 사용하여 생장한 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)로부터 추출한 오일을 베이킹된 식품 제조에 사용하였다. 제조자가 제안하는 지침에 따라서 클로렐라 프로토테코이데스로부터 추출한 오일 1/3컵을 사용하여 엘로우 케이크(모이스트 딜럭스(Moist Deluxe), 던칸 하인즈(Duncan Hines)) 및 브라우니(초콜릿 청크(Chocolate Chunk), 필스베리(Pillsbury))를 제조하였다. 상기 엘로우 케이크 및 브라우니 둘 다의 특성은 식물성 오일과 동일한 박스 믹스를 사용하여 제조된 엘로우 케이크 및 브라우니의 특성과 거의 동일하였다.

[0653] 실시예 17

[0654] 고 단백질 조류 바이오매스의 제조

[0655] 종속 영양 조건 하에서 단백질 함량이 높은 미세 조류의 배양

[0656] 종속 영양 조건 하에서 얻은 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)를, 다음과 같은 성분들 중 하나 이상에 의해 공급되는 질소 풍부 조건 하에서 생장시켰다: 효모 추출물(유기 질소 공급원), NH_4OH 및 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (실시예 2~4에 기술된 바와 같이 배치 보충). 배양 배치 이외에, 발효 조건은 실시예 2에 기술된 조건과 동일하였다. 지수 생장에 돌입한지 약 3~5일 후, 배양물의 밀도가 원하는 수준에 이르렀을 때, 고 단백질 조류 바이오매스를 수집하였다. 전술한 가공 방법 중 임의의 방법(실시예 4의 조류 플레이크 제조 방법, 실시예 10의 조류 균질물 제조 방법, 실시예 12의 조류 분말 제조 방법 및 실시예 13의 조류 가루 제조 방법)을 고 단백질 조류 바이오매스에 적용할 수 있다.

[0657] 미세 조류 바이오매스의 일반 성분 분석

[0658] 실시예 4에 기술된 방법을 사용하여 고 단백질 바이오매스를 조류 플레이크로 가공하였다. ACOC 인터내셔널(ACOC International)에서 공식화한 방법에 따라서, 건조 바이오매스, 고 지질 바이오매스(실시예 4) 및 고 단백질 바이오매스를 대상으로 하여 수분, 지방, 섬유소, 회분, 조 단백질 및 단백질의 소화성에 대해

분석하였다. 그 결과를 이하 표 45에 요약하였다.

표 45

[0659]

단백질 함량이 높은 미세 조류의 일반 성분 분석

분석	ACOC 방법 #	고 지질 (중량%)	고 단백질 (중량%)
수분	930.15	5	5
지방	954.02	50	15
회분	942.05	2	4
조 단백질	990.03	5	50
펩신 소화 가능 단백질	971.09	ND	37.5 (69.7%의 조단 백질은 소화 가능함)
섬유소(미정제)	991.43	2	2

[0660]

(ND = 측정되지 않음)

[0661]

탄수화물의 총량은 다음과 같이 공제법으로 계산하였다: 100% - 일반 성분 분석을 통해 알게 된 백분율. 고 지질 바이오매스에 대한 탄수화물의 총중량은 약 36 중량%였으며, 고 단백질 바이오매스에 대한 탄수화물의 총중량은 약 24 중량%였다.

[0662]

상기 미정제 섬유소는 바이오매스 샘플 중에 존재하는 여러 성분들 중 셀룰로스와 리그닌의 양을 나타내는 것이다. ACOC 인터내셔널(ACOC International)(AOAC 방법 991.43)에서 공식화한 방법에 따라서, 상기 두 바이오매스를 대상으로 하여 가용성 섬유소와 불용성 섬유소(즉, 전체 식이 섬유소)의 양을 측정하였는데, 여기에서 상기 섬유소는 상기 바이오매스의 탄수화물 성분의 일부이다. 고 지질 바이오매스에 있어서, 가용성 섬유소의 비율은 19.58%였으며, 불용성 섬유소의 비율은 9.86%였다(식이 섬유 총 비율 = 29.44%). 고 단백질 바이오매스에 있어서, 가용성 섬유소의 비율은 10.31%였으며, 불용성 섬유소의 비율은 4.28%였다(식이 섬유 총 비율 = 14.59%).

[0663]

전술한 바와 같이 생장한 바이오매스 2개 군인 고 단백질 바이오매스 샘플 2개(샘플 A 및 샘플 B)를 대상으로도, 실시예 8에 기술된 방법을 이용하여 엽록소, 스테롤, 토코페롤 및 토코트리에놀에 대해 분석하였다. 샘플 A에 대한 결과는 다음과 같았다: 엽록소(93.1 ppm); 콜레스테롤(1.05mg/100g); 브라시카스테롤(301mg/100g); 에르고스테롤 (699mg/100g); 캄페스테롤(13.8mg/100g); 스티그마스테롤(15.7mg/100g); 및 β -시토스테롤(3.72mg/100g); 기타 스테롤(265mg/100g)을 포함하는 전체 스테롤(1.299g/100g); 알파 토코페롤 (0.18mg/g); 및 알파 토코트리에놀(0.03mg/g). 샘플 B에 대한 결과는 다음과 같았다: 엽록소(152 ppm); 콜레스테롤 (1.01mg/100g); 브라시카스테롤(549mg/100g); 에르고스테롤(1.39g/100g); 캄페스테롤(22.6mg/100g); 스티그마스테롤(26.1mg/100g); β -시토스테롤(2.52mg/100g); 및 기타 스테롤(466mg/100g)을 포함하는 전체 스테롤 (2.460g/100g); 알파 토코페롤(0.35mg/g), 감마 토코페롤(0.35mg/g) 및 델타 토코페롤(0.09mg/g)을 포함하는 전체 토코페롤(0.79mg/g); 그리고 알파 토코트리에놀(0.01mg/g).

[0664]

조류 바이오매스 중 단백질의 소화성

[0665]

(실시예 4에 기술된 방법을 이용하여 제조된) 고 단백질 및 고 지질 바이오매스, 그리고 고 단백질 바이오매스 다수 군을 대상으로, 시험관 내 소화성 검정법(0.2% 펩신 소화성 검정법, AOAC 방법 971.09)을 통하여 소화성에 대해 분석하였다. 고 지질 바이오매스에 있어서, 전체 조 단백질 %는 5.4~10.3%였는데, 여기에서 전체 소화성 단백질 %는 46.4~58.6%였다. 고 단백질 바이오매스에 있어서, 전체 조 단백질 %는 40.8~53.3%였으며, 여기에서 전체 소화성 단백질 %는 71.6~85.3%였다. hexan-추출 바이오밀(조류 오일의 hexan 추출 이후 고 지질 조류 바이오매스)을 대상으로도 동일한 소화성 검정법을 수행하였다. 전체 조 단백질 %, 모든 테스트 군에 있어서 약 11~12%였는데, 여기에서 전체 소화성 단백질 %는 76.72~80.2%였다.

[0666]

전체 조 단백질 %가 약 40.9%이고 전체 소화성 단백질 %가 93.35%인, 전 대두 콩 가루(whole bean soy flour)를 비교하였을 때, 고 단백질 조류 바이오매스 중 전체 소화성 단백질 %는 상기 전 대두 콩 가루 중 전체 소화성 단백질 %보다 약간 낮았다. 가공되어 조류 세포가 대부분 용해된 고 단백질 조류 바이오매스를 대상으로 부가의 검정법을 수행하였다. 이와 같이 검정한 결과, 전 대두 콩 가루의 전체 소화성 단백질 %와 고 단백질 조류 바이오매스 중 전체 소화성 단백질 %는 동일하였다(전체 소화성 단백질 %는 약 95%임). 개략적으로, 고 단백질

바이오매스 중 전체 조 단백질 %와 전체 소화성 단백질 % 수준은, 전 대두 콩 가루의 전체 조 단백질 %와 전체 소화성 단백질 % 수준과 같았다.

[0667] 핵산 추출 바이오밀의 소화성 검정 결과, 이 바이오밀은 동물 사료에 중요한 첨가제일 수 있음을 알 수 있었다. 상기 바이오밀은 잔류 단백질과 오일을 둘 다 포함하였으며, 이의 전체 소화성 단백질 % 수준은 약 80%였다.

[0668] 실시예 18

[0669] 고 단백질 조류 바이오매스를 함유하는 식료품

[0670] 고 단백질 조류 바이오매스(조류 플레이크 및 조류 균질물)를 함유하는 식품 조성물

[0671] 이하 레시피에 사용된 고 단백질 조류 바이오매스는 상기 실시예 17에 기술된 방법으로 제조되었다. 이하 레시피에 사용된 조류 바이오매스는 클로렐라 프로토태코이데스 UTEX 250으로부터 유래하는 것으로서, 이는 단백질을 약 51 중량% 함유하였고, 이하에는 고 단백질 조류 바이오매스라 칭하여 지고 있으며, 조류 플레이크 또는 조류 균질물로서 규정되어 있기도 하다.

[0672] 채식주의자용 버거 패티

[0673] 본 실시예는 종래의 레시피에 따라서 제조된 채식주의자용 버거 패티와, 채식주의자를 위한 단백질 공급원(조식 대두 단백질; TSP), 밀의 글루텐 및/또는 대두 단백질 분리물(SPI) 대신에, 조류 플레이크 또는 조류 균질물(AH) 형태의 고 단백질 조류 바이오매스를 사용하여 제조된 버거 패티를 비교하는 것이다.

표 46

[0674] 종래의 채식주의자용 버거 패티 레시피

성분	중량(g)	%	섭유소 %	단백질 %	지방 %
물	62.0	62.0	0	0	0
TSP (아르콘(Arcon) T U272)	11.0	11.0	2.09	7.59	0.22
TSP (아르콘T U218)	10.0	10.0	1.9	6.90	0.20
카놀라 오일	4.0	4.0	0	0	4.0
SPI	5.5	5.5	0	4.95	0.22
밀 글루텐	3.0	3.0	0	2.46	0.03
원래 채식주의자인 사람을 위한 햄버거 폼 미제	2.0	2.0	0	0	0
센시롬 울트라 베지터블 (Sensirome Ultra Vegetable)	1.0	1.0	0	0	0
메틸셀룰로스	1.0	1.0	0.09	0	0
소금	0.5	0.5	0	0	0
합계	100그램	100	4.08	21.90	4.67

표 47

[0675] 대두 단백질 분리물(SPI), 메틸셀룰로스 및 밀 글루텐 대신에 고 단백질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 채식주의자용 버거 패티 레시피

성분	중량(g)	%	섭유소 %	단백질 %	지방 %
물	54.28	58.82	0	0	0
TSP (아르콘T U272)	11.0	11.92	2.26	8.22	0.24
TSP (아르콘T U218)	10.0	10.84	2.06	7.48	0.22
카놀라 오일	4.0	4.33	0	0	4.33
SPI	0	0	0	0	0

고 단백질 조류 플레이크	9.5	10.29	4.12	5.18	0.51
밀 글루텐	0	0	0	0	0
원래 채식주의자인 사람을 위한 햄버거 풍미제	2.0	2.17	0	0	0
센시룸 울트라 베타터블	1.0	1.08	0	0	0
메틸셀룰로스	0	0	0	0	0
소금	0.5	0.54	0	0	0
합계	92.28	100	8.44	20.88	5.30

표 48

[0676]

조식 대두 단백질 농축물(TSP)과 대두 단백질 분리물 대신 고 단백질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 채식주의자용 버거 패티 레시피

성분	중량(g)	%	섬유소 %	단백질 %	지방 %
물	57.5	49.57	0	0	0
TSP (아르콘 T U272)	0	0	0	0	0
TSP (아르콘T U218)	0	0	0	0	0
카놀라 오일	4.0	3.45	0	0	3.45
대두 단백질 분리물	0	0	0	0	0
고 단백질 조류 플레이크	47.0	40.52	16.21	20.38	2.03
밀 글루텐	3.0	2.59	0	2.12	0.03
원래 채식주의자인 사람을 위한 햄버거 풍미제	2.0	1.72	0	0	0
센시룸 울트라 베타터블	1.0	0.86	0	0	0
메틸셀룰로스	1.0	0.86	0.08	0	0
소금	0.50	0.43	0	0	0
합계	116.0	100	16.29	22.50	5.50

표 49

[0677]

대두 단백질 분리물(SPI), 메틸셀룰로스 및 밀 글루텐 대신 고 단백질 조류 균질물(AH)을 사용하여 제조된 채식주의자용 버거 패티 레시피

성분	중량(g)	%	섬유소 %	단백질 %	지방 %
물	62.0	62.0	0	0	0
TSP (아르콘 T U272)	11.0	11.0	2.09	7.59	0.22
TSP (아르콘T U218)	10.0	10.0	1.90	6.90	0.20
카놀라 오일	4.0	4.0	0	0	4.0
SPI	0	0	0	0	0
고 단백질 AH	9.5	9.5	3.80	4.78	0.48
밀 글루텐	0	0	0	0	0
원래 채식주의자인 사람을 위한 햄버거 풍미제	2.0	2.0	0	0	0
센시룸 울트라 베타터블	1.0	1	0	0	0
메틸셀룰로스	0	0	0	0	0

소금	0.5	0.5	0	0	0
합계	100	100	7.79	19.27	4.90

표 50

[0678] 조직 대두 단백질 농축물(TSP) 및 대두 단백질 분리물 대신 고 단백질 조류 균질물을 사용하여 제조된 채식주의자용 버거 패티 레시피

성분	중량(g)	%	섬유소 %	단백질 %	지방 %
물	52.570	47.33	0	0	0
TSP (아르콘 T U272)	0	0	0	0	0
TSP (아르콘T U218)	0	0	0	0	0
카놀라 오일	4.0	3.60	0	0	3.60
대두 단백질 분리물	0	0	0	0	0
고 단백질 AH	47.0	42.32	16.93	21.28	2.12
밀 글루텐	3.0	2.7	0	2.12	0.03
원래 채식주의자인 사람을 위한 햄버거 풍미제	2.0	1.8	0	0	0
센시콤 울트라 베이커블	1.0	0.90	0	0	0
메틸셀룰로스	1.0	0.90	0.08	0	0
소금	0.50	0.43	0	0	0
합계	111.07	100	17.01	23.50	5.74

[0679] 각각의 경우에서, 조리 과정은 다음과 같았다:

[0680] 1. (가능하다면) 조직 대두 단백질 2개를 합하여 계량하였다.

[0681] 2. 스탠드-믹서 보울에, 우선, 일정량의 물(TSP 중량의 2.5~3배)을 첨가하고, 10분 동안 혼합하였다.

[0682] 3. 여기에 대두 단백질 농축물, 메틸셀룰로스, 밀 글루텐 그리고 조류 바이오매스를 계량한 후, 이 배합물을 건조시켰다.

[0683] 4. 이 스탠드-믹서에 건조 성분을 첨가하였다. 잔류하는 물을 첨가하고 나서, 이를 5~10분 동안 혼합하였다.

[0684] 5. 소금과 풍미제를 계량하였다. 오일을 계량하였다. 이를 상기 믹서에 첨가하고나서, 5분 동안 혼합하였다.

[0685] 6. 몰드를 사용하여 패티를 제조하고(패티당 65~75g), 이를 덮개로 덮은 다음 동결시켰다.

[0686] TSP대신 조류 바이오매스(조류 플레이크 및 조류 균질물)를 사용한 샘플에 있어서, 패티는 매우 끈적하였고, 조리시 비교적 구조가 형성되지 않았다. 기타 결합제, 예를 들어 귀리, 연맥강 및 현미 가루를 첨가하여 제조한 패티를 조리하였을 때에는 질감이 단단해졌다. 조류 플레이크가 대두 단백질 분리물을 대체하는 레시피에 의해서, 대조군보다 더 부드럽고, 더 질었으며, 조직은 더 영성한 패티가 제조되었다. 대두 단백질 분리물 대신에 조류 균질물을 함유하는 패티는 대조군과 거의 동일한 질감을 가졌으며, 또한 단단하였다. 개략적으로, 대두 단백질 분리물 대신 조류 균질물을 사용하여 제조된 채식주의자용 버거 패티는 테스트된 레시피 중 가장 성공적이며, 이로써, 채식주의자용 대조군 패티와 거의 동일하되, 식이 섬유는 거의 2배 더 함유하는 패티가 제조되었다.

[0687] 단백질 바

[0688] 이하 실시예는, 종래의 단백질 바를, 종래의 단백질 공급원(대두 단백질 분리물(SPI) 및 우유 단백질 농축물(MPC)) 대신에 고 단백질 조류 바이오매스(조류 플레이크 또는 조류 균질물(AH))를 사용하여 제조된 단백질 바와 비교하는 것이다.

표 51

[0689]

종래의 단백질 바 레시피

성분	중량(g)	%	섬유소 %	단백질 %	지방 %
옥수수 시럽 63/43	53.0	53.7	0	0	0
현미 가루	8.3	8.41	3.15	0	0
대두 단백질 분리물	9.35	9.47	0	8.24	0
우유 단백질 농축물	9.35	9.47	0	7.67	0.14
알칼리처리된 코코아 분말	8.0	8.11	2.59	1.824	0.89
무지방 건조 우유	7.0	7.09	0	2.483	0
초콜릿 풍미제	0.5	0.51	0	0	0
바닐라 풍미제	0.4	0.41	0	0	0
글리세린 (99.5% USP)	2.3	2.33	0	0	0
비타민 배합물	0.49	0.5	0	0	0
합계	98.69	100	5.75	20.22	1.03

표 52

[0690]

SPI 및 MPC 대신 고 단백질 조류 플레이크를 사용하여 제조된 단백질 바 레시피

성분	중량(g)	%	섬유소 %	단백질 %	지방 %
옥수수 시럽 63/43	49.7	52.21	0	0	0
고 단백질 조류 플레이크	34.0	35.72	14.29	17.97	1.79
알칼리처리된 코코아 분말	8.0	8.40	2.69	1.89	0.92
초콜릿 풍미제	0.47	0.49	0	0	0
바닐라 풍미제	0.375	0.39	0	0	0
글리세린 (99.5% USP)	2.16	2.27	0	0	0
비타민 배합물	0.49	0.51	0	0	0
합계	95.20	100	16.98	19.86	2.71

표 53

[0691]

SPI 및 MPC 대신 고 단백질 조류 균질물(AH)을 사용하여 제조된 단백질 바 레시피

성분	중량(g)	%	섬유소 %	단백질 %	지방 %
옥수수 시럽 63/43	48.0	51.4	0	0	0
고 단백질 AH	34.0	36.41	14.56	18.31	1.82
알칼리처리된 코코아 분말	8.0	8.57	2.741	1.928	0.942
초콜릿 풍미제	0.47	0.48	0	0	0
바닐라 풍미제	0.36	0.39	0	0	0
글리세린 (99.5% USP)	2.080	2.23	0	0	0
비타민 배합물	0.49	0.52	0	0	0
합계	93.38	100	17.31	20.24	2.76

[0692]

각각의 경우에서, 조리 과정은 다음과 같았다:

- [0693] 1. 시럽 성분들을 전부 배합하였다.
- [0694] 2. 스토브 위에서 190°F로 가열한 다음, 10분 동안 이 스토브 위 구멍에 뚜껑을 덮어두었다. 가끔씩 교반하였다.
- [0695] 3. 10분 동안 열을 가하지 않고 방치해두었다. 약 140°F로 냉각하였다.
- [0696] 4. 건조 성분들을 혼합하였다.
- [0697] 5. 조각으로 나눈 다음, 이를 밤새도록 방치해두었다.
- [0698] 6. 바로 자르고, 원하는 바와 같이 화합물 코팅으로 코팅하여 포장하였다.
- [0699] 개략적으로, 고 단백질 조류 균질물로 제조한 단백질 바의 결합력은 조류 플레이크로 제조한 단백질 바의 결합력에 비하여 약간 우수하였다. 뿐만 아니라, 조류 균질물로 제조한 단백질 바의 성분들을 서로 결합시키는데에는 극소량의 옥수수 시럽만이 필요하였다. 고 단백질 조류 균질물로 제조된 단백질 바는 종래의 단백질 바에 비하여 특징이 많이 개선된 조성물이었다: 거의 동량의 단백질 및 지방을 함유할 때, 식이 섬유는 약 3배 이상 함유하였다.
- [0700] 초콜릿 영양 음료(식사 대용)
- [0701] 이하 실시예는 종래의 초콜릿 풍미를 가지는 영양 음료를, 종래의 단백질 공급원(대두 단백질 분리물(SPI) 및 우유 단백질 농축물(MPC)) 대신 고 단백질 조류 플레이크 또는 고 단백질 조류 균질물(AH)을 사용하여 제조된 초콜릿 영양 음료와 비교하는 것이다.

표 54

[0702] 종래 초콜릿 영양 음료의 레시피

성분	중량(g)	%	설탕	섬유소 %	단백질 %	지방 %
물(여과수)	908.0	72.99	0	0	0	0
(과립형)설탕	95.0	7.637	7.64	0	0	0
옥수수 시럽	70.0	5.627	1.24	0	0	0
말토덱스트린	60.0	4.823	0	0	0	0
우유 단백질 분리물	44.0	3.53	0	0	2.86	0
카놀라 오일	29.0	2.33	0	0	0	2.33
코코아 분말	15.0	1.206	0	0.39	0.27	0.13
대두 단백질 분리물	11.5	0.924	0	0	0.8	0.04
인산수소이나트륨	2.0	0.161	0	0	0	0
레시틴	1.7	0.137	0	0	0	0
안정화제 배합물	2.0	0.161	0	0	0	0
바닐라 풍미제	2.0	0.161	0	0	0	0
초콜릿 풍미제	2.0	0.161	0	0	0	0
비타민 배합물	1.8	0.145	0	0	0	0
합계	1244	100	8.88	0.39	3.93	2.5

표 55

[0703] SPI, 말토덱스트린 및 우유 단백질 분리물 대신 조류 플레이크를 사용하여 제조된 초콜릿 영양 음료 레시피

성분	중량(g)	%	설탕	섬유소 %	단백질 %	지방 %
물(여과수)	910.0	74.959	0	0	0	0
(과립형)설탕	92.5	7.619	7.62	0	0	0
옥수수 시럽	70.0	5.766	1.27	0	0	0
고 단백질 조류 플레이크	87.0	7.166	0	2.87	3.6	0
카놀라 오일	28.0	2.306	0	0	0	2.31
코코아 분말	15.0	1.236	0	0.4	0.28	0.14
인산수소이나트륨	2.0	0.165	0	0	0	0
레시틴	1.7	0.14	0	0	0	0
안정화제 배합물	2.0	0.165	0	0	0	0

바닐라 풍미제	2.0	0.165	0	0	0	0
초콜릿 풍미제	2.0	0.165	0	0	0	0
비타민 배합물	1.8	0.148	0	0	0	0
합계	1214	100	8.89	3.27	3.88	2.45

표 56

[0704] SPI, 말토덱스트린 및 우유 단백질 분리물 대신 고 단백질 조류 균질물(AH)을 사용하여 제조된 초콜릿 영양 음료 레시피

성분	중량(g)	%	설탕	섭유소 %	단백질 %	지방 %
물(여과수)	910.0	74.959	0	0	0	0
(과립형)설탕	92.5	7.619	7.62	0	0	0
옥수수 시럽	70.0	5.766	1.27	0	0	0
고 단백질 AH	87.0	7.166	0	2.87	3.6	0
카놀라 오일	28.0	2.306	0	0	0	2.31
코코아 분말	15.0	1.236	0	0.4	0.28	0.14
인산수소이나트륨	2.0	0.165	0	0	0	0
레시틴	1.7	0.14	0	0	0	0
안정화제 배합물	2.0	0.165	0	0	0	0
바닐라 풍미제	2.0	0.165	0	0	0	0
초콜릿 풍미제	2.0	0.165	0	0	0	0
비타민 배합물	1.8	0.148	0	0	0	0
합계	1214	100	8.89	3.27	3.88	2.45

[0705] 고 단백질 조류 균질물을 사용하여, 종래의 레시피 음료와 비교하였을 때 체 내에서 더욱 걸쭉해지는 영양 음료를 제조하였다. 고 단백질 조류 플레이크로 대조군 음료보다 더욱 연한 영양 음료를 제조하였다. 개략적으로, 고 단백질 조류 균질물을 함유하는 음료는 불투명성이 뛰어나면서 진한 영양 음료를 만들었다는 점에서 본 출원에 있어 더욱 성공적이었다. 조류 균질물로 제조된 영양 음료의 설탕, 지방 및 단백질 수준은 종래 음료의 설탕, 지방 및 단백질 수준과 거의 동일하였으나, 섭유소는 거의 10배 이상 함유하였다.

[0706] 실시예 19

[0707] 식품으로 사용하기 적당한 기타 미세 조류 균주를 동정하기 위한 유전자 분석

[0708] 조류 유전자 분석

[0709] 다음과 같이, 조류 바이오매스로부터 게놈 DNA를 분리하였다. 세포(약 200mg)를 액체 배양물로부터 원심 분리하였다(5분, 14,000×g). 이후, 세포를 멸균 증류수에 재현탁한 다음, 이를 원심 분리하고(5분, 14,000×g), 상청액을 따라 버렸다. 지름 약 2mm인 유리 비드 하나를 바이오매스에 넣고, 이 바이오매스가 담긴 튜브를 -80℃에 적어도 15분 놓아두었다. 샘플을 분리한 후, 여기에 분쇄 완충액(1% 사르코실, 0.25M 수크로스, 50mM NaCl, 20mM EDTA, 100mM Tris-HCl, pH 8.0, RNase A 0.5μg/μl) 150μl를 첨가하였다. 간단하게 상기 샘플 혼합물을 와동시킨 다음, 여기에 5M NaCl을 40μl 첨가하여 펠릿을 재현탁하고 나서, 여기에 5% CTAB(세틸 트리메틸암모늄 브로마이드) 66μl를 첨가한 후, 마지막으로 이를 간단히 와동시켰다. 그 다음, 샘플을 65℃에서 10분 동안 항온 처리한 다음, 이를 원심 분리하였다(14,000×g, 10분). 상청액을 새 튜브에 옮겨담은 후, 페놀: 클로로포름: 이소아밀 알코올 12:12:1 300μl로 1회 추출한 다음, 이를 14,000×g에서 5분 동안 원심 분리하였다. 이때 생성된 수성 상을 0.7 부피의 이소프로판올(약 190μl)이 담긴 새 튜브에 옮기고 나서, 튜브를 거꾸로 뒤집어 내용물을 혼합한 다음 실온에서 30분 동안 또는 4℃에서 밤새도록 항온 처리하였다. 14,000×g에서 10분 동안 원심 분리하여 DNA를 회수하였다. 이후, 생성된 펠릿을 70% 에탄올 → 100% 에탄올의 순서로 2회 세정하였다. 펠릿을 20~30분 동안 실온에서 공기 건조한 다음, 50μl의 10mM TrisCl, 1mM EDTA(pH 8.0) 중에 재현탁하였다.

[0710] 전술한 바와 같이 제조한 전체 조류 DNA 5μl를 10mM Tris(pH 8.0) 중에 1:50으로 희석하였다. 최종 부피 20μl인 PCR 반응물을 다음과 같이 구성하였다: 2 × iProof HF 마스터 믹스(Bio-Rad) 10μl를 프라이머 SZ02613(5'-TGTGTAAGAATGAGCCGCGAC-3'(서열 번호24), 스톱 농도 = 10mM) 0.4μl에 첨가하였다. 이 프라이머 서열은 Gen Bank 수탁 번호 L43357인 서열 중 567~588번 위치의 서열로서, 고등 식물과 조류 색소체 게놈에 고도로 보존되어 있는 것이다. 이후, 프라이머 SZ02615(5'-CAGTGAGCTATTACGCACTC-3'(서열 번호 25), 스톱 농도 = 10 mM) 0.4

μ l를 첨가하였다. 이 프라이머 서열은 Gen Bank 수탁 번호 L43357인 서열 중 1112~1093번 위치의 서열과 상보성인 서열로서, 고등 식물과 조류 색소체 게놈에 고도로 보존되어 있는 것이다. 그 다음, 여기에 희석된 전체 DNA 5 μ l와 dH₂O 3.2 μ l를 첨가하였다. PCR 반응은 다음과 같은 순서로 진행되었다: 98℃, 45" ; 98℃, 8" ; 53℃, 12" ; 72℃, 20" (35회 순환) → 72℃, 1분. 이후 이 PCR 반응물을 25℃에 방치하였다. PCR 생성물을 정제하기 위하여, 10 mM Tris(pH 8.0) 20 μ l를 각각의 반응에 첨가하고 나서, 페놀: 클로로포름: 이소아밀 알코올 12:12:1 40 μ l로 추출하고, 이를 와동 및 원심 분리하였다(14,000 × g, 5분). PCR 반응물을 S-400 컬럼(GE Healthcare)에 가하고 나서, 이를 3,000 × g에서 2분 동안 원심 분리하였다. 정제된 PCR 생성물은 결과적으로 PCR8/GW/TOPO에 클로닝된 TOPO이자 LB/Spec 평판상에서 선별된 포지티브 클론이었다. 정제된 플라스미드DNA를, M13 전방향 프라이머와 역방향 프라이머를 사용하여 양 방향으로 서열 결정하였다. 지니어스 DNA 분석 소프트웨어(Geneious DNA analysis software)를 사용하여, 서열 배열 및 루트가 결정되지 않은 트리(unrooted tree)를 작성하였다. 균주 1~23으로부터 유래한 서열(실시에 1, 표 1 참조)은 첨부된 서열 목록 중 서열 번호 1~23에 해당한다.

[0711] 9종류의 클로렐라 프로토테코이데스 균주로부터 유래하는 23S rRNA의 게놈 DNA 분석

[0712] 전술한 방법에 따라서, 8종류의 클로렐라 프로토테코이데스 균주(UTEX 25, UTEX 249, UTEX 250, UTEX 256, UTEX 264, UTEX 411, SAG 211 10d, CCAP 211/17, 및 CCAP 211/8d)로부터 유래하는 게놈 DNA를 분리하고, 23S rRNA를 대상으로 게놈 DNA 분석을 수행하였다. UTEX 25를 제외하고, 테스트된 클로렐라 프로토테코이데스 균주는 모두 서열이 동일하였다. 상기 8종류의 균주 전부의 서열은 첨부된 서열 목록의 서열 번호 26 및 서열 번호 27에 나열되어 있다.

[0713] 구입한 클로렐라 샘플의 유전자 분석

[0714] 구입한 클로렐라 샘플 3개 즉, 클로렐라 레귤라리스(*Chlorella regularis*)(뉴 챕터(New Chapter), 390mg/연질 캡슐), 홀 푸즈 브로큰 셀 월 클로렐라(Whole Foods Broken Cell Wall *Chlorella*)(홀 푸즈(Whole Foods), 500mg/압착 정제) 및 뉴트리바이오틱(NutriBiotic) CGF 클로렐라(뉴트리바이오틱(NutriBiotic), 500mg/압착 정제)를 대상으로 전술한 방법에 따라서 유전자를 분석하였다. 상기 구입한 클로렐라 샘플 약 200mg씩을 멸균 증류수에 재현탁하여 게놈 DNA를 분리하였다.

[0715] 생성된 PCR 생성물을 분리하여 이를 벡터에 클로닝하고, M13 전방향 프라이머 및 역방향 프라이머를 사용하여 서열 결정하였다. BLAST 검색을 통해 이 서열을 공지된 서열과 비교하였다.

[0716] 23s rRNA DNA 서열을 비교한 결과, 구입한 3개의 클로렐라 샘플 중 2개가 링비아 아에스투아리(*Lyngbya aestuarii*)에 존재하는 DNA 서열과 매치하는 DNA 서열을 가진다는 사실을 알 수 있었다(홀 푸즈 브로큰 셀 월 클로렐라 및 뉴트리바이오틱 CGF). 링비아 아에스투아리는 해양 종인 남조류이다. 이러한 결과를 통하여, 시판 중인 일부 클로렐라는 기타 오염 미생물 중, 예를 들어 독소를 생성하는 것으로 알려진 링비아와 같은 속에 속하는 유기체를 포함한다는 것을 알 수 있었다(예를 들어, 문헌[Teneva et. al, Environmental Toxicology, 18(1)1, pp. 9-20 (2003); Matthew et al., J Nat Prod., 71(6):pp. 1113-6 (2008); 및 Carmichael et al., Appl Environ Microbiol, 63(8): pp. 3104-3110 (1997)] 참조).

[0717] **실시에 20**

[0718] 식품으로서 사용하기 적당한 미세 조류 바이오매스의 색 돌연변이체

[0719] 색 돌연변이체를 생산하기 위한 화학적 돌연변이 유발법

[0720] 실시예 1에 기술된 방법과 조건에 따라서 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)를 생장시켰다. 조류 균주를 대상으로 N-메틸-N'-니트로-N-니트로구아니딘(NTG)을 사용하여 화학적 돌연변이 유발법을 수행하였다. 조류 배양물을 돌연변이원(NTG)으로 처리하고 나서, 2.0% 글루코스 아가 평판 상에서 수 회 재분리함으로써 균주를 선별하였다. 콜로니를 색 돌연변이체에 대해 스크리닝하였다. 클로렐라 프로토테코이데스(야생형)는 종속 영양 조건 하에서 생장할 경우 금색을 나타낸다. 스크리닝을 수행한 결과, 아가 평판 상에 하나의 균주가 흰색으로 확인되었다. 이와 같은 색 돌연변이체를 33-55라 명명하였다(부다페스트 조약에 따라서 미국 버지니아 20110-2209, 매너사, 10801 유니버시티 볼러바드에 소재하는 미국 세포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 특허 수탁 번호 PTA-10397로 기탁된 것임). 또 다른 콜로니도 분리하여 재분리 과정을 3회 반복 수행한 결과, 이 돌연변이는 안정적이라는 것을 확인하였다. 상기 돌연변이는 아가 평판 상에서 밝은 황색을 띠었으며 25-32라고 명명하였다(부다페스트 조약에 따라서 미국 버지니아 20110-2209, 매너사, 10801 유니버시티 볼러바드에 소재하는 미국 세

포주·균주 은행에 2009년 10월 13일자로 특허 수탁 번호 PTA-10396으로 기탁된 것임).

[0721] 클로렐라 프로토테코이데스 33-55의 지질 프로파일

[0722] 실시예 1에 기술된 방법과 조건에 따라서, 클로렐라 프로토테코이데스 33-55 및 부모 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)를 생장시켰다. 상기 두 균주에 대해 지질 %(건조 세포 중량부)를 측정하였는데: 클로렐라 프로토테코이데스 33-55의 지질 %는 68%였으며, 부모 균주의 지질 %는 62%였다. 상기 두 균주에 대해 지질 프로파일을 측정하였는데, 그 결과는 다음과 같았다(면적%로 표시): 클로렐라 프로토테코이데스 33-55의 경우, C14:0 (0.81); C16:0 (10.35); C16:1 (0.20); C18:0 (4.09); C18:1 (72.16); C18:2 (10.60); C18:3 (0.10); 및 기타 (1.69); 부모 균주의 경우, C14:0 (0.77); C16:0 (9.67); C16:1 (0.22); C18:0 (4.73); C18:1 (71.45); C18:2 (10.99); C18:3 (0.14); 및 기타(2.05).

[0723] **실시예 21**

[0724] 식품으로서 사용하기 적당한 미세 조류 바이오매스 배양용 셀룰로스 공급물

[0725] 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250)가 비-식품 탄소 공급원을 이용할 수 있는지 여부를 확인하기 위해서, 상기 실시예에 기술된 식품 중 임의의 것에 사용하기 적당한 클로렐라 프로토테코이데스를 종속 영양 조건 하에서 배양할 때 사용할 탄소 공급원으로서 셀룰로스 재료(팽창된 옥수수 대)를 준비하였다.

[0726] 미국 에너지부 산하 국립 재생 에너지 연구실(콜롬비아주 골든 소재)에 의해서 습윤 팽창된 옥수수 대 재료를 준비하였다(옥수수 대를 1.4%의 황산 용액 중에서 삶아서 생성된 슬러리를 탈수함). 메틀러 톨레도 수분 분석기(Mettler Toledo Moisture analyzer)를 사용하여, 습윤 옥수수 대에 존재하는 건조 고체를 측정된 결과 24% 존재한다는 것을 알 수 있었다. 습윤 샘플 100g을 탈이온수 중에 재현탁하여, 최종 부피 420ml가 되도록 만들고, 10N NaOH를 사용하여 pH를 4.8로 맞추었다. 셀룰라스트(Celluclast)TM(노보자임(Novozymes))(셀룰라제)를 최종 농도가 4%로 될 때까지 첨가하고, 이때 생성된 슬러리를 50℃에서 72시간 동안 진탕하면서 항온 처리하였다. 이 후, NaOH(부피는 거의 변경하지 않음)를 사용하여 이 재료의 pH를 7.5로 맞추는 다음, 0.22um 필터를 통과시켜 멸균 여과하고 나서, -20℃에 보관하였다. 이하에 기술한 바와 같이, 헥소키나제를 주성분으로 하는 키트(시그마(Sigma))를 사용하여 글루코스의 농도를 측정할 때를 대비하여 샘플을 보존하여 두었다.

[0727] 글루코스 농도는 시그마 글루코스 검정 시약 #G3293을 사용하여 측정하였다. 상기 개략적으로 기술한 바와 같이 처리한 샘플을 40배 희석하고, 이것 40μl를 반응물에 첨가하였다. 옥수수 대 셀룰로스 제조물을 분석한 결과, 약 23g/L의 글루코스를 함유한다는 것을 알 수 있었다.

[0728] 효소 처리 후, 셀룰로스를 당화하여 글루코스, 자일로즈 및 기타 단당류로 만들었는데, 이 때, 전술한 바와 같이 제조된 재료는 실시예 1에 기술한 배지를 사용하여 클로렐라 프로토테코이데스(UTEX 250) 생장용 공급물로서 평가되었다. 순수한 글루코스와 혼합된 셀룰로스 당의 농도에 변화를 주어(0, 12.5, 25, 50 및 100% 셀룰로스 당) 테스트를 수행하였다. 셀룰로스 당의 농도에 변화를 주면서 세포를 암실에서 진탕 항온 처리하였다(28℃, 300rpm). UV 분광 분석계(750nm)로 흡광도를 측정하여 생장을 평가하였다. 클로렐라 프로토테코이데스 배양물은 셀룰라스트로 제조된 옥수수 대 재료 상에서 생장하였는데, 이 경우, 배지의 조건은, 발효 가능 당의 100%가 셀룰로스로부터 유래해야 한다는 것이다. 셀룰로스 공급물로서 액셀러라제(Accellerase)로 처리한 사탕무 펄프를 사용하여 유사한 실험을 수행하였다. 옥수수 대 재료로 얻어진 결과와 같이, 클로렐라 프로토테코이데스 배양물은 모두 탄소 공급원으로서 셀룰로스 유래 당을 이용할 수 있었다.

[0729] PCT 특허출원 PCT/US2007/001319호(2007년 1월 19일 출원)(발명의 명칭: "Nutraceutical Compositions from Microalgae and Related Methods of Production and Administration")는 모든 목적을 위하여 전체적으로 본원에 포함된다. PCT 특허출원 PCT/US2007/001653호(2007년 1월 19일 출원)(발명의 명칭: "Microalgae-Derived Composition for Improving Health and Appearance of Skin")는 모든 목적을 위하여 전체적으로 본원에 포함된다. PCT 특허출원 PCT/US2008/065563호(2008년 6월 2일 출원)(발명의 명칭: "Production of Oil in Microorganisms")는 모든 목적을 위하여 전체적으로 본원에 포함된다. US 가출원 제61/043,318호(2008년 4월 8일 출원)(발명의 명칭: "Fractionation of Oil-Bearing Microbial Biomass,"), 미국 가출원 제61/043,620호(2008년 4월 9일 출원)(발명의 명칭: "Direct Chemical Modification of Microbial Biomass,") 및 PCT 특허출원 _____ (Attorney Docket No. 026172-004910PC), (2010년 4월 14일 출원)(발명의 명칭: "Methods of Microbial Oil Extraction and Separation")는 모든 목적을 위하여 전체적으로 본원에 포함된다.

[0730] 본원에 인용된 모든 참조 문헌들, 예를 들어 특허, 특허 출원 및 공보는, 앞서 구체적으로 인용하였는지 여부에

따라서, 전체적으로 본원에 참조로 포함된다. 본원에 언급된 공보는 본 발명과 관련하여 사용될 수 있는 시약, 방법 및 개념을 기술 및 개시할 목적으로 인용되어 있다. 본원에 개시된 문헌들 중, 본원에 개시된 발명과 관련하여 선행 기술이라고 인정하는 것으로 해석될 문헌은 없다.

[0731] 비록 본 발명은 특정 구체예와 관련하여 기술되어 있긴 하지만, 여기에 추가로 변형을 가할 수 있음을 알 수 있을 것이다. 본 출원은 일반적으로, 본 발명의 원리에 따르고, 상기 제시된 본질적인 특징들에 적용될 수 있으며, 본 발명이 속하는 업계에 공지되었거나 이 업계에서 관례적으로 행해지고 있는 범위 내에 포함되는 본 발명의 개시 사항들을 바탕으로 하여 임의의 변형, 실시 또는 응용을 포함한다.

수탁번호

[0732]

기탁기관명 : American Type Culture Collection

수탁번호 : PTA10397

수탁일자 : 20091013

기탁기관명 : American Type Culture Collection

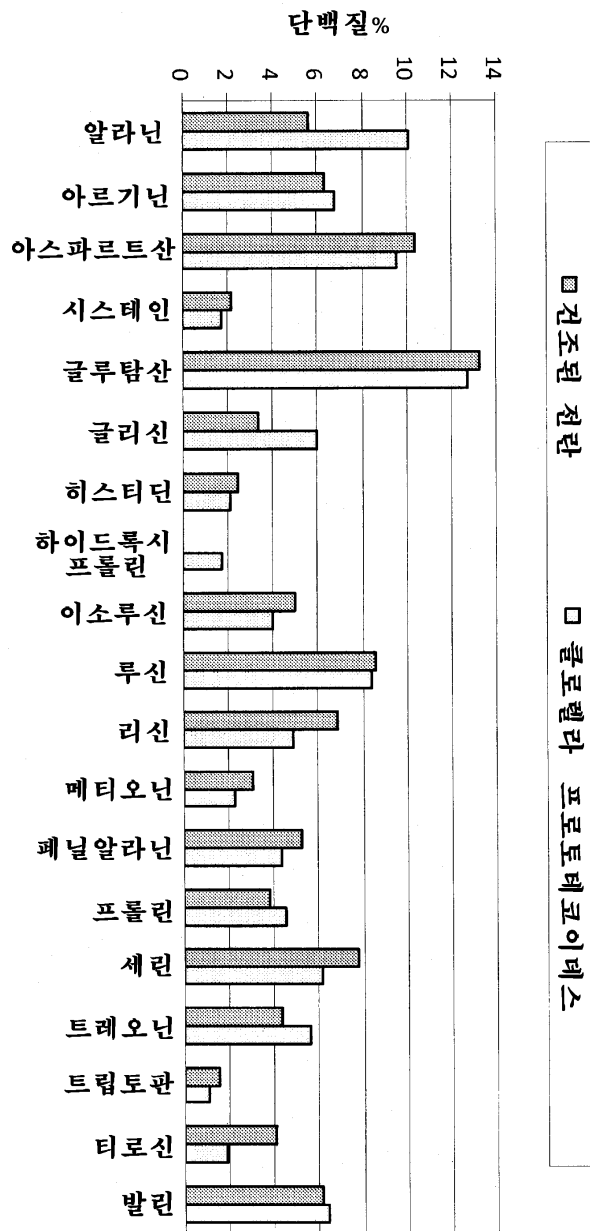
수탁번호 : PTA10396

수탁일자 : 20091013

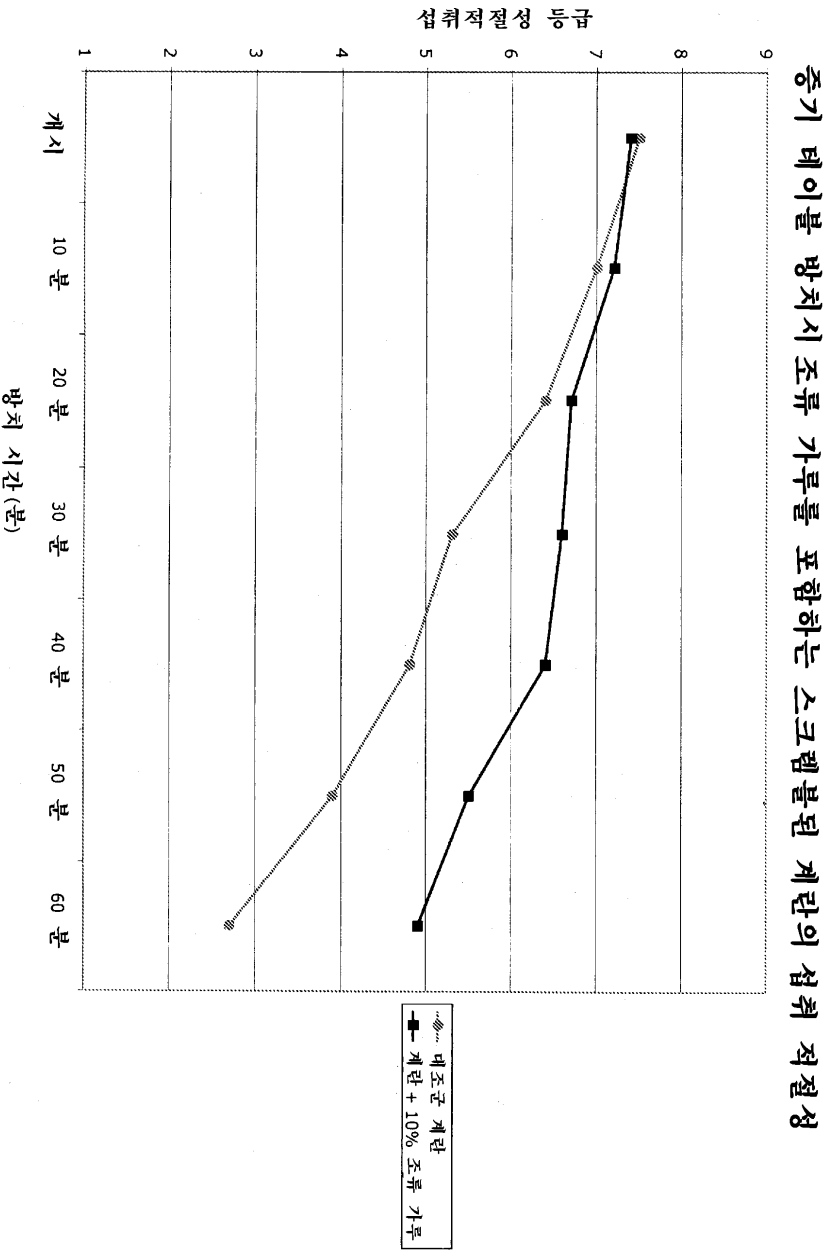
도면
도면1

관구 #	C14.0	C16.0	C16.1	C18.0	C18.1	C18.2	C18.3	C20.0	C20.1
1	0.57	10.30	0.00	3.77	70.52	14.24	1.45	0.27	0
2	0.61	8.70	0.30	2.42	71.98	14.21	1.15	0.20	0.24
4	0.68	9.82	0	2.83	65.78	12.94	1.46	0	0
5	1.47	21.96	0	4.35	22.64	9.58	5.2	3.88	3.3
10	0	12.01	0	0	50.33	17.14	0	0	0
11	1.41	29.44	0.70	3.05	57.72	12.37	0.97	0.33	0
12	1.09	25.77	0	2.75	54.01	11.90	2.44	0	0

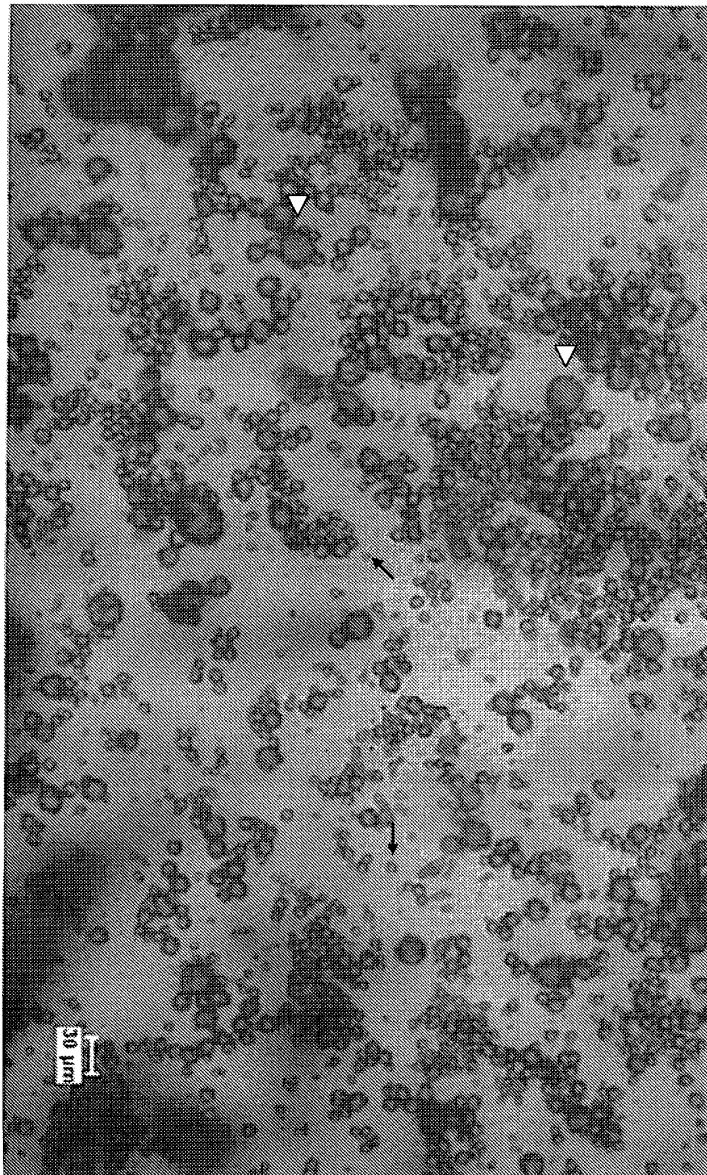
도면2



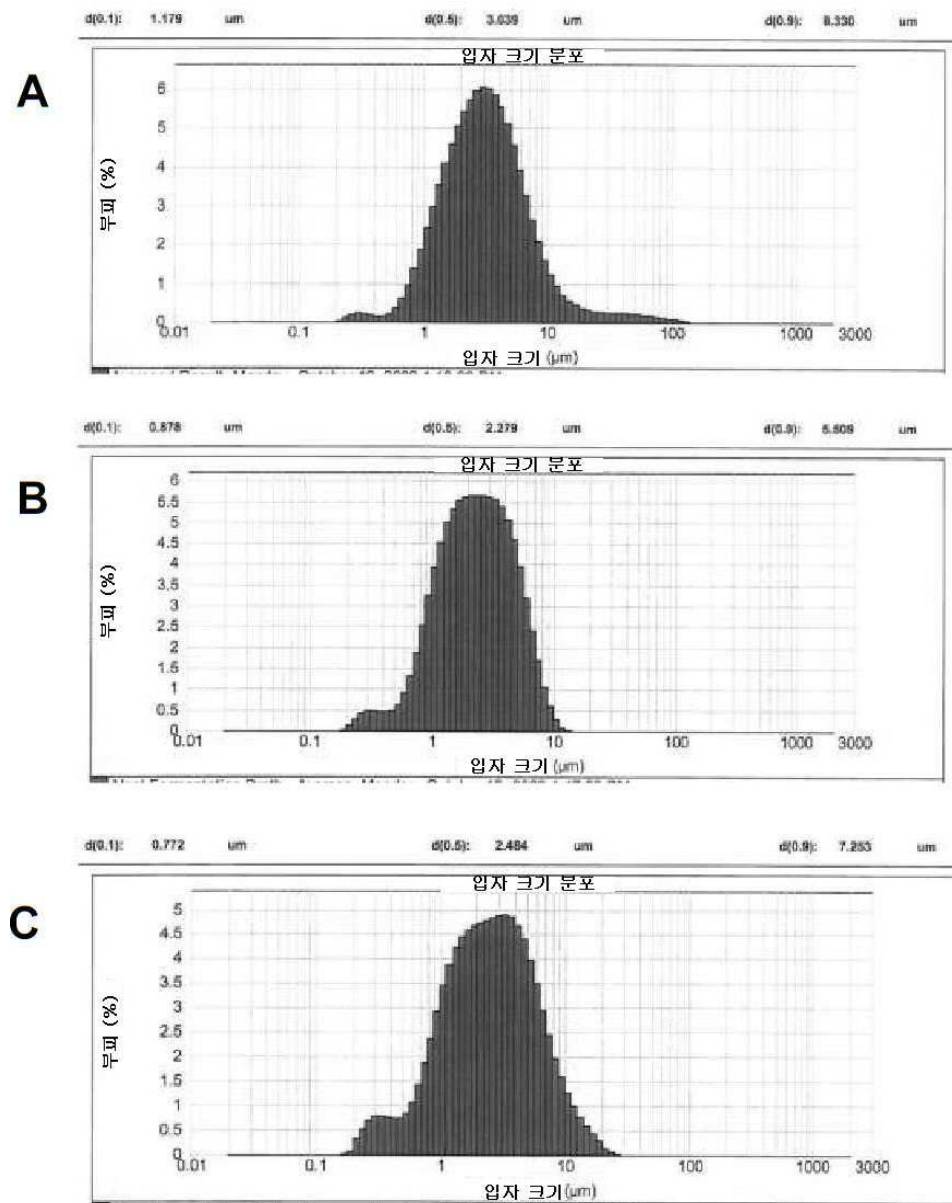
도면3



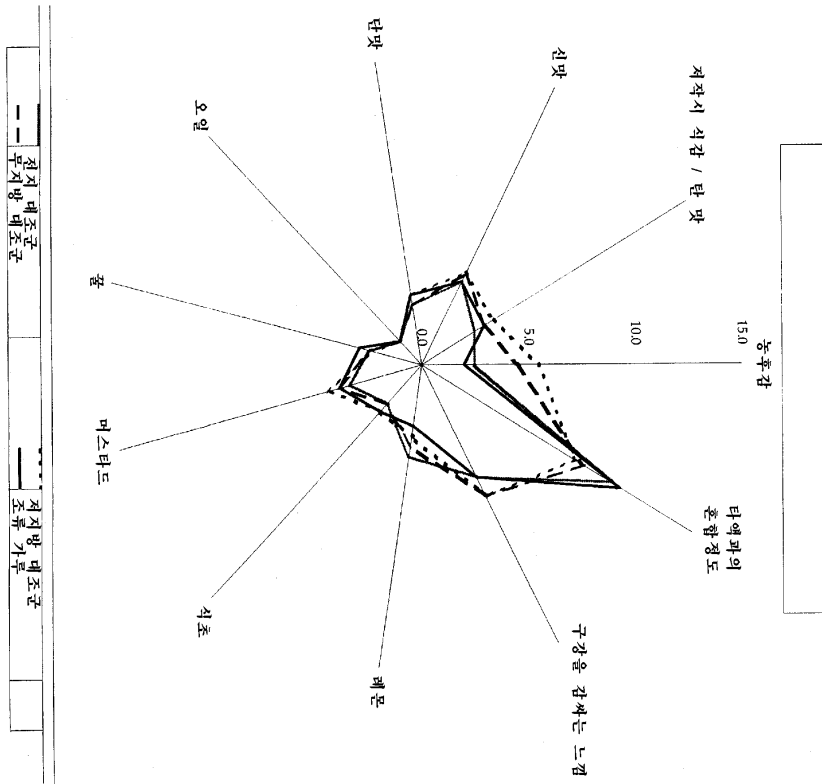
도면4



도면5



도면6



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SOLAZYME, INC.

BROOKS, GEOFFREY

FRANKLIN, SCOTT

AVILA, JEFF

DECKER, STEPHEN M.

BALIU, ENRIQUE

RAKITSKY, WALTER

PIECHOCKI, JOHN

ZDANIS, DANA

NORRIS, LESLIE M.

<120> NOVEL MICROALGAL FOOD COMPOSITIONS

<130> 026172-004150PC

<150> US 12/684,894

<151> 2010-01-08

<150> US 12/684,893
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,892
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,891
 <151> 2010-01-08

 <150> US 12/684,889
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,888
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,887
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,886
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,885
 <151> 2010-01-08
 <150> US 12/684,884
 <151> 2010-01-08
 <150> PCT/US2009/060692
 <151> 2009-10-14
 <150> US 12/579,091
 <151> 2009-10-14
 <150> US 61/246,070
 <151> 2009-09-25
 <150> US 61/173,166
 <151> 2009-04-27
 <160> 27
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 565
 <212> DNA
 <213> *Chlorella protothecoides*

 <400> 1

tggtgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc 60
 cttagcgaaa gcgagtctga atagggcgat caaatatfff aatatttaca atttagtcat 120
 tttttctaga cccgaaccgg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt ggggtgatacc 180
 aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg 240
 aaataaccagt cgaaccggga gctagctggt tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt 300
 acatctagtc tatctagggg taaagcactg tttcggtgcg ggctgtgaaa acggtaccaa 360
 atcgtggcaa acitctgaata ctagaaatga cgggtgtagta gtgagactgt gggggataag 420

ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta 480
 gtgacaaagg aggtgaaaaat gcaaacacaa ccaggagggt ggcttagaag cagccatcct 540
 ttaaagagtg cgtaatagct cactg 565

<210> 2

<211> 546

<212> DNA

<213> Chlorella protothecoides

<400> 2

tggtgaagaa tgagccggcg acttagaaaa cgtggcaagg ttaaggaaac gtatccggag 60
 ccgaagcgaa agcaagtctg aacagggcga ttaagtcatt ttttctagac ccgaaccggg 120
 gtgatctaac catgaccagg atgaagcttg ggtgacacca agtgaaggtc cgaaccgacc 180

gatgttgaaa aatcggcgga tgagttgtgg ttagcgggtga aataccagtc gaactcggag 240
 ctagctgggt ctccccgaaa tgcgttgagg cgcagcgggt cataaggctg tctaggggta 300
 aagcactggt tcggtgcggg ctgcgaaagc ggtaccaa atcgtggcaaac tctgaatact 360
 agatatgcta tttatgggcc agtgagacgg tgggggataa gcttcacgt cgagagggaa 420
 acagcccaga ttagtagcta agggcccaaa atgacgtta agtgacaaag gaggtgagaa 480
 tgcagaaaca accaggagggt ttgcttagaa gcagccaccc tttaaagagt gcgtaatagc 540
 ttagtagc 546

<210> 3

<211> 565

<212> DNA

<213> Chlorella protothecoides

<400> 3

tggtgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc 60
 cttagcgaaa gcgagtctga atagggcgat caaatatfff aatatttaca atttagtcat 120

tttttctaga cccgaacccg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt gggtgatacc	180
aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg	240
aaataccagt cgaacccgga gctagctggt tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt	300
acatctagtc tatctagggg taaagcactg tttcgggtgcg ggctgtgaaa acggtaccaa	360
atcgtggcaa actctgaata ctagaatga cgggtgtagta gtgagactgt gggggataag	420
ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta	480
gtgacaaagg aggtgaaaat gcaaacacaa ccaggagggtt ggcttagaag cagccatcct	540
ttaaagagtg cgtaatagct cactg	565
<210> 4	
<211> 565	
<212> DNA	
<213> Chlorella kessleri	
<400> 4	
tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc	60
cttagcgaaa gcgagtctga ataggcgcat caaatatitt aatatttaca atttagtcat	120
tttttctaga cccgaacccg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt gggtgatacc	180
aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg	240
aaataccagt cgaacccgga gctagctggt tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt	300
acatctagtc tatctagggg taaagcactg tttcgggtgcg ggctgtgaaa acggtaccaa	360
atcgtggcaa actctgaata ctagaatga cgggtgtagta gtgagactgt gggggataag	420
ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta	480
gtgacaaagg aggtgaaaat gcaaacacaa ccaggagggtt ggcttagaag cagccatcct	540
ttaaagagtg cgtaatagct cactg	565
<210> 5	
<211> 548	
<212> DNA	
<213> Chlorella kessleri	
<400> 5	
tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaga agtggccttg ttaaggataa ctatccggag	60
ccagagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ttaaaggtca ctttttctag acccgaaccc	120
gggtgatcta accatgacca ggatgaagct tgggtaacac cacgtgaagg tccgaaccga	180
ccgatgttga aaaatcggcg gatgagttgt ggtagcgggt gaaataccaa tcgaactcgg	240

agctagctgg ttctccccga aatgcgttga ggcgcagcgg tttatgaggc tgtctagggg 300

taaagcactg ttctgggtcg ggctgcgaaa gcggtaccaa atcgtggcaa actctgaata 360

ctagatatgc tattcatgag ccagtgagac ggtgggggat aagcttcac gtcaagaggg 420

aaacagccca gatcaccagc taaggcccca aaatggtcgt taagtggcaa aggaggtgag 480

aatgctgaaa caaccaggag gtttgcttag aagcagccac cctttaaaga gtgcgtaata 540

gctcactg 548

<210> 6

<211> 548

<212> DNA

<213> *Chlorella kessleri*

<400> 6

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaga agtggcttgg ttaaggataa ctatccggag 60

ccagagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ttaaaggta ctttttctag acccgaaccc 120

gggtgatcta accatgacca ggatgaagct tgggtaacac cacgtgaagg tccgaaccga 180

ccgatgttga aaaatcggcg gatgagttgt ggtagcggg gaaataccaa tcgaactcgg 240

agctagctgg ttctccccga aatgcgttga ggcgcagcgg tttatgaggc tgtctagggg 300

taaagcactg ttctgggtcg ggctgcgaaa gcggtaccaa atcgtggcaa actctgaata 360

ctagatatgc tattcatgag ccagtgagac ggtgggggat aagcttcac gtcaagaggg 420

aaacagccca gatcaccagc taaggcccca aaatggtcgt taagtggcaa aggaggtgag 480

aatgctgaaa caaccaggag gtttgcttag aagcagccac cctttaaaga gtgcgtaata 540

gctcactg 548

<210> 7

<211> 548

<212> DNA

<213> *Parachlorella kessleri*

<400> 7

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaga agtggcttgg ttaaggataa ctatccggag 60

ccagagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ttaaaggta ctttttctag acccgaaccc 120

gggtgatcta accatgacca ggatgaagct tgggtaacac cacgtgaagg tccgaaccga 180

ccgatgttga aaaatcggcg gatgagttgt ggtagcggg gaaataccaa tcgaactcgg 240

agctagctgg ttctccccga aatgcgttga ggcgcagcgg tttatgaggc tgtctagggg 300

taaagcactg tttcgggtcgc ggctgcgaaa gcggtaccaa atcgtggcaa actctgaata 360
ctagatatgc tattcatgag ccagtgcgac ggtgggggat aagcttcac gtcaagaggg 420
aaacagccca gatcaccagc taaggcccca aatgggtcgt taagtggcaa aggaggtgag 480
aatgctgaaa caaccaggag gtttgcttag aagcagccac cctttaaaga gtgcgtaata 540
gtcactg 548

<210> 8

<211> 548

<212> DNA

<213> Parachlorella kessleri

<400> 8

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaga agtggcttgg ttaaggataa ctatccggag 60
ccagagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ttaaagggtca ctttttctag acccgaaccc 120
gggtgatcta accatgacca ggatgaagct tgggtaacac cacgtgaagg tccgaaccga 180
ccgatgttga aaaatcggcg gatgagttgt ggttagcggg gaaataccaa tcgaactcgg 240
agctagctgg ttctccccga aatgcgttga ggcgcagcgg tttatgaggc tgtctagggg 300
taaagcactg tttcgggtcgc ggctgcgaaa gcggtaccaa atcgtggcaa actctgaata 360
ctagatatgc tattcatgag ccagtgcgac ggtgggggat aagcttcac gtcaagaggg 420

aaacagccca gatcaccagc taaggcccca aatgggtcgt taagtggcaa aggaggtgag 480
aatgctgaaa caaccaggag gtttgcttag aagcagccac cctttaaaga gtgcgtaata 540
gtcactg 548

<210> 9

<211> 565

<212> DNA

<213> Parachlorella kessleri

<400> 9

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc 60
cttagcgaaa gcgagtctga atagggcgat caaatatatt aatatttaca atttagtcat 120
tttttctaga cccgaacccg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt ggggtgatacc 180
aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg 240
aaataaccagt cgaacccgga gctagctggg tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt 300
acatctagtc tatctagggg taaagcactg tttcgggtcgc ggctgtgaaa acggtaccaa 360
atcgtggcaa actctgaata ctgaaatga cgggttagta gtgagactgt gggggataag 420

ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta 480
gtgacaaagg aggtgaaaaat gcaaacacaa ccaggagggtt ggcttagaag cagccatcct 540
ttaaagagtg cgtaatatgt cactg 565

<210> 10

<211> 541

<212> DNA

<213> Prototheca stagnora

<400> 10

tgttgaagaa tgagccggcg agttaaaaaa aatggcatgg ttaaagatat ttctctgaag 60
ccatagcgaa agcaagtttt acaagctata gtcatttttt ttagaccga aaccgagtga 120
tctacccatg atcagggtga agtgttggtc aaataacatg gagggccgaa ccgactaatg 180
gtgaaaaatt agcggatgaa ttgtgggtag gggcgaaaaa ccaatcgaa tcggagttag 240
ctggttctcc ccgaaatgcg ttagggcgca gcagtagcaa cacaataga ggggtaaagc 300
actgtttctt ttgtgggctt cgaaagtgtt acctcaaagt ggcaaactct gaatactcta 360

tttagatata tactagttag accttggggg ataagctcct tggtaaaaag ggaaacagcc 420
cagatcacca gtttaagccc caaaatgaaa atgatatgta ctaaggacgt gagtatgtca 480
aaacctccag caggttagct tagaagcagc aatcctttca agagtgcgta atagtcact 540
g 541

<210> 11

<211> 573

<212> DNA

<213> Prototheca moriformis

<400> 11

tgttgaagaa tgagccggcg acttaaaata aatggcaggc taagagaatt aataactcga 60
aacctaagcg aaagcaagtc ttaatagggc gctaatttaa caaaacatta aataaaatct 120
aaagtcatth attttagacc cgaacctgag tgatctaacc atggtcagga tgaaacttgg 180
gtgacaccaa gtggaagtc gaaccgaccg atgttgaaaa atcgccggat gaactgtggt 240
tagtggtgaa ataccagtcg aactcagagc tagctggttc tccccgaaat gcgttgaggc 300
gcagcaatat atctcgtcta tctaggggta aagcactgtt tcggtgcggg ctatgaaat 360
ggtaccaaat cgtggcaaac tctgaatact agaaatgacg atatattagt gagactatgg 420
gggataagct ccatagtcga gagggaaaca gccagacca ccagttaagg ccccaaatg 480

ataatgaagt ggtaaaggag gtgaaaatgc aaatacaacc aggaggttgg cttagaagca 540

gccatccttt aaagagtgcg taatagctca ctg 573

<210> 12

<211> 573

<212> DNA

<213> Prototheca moriformis

<400> 12

tgttgaagaa tgagccggcg acttaaaata aatggcaggc taagagaatt aataactcga 60

aacctaagcg aaagcaagtc ttaatagggc gctaatttaa caaacatta aataaaatct 120

aaagtcattt attttagacc cgaacctgag tgatctaacc atggtcagga tgaaacttgg 180

gtgacaccaa gtggaagtcc gaaccgaccg atgttgaaaa atcggcggat gaactgtggt 240

tagtggtgaa ataccagtcg aactcagagc tagctggttc tccccgaaat gcgttgaggc 300

gcagcaatat atctcgtcta tctaggggta aagcactgtt tcggtgcggg ctatgaaaat 360

ggtaccaaat cgtggcaaac tctgaatact agaaatgacg atatattagt gagactatgg 420

gggataagct ccatagtcca gagggaaaca gccagacca ccagttaagg ccccaaatg 480

ataatgaagt ggtaaaggag gtgaaaatgc aaatacaacc aggaggttgg cttagaagca 540

gccatccttt aaagagtgcg taatagctca ctg 573

<210> 13

<211> 565

<212> DNA

<213> Chlorella minutissima

<400> 13

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc 60

cttagcgaaa gcgagtctga atagggcgat caaatatitt aatatttaca atttagtcat 120

tttttctaga cccgaaccgg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt ggggtgatacc 180

aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg 240

aaataccagt cgaaccggga gctagctggt tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt 300

acatctagtc taictagggg taaagcactg tttcgggtgcg ggctgtgaaa acggtaccaa 360

atcgtggcaa actctgaata ctagaatga cgggttagta gtgagactgt gggggataag 420

ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta 480

gtgacaaagg aggtgaaaat gcaaacacaa ccaggagggt ggcttagaag cagccatcct 540

ttaaagagtg cgtaatagct cactg 565

<210> 14

<211> 565

<212> DNA

<213> Chlorella sp.

<400> 14

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc 60

cttagcgaaa gcgagtciga atagggcgat caaatatfff aatatfaca atttagtcat 120

tttttctaga cccgaaccgg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt ggggtgatacc 180

aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg 240

aaataccagt cgaaccggga gctagctggt tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt 300

acatctagtc tatctagggg taaagcactg tttcgggtgcg ggctgtgaaa acggtaccaa 360

atcgtggcaa actctgaata ctagaaatga cgggttagta gtgagactgt gggggataag 420

ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta 480

gtgacaaagg aggtgaaaat gcaaacacaa ccaggagggt ggcttagaag cagccatcct 540

ttaaagagtg cgtaatagct cactg 565

<210> 15

<211> 546

<212> DNA

<213> Chlorella sp.

<400> 15

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa cgtggcaagg ttaaggacat gtatccggag 60

ccgaagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ctaagtcatt ttttctagac ccgaaccggg 120

gtgatctaac catgaccagg atgaagcttg ggtgacacca agtgaaggtc cgaaccgacc 180

gatgttgaaa aatcggcgga tgagttgtgg ttagcgggtga aataccagtc gaactcggag 240

ctagctgggtt ctccccgaaa tgcgttgagg cgcagcgggt cataaggctg tctaggggta 300

aagcactggt tcggtgcggg ctgcgaaagc ggtaccaa atcgtggcaaac tctgaatact 360

agatatgcta tttatgagcc agtgagacgg tgggggataa gcttcatcgt cgagagggaa 420

acagcccaga tcactagcta agggccctaa atgatcgta agtgacaaag gaggtgagaa 480

tcgagaaaca accaggaggt ttgcttagaa gcagccaccc tttaaagagt gcgtaatagc 540

tcactg 546

<210> 16

<211> 550

<212> DNA

<213> Chlorella sorokiniana

<400> 16

tgttgaagaa tgagccggcg acttatagga agtggcaggg ttaaggaaga atctccggag	60
cccaagcgaa agcgagtctg aaaagggcga ttgggtcact tcttatggac ccgaacctgg	120
atgatctaata catggccaag ttgaagcatg ggtaacacta tgtcgaggac tgaaccacc	180
gatgttgaaa aatcggggga tgagctgtga ttagcgggtga aattccaatc gaattcagag	240
ctagctggat ctccccgaaa tgcgttgagg cgcagcggcg acgatgtcct gtctaagggt	300
agagcgactg tttcgggtcg ggctgcgaaa gcggtaccaa gtcgtggcaa actccgaata	360
ttaggcaaa gattccgtga gccagtgaga ctgtggggga taagcttcat agtcaagagg	420
gaaacagccc agaccatcag ctaaggcccc taaatggctg ctaagtggaa aaggatgtga	480
gaatgctgaa acaaccagga ggttcgctta gaagcagcta ttccttgaaa gagtgcgtaa	540
tagctcactg	550

<210> 17

<211> 548

<212> DNA

<213> Parachlorella beijerinikii

<400> 17

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaga agtggcttgg ttaaggataa ctatccggag	60
ccagagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ttaaaggta ctttttctag acccgaacc	120
gggtgatcta accatgacca ggatgaagct tgggtaacac cacgtgaagg tccgaaccga	180
ccgatgttga aaaatcggcg gatgagttgt ggtagcggg gaaataccaa tcgaactcgg	240
agctagctgg ttctccccga aatgcgttga ggcgcagcgg tttatgaggc tgtctagggg	300
taaagcactg tttcgggtcg ggctgcgaaa gcggtaccaa atcgtggcaa actctgaata	360
ctagatatgc tattcatgag ccagtggagc ggtgggggat aagcttcac gtcaagaggg	420
aaacagccca gatcaccagc taaggcccca aaatggctgt taagtggcaa aggaggtgag	480
aatgctgaaa caaccaggag gtttgcttag aagcagccac cctttaaaga gtgcgtaata	540
gctcactg	548

<210> 18

<211> 556

<212> DNA

<213> Chlorella luteoviridis

<400> 18

tgttgaagaa tgagccggcg acttataggg ggtggcgtgg ttaaggaagt aatccgaagc	60
caaagcgaaa gcaagttttc aatagagcga ttttgtcacc cttatggac ccgaacccgg	120
gtgatctaac cttgaccagg atgaagcttg ggtaacacca agtgaaggtc cgaactcatc	180
gatcttgaaa aatcgtggga tgagttgggg ttagttgggt aaatgctaata cgaactcgga	240
gctagctggt tctccccgaa atgtgttgag gcgcagcgat taacgaaata tttgtacgg	300
tttaggggta aagcactgtt tcggtgcggg ctgcgaaagc ggtaccaaata cgtggcaaac	360
tctgaatact aagcctgtat accgttagtc agtgagagta taggggataa gctctatact	420
caagagggaa acagcccaga tcaccagcta agggcccaaa atgacagcta agtggcaaag	480
gaggtgaaag tgcagaaaca accaggaggt tcgcttagaa gcagcaaccc tttaaagagt	540
gcgtaatagc tcactg	556

<210> 19

<211> 548

<212> DNA

<213> Chlorella vulgaris

<400> 19

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaga agtggccttg ttaaggataa ctatccggag	60
ccagagcgaa agcaagtctg aatagggcgc ttaaaggta ctttttctag acccgaaccc	120
gggtgatcta accatgacca ggatgaagct tgggtaacac cacgtgaagg tccgaaccga	180
ccgatgttga aaaatcggcg gatgagttgt ggtagcggg gaaatacaca tcgaactcgg	240
agctagctgg ttctccccga aatgcgttga ggcgagcggg tttatgaggc tgtctagggg	300
taaagcactg tttcggtcgc ggctgcgaaa gcggtaccaa atcgtggcaa actctgaata	360
ctagatatgc tattcatgag ccagtgagac ggtgggggat aagcttcac gtcaagaggg	420
aaacagccca gatcaccagc taaggcccca aaatggtcgt taagtggcaa aggaggtgag	480
aatgctgaaa caaccaggag gtttgcttag aagcagccac cctttaaaga gtgcgtaata	540
gctcactg	548

<210> 20

<211> 565

<212> DNA

<213> Chlorella reisiigii

<400> 20

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgtgg ttaaggaaaa attccgaagc	60
cttagcgaaa gcgagtctga atagggcgat caaatatitt aatatitaca atttagtcat	120
tttttctaga cccgaacccg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt gggtgatacc	180
aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagtgtg gttagcggtg	240
aaataaccagt cgaacccgga gctagctggg tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt	300
acatctagtc tatctagggg taaagcactg tttcgggtcg ggctgtgaaa acggtaccaa	360
atcgtggcaa actctgaata ctgaaatga cgggttagta gtgagactgt gggggataag	420
ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta	480
gtgacaaagg aggtgaaaaat gcaaacacaa ccaggagggt ggcttagaag cagccatcct	540
ttaaagagtg cgtaatatgt cactg	565
<210> 21	
<211> 573	
<212> DNA	
<213> Chlorella ellipsoidea	
<400> 21	
tgttgaagaa tgagccggcg acttataggg ggtggccttg ttaaggacta caatccgaag	60
cccaagcgaa agcaagtttg aagtgtacac acattgtgtg tctagagcga tttgtcact	120
ccttatggac ccgaacccgg gtgatctatt catggccagg atgaagcttg ggtaacacca	180
agtgaaggtc cgaactcatc gatgttgaaa aatcgtggga tgagtgtga ataggggtga	240
aatgccaatc gaactcggag ctagctgggt cccccgaaa tgtgttgagg cgcagcgatt	300
cacgatctaa agtacggttt aggggtaaag cactgtttcg gtgcgggctg ttaacgcggt	360
accaaactgt ggcaaaactaa gaatactaaa cttgtatgcc gtgaatcagt gagactaaga	420
gggataagct tcttagtcaa gagggaaaca gcccgatca ccagctaagg ccccaaatg	480
acagctaagt ggcaaaggag gtgagagtgc agaacaacc aggaggtttg cttagaagca	540
gccatccttt aaagagtgcg taatagctca ctg	573
<210> 22	
<211> 573	
<212> DNA	
<213> Chlorella saccharophila	
<400> 22	
tgttgaagaa tgagccggcg acttataggg ggtggccttg ttaaggacta caatccgaag	60

cccaagcgaa agcaagtttg aagtgtacac acgttgtgtg tctagagcga tttgtcact	120
ccttatggac ccgaaccggg gtgatctatt catggccagg atgaagcttg ggtaacacca	180
agtgaaggtc cgaactcatc gatgttgaaa aatcgtggga tgagttgtga ataggggtga	240
aatgccaatc gaactcggag ctagctggtt cccccgaaa tgtgttgagg cgcagcgatt	300
cacgatctaa agtacggttt aggggtaaag cactgtttcg gtgcgggctg ttaacgcggt	360
accaaactgt ggcaactaa gaatactaaa cttgtatgcc gtgaatcagt gagactaaga	420
gggataagct tcttagtcaa gagggaaaca gcccagatca ccagctaagg ccccaaatg	480
acagctaagt ggcaaaggag gtgagagtgc agaacaacc aggaggtttg cttagaagca	540
gccatccttt aaagagtgcg taatagctca ctg	573
<210> 23	
<211> 573	
<212> DNA	
<213> Chlorella saccharophila	
<400> 23	
tgttgaagaa tgagccggcg acttataggg ggtggcttgg ttaaggacta caatccgaag	60
cccaagcgaa agcaagtttg aagtgtacac acatttgttg tctagagcga tttgtcact	120
ccttatggac ccgaaccggg gtgatctatt catggccagg atgaagcttg ggtaacacca	180
agtgaaggtc cgaactcatc gatgttgaaa aatcgtggga tgagttgtga ataggggtga	240
aatgccaatc gaactcggag ctagctggtt cccccgaaa tgtgttgagg cgcagcgatt	300
cacgatctaa agtacggttt aggggtaaag cactgtttcg gtgcgggctg ttaacgcggt	360
accaaactgt ggcaactaa gaatactaaa cttgtatgcc gtgaatcagt gagactaaga	420
gggataagct tcttagtcaa gagggaaaca gcccagatca ccagctaagg ccccaaatg	480
acagctaagt ggcaaaggag gtgagagtgc agaacaacc aggaggtttg cttagaagca	540
gccatccttt aaagagtgcg taatagctca ctg	573
<210> 24	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic	
primer	
<400> 24	
tgttgaagaa tgagccggcg ac	22

<210> 25

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer

<400> 25

cagtgaagcta ttacgcactc 20

<210> 26

<211> 546

<212> DNA

<213> Chlorella protothecoides

<400> 26

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa cgtggcaagg ttaaggaaac gtatccggag 60

ccgaagcgaa agcaagtctg aacagggcga ttaagtcatt ttttctagac ccgaacccgg 120

gtgatctaac catgaccagg atgaagcttg ggtgacacca agtgaaggtc cgaaccgacc 180

gatgttgaaa aatcggcgga tgagtgtggt ttagcgggtga aataccagtc gaactcggag 240

ctagctgggt ctccccgaaa tgcgttgagg cgcagcgggt cataaggctg tctaggggta 300

aagcactgtt tcggtgcggg ctgcgaaagc ggtaccaa at cgtggcaaac tctgaatact 360

agatatgcta tttatgggcc agtgagacgg tgggggataa gcttcatcgt cgagagggaa 420

acagcccaga ttagtagcta agggcccaaa atgatcgta agtgacaaag gaggtgagaa 480

tgcagaaaca accaggaggt ttgcttagaa gcagccaccc tttaaagagt gcgtaatagc 540

tactg 546

<210> 27

<211> 565

<212> DNA

<213> Chlorella protothecoides

<400> 27

tgttgaagaa tgagccggcg acttagaaaa agtggcgttg ttaaggaaaa attccgaagc 60

cttagcgaaa gcgagtctga atagggcgat caaatatatt aatatttaca atttagtcat 120

tttttctaga cccgaacccg ggtgatctaa ccatgaccag gatgaaactt ggggtgatacc 180

aagtgaaggt ccgaaccgac cgatgttgaa aaatcggcgg atgagttgtg gttagcgggtg 240

aaataccagt cgaacccgga gctagctggt tctccccgaa atgcgttgag gcgcagcagt	300
acatctagtc tatctagggg taaagcactg ttccggtgcg ggctgtgaaa acggtaccaa	360
atcgtggcaa actctgaata ctagaaatga cgggtgtagta gtgagactgt gggggataag	420
ctccattgtc aagagggaaa cagcccagac caccagctaa ggccccaaaa tggtaatgta	480
gtgacaaagg aggtgaaaat gcaaacacaa ccaggaggtt ggcttagaag cagccatcct	540
ttaaagagtg cgtaatatgct cactg	565