(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公表特許公報(A)　　(11)公表番号
特表2023-513271
(P2023-513271A)
(43)公表日　令和5年3月30日(2023.3.30)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C11B	*3/16 (2006.01)*	C11B	3/16	4B064
C12P	*7/64 (2022.01)*	C12P	7/64	4B065
C12N	*1/16 (2006.01)*	C12N	1/16	4H059

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全64頁）

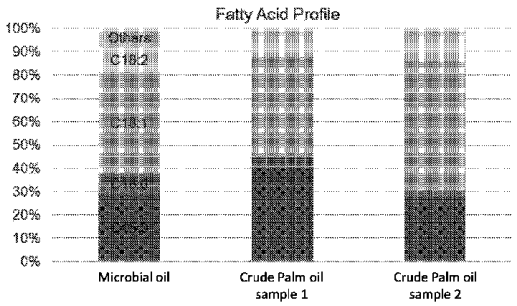
(21)出願番号　特願2022-548498(P2022-548498)
(86)(22)出願日　令和3年2月10日(2021.2.10)
(85)翻訳文提出日　令和4年10月3日(2022.10.3)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/017458
(87)国際公開番号　WO2021/163194
(87)国際公開日　令和3年8月19日(2021.8.19)
(31)優先権主張番号　62/972,299
(32)優先日　令和2年2月10日(2020.2.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/061,521
(32)優先日　令和2年8月5日(2020.8.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　522316319
シー１６ バイオサイエンシズ，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １００１９ ニューヨーク ウェスト ５４番ストリート ６１９ ７階
(74)代理人　100079108
弁理士　稲葉 良幸
(74)代理人　100109346
弁理士　大貫 敏史
(74)代理人　100117189
弁理士　江口 昭彦
(74)代理人　100134120
弁理士　内藤 和彦
(72)発明者　ヨン‐ゴンザレス，ウラジーミル
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　微生物により生産されるパーム油代用物

(57)【要約】
本開示は、植物由来パーム油の代替物としての、油性微生物によって生産される微生物脂質組成物に関する。微生物脂質組成物は、植物由来パーム油の１つ以上の特性を有することができる。これらの組成物は、分画可能であり、又は別様に異なる状態に分離することが可能であり得る。さらに、微生物脂質により生産される、又は微生物脂質を含む製品が提供される。

FIG. 1D



【特許請求の範囲】
【請求項１】
油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物。
【請求項２】
油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物であって、前記組成物は、エルゴステロールを含み、カンペステロール、β－シトステロール、又はスチグマステロールを含まない、組成物。
【請求項３】
油性酵母によって生産される精製及び／又は脱臭された微生物油組成物であって、前記組成物は、カロテン、トルレン及びトルロルホジンからなる群から選択される少なくとも１つの色素を含み、クロロフィルを含まない、組成物。
【請求項４】
漂白され、それによりＲＢＤ微生物油組成物を生成するが、測定可能な量の前記色素が残留する、請求項３に記載の組成物。
【請求項５】
油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物であって、前記組成物は、２つの画分に分画可能であり、前記２つの画分は、微生物オレイン及び微生物ステアリンであり、各画分は、前記組成物の元の質量の少なくとも１０％を構成し、前記画分のヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる、組成物。
【請求項６】
油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、前記組成物は、総脂肪酸に対して以下の量の脂肪酸を含む、組成物：
ａ）少なくとも約３０％　ｗ／ｗの１６～１８炭素長の鎖長を有する飽和脂肪酸；
ｂ）少なくとも約３０％　ｗ／ｗの１８炭素鎖長を有する不飽和脂肪酸；及び
ｃ）約３０％　ｗ／ｗ未満の総ポリ不飽和脂肪酸。
【請求項７】
油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物であって、前記組成物は、見かけ密度、屈折率、けん化値、不けん物、ヨウ素値、すべり融点、脂肪酸組成、トリグリセリド含有量、全体的な飽和レベル、並びにモノ及びポリ不飽和脂肪酸のレベルからなる群から選択される植物由来パーム油と同様の１つ以上の特性を有する、組成物。
【請求項８】
ａ）少なくとも約３０％　ｗ／ｗの１６～１８炭素長の鎖長を有する飽和脂肪酸；
ｂ）少なくとも約３０％　ｗ／ｗの１８炭素鎖長を有する不飽和脂肪酸；
ｃ）約３０％　ｗ／ｗ未満の総ポリ不飽和脂肪酸；
ｄ）少なくとも約５０ｐｐｍのエルゴステロール
を含む、油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、
前記組成物は、フィトステロール又はクロロフィルを含まず、前記組成物は、ヨウ素値、トリグリセリド含有量、すべり融点、酸化安定性、及び全体的な飽和レベルからなる群から選択される植物由来パーム油と同様の１つ以上の特性を有する、組成物。
【請求項９】
１０～４５％のＣ１６飽和脂肪酸を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１０】
１０～７０％のＣ１８不飽和脂肪酸を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１１】
３～３０％のＣ１８飽和脂肪酸を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１２】

植物由来パーム油のものと同様のけん化値を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１３】
１５０～２１０のけん化値を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１４】
植物由来パーム油のものと同様のヨウ素値を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１５】
５０～６５のヨウ素値を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１６】
植物由来パーム油のものと同様のすべり融点を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１７】
３０℃～４０℃のすべり融点を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１８】
植物由来パーム油のものと同様の飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１９】
少なくとも３０％の飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２０】
最大７０％の飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２１】
植物由来パーム油のものと同様の不飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２２】
少なくとも３０％の不飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２３】
最大７０％の不飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２４】
植物由来パーム油のものと同様のモノ及びポリ不飽和脂肪酸組成を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２５】
全脂肪酸の百分率としての３０～５０％のモノ不飽和脂肪酸を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２６】
全脂肪酸の百分率としての５～２５％のポリ不飽和脂肪酸を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２７】
植物由来パーム油のものと同様のトリグリセリド含有量を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２８】
全グリセリドの百分率としての９０～９８％のトリグリセリド含有量を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項２９】
１００ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含み、又はフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを

含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３０】
１００ｐｐｍ未満のフィトステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のフィトステロールを含み、又はフィトステロールを含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３１】
１００ｐｐｍ未満のカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含み、又はカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３２】
１００ｐｐｍ未満のコレステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のコレステロールを含み、又はコレステロールを含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３３】
１００ｐｐｍ未満のプロトテカステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のプロトテカステロールを含み、又はプロトテカステロールを含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３４】
エルゴステロールを含み、又は少なくとも５０ｐｐｍのエルゴステロールを含み、又は少なくとも１００ｐｐｍのエルゴステロールを含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３５】
全ステロールの百分率としての少なくとも６０％　ｗ／ｗのエルゴステロール含有量を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３６】
色素を含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３７】
クロロフィルを含まない、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３８】
カロテン、トルレン及びトルロルホジンからなる群から選択される色素を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項３９】
カロテン、トルレン及びトルロルホジンの各々を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４０】
少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのカロテンを含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４１】
カロテンを含み、前記カロテンは、β－カロテン及び／又はその誘導体である、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４２】
少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのトルレン及び／又はその誘導体を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４３】
少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのトルロルホジン及び／又はその誘導体を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４４】

前記油性酵母は組換え酵母である、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４５】
前記油性酵母は、ヤロウィア（Yarrowia）、カンジダ（Candida）、ロドトルラ（Rhodotorula）、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）、メツクニコウィア（Metschnikowia）、クリプトコッカス（Cryptococcus）、トリコスポロン（Trichosporon）、又はリポマイセス（Lipomyces）属のものである、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４６】
前記油性酵母は、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）属のものである、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４７】
前記油性酵母は、ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）種のものである、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４８】
分画可能である、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４９】
微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよい、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５０】
微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、各画分は、前記組成物の出発質量の少なくとも１０％を構成する、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５１】
微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、前記画分の前記ヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５２】
微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、前記画分の前記ＩＶは、少なくとも２０異なる、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５３】
微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、前記画分の前記ＩＶは、少なくとも３０異なる、請求項１～８のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５４】
油性酵母によって生産される微生物油組成物であって：
ａ）１０％　ｗ／ｗ未満のパルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリド；
ｂ）１５％　ｗ／ｗを超えるパルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリド；及び
ｃ）１５％　ｗ／ｗを超えるオレイン－オレイン－パルミチントリグリセリド
を含む、組成物。
【請求項５５】
前記パルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリドの含有量は、約０．８％～１．３％　ｗ／ｗである、請求項５４に記載の微生物油組成物。
【請求項５６】
前記パルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリドの含有量は、約１６．９％～２８．２％　ｗ／ｗである、請求項５４に記載の微生物油組成物。
【請求項５７】
前記オレイン－オレイン－パルミチントリグリセリドの含有量は、約１５．７％～２６．０％　ｗ／ｗである、請求項５４に記載の微生物油組成物。
【請求項５８】
さらに、１０％　ｗ／ｗ未満のステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド含有量及び１０％　ｗ／ｗ未満のステアリン－オレイン－オレイントリグリセリド含有量を含む、請求項５４に記載の微生物油組成物。
【請求項５９】

前記ステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド含有量は、約１．２％～１．９％　ｗ／ｗである、請求項５８に記載の微生物油組成物。
【請求項６０】
前記ステアリン－オレイン－オレイントリグリセリド含有量は、約３．２％～５．４％ｗ／ｗである、請求項５８に記載の微生物油組成物。
【請求項６１】
油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、トリグリセリドを含み、４０％を超える前記トリグリセリドが１つの不飽和側鎖を有する、組成物。
【請求項６２】
３０％を超える前記トリグリセリドが２つの不飽和側鎖を有する、請求項６１に記載の微生物油組成物。
【請求項６３】
１０％～１５％のパルミチン及び／又はステアリン脂肪酸が、トリグリセリド分子のｓｎ－２位に位置する、請求項５４～６２のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項６４】
油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、総脂肪酸に対して以下の量の脂肪酸を含む、組成物：
ａ）約７．０％～３５％のステアリン酸；
ｂ）約１０％～５０％のオレイン酸；及び
ｃ）約８％～２０％のリノール酸。
【請求項６５】
請求項１～８、５４、６１、及び６４のいずれか１項に記載の微生物油組成物の製造方法であって：
ａ）油性酵母及び炭素源を提供する工程と、
ｂ）前記油性酵母を培養し、
それにより前記微生物油を生産する工程と、を含む、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願に対する相互参照
[1] 本願は、２０２０年２月１０日に出願された米国仮特許出願第６２／９７２，２９９号、及び２０２０年８月５日に出願された米国仮特許出願第６３／０６１，５２１号に対する優先権の利益を主張し、その各々の内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
開示の分野
[2] 本開示は、植物由来パーム油の環境に優しく持続可能な代替物に関する。パーム油代替物は油性微生物によって生産され、植物由来パーム油と１つ以上の特徴を共有する。これらの代替物はまた、それらの意図される使用に基づいて分画、処理、及び／又は誘導体化され得る。
【背景技術】
【０００３】
背景
[3] パーム油は、非常に様々な製品の製造における用途を有するため、現在、地球上で最も広く生産されている植物油である。パーム油は、食物中で、バイオ燃料前駆体として、並びに石鹸及び化粧品中で広く使用されている。世界のパーム油需要は約５７００万トンであり、着実に増加している。しかしながら、パーム油に対する高い需要は、パーム油生産植物に向けられたプランテーションの拡大に関連する環境的に有害な慣行をもたらした。パーム油の生産は、熱帯の森林減少の主な原因であり、生息地の破壊、二酸化炭素排出量の増加、及び東南アジア全体の地域のスモッグ雲をもたらす。

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００４】
［4］ 従って、アブラヤシの使用に依存せず、関連する負の環境コストが発生するパーム油の代替物が、緊急に必要とされている。
【課題を解決するための手段】
【０００５】
簡単な要約
［5］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物を提供する。
【０００６】
［6］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、エルゴステロールを含み、カンペステロール、β－シトステロール、又はスチグマステロールを含まない。
【０００７】
［7］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される精製及び／又は脱臭された微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、カロテン、トルレン及びトルロルホジン（torulorhodin）からなる群から選択される少なくとも１つの色素を含み、クロロフィルを含まない。
【０００８】
［8］ いくつかの実施形態では、組成物は、漂白され、それによりＲＢＤ微生物油組成物を生成するが、測定可能な量の色素が残留する。
【０００９】
［9］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、２つの画分に分画可能であり、２つの画分は、微生物オレイン及び微生物ステアリンであり、各画分は、組成物の元の質量の少なくとも１０％を構成し、画分のヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる。
【００１０】
［10］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、総脂肪酸に対して以下の量の脂肪酸を含む：少なくとも約３０％ｗ／ｗの１６～１８炭素長の鎖長を有する飽和脂肪酸；少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１８炭素鎖長を有する不飽和脂肪酸；及び約３０％ ｗ／ｗ未満の総ポリ不飽和脂肪酸。
【００１１】
［11］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、見かけ密度、屈折率、けん化値、不けん物、ヨウ素値、すべり融点、脂肪酸組成、トリグリセリド含有量、全体的な飽和レベル、並びにモノ及びポリ不飽和脂肪酸のレベルからなる群から選択される植物由来パーム油と同様の１つ以上の特性を有する。
【００１２】
［12］ 一態様において、本開示は、少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１６～１８炭素長の鎖長を有する飽和脂肪酸；少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１８炭素鎖長を有する不飽和脂肪酸；約３０％ ｗ／ｗ未満の総ポリ不飽和脂肪酸；少なくとも約５０ｐｐｍのエルゴステロールを含む、油性酵母によって生産される微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、フィトステロール又はクロロフィルを含まず、また組成物は、ヨウ素値、トリグリセリド含有量、すべり融点、酸化安定性、及び全体的な飽和レベルからなる群から選択される植物由来パーム油と同様の１つ以上の特性を有する。
【００１３】
［13］ いくつかの実施形態では、組成物は、１０～４５％のＣ１６飽和脂肪酸を含む。
【００１４】

［１４］ いくつかの実施形態では、組成物は、１０～７０％のＣ１８不飽和脂肪酸を含む。

【００１５】

［１５］ いくつかの実施形態では、組成物は、３～３０％のＣ１８飽和脂肪酸を含む。

【００１６】

［１６］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様のけん化値を含む。

【００１７】

［１７］ いくつかの実施形態では、組成物は、１５０～２１０のけん化値を含む。

【００１８】

［１８］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様のヨウ素値を含む。

【００１９】

［１９］ いくつかの実施形態では、組成物は、５０～６５のヨウ素値を含む。

【００２０】

［２０］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様のすべり融点を含む。

【００２１】

［２１］ いくつかの実施形態では、組成物は、３０℃～４０℃のすべり融点を含む。

【００２２】

［２２］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様の飽和脂肪酸組成を含む。

【００２３】

［２３］ いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも３０％の飽和脂肪酸組成を含む。

【００２４】

［２４］ いくつかの実施形態では、組成物は、最大７０％の飽和脂肪酸組成を含む。

【００２５】

［２５］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様の不飽和脂肪酸組成を含む。

【００２６】

［２６］ いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも３０％の不飽和脂肪酸組成を含む。

【００２７】

［２７］ いくつかの実施形態では、組成物は、最大７０％の不飽和脂肪酸組成を含む。

【００２８】

［２８］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様のモノ及びポリ不飽和脂肪酸組成を含む。

【００２９】

［２９］ いくつかの実施形態では、組成物は、全脂肪酸の百分率としての３０～５０％のモノ不飽和脂肪酸を含む。

【００３０】

［３０］ いくつかの実施形態では、組成物は、全脂肪酸の百分率としての５～２５％のポリ不飽和脂肪酸を含む。

【００３１】

［３１］ いくつかの実施形態では、組成物は、植物由来パーム油のものと同様のトリグリセリド含有量を含む。

【００３２】

［３２］ いくつかの実施形態では、組成物は、全グリセリドの百分率としての９０～９８％のトリグリセリド含有量を含む。

【００３３】
［33］ いくつかの実施形態では、組成物は、１００ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含み、又はフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含まない。
【００３４】
［34］ いくつかの実施形態では、組成物は、１００ｐｐｍ未満のフィトステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のフィトステロールを含み、又はフィトステロールを含まない。
【００３５】
［35］ いくつかの実施形態では、組成物は、１００ｐｐｍ未満のカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含み、又はカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含まない。
【００３６】
［36］ いくつかの実施形態では、組成物は、１００ｐｐｍ未満のコレステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のコレステロールを含み、又はコレステロールを含まない。
【００３７】
［37］ いくつかの実施形態では、組成物は、１００ｐｐｍ未満のプロトテカステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のプロトテカステロールを含み、又はプロトテカステロールを含まない。
【００３８】
［38］ いくつかの実施形態では、組成物は、エルゴステロールを含み、又は少なくとも５０ｐｐｍのエルゴステロールを含み、又は少なくとも１００ｐｐｍのエルゴステロールを含む。
【００３９】
［39］ いくつかの実施形態では、組成物は、全ステロールの百分率としての少なくとも６０％ ｗ／ｗのエルゴステロール含有量を含む。
【００４０】
［40］ いくつかの実施形態では、組成物は、色素を含まない。
【００４１】
［41］ いくつかの実施形態では、組成物は、クロロフィルを含まない。
【００４２】
［42］ いくつかの実施形態では、組成物は、カロテン、トルレン及びトルロルホジンからなる群から選択される色素を含む。
【００４３】
［43］ いくつかの実施形態では、組成物は、カロテン、トルレン及びトルロルホジンの各々を含む。
【００４４】
［44］ いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのカロテンを含む。
【００４５】
［45］ いくつかの実施形態では、組成物はカロテンを含み、カロテンは、β－カロテン及び／又はその誘導体である。
【００４６】
［46］ いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのトルレン及び／又はその誘導体を含む。

【００４７】
［47］ いくつかの実施形態では、組成物は、少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのトルロルホジン及び／又はその誘導体を含む。
【００４８】
［48］ いくつかの実施形態では、油性酵母は組換え酵母である。
【００４９】
［49］ いくつかの実施形態では、油性酵母は、ヤロウィア（Yarrowia）、カンジダ（Candida）、ロドトルラ（Rhodotorula）、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）、メツクニコウィア（Metschnikowia）、クリプトコッカス（Cryptococcus）、トリコスポロン（Trichosporon）、又はリポマイセス（Lipomyces）属のものである。
【００５０】
［50］ いくつかの実施形態では、油性酵母は、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）属のものである。
【００５１】
［51］ いくつかの実施形態では、油性酵母は、ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）種のものである。
【００５２】
［52］ いくつかの実施形態では、組成物は、分画可能である。
【００５３】
［53］ いくつかの実施形態では、組成物は微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよい。
【００５４】
［54］ いくつかの実施形態では、組成物は微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、各画分は、組成物の出発質量の少なくとも１０％を構成する。
【００５５】
［55］ いくつかの実施形態では、組成物は微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、画分のヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる。
【００５６】
［56］ いくつかの実施形態では、組成物は微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、画分のＩＶは、少なくとも２０異なる。
【００５７】
［57］ いくつかの実施形態では、組成物は微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、画分のＩＶは、少なくとも３０異なる。
【００５８】
［58］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、１０％　ｗ／ｗ未満のパルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリド；１５％　ｗ／ｗを超えるパルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリド；及び１５％　ｗ／ｗを超えるオレイン－オレイン－パルミチントリグリセリドを含む。
【００５９】
［59］ いくつかの実施形態では、前記パルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリド含有量は、約０．８％～１．３％　ｗ／ｗである。
【００６０】
［60］ いくつかの実施形態では、前記パルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリド含有量は、約１６．９％～２８．２％　ｗ／ｗである。
【００６１】
［61］ いくつかの実施形態では、前記オレイン－オレイン－パルミチントリグリセリド含有量は、約１５．７％～２６．０％　ｗ／ｗである。
【００６２】

［62］ いくつかの実施形態では、組成物は、さらに、１０％　ｗ／ｗ未満のステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド含有量及び１０％　ｗ／ｗ未満のステアリン－オレイン－オレイントリグリセリド含有量を含む。

【００６３】

［63］ いくつかの実施形態では、前記ステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド含有量は、約１．２％～１．９％　ｗ／ｗである。

【００６４】

［64］ いくつかの実施形態では、前記ステアリン－オレイン－オレイントリグリセリド含有量は、約３．２％～５．４％　ｗ／ｗである。

【００６５】

［65］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される微生物油組成物を提供し、ここで組成物はトリグリセリドを含み、４０％を超える前記トリグリセリドは１つの不飽和側鎖を有する。

【００６６】

［66］ いくつかの実施形態では、３０％を超える前記トリグリセリドは、２つの不飽和側鎖を有する。

【００６７】

［67］ いくつかの実施形態では、１０％～１５％のパルミチン及び／又はステアリン脂肪酸は、トリグリセリド分子のｓｎ－２位に位置する。

【００６８】

［68］ 一態様において、本開示は、油性酵母によって生産される微生物油組成物を提供し、ここで組成物は、総脂肪酸に対して以下の量の脂肪酸を含む：約７．０％～３５％のステアリン酸；約１０％～５０％のオレイン酸；及び約８％～２０％のリノール酸。

【００６９】

［69］ 一態様において、本開示は、前述の実施形態の任意の１つによる微生物油組成物の製造方法を提供し、該方法は：油性酵母及び炭素源を提供する工程と、前記油性酵母を培養し、それにより前記微生物油を生産する工程と、を含む。

【００７０】

［70］ いくつかの実施形態では、国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２１／０１５３０２号（参照により本明細書に組み込まれる）に列挙される方法及び組成物は、本開示の組成物及び方法に用いられる。いくつかの実施形態では、国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２１／０１５３０２号の原料は、本開示の組成物及び方法に利用される。

【００７１】

図面の簡単な説明

［71］ 本明細書に組み込まれ、明細書の一部を形成する添付の図面は、いくつかの、しかし唯一又は排他的ではない、例である実施形態及び／又は特徴を図示する。本明細書に開示される実施形態及び図面は、実例的であり、限定ではないと見なされることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【００７２】

【図１】[72]図１Ａは、例示的な粗微生物油の脂肪酸組成分析のクロマトグラムを示し；図１Ｂは、例示的な粗パーム油の脂肪酸組成分析のクロマトグラムを示し；図１Ｃは、例示的な粗ハイブリッドパーム油の脂肪酸組成分析のクロマトグラムを示し；図１Ｄは、微生物油及びパーム油の代表的な脂肪酸組成の棒グラフを示す。

【図２】[73]図２Ａは、例示的な粗微生物油のトリグリセリド組成分析のクロマトグラムを示し；図２Ｂは、例示的な粗パーム油のトリグリセリド組成分析のクロマトグラムを示し；図２Ｃは、例示的な粗ハイブリッドパーム油のトリグリセリド組成分析のクロマトグラムを示す。

【図３】[74]図３は、例示的な粗微生物油、粗パーム油、及び粗ハイブリッドパーム油のトコフェロール分析のクロマトグラムを示す。注目すべきピークに注釈が付けられ、「

外部ＩＳＴＤ」は標準の位置を示す。
【図４】[75]図４Ａ～４Ｂは、油性酵母Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）の３つの実例的な株によって生産された本開示の例示的な微生物油の脂肪酸分析の結果を示す。図４Ａは、ポリ不飽和脂肪酸（ＰＵＦＡ）、モノ不飽和脂肪酸（ＭＵＦＡ）、及び飽和脂肪酸（ＳＦＡ）の百分率によって分解された全体的な脂肪酸組成を示す。図４Ｂは、特定の脂肪酸に関する微生物油の脂肪酸組成の分解を示す。
【図５】[76]図５Ａ～５Ｂは、例示的な微生物油についての脂肪酸組成に関する分画の結果を示す。図５Ａは、ＰＵＦＡ、ＭＵＦＡ、及びＳＦＡに関する全体的な脂肪酸組成に関する分画の結果を示す。図５Ｂは、粗微生物油及び画分の各々についての特定の脂肪酸に関する分解を示す。
【図６】[77]図６Ａ～６Ｂは、分画微生物油、非分画微生物油、及び分画パーム油の視覚的な比較を示す。図６Ａ、左は、Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）からの微生物油に対する分画の視覚的結果を示し；右は、分画されたパーム油を示す。図６Ｂは、分画可能な微生物油（左）に対する分画及び非分画微生物油（右）の視覚的結果を示す。
【図７】[78]図７Ａ～７Ｄは、４つの異なる油サンプルについての総イオンクロマトグラムを示す：本開示の例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油（図７Ａ）；藻類油（図７Ｂ）；粗パーム油（図７Ｃ）；及び精製、漂白、及び脱臭された（ＲＢＤ）パーム油（図７Ｄ）。
【図８】[79]図８は、本開示の例示的な微生物油の総イオンクロマトグラムからの目的の化合物（エルゴステロール－ＴＭＳ）の代表的な抽出ピークを示す。
【図９】[80]図９Ａ～９Ｅは、粗パーム油中にスパイクした５つの異なる誘導体化ステロールの電子イオン化スペクトルを示す：エルゴステロール－ＴＭＳ（図９Ａ）；コレステロール－ＴＭＳ（図９Ｂ）；カンペテロール－ＴＭＳ（図９Ｃ）；シトステロール－ＴＭＳ（図９Ｄ）；及びスチグマステロール－ＴＭＳ（図９Ｅ）。
【図１０】[81]図１０Ａ～１０Ｂは、農業パーム油のカロテノイド分析の結果を示す。図１０Ａは、全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを示す。図１０Ｂは、４５０ｎｍでの吸光度を伴うＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを示す。
【図１１】[82]図１１Ａ～１１Ｂは、本開示の強酸抽出した例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油のカロテノイド分析の結果を示す。図１１Ａは、全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを示す。図１１Ｂは、４５０ｎｍでの吸光度を伴うＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを示す。
【図１２】[83]図１２Ａ～１２Ｂは、本開示の強酸抽出した例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油のカロテノイド分析の結果を示す。図１２Ａは、全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを示す。図１２Ｂは、４５０ｎｍでの吸光度を伴うＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを示す。
【図１３】[84]図１３Ａ～１３Ｂは、本開示の弱酸抽出した例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油のカロテノイド分析の結果を示す。図１３Ａは、全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを示す。図１３Ｂは、４５０ｎｍでの吸光度を伴うＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを示す。
【図１４】[85]図１４Ａ～１４Ｂは、本開示の無酸抽出した例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油のカロテノイド分析の結果を示す。図１４Ａは、全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを示す。図１４Ｂは、４５０ｎｍでの吸光度を伴うＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを示す。
【図１５】[86]図１５Ａ～１５Ｂは、本開示の無酸抽出した例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油のカロテノイド分析の結果を示す。図１５Ａは、全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを示す。図１５Ｂは、４５０ｎｍでの吸光度を伴うＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを示す。
【発明を実施するための形態】
【００７３】
詳細な説明

［87］ 以下の記載は、本開示の理解に有用であり得る情報を含む。これらは、本明細書に提供される情報のいずれも、先行技術であり、若しくは本明細書に特許請求される開示に関連すると認めるものではなく、又は具体的に若しくは暗示的に参照されるいずれの刊行物も先行技術であると認めるものではない。

【００７４】

定義

［88］ 以下の用語は、当業者によりよく理解されると考えられるが、以下の定義は、本明細書に開示される主題の説明を容易にするために示される。

【００７５】

［89］ 本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、下記に特に定義されない限り、当業者により通常理解されるものと同じ意味を有することが意図される。本明細書で使用される技術への言及は、当業者に明らかであろうそれらの技術に対する変更及び／又は等価な技術の置換を含む、当技術分野で通常理解されている技術を指すことが意図される。

【００７６】

［90］ 本明細書で使用されるとき、単数形「a」、「an」及び「the」は、内容が明らかに別段の指示をしない限り、複数の指示対象を含む。

【００７７】

［91］ 用語「約（about）」又は「約（approximately）」は、数値の直前にある場合、範囲（例えば、その値のプラス又はマイナス１０％）を意味する。例えば、本開示の文脈が別段の指示をしない限り、又はそのような解釈と矛盾しない限り、「約５０」は４５～５５を意味することができ、「約２５０，０００」は、２２，５００～２７，５００を意味することができる、などである。例えば「約４９、約５０、約５５、・・・」、「約５０」などの数値のリストにおいて、「約」は、先行値と後続値との間の間隔の半分未満、例えば、４９．５超から５２．５未満に及ぶ範囲を意味する。さらに、フレーズ「約ある値未満」又は「約ある値を超える」は、本明細書に提供される用語「約」の定義を考慮して理解するべきである。同様に、一連の数値又は値の範囲に先行する場合の用語「約」（例えば、「約１０、２０、３０」又は「約１０～３０」）は、各々、その範囲の一連の全ての値、又は終点を指す。

【００７８】

［92］ 「脂肪酸」は、飽和又は不飽和のいずれかである、長い脂肪鎖を有するカルボン酸である。ほとんどの天然に存在する脂肪酸は、４～２８の偶数の炭素原子の非分枝鎖を有する。脂肪酸は通常、生物中に遊離ではなく、その代わりに、３つの主要なクラスのエステル：トリグリセリド、リン脂質、及びコレステリルエステル中に見出される。本開示の文脈において、脂肪酸への言及は、その遊離又はエステル形態のいずれかを指し得る。

【００７９】

［93］ 本明細書で使用される「脂肪酸プロファイル」は、特定の脂肪酸が油の化学組成にどのように寄与するかを指す。

【００８０】

［94］ 本明細書で使用されるとき、用語「分画可能」は、飽和レベルが異なる少なくとも２つの画分に分離することができる、また、少なくとも２つの画分の各々が元の微生物油又は脂質組成物の少なくとも１０％ ｗ／ｗ（又は質量／質量）を構成する、微生物油又は脂質組成物を指すように使用される。いくつかの実施形態では、画分の飽和レベルは、それらのヨウ素値（ＩＶ）によって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、画分のＩＶは、少なくとも１０異なる。従って、本明細書で使用される「画分」は、微生物油の少なくとも１つの他の分離可能な成分と飽和レベルが異なる微生物油の分離可能な成分を指す。

【００８１】

［95］ 「脂質」は、非極性溶媒（エーテル及びヘキサンなど）に可溶性であり、且つ

水に比較的又は完全に不溶性である分子のクラスの全てを意味する。脂質分子は、疎水性の長い炭化水素尾部からほぼ構成されているため、これらの特性を有する。脂質の例としては、脂肪酸（飽和及び不飽和）；グリセリド又はグリセロ脂質（モノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド又は中性脂肪、及びホスホグリセリド又はグリセロリン脂質など）；及び非グリセリド（スフィンゴ脂質、トコフェロール、トコトリエノール、コレステロール及びステロイドホルモンを含むステロール脂質、テルペノイド、脂肪アルコール、ワックス、及びポリケチドを含むプレノール脂質）が挙げられる。

【００８２】

［96］「微生物（microorganism）」及び「微生物（microbe）」は、任意の微視的な単細胞生物を意味し、細菌、藻類、酵母、又は真菌を含むことができる。

【００８３】

［97］本明細書で使用される「油性」は、例えば、油の有意な成分を含む、又はそれ自体が実質的な油から構成される材料、例えば微生物を指す。油性微生物は、天然に存在し、又は有意な割合の油を生産するように合成的に操作されたものであり得る。

【００８４】

［98］本明細書で使用される「油性酵母」は、高い割合（即ち、乾燥細胞質量の２０％超）の脂質としてのそれらのバイオマスを蓄積することができる酵母種の集合を指す。油性酵母は、天然に存在し、又は有意な割合の油を生産するように合成的に操作されたものであり得る。

【００８５】

［99］本明細書で使用されるとき、「ＲＢＤ」は、精製、漂白、及び脱臭を指し、又はこれらのプロセスを経ている油を指す。

【００８６】

［100］「ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）」は、油性酵母の特定の種を指す。以前はロドトルラ・グルチニス（Rhodotorula glutinis）又はロドトルラ・グラシリス（Rhodotorula gracilis）と呼ばれていた。またＲ．トルロイデス（R.toruloides）と略される。この種には、少数の遺伝的変異を有する複数の系統が含まれる。

【００８７】

［101］本開示の目的のために、「単細胞油」、「微生物油」、「脂質組成物」及び「油」は、油性微生物によって生産された微生物脂質を指す。

【００８８】

［102］本明細書で使用される「調整された脂肪酸プロファイル」は、培養条件、微生物油を生産する油性微生物の種を変化させることによって、又は油性微生物を遺伝子組換えすることによって、標的の特性に向かって操作された微生物油における脂肪酸プロファイルを指す。

【００８９】

［103］本明細書で使用される「トリグリセリド」は、３つの脂肪酸分子に結合したグリセロールを指す。これらは飽和又は不飽和であってもよく、様々な名称は他の異性体を含むことができる。例えば、パルミチン－オレイン－パルミチン（Ｐ－Ｏ－Ｐ）への言及は、異性体Ｐ－Ｐ－Ｏ及びＯ－Ｐ－Ｐも含むであろう。

【００９０】

［104］重量による割合に関する「Ｗ／Ｗ」又は「ｗ／ｗ」は、組成物の重量に対する組成物中の１つの物質の重量の比率を指す。例えば、５％　ｗ／ｗの油性酵母バイオマスを含む組成物への言及は、組成物の重量の５％が油性酵母バイオマスから構成され（例えば、１００ｍｇの重量を有するそのような組成物は、５ｍｇの油性酵母バイオマスを含むであろう）、組成物の重量の残り（例えば、例では９５ｍｇ）は他の成分から構成されることを意味する。

【００９１】

概要

［105］ 本開示は、精製、漂白、及び／又は脱臭されている新規な微生物脂質に関する。これらの脂質は、パーム油代替物として機能することができ、分画され及び／又は多様な目的の下流製品に使用することができる。

【００９２】

油性微生物

［106］ 本開示は、油性微生物によって生産される微生物脂質を提供する。いくつかの実施形態では、油性微生物は、微細藻類、酵母、カビ、又は細菌である。

【００９３】

［107］ 脂質生産のための油性微生物の使用は、伝統的な油収穫方法、例えばパーム植物からのパーム油収穫を超える多くの利点を有する。例えば、微生物発酵は、（１）土地利用の点で食物生産と競合せず；（２）従来の微生物バイオリアクター内で行うことができ；（３）急速な成長速度を有し；（４）空間、光、又は気候変動による影響を受けず又は影響が最小限であり；（５）廃棄物を原料として利用することができ；（６）容易に規模拡大可能であり；及び（７）所望の脂肪酸又は油組成物の濃縮のための生物工学に適している。いくつかの実施形態では、本方法は、植物ベースの油収穫方法を超える前述した利点の１つ以上を有する。

【００９４】

［108］ いくつかの実施形態では、油性微生物は、油性微細藻類である。いくつかの実施形態では、微細藻類は、ボトリオコッカス（Botryococcus）、シリンドロテカ（Cylindrotheca）、ニツキア（Nitzschia）、又はシゾキトリウム（Schizochytrium）属のものである。いくつかの実施形態では、油性微生物は、油性細菌である。いくつかの実施形態では、細菌は、アルトロバクター（Arthrobacter）、アシネトバクター（Acinetobacter）、ロドコッカス（Rhodococcus）、又はバチルス（Bacillus）属のものである。いくつかの実施形態では、細菌は、アシネトバクター・カルコアセチクス（Acinetobacter calcoaceticus）、ロドコッカス・オパクス（Rhodococcus opacus）、又はバチルス・アルカロフィルス（Bacillus alcalophilus）種のものである。いくつかの実施形態では、油性微生物は、油性真菌である。いくつかの実施形態では、真菌は、アスペルギルス（Aspergillus）、モルチエレラ（Mortierella）、又はフミコラ（Humicola）属のものである。いくつかの実施形態では、真菌は、アスペルギルス・オリザエ（Aspergillus oryzae）、モルチエレラ・イサベリナ（Mortierella isabellina）、フミコラ・ラヌギノサ（Humicola lanuginosa）、又はモルチエレラ・ビナセア（Mortierella vinacea）種のものである。

【００９５】

［109］ 特に油性酵母は、堅牢であり、複数の世代にわたって生存可能であり、栄養利用において多用途である。これらはまた、それらの乾燥バイオマスの７０％超まで細胞内脂質含有量を蓄積する可能性を有する。いくつかの実施形態では、油性微生物は、油性酵母である。いくつかの実施形態では、酵母は、一倍体又は二倍体形態であり得る。酵母は、嫌気性条件、好気性条件、又は嫌気性及び好気性条件の両方下で発酵を経ることができ得る。適切な油及び／又は脂質を生産する油性酵母の多様な種は、本開示による微生物脂質の生産に使用することができる。いくつかの実施形態では、油性酵母は、高いレベル（乾燥細胞重量の２０％、２５％、５０％又は７５％以上）の適切な油及び／又は脂質を天然に生産する。本発明での使用のための酵母の選択に影響を与える考慮事項としては、食品の製造用の適切な油又は脂質の生産に加えて：（１）細胞重量の百分率としての高い脂肪含有量；（２）成長の容易さ；（３）増殖の容易さ；（４）バイオマス処理の容易さ；及び（５）グリセロ脂質プロファイルが挙げられる。いくつかの実施形態では、油性酵母は、少なくとも２０％、２５％、５０％又は７５％以上（乾燥重量による）の脂質を生産することができる細胞を含む。他の実施形態では、油性酵母は、少なくとも２５～３５％以上（乾燥重量による）の脂質を含む。

【００９６】

［110］ 本開示の微生物脂質の生産のための油性酵母の適切な種としては、カンジダ・

アピコラ（Candida apicola）、カンジダ種（Candida sp.）、クリプトコッカス・アルビダス（Cryptococcus albidus）、クリプトコッカス・クルバツス（Cryptococcus curvatus）、クリプトコッカス・テリコルス（Cryptococcus terricolus）、クタネオトリコスポロン・オレアギノスス（Cutaneotrichosporon oleaginosus）、デバロマイセス・ハンセニイ（Debaromyces hansenii）、エンドマイコシス・ベルナリス（Endomycopsis vernalis）、ゲオトリクム・カラビダルム（Geotrichum carabidarum）、ゲオトリクム・ククジョイダルム（Geotrichum cucujoidarum）、ゲオトリクム・ヒステリダルム（Geotrichum histeridarum）、ゲオトリクム・シルビコラ（Geotrichum silvicola）、ゲオトリクム・ブルガレ（Geotrichum vulgare）、ヒポピチア・ブルトニイ（Hyphopichia burtonii）、リポマイセス・リプフェル（Lipomyces lipofer）、リポマイセス・オレンタリス（Lypomyces orentalis）、リポマイセス・スタルケイイ（Lipomyces starkeyi）、リポマイセス・テトラスポロウス（Lipomyces tetrasporous）、ピキア・メキシカナ（Pichia mexicana）、ロドスポリジウム・スファエロカルプム（Rodosporidium sphaerocarpum）、ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）ロドトルラ・アウランチアカ（Rhodotorula aurantiaca）、ロドトルラ・ダイレネンシス（Rhodotorula dairenensis）、ロドトルラ・ジフルエンス（Rhodotorula diffluens）、ロドトルラ・グルチヌス（Rhodotorula glutinus）、ロドトルラ・グルチニス変種（Rhodotorula glutinis var.）グルチニス（glutinis）、ロドトルラ・グラシリス（Rhodotorula gracilis）、ロドトルラ・グラミニス（Rhodotorula graminis）ロドトルラ・ミヌタ（Rhodotorula minuta）、ロドトルラ・ムシラギノサ（Rhodotorula mucilaginosa）、ロドトルラ・ムシラギノサ（Rhodotorula mucilaginosa）、ロドトルラ・テルペノイダリス（Rhodotorula terpenoidalis）、ロドトルラ・トルロイデス（Rhodotorula toruloides）、スポロボロマイセス・アルボルベセンス（Sporobolomyces alborubescens）、スタルメレラ・ボンビコラ（Starmerella bombicola）、トルラスポラ・デルブルエキイ（Torulaspora delbruekii）、トルラスポラ・プレトリエンシス（Torulaspora pretoriensis）、トリコスポロン・ベーレンド（Trichosporon behrend）、トリコスポロン・ブラシカエ（Trichosporon brassicae）、トリコスポロン・ドメスチクム（Trichosporon domesticum）、トリコスポロン・ライバキイ（Trichosporon laibachii）、トリコスポロン・ロウビエリ（Trichosporon loubieri）、トリコスポロン・ロウビエリ（Trichosporon loubieri）、トリコスポロン・モンテビデエンス（Trichosporon montevideense）、トリコスポロン・プルランス（Trichosporon pullulans）、トリコスポロン種（Trichosporon sp.）、ウィッカー・ハモマイセス・カナデンシス（Wicker hamomyces canadensis）、ヤロウィア・リポリチカ（Yarrowia lipolytica）、及びジゴアスクス・メイエラエ（Zygoascus meyerae）が挙げられるが、これらに限定されない。

【００９７】

［111］ いくつかの実施形態では、酵母は、ヤロウィア（Yarrowia）、カンジダ（Candida）、ロドトルラ・ロドスポリジウム（Rhodotorula、Rhodosporidium）、メツクニコウィア（Metschnikowia）、クリプトコッカス（Cryptococcus）、トリコスポロン（Trichosporon）、又はリポマイセス（Lipomyces）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、ヤロウィア（Yarrowia）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、ヤロウィア・リポリチカ（Yarrowia lipolytica）種のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、カンジダ（Candida）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、カンジダ・クルバタ（Candida curvata）種のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、クリプトコッカス（Cryptococcus）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、クリプトコッカス・アルビダス（Cryptococcus albidus）種のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、リポマイセス（Lipomyces）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、リポマイセス・スタルケイイ（Lipomyces starkeyi）種のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、

ロドトルラ（Rhodotorula）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、ロドトルラ・グルチニス（Rhodotorula glutinis）種のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、メツクニコウィア（Metschnikowia）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、メツクニコウィア・プルケリマ（Metschnikowia pulcherrima）種のものである。

【００９８】

［112］ いくつかの実施形態では、油性酵母は、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）属のものである。いくつかの実施形態では、酵母は、ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）種のものである。いくつかの実施形態では、油性酵母は、リポマイセス（Lipomyces）属のものである。いくつかの実施形態では、油性酵母は、リポマイセス・スタルケイイ（Lipomyces Starkeyi）種のものである。

【００９９】

［113］ いくつかの実施形態では、本開示の微生物脂質を生産する油性微生物は、同じ種及び系統の微生物を含む均質集団である。いくつかの実施形態では、本開示の微生物脂質を生産する油性微生物は、１つを超える系統由来の微生物の異質集団である。いくつかの実施形態では、本開示の微生物脂質を生産する油性微生物は、異なる種の微生物の２つ以上の異なる集団を含む異質集団である。

【０１００】

［114］ 本開示の微生物脂質を生産する油性微生物は、脂質生産の１つ以上の局面の点で改善されていてもよい。これらの局面は、脂質収量、脂質力価、乾燥細胞重量力価、脂質含有量、及び脂質組成を含むことができる。いくつかの実施形態では、脂質生産は、原料上での最適な成長のために微生物を適応させるために、遺伝子工学又は代謝工学によって改良されていてもよい。いくつかの実施形態では、脂質生産は、成長条件の１つ以上のパラメーター、例えば温度、振盪速度、成長時間などを変化させることにより改良されていてもよい。本開示の油性微生物は、いくつかの実施形態では、自然から得られた単離物（例えば、野生型）から成長する。いくつかの実施形態では、野生型株は、所望の形質（例えば、温度、阻害剤濃度、ｐＨ、酸素濃度、窒素濃度などの特定の環境条件の耐性）を向上させるために自然選択に供される。例えば、野生型株（例えば、酵母）は、本開示の原料、例えば、１つ以上の微生物阻害剤を含む原料中で成長及び／又は発酵するその能力について選択され得る。他の実施形態では、野生型株は、所望の形質（例えば、脂質生産、阻害剤耐性、成長速度など）を向上させるために定向進化に供される。いくつかの実施形態では、微生物の培養物は、所望の形質を示す培養収集物から得られる。いくつかの実施形態では、培養収集物から選択された株は、さらに、研究所内で定向進化及び／又は自然選択に供される。いくつかの実施形態では、油性微生物は、定向進化及び特定の特性（例えば、脂質生産及び／又は阻害剤耐性）についての選択に供される。いくつかの実施形態では、油性微生物は、本開示の原料上で繁殖する能力について選択される。

【０１０１】

［115］ いくつかの実施形態では、油性微生物の定向進化は、一般に３つの工程を含む。第１の工程は多様化であり、ここで生物の集団は、遺伝子変異体の大きなライブラリーを作り出すランダム突然変異の速度を増加させることによって多様化される。変異誘発は当技術分野で公知の方法（例えば、化学物質、紫外線など）によって達成され得る。第２の工程は選択であり、ここでライブラリーは、スクリーニング方法を用いて、所望の特性を所有する突然変異体（変異体）の存在について試験される。スクリーニングは、高性能突然変異体の同定及び単離を可能にする。第３の工程は増幅であり、ここでスクリーニングで同定された変異体が複製される。これらの３つの工程は、定向進化の「ラウンド」を構成する。いくつかの実施形態では、本開示の微生物は、定向進化の単一ラウンドに供される。他の実施形態では、本開示の微生物は、定向進化の複数ラウンドに供される。様々な実施形態では、本開示の微生物は、定向進化の２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、又は１００ラウンド以上に供される。各ラウンドにおいて、以前のラウンドの所望の形質の最高レベルを発現している生物

は、次のラウンドにおいて多様化されて、新しいライブラリーを形成する。このプロセスは、所望の形質が所望のレベルで発現されるまで繰り返され得る。

【０１０２】

微生物油の特性

［116］ 本開示は、油性微生物によって生産される微生物油を提供する。いくつかの実施形態では、本開示の微生物油は、脂肪酸組成、トリグリセリド組成、ステロール組成、色素組成、分画される能力、すべり融点、ヨウ素値、けん化値などにより特徴付けられる。

【０１０３】

ステロール組成

［117］ いくつかの実施形態では、微生物油は、１つ以上のステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、エルゴステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、５５０、６００、６５０、７００、７５０、８００、８５０、９００、９５０、１０００、１５００、若しくは２０００ｐｐｍ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のエルゴステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５０ｐｐｍのエルゴステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１００ｐｐｍのエルゴステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油中のステロールの少なくとも２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、若しくは９５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲は、エルゴステロールである。いくつかの実施形態では、全体的なステロール組成の少なくとも６０％は、エルゴステロールである。

【０１０４】

［118］ いくつかの実施形態では、微生物油は、１００ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、又はプロトテカステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、５０ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、又はプロトテカステロールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、フィトステロール、コレステロール、又はプロトテカステロールから選択されるステロールを含まない。

【０１０５】

［119］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物ステロールを含まない。いくつかの実施形態では、微生物油は、１つ以上のフィトステロールを含まない。いくつかの実施形態では、微生物油は、カンペステロール、β－シトステロール、又はスチグマステロールを含まない。いくつかの実施形態では、微生物油は、コレステロールを含まない。いくつかの実施形態では、微生物油は、プロトテカステロールを含まない。

【０１０６】

［120］ いくつかの実施形態では、微生物油は、エルゴステロールに加えて１つ以上のステロール又はスタノールを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、１００、１０５、１１０、１１５、１２０、１２５、１３０、１３５、１４０、１４５、１５０、１５５、１６０、１６５、１７０、１７５、１８０、１８５、１９０、１９５、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、若しくは１０００ｐｐｍ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲の３，５－シクロエルゴスター６，８（１４），２２－トリエン、アントラエルゴスタテトラエノールｐ－クロロベンゾエート、エルゴスター５、７，９（１１），２２－テトラエン－３β－オール、エルゴスター７，２２－ジエン－３－オール、１’－メチル－１’Ｈ－５α－コレスト－３－エノ［３，４－ｂ］インドール、５χ－エルゴスト－７－エン－３β－オール、アントラエルゴスタテトラエノールヘキサヒドロベンゾエート、４，４－ジメチルコレスター８，２４－ジエン－３－オール、及び９，１９－シクロラノスト－２４－エン－３－オールのうちの１つ以上を含む。

【０１０７】

色素

［121］ いくつかの実施形態では、微生物油は色素を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、カロテン、トルレン及びトルロルホジンからなる群から選択される少なくとも１つの色素を含む。

【０１０８】

［122］ いくつかの実施形態では、微生物油はカロテンを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０、２６０、２７０、２８０、２９０、３００、３１０、３２０、３３０、３４０、３５０、３６０、３７０、３８０、３９０、４００、４１０、４２０、４３０、４４０、４５０、４６０、４７０、４８０、４９０、若しくは５００ｐｐｍ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のカロテンを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも２５ｐｐｍのカロテンを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５０ｐｐｍのカロテンを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１００ｐｐｍのカロテンを含む。いくつかの実施形態では、カロテンは、β－カロテン及び／又はその誘導体である。いくつかの実施形態では、カロテンは、（１３Ｚ）－β－カロテンである。いくつかの実施形態では、カロテンは（９Ｚ）－β－カロテンである。

【０１０９】

［123］ いくつかの実施形態では、微生物油はトルレンを含む。いくつかの実施形態では、微生物油はトルロルホジンを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、トルレン及び／又はトルロルホジンの誘導体を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０、２６０、２７０、２８０、２９０、３００、３１０、３２０、３３０、３４０、３５０、３６０、３７０、３８０、３９０、４００、４１０、４２０、４３０、４４０、４５０、４６０、４７０、４８０、４９０、若しくは５００ｐｐｍ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のトルレン、トルロルホジン、及び／又はそれらの誘導体を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも２５ｐｐｍのトルレン、トルロルホジン、及び／又はそれらの誘導体を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５０ｐｐｍのトルレン、トルロルホジン、及び／又はそれらの誘導体を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１００ｐｐｍのトルレン、トルロルホジン、及び／又はそれらの誘導体を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも３００ｐｐｍのトルレン、トルロルホジン、及び／又はそれらの誘導体を含む。

【０１１０】

［124］ いくつかの実施形態では、微生物油は、カロテン、トルレン及びトルロルホジンの各々を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、クロロフィルを含まない。

【０１１１】

分画可能

［125］ いくつかの実施形態では、微生物油は分画可能である。いくつかの実施形態では、微生物油は、２つ以上の画分に分画可能である。いくつかの実施形態では、微生物油は、２つを超える画分に分画可能である。いくつかの実施形態では、微生物油は、２つの画分に分画可能であり、これは次いでさらに分画され得る。

【０１１２】

［126］ いくつかの実施形態では、微生物油は、２つの画分に分画可能である。いくつかの実施形態では、２つの画分は、微生物オレイン及び微生物ステアリンである。いくつかの実施形態では、各画分は、微生物油の元の質量の少なくとも１０％を構成する。いくつかの実施形態では、画分のヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる。いくつかの実施形態では、画分のヨウ素値は、少なくとも２０異なる。いくつかの実施形態では、画分

のヨウ素値は、少なくとも３０異なる。
【０１１３】
脂肪酸組成
［127］ 微生物油の組成は、微生物の株、原料組成、及び成長条件に応じて変動し得る。いくつかの実施形態では、本開示の油性微生物によって生産される微生物油は、約４４％の飽和脂肪酸の百分率（％ＳＦＡ）を有する約９０％ ｗ／ｗのトリアシルグリセロールを含む。本原料上で油性微生物発酵によって生産される最も一般的な脂肪酸は、オレイン酸（Ｃ１８：１）、ステアリン酸（Ｃ１８：０）、パルミチン酸（Ｃ１６：０）、パルミトレイン酸（Ｃ１６：１）、及びミリスチン酸（Ｃ１４：０）である。
【０１１４】
［128］ いくつかの実施形態では、微生物油はミリスチン酸（Ｃ１４：０）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％、少なくとも０．２％、少なくとも０．３％、少なくとも０．４％、少なくとも０．５％、少なくとも０．６％、少なくとも０．７％、少なくとも０．８％、少なくとも０．９％、少なくとも１％、少なくとも２％、少なくとも３％、少なくとも４％、若しくは少なくとも５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のミリスチン酸を含む。
【０１１５】
［129］ いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、又は少なくとも６０％ ｗ／ｗ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のパルミチン酸（Ｃ１６：０）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５％ ｗ／ｗのパルミチン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１０％ ｗ／ｗのパルミチン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約１０～４０％ ｗ／ｗのパルミチン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約１３～３５％ ｗ／ｗのパルミチン酸を含む。
【０１１６】
［130］ いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％、少なくとも０．２％、少なくとも０．３％、少なくとも０．４％、少なくとも０．５％、少なくとも０．６％、少なくとも０．７％、少なくとも０．８％、少なくとも０．９％、少なくとも１％、少なくとも２％、少なくとも３％、少なくとも４％、少なくとも５％、少なくとも６％、少なくとも７％、少なくとも８％、少なくとも９％若しくは少なくとも１０％ ｗ／ｗ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のパルミトレイン酸（Ｃ１６：１）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％ ｗ／ｗのパルミトレイン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．５％ ｗ／ｗのパルミトレイン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約０．５～１０％ ｗ／ｗのパルミトレイン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約０．５～５％ ｗ／ｗのパルミトレイン酸を含む。
【０１１７】
［131］ いくつかの実施形態では、微生物油は、マルガリン酸（Ｃ１７：０）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１％、少なくとも５％、少なくとも６％、少なくとも７％、少なくとも８％、少なくとも９％、少なくとも１０％、少なくとも１１％、少なくとも１２％、少なくとも１３％、少なくとも１４％、少なくとも１５％、少なくとも１６％、少なくとも１７％、少なくとも１８％、少なくとも１９％、少なくとも２０％、少なくとも２１％、少なくとも２２％、少なくとも２３％、少なくとも２４％、若しくは少なくとも２５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のマルガリン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５～２５％ ｗ／ｗのマルガリン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約９～２１％ ｗ／ｗのマルガリン酸を含む。
【０１１８】

[132] いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１％、少なくとも５％、少なくとも６％、少なくとも７％、少なくとも８％、少なくとも９％、少なくとも１０％、少なくとも１１％、少なくとも１２％、少なくとも１３％、少なくとも１４％、少なくとも１５％、少なくとも１６％、少なくとも１７％、少なくとも１８％、少なくとも１９％、少なくとも２０％、少なくとも２１％、少なくとも２２％、少なくとも２３％、少なくとも２４％、又は少なくとも２５％のｗ／ｗ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のステアリン酸（Ｃ１８：０）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも１％　ｗ／ｗのステアリン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５％　ｗ／ｗのステアリン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５～２５％　ｗ／ｗのステアリン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約９～２１％　ｗ／ｗのステアリン酸を含む。

【０１１９】

[133] いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも２６％、少なくとも２７％、少なくとも２８％、少なくとも２９％、少なくとも３０％、少なくとも３１％、少なくとも３２％、少なくとも３３％、少なくとも３４％、少なくとも３５％、少なくとも３６％、少なくとも３７％、少なくとも３８％、少なくとも３９％、少なくとも４０％、少なくとも４１％、少なくとも４２％、少なくとも４３％、少なくとも４４％、少なくとも４５％、少なくとも４６％、少なくとも４７％、少なくとも４８％、少なくとも４９％、少なくとも５０％、少なくとも５１％、少なくとも５２％、少なくとも５３％、少なくとも５４％の少なくとも５５％、少なくとも５６％、少なくとも５７％、少なくとも５８％、少なくとも５９％、若しくは少なくとも６０％　ｗ／ｗ、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のオレイン酸（Ｃ１８：１）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも２５％　ｗ／ｗのオレイン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも３０％　ｗ／ｗのオレイン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３０～６５％　ｗ／ｗのオレイン酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３９～５５％　ｗ／ｗのオレイン酸を含む。

【０１２０】

[134] いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１８：２（リノール酸）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％、少なくとも０．２％、少なくとも０．３％、少なくとも０．４％、少なくとも０．５％、少なくとも０．６％、少なくとも０．７％、少なくとも０．８％、少なくとも０．９％、少なくとも１％、少なくとも２％、少なくとも３％、少なくとも４％、若しくは少なくとも５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のリノール酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５～２５％のリノール酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約１０～２０％のリノール酸を含む。

【０１２１】

[135] いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１８：３（リノレン酸）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％、少なくとも０．２％、少なくとも０．３％、少なくとも０．４％、少なくとも０．５％、少なくとも０．６％、少なくとも０．７％、少なくとも０．８％、少なくとも０．９％、少なくとも１％、少なくとも２％、少なくとも３％、少なくとも４％、若しくは少なくとも５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のリノレン酸を含む。

【０１２２】

[136] いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ２０：０（アラキジン酸）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％、少なくとも０．２％、少なくとも０．３％、少なくとも０．４％、少なくとも０．５％、少なくとも０．６％、少なくとも０．７％、少なくとも０．８％、少なくとも０．９％、少なくとも１％、少なくとも２％、少なくとも３％、少なくとも４％、若しくは少なくとも５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のアラキジン酸を含む。

【０１２３】
［137］ いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ２４：０（リグノセリン酸）を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも０．１％、少なくとも０．２％、少なくとも０．３％、少なくとも０．４％、少なくとも０．５％、少なくとも０．６％、少なくとも０．７％、少なくとも０．８％、少なくとも０．９％、少なくとも１％、少なくとも２％、少なくとも３％、少なくとも４％、若しくは少なくとも５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のリグノセリン酸を含む。
【０１２４】
［138］ いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１２：０を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１５：１を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１６：１を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１７：１を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ１８：３を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ２０：１を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ２２：０を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ２２：１を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、Ｃ２２：２を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約０．１％、約０．２％、約０．３％、約０．４％、約０．５％、約０．６％、約０．７％、約０．８％、約０．９％、約１％、約２％、約３％、約４％、若しくは約５％、又はそれらの間の任意の範囲若しくは下位範囲のこれらの脂肪酸の任意の１つを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約０～５％のこれらの脂肪酸の任意の１つを含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約０．１～２％のこれらの脂肪酸の任意の１つを含む。
【０１２５】
植物由来パーム油と同様の特性
［139］ いくつかの実施形態では、本開示の微生物油は、植物由来パーム油との相違がある。いくつかの実施形態では、この相違は有用であり、植物由来パーム油と比較して改善された、所与の製品の生産のための微生物油の操作を可能にする。例えば、いくつかの実施形態では、製品の生産で使用される１つ以上の目的の脂肪酸のより高い割合を生じるように、微生物油の脂肪酸プロファイルが調整される。いくつかの実施形態では、微生物油の他のパラメーターも、植物由来パーム油と比較して、目的の成分の生産を増加させ、又は望ましくない成分の生産を減少させるように操作されることが可能である。
【０１２６】
［140］ しかしながら、いくつかの実施形態では、本組成物は、植物由来パーム油の環境に優しい代替物としても有用である。従って、いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様の１つ以上の特性を有する。例示的な特性としては、見かけ密度、屈折率、けん化値、不けん物、ヨウ素値、すべり融点、及び脂肪酸組成が挙げられる。
【０１２７】
［141］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様の脂肪酸プロファイルを有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、有意な割合のＣ１６：０脂肪酸を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、有意な割合のＣ１８：１脂肪酸を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、１０～４５％のＣ１６飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、１０～７０％のＣ１８不飽和脂肪酸を含む。
【０１２８】
［142］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様の飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との比を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約５０％の各々を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５０％の飽和脂肪酸組成及び約５０％の不飽和脂肪酸組成を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約４０～６０％の飽和脂肪酸組成及び約４０～６０％の不飽和脂肪酸組成を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３０～７０％の飽和脂肪酸組成及び約３０～７０％の不飽和脂肪酸組成を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３０％、３５％、４０％、４５％、５

０％、５５％、６０％、６５％、又は７０％の飽和脂肪酸を有する。

【０１２９】

［143］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様のモノ不飽和脂肪酸のレベルを有する。いくつかの植物由来パーム油は、約４０％のモノ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約４０％のモノ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３０～５０％のモノ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５～６０％のモノ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、又は６０％のモノ不飽和脂肪酸を有する。

【０１３０】

［144］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様のポリ不飽和脂肪酸のレベルを有する。いくつかの植物由来パーム油は、約１０％のポリ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約１０％のポリ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５～２５％のポリ不飽和脂肪酸を含む。いくつかの実施形態では、微生物油は、約５％、６％、７％、８％、９％、１０％、１１％、１２％、１３％、１４％、１５％、１６％、１７％、１８％、１９％、２０％、２１％、２２％、２３％、２４％、又は２５％のポリ不飽和脂肪酸を有する。

【０１３１】

［145］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様のヨウ素値を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約５０．４～５３．７のヨウ素値を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約４９～６５のヨウ素値を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、又は６５のヨウ素値を有する。

【０１３２】

［146］ 表１は、実例的な植物由来パーム油の脂肪酸組成の範囲、及び実例的な微生物油の脂肪酸組成の値の範囲を示す。いくつかの実施形態では、微生物油は、表１のものと同様の１つ以上の脂肪酸組成パラメーターを有する。例えば、いくつかの実施形態では、微生物油は、所与の脂肪酸組成パラメーターについて植物由来パーム油の範囲内の値を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、１つ以上のパラメーターについて表１に提供されている微生物油範囲内の値を有する。

【０１３３】

【表１】

表1: 微生物油の実例的な脂肪酸組成

成分	実例的な植物由来パーム油範囲	実例的な微生物油範囲
C8:0	0.0-0.1%	0.0%
C10:0	0.0-0.1%	0.0-0.1%
C12:0	0.0-0.5%	0.0-0.5%
C14:0	0.5-2.0%	0.0-5.0%
C14:1c	0.0-0.1%	0.0-0.2%
C15:1	0.0-0.1%	0.0-1.0%
C16:0	39.3-47.5%	10.0-50.0%
C16:1	0.0-0.6%	0.0-1.0%
C17:0	0.0-0.2%	0.0-15.0%
C17:1	0.0-0.1%	0.0-0.1%
C18:0	3.5-6.0%	7.0-35.0%
C18:1	36.0-44.0%	10.0-50.0%
C18:2	9.0-12.0%	8.0-20.0%
C18:3	0.0-0.5%	0.0-0.5%
C20:0	0.0%	0.0-10.0%
C20:1	0.0-0.4%	0.0-5.0%
C22:0	0.0-0.2%	0.0-5.0%
C22:1	0.0%	0.0-1.0%
C22:2	0.0%	0.0-5.0%
C24:0	0.0%	0.0-10.0%

【０１３４】

［１４７］　表２Ａ及び２Ｂは、実例的な植物由来パーム油のトリグリセリド組成についての範囲と、実例的な微生物油のトリグリセリド組成についての値の範囲とを示す。用いられる略語は、以下の通りである：Ｓ：ステアリン脂肪酸；Ｐ：パルミチン脂肪酸；Ｏ：オレイン脂肪酸。下記の表２Ａに示す各成分、例えばＰ－Ｏ－Ｐについて、その分子の対応する測定値は、他の異性体、例えばＰ－Ｐ－Ｏ及びＯ－Ｐ－Ｐも含み得る。いくつかの実施形態では、微生物油は、表２Ａ及び表２Ｂのものと同様の１つ以上のトリグリセリド組成パラメーターを有する。例えば、いくつかの実施形態では、微生物油は、所与のトリグリセリド組成パラメーターについて、植物由来パーム油と同様の、又はその範囲内の値を有する。例えば、植物由来パーム油は約２３．２４％のＯ－Ｏ－Ｐを有し、微生物由来の油は約２０．７８のＯ－Ｏ－Ｐを有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様のトリグリセリド含有量を有する。例えば、植物由来パーム油における飽和－不飽和－飽和の総トリグリセリド含有量は、約４９．５３であり、微生物由来の油は、約４９．４２を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油とは異なる値を有する。例えば、植物由来パーム油は、約９．０４％の飽和－飽和－飽和鎖を有する一方、微生物由来の油は、約３．３６％を有する。いくつかの植物由来パーム油は、９５％を超えるトリグリセリド含有量を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、９０～９８％のトリグリセリド含有量を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、又は９８％のトリグリセリド含有量を有する。

【０１３５】

【表２】

表2A: 微生物油の実例的なトリグリセリド組成

成分	粗植物 由来パーム油 範囲	粗微生物油 範囲
P-P-P	6.48 +/- 1.62	1.02 +/- 0.25
P-P-O	31.62 +/- 7.9	22.53 +/- 5.63
O-O-P	23.24 +/- 5.81	20.78 +/- 5.12
S-O-S	0.6 +/- 0.15	1.53 +/- 0.38
S-O-O	2.46 +/- 0.62	4.29 +/- 1.07
P-O-S	6.11 +/- 1.53	10.25 +/- 2.56
M-O-P	1.58 +/- 0.40	4.73 +/- 1.18
飽和-飽和-飽和	9.04 +/- 1.36	3.36 +/- 0.50
飽和-不飽和-飽和	49.53 +/- 7.43	49.42 +/- 7.41
飽和-不飽和-不飽和	36.66 +/- 5.50	39.42 +/- 5.91
不飽和-不飽和-不飽和	4.77 +/- 0.72	6.86 +/- 1.03

【０１３６】
【表３】

表2B: 総トリグリセリド組成の概要

	不飽和側鎖の数				
	0	1	2	3	合計
粗植物由来パーム油	9.04%	49.53%	36.66%	4.76887%	100.00
粗微生物油	3.36%	49.42%	39.42%	6.86%	99.06

【０１３７】
［148］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様のジアシルグリセロール含有量を有する。ジアシルグリセロールの百分率は、いくつかの植物由来パーム油において約４～１１％の間で異なる。いくつかの実施形態では、微生物油は、０～１５％のジアシルグリセロール含有量を含む。
【０１３８】
［149］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様のトリアシルグリセロールプロファイルを有する。いくつかの植物由来パーム油は、８０％を超えるＣ５０及びＣ５２トリアシルグリセロールを有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、少なくとも４０％のＣ５０及びＣ５２トリアシルグリセロールを含むトリアシルグリセロールプロファイルを有する。
【０１３９】
［150］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油と同様のすべり融点を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約３３．８～３９．２℃のすべり融点を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３０～４０℃のすべり融点を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、又は４０℃のすべり融点を有する。
【０１４０】
［151］ いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様のけん化値を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約１９０～２０９のけん化値を有する。

いくつかの実施形態では、微生物油は、約１５０～２１０のけん化値を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約１５０、１５５、１６０、１６５、１７０、１７５、１８０、１８５、１９０、１９５、２００、２０５、又は２１０のけん化値を有する。

【０１４１】

[152] いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様の不けん物含有量を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約０．１９～０．４４重量％の不けん物含有量を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、５重量％未満の不けん物含有量を有する。

【０１４２】

[153] いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様の屈折率を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約１．４５２１～１．４５４１の屈折率を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約１．３～１．６の屈折率を有する。

【０１４３】

[154] いくつかの実施形態では、微生物油は、植物由来パーム油のものと同様の見かけ密度を有する。いくつかの植物由来パーム油は、約０．８８８９～０．８８９６の見かけ密度を有する。いくつかの実施形態では、微生物油は、約０．８８～０．９の見かけ密度を有する。

【０１４４】

[155] いくつかの実施形態では、微生物油は、ハイブリッドパーム油のものと同様の１つ以上のパラメーターを有する。

【０１４５】

[156] いくつかの実施形態では、微生物油は、パーム油代用物又は代替物として使用され得る。いくつかの実施形態では、微生物油は、パーム油が使用され得る任意の製品の製造に使用され得る。例えば、いくつかの実施形態では、微生物油は、石鹸基材、洗剤、及びオレオケミカルの生産に使用され得る。いくつかの実施形態では、微生物油は、食品の生産に使用され得る。

【０１４６】

微生物油の処理

[157] いくつかの実施形態では、油性微生物から微生物油が得られると、微生物油は、処理のいくつかの形態に供される。いくつかの実施形態では、微生物油は、精製、漂白、脱臭、分画、処理、及び／又は誘導体化される。

【０１４７】

[158] いくつかの実施形態では、微生物油は精製される。いくつかの実施形態では、精製の前に、微生物油は粗微生物油と称される。いくつかの実施形態では、精製プロセスは、１つ以上の非トリアシルグリセロール成分の除去を含む。油精製によって除去され又は減少する典型的な非トリアシルグリセロール成分には、遊離脂肪酸、部分アシルグリセロール、ホスファチド、金属化合物、色素、酸化生成物、糖脂質、炭化水素、ステロール、トコフェロール、ワックス、及びリンが含まれる。いくつかの実施形態では、精製は、油画分（例えば、トランス脂肪酸、高分子及び酸化トリアシルグリセロールなど）に対する最小の可能な損傷、及び所望の成分（例えば、トコフェロール、トコトリエノール、ステロールなど）の最小限の損失で、粗微生物油の特定の少数の成分を除去する。いくつかの実施形態では、処理パラメーターは、トコフェロール及びトコトリエノールのような所望の少数の成分を保持し、望ましくないトランス脂肪酸の生成が最小限であるように適合される。本微生物油に有用な油処理のさらなる詳細については、Gibon (2012) “Palm Oil and Palm Kernel Oil Refining and Fractionation Technology,”（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【０１４８】

[159] 一般的な処理方法には、物理的精製、化学的精製、又は組み合わせが含まれる。いくつかの実施形態では、化学的精製は、以下の工程のうちの１つ以上を含む：脱ガム、中和、漂白及び脱臭。いくつかの実施形態では、物理的精製は、以下の工程のうちの１

つ以上を含む：脱ガム、漂白、及び蒸気精製脱臭。本明細書及び当技術分野で使用される「物理的精製」及び「化学的精製」は、本開示の文脈では、漂白及び／又は脱臭を含む可能性がある複数の工程を含む、油精製の一般プロセスを指すことができ、微生物油に関する場合の用語「精製された」、例えば、精製された微生物油は、臭気及び色素以外の１つ以上の不純物又は成分が除去されている微生物油を指す。従って、微生物油が精製されていると述べる場合、微生物油が脱臭及び／又は漂白されていると示すものではない。本明細書で使用され、微生物油に適用される用語「ＲＢＤ」は、微生物油が精製、漂白、及び／又は脱臭の各々を行われていることを示す。

【０１４９】

［160］ いくつかの実施形態では、化学的精製において、遊離脂肪酸、及びホスファチドのほとんどは、アルカリ中和の間に除去される。いくつかの実施形態では、水和可能ではないホスファチドは、最初に酸により活性化され、さらに、アルカリ中和の間に遊離脂肪酸と共に苛性ソーダによって洗浄除去される。いくつかの実施形態では、化学的精製は、酸処理、遠心分離、漂白、脱臭などのうちの１つ以上の工程を含む。

【０１５０】

［161］ いくつかの実施形態では、物理的精製の間、ホスファチドは特定の脱ガムプロセスによって除去され、遊離脂肪酸は蒸気精製／脱臭プロセスの間に蒸留される。いくつかの実施形態では、脱ガムプロセスは、乾式脱ガム又は湿式酸脱ガムである。いくつかの実施形態では、物理的精製は、粗微生物油の酸性度が十分高い場合に用いられる。いくつかの実施形態では、物理的精製は、高い初期遊離脂肪酸（ＦＦＡ）含有量及び比較的低いホスファチドを有する粗微生物油に対して用いられる。

【０１５１】

［162］ いくつかの実施形態では、微生物油は脱臭される。いくつかの実施形態では、脱臭プロセスは、蒸気精製を含む。いくつかの実施形態では、脱臭は、高温での真空蒸気ストリッピングを含み、その間に遊離脂肪酸及び揮発性の臭気成分が除去されて、刺激の少ない無臭の油が得られる。最適な脱臭パラメーター（温度、真空、及びストリッピングガスの量）は、油のタイプ及び選択された精製プロセス（化学的又は物理的精製）によって決定されるが、脱臭剤設計によっても決定される。

【０１５２】

［163］ いくつかの実施形態では、微生物油は漂白される。いくつかの実施形態では、漂白は、漂白土、例えば漂白粘土の使用により実施される。いくつかの実施形態では、用いられる漂白方法は、２段階並流プロセス、対流プロセス、又はＯｅｈｍｉプロセスである。いくつかの実施形態では、漂白方法は、乾式漂白又は湿式漂白である。いくつかの実施形態では、漂白は、熱漂白により達成される。いくつかの実施形態では、漂白及び脱臭は、同時に行われる。

【０１５３】

［164］ いくつかの実施形態では、微生物油は、精製、漂白、及び／又は脱臭される。

【０１５４】

［165］ いくつかの実施形態では、微生物油は漂白されず、又は部分的にのみ漂白される。例えば、いくつかの実施形態では、微生物油は、処理後に依然として色素を保持する。いくつかの実施形態では、微生物油は、本明細書に参照する色素の任意の１つ以上を含む。従って、いくつかの実施形態では、微生物油は、精製及び脱臭されるが、漂白されず、又は完全に漂白されるわけではない。

【０１５５】

［166］ いくつかの実施形態では、微生物油は、分画、エステル交換、トランスエステル化、水素化、蒸気加水分解、蒸留、及びけん化のうちの１つ以上を介して処理及び／又は修飾される。

【０１５６】

［167］ いくつかの実施形態では、微生物油は分画される。いくつかの実施形態では、分画は、複数の段階で行われ、異なる下流の適用（indication）に適した画分をもたら

す。いくつかの実施形態では、微生物油は、乾式分画により分画される。いくつかの実施形態では、微生物油は、湿式分画により分画される。いくつかの実施形態では、微生物油は、溶媒／洗剤分画により分画される。

【０１５７】

［168］ いくつかの実施形態では、微生物油は、エステル交換を介して修飾される。いくつかの実施形態では、エステル交換は、酵素的である。いくつかの実施形態では、エステル交換は、化学的である。

【０１５８】

［169］ いくつかの実施形態では、微生物油は誘導体化される。いくつかの実施形態では、油は、遊離脂肪酸及びグリセロールに誘導体化される。いくつかの実施形態では、油は脂肪アルコールに誘導体化される。いくつかの実施形態では、油はエステルに誘導体化される。いくつかの実施形態では、油は脂肪酸メチルエステル（ＦＡＭＥ）に誘導体化される。

【０１５９】

［170］ 本記載は、様々な例としての実施形態が示される添付の図面及び実施例を参照して行われる。しかしながら、多くの異なる例としての実施形態を用いることができ、従って本記載は、本明細書に示される例としての実施形態に限定されると解釈されるべきではない。むしろ、これらの例としての実施形態は、この開示が綿密且つ完全であるように提供される。例示的な実施形態に対する様々な修正が、当業者に容易に明らかとなり、本明細書に定義される一般的な原理は、本開示の趣旨及び範囲から逸脱することなく、他の実施形態及び用途に適用され得る。従って、この開示は、示される実施形態に限定されず、本明細書に開示される原理及び特徴と矛盾しない最も広い範囲と一致することが意図される。

【０１６０】

［171］ 本開示は、本明細書に記載されるいくつかの実施形態又は特徴が、本明細書に記載される他の実施形態又は特徴と組み合わせ得ることを明示的に開示しない場合もあるが、この開示は、当業者により実施可能であろう任意のそのような組み合わせを記載するとして読まれるべきである。本明細書に特に示さない限り、用語「含む」は、「含むが、限定されない」を意味するものとし、用語「又は」は、「及び／又は」の形で非排他的な「又は」を意味するものとする。

【０１６１】

［172］ 当業者は、いくつかの実施形態では、本明細書に記載される操作のいくつかが、人間の実践によって行われ、又は自動と手動手段の組み合わせを介して行われ得ることを認識するであろう。操作が完全に自動化されない場合、本開示の実施形態の適切な構成要素は、例えば、それ自体の操作能を介した結果を生じるのではなく、その操作の人間のパフォーマンスの結果を受ける可能性がある。

【０１６２】

［173］ 本明細書に引用される全ての参考文献、論文、刊行物、特許、特許公開、及び特許出願は、全ての目的のためにそれらの全体が参照により組み込まれる。しかしながら、本明細書に引用される任意の参考文献、論文、刊行物、特許、特許公開、及び特許出願の言及は、それらが有効な先行技術を構成し、若しくは世界中の任意の国における一般常識の一部を形成すること、又はそれらが重要事項を開示することの承認又は任意の形態の示唆として解釈されず、またされるべきではない。

【実施例】

【０１６３】

実施例１：例示的な微生物油の脂肪酸組成。

［174］ 例示的な微生物油の脂肪酸組成を、植物由来パーム油のそれと比較するために、油サンプルを脂肪酸メチルエステルに変換し、次いでガスクロマトグラフィー－質量分析（ＧＣ－ＭＳ）を用いて分析した。

【０１６４】

ＦＡＭＥ調製

［175］ 酸触媒としての市販の濃ＨＣｌ水溶液（ｃｏｎｃ．ＨＣｌ；３５％、ｗ／ｗ）を使用する方法を、ＧＣ－ＭＳのための微生物油及びパーム油からの脂肪酸メチルエステル（ＦＡＭＥ）の調製に用いた。以下の例示的なプロトコルに従ってＦＡＭＥ調製を行った。

【０１６５】

［176］ 市販の濃ＨＣｌ（３５％、ｗ／ｗ；９．７ｍｌ）を４１．５ｍｌのメタノールで希釈して５０ｍｌの８．０％（ｗ／ｖ）ＨＣｌを作製した。このＨＣｌ試薬は、８５％（ｖ／ｖ）メタノール及び濃ＨＣｌ由来の１５％（ｖ／ｖ）の水を含み、冷蔵庫内に保存した。

【０１６６】

［177］ 脂質サンプルをスクリューキャップ付きガラス試験管（１６．５×１０５ｍｍ）内に置き、０．２０ｍｌのトルエンに溶解した。脂質溶液に、１．５０ｍｌのメタノール及び０．３０ｍｌの８．０％のＨＣｌ溶液をこの順で加えた。最終ＨＣｌ濃度は１．２％（ｗ／ｖ）又は０．３９Ｍであり、これは２ｍｌの総体積中、０．０６ｍｌの濃ＨＣｌに対応した。管をボルテックスし、次いで穏やかなメタノリシス／メチル化のために４５℃で一晩（１４時間以上）インキュベートし、又は急速反応のために１００℃で１時間加熱した。室温に冷却した後、ＦＡＭＥの抽出のために１ｍｌのヘキサン及び１ｍｌの水を加えた。管をボルテックスし、次いでヘキサン層を直接、又はシリカゲルカラムを通した精製後、ＧＣ－ＭＳにより分析した。

【０１６７】

ＧＣ－ＭＳ

［178］ 脂肪酸組成の分析のために、Ｓｈｉｍａｄｚｕ ＧＣＭＳ－ＴＱ８０４０／ＧＣ－２０１０ Ｐｌｕｓ装置を用いた。ＦＡＭＥサンプルを、分析前にヘキサン／クロロホルム／ヘプタン中で５ｇ／Ｌに濃縮した。

【０１６８】

［179］ ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）によって生産された３つの例示的な微生物油サンプルの脂肪酸組成を、マレーシア政府のガイドラインにより示される、粗パーム油で予想される測定値と比較する表３に分析の結果を示した。微生物油サンプル３の場合、脂肪酸組成はＧＣ－ＳＳＬ／ＦＩＤ（７８９０Ａ、Ａｇｉｌｅｎｔ）装置を用いた脂肪酸メチルエステル分析により決定した。用いられた方法は、ＡＯＣＳ Ｃｅ １ａ－１３及びＡＯＣＳ Ｃ２２－６６の使用であった。（図１Ａ～１Ｄも参照されたい）。表３は、ｗ／ｗパーセントによる個々の脂肪酸成分の分解を示し、各サンプルについての百分率は合計で１００％となる。アッセイされたが、いずれのサンプル中でも検出されなかった脂肪酸には、Ｃ４、Ｃ６、Ｃ１３、Ｃ１５、Ｃ１５：１、Ｃ１８：２ ｔｔ、Ｃ１８：２ ５，９、Ｃ１８：２ ｔｃ、Ｃ１８：３、Ｃ１８：３ ｃｔｃ、Ｃ１８：３ ｔｔｔ、Ｃ１８：３ ｔｔｃ＋ｔｃｔ、Ｃ２０：４ ｎ６ＡＲＡ、Ｃ２２、及びＣ２４が含まれる。

【０１６９】

【表４】

表3: 微生物油サンプルの脂肪酸組成

脂肪酸	微生物油サンプル1	微生物油サンプル2	微生物油サンプル3	パーム油MIN	パーム油MAX
C8:0	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
C10:0	0.0%	0.0%	0.04%	0.0%	0.1%
C12:0	0.2%	0.0%	0.17%	0.0%	0.5%
C14:0	1.8%	1.7%	2.24%	0.5%	2.0%
C15:1	0.5%	0.5%	0.0%	0.0%	0.1%
C16:0	14.5%	13.8%	28.7%	39.3%	47.5%
C16:1	0.6%	0.7%	0.10%	0.0%	0.6%
C17:0	10.2%	9.5%	0.0%	0.0%	0.2%
C17:1	0.8%	0.6%	0.03%	0.0%	0.1%
C18:0	26.9%	28.8%	8.98%	3.5%	6.0%
C18:1	10.0%	16.3%	43.39%	36.0%	44.0%
C18:2	15.2%	16.1%	10.77%	9.0%	12.0%
C20:0	8.3%	3.6%	0.0%	0.0%	0.0%
C18:3	0.2%	0.0%	1.75%	0.0%	0.5%
C20:1	2.5%	0.4%	0.13%	0.0%	0.4%
C22:0	2.6%	0.7%	0.0%	0.0%	0.2%
C22:1	0.3%	0.3%	0.02%	0.0%	0.0%
C22:2	0.3%	0.0%	0.94%	0.0%	0.0%
C24:0	5.0%	7.1%	0.0%	0.0%	0.0%
その他			2.74%		

【０１７０】

［180］これらの結果は、本開示の例示的な微生物油サンプルが、植物由来パーム油と比較して同様の、飽和対不飽和脂肪酸の分解を有するが、優勢な脂肪酸の特定のアイデンティティは、微生物サンプルと典型的なパーム油との間で異なることを示す。しかし、パーム油と同様に、Ｃ１６：０は微生物サンプル中の有意な飽和脂肪酸源であり、Ｃ１８不飽和脂肪酸はサンプル中の不飽和脂肪酸の大部分を構成した。

【０１７１】

［181］サンプルの脂肪酸組成分解を、ＧＣ－ＳＳＬ／ＦＩＤ（７８９０Ａ、Ａｇｉｌｅｎｔ）装置を用いる脂肪酸メチルエステル分析によって決定した。用いられた方法は、ＡＯＣＳ　Ｃｅ　１ａ－１３及びＡＯＣＳ　Ｃ２２－６６の使用であった。これらの分析の結果を表４及び図１Ａ～１Ｃに示す。下記の表４は、ｗ／ｗパーセントによる個々の脂肪酸成分の分解を示し、各サンプルの百分率は合計で１００％となる。アッセイされたが、いずれのサンプル中でも検出されなかった脂肪酸には、Ｃ４、Ｃ６、Ｃ１３、Ｃ１５、Ｃ１５：１、Ｃ１８：２　ｔｔ、Ｃ１８：２　５，９、Ｃ１８：２　ｔｃ、Ｃ１８：３、Ｃ１８：３　ｃｔｃ、Ｃ１８：３　ｔｔｔ、Ｃ１８：３　ｔｔｃ＋ｔｃｔ、Ｃ２０：４ｎ６ＡＲＡ、Ｃ２２、及びＣ２４が含まれる。

【０１７２】

【表５】

表4: 脂肪酸組成の分解

簡略化した式	一般名	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
C8:0	カプリル		0.01%	
C10:0	カプリン	0.04%	0.01%	
C11:0	ウンデシル	0.00%		
C12:0	ラウリン	0.17%	0.11%	0.08%
C14:0	ミリスチン	2.24%	0.75%	0.27%
C14:1c	ミリストレイン	0.08%	0.05%	0.06%
C16:0	パルミチン	28.70%	40.20%	27.79%
C16:1t		0.01%	0.04%	0.05%
C16:1	パルイトレイン	0.10%	0.10%	0.01%
C17:0	マルガリン			0.08%
C17:1		0.03%		
C18:0	ステアリン	8.98%	5.15%	2.65%
C18:1trans		0.08%		
C18:1 cis	オレイン	43.39%	42.09%	55.21%
C18:1cis iso			0.59%	1.11%
C18:2 ct		0.07%	0.01%	0.01%
C18:2 n6 cis	リノール	10.77%	9.61%	11.23%
C18:3 ctt			0.01%	0.01%
C20:0	アラキジン	0.35%	0.41%	0.28%
C18:3 cct			0.15%	0.15%
C18:3 n6 cis	γ-リノレン (GLA)	0.05%		
C18:3 tcc		0.01%		
C20:1		0.13%		
C18:3 n3 cis	α-リノレン (ALA)	1.69%	0.30%	0.39%
C21:0	ヘンイコシル	0.03%		
C20:2	cis-11,14-エイコサジエン	0.54%	0.07%	0.06%
C20:3 n6		0.02%		
C22:1n9	エルカ	0.02%	0.05%	0.04%
C20:3 n3			0.02%	0.02%
C22:2		0.94%	0.09%	0.10%
C24:1		0.04%	0.01%	0.01%
未知		1.20%		

【０１７３】

［182］ 表５は、各サンプル中の飽和、トランス、モノ不飽和、ポリ不飽和、及び未知の脂肪酸のｗ／ｗ百分率を示す。脂肪酸組成は、ＧＣ－ＳＳＬ／ＦＩＤ（７８９０Ａ、Ａｇｉｌｅｎｔ）装置を用いた脂肪酸メチルエステル分析により決定した。用いられた方法は、ＡＯＣＳ Ｃｅ １ａ－１３及びＡＯＣＳ Ｃ２２－６６の使用であった。図１Ａ～１Ｃは、各々、粗微生物油（図１Ａ）、パーム油（図１Ｂ）、及びハイブリッドパーム油（図１Ｃ）のクロマトグラムを示す。図１Ｄは、微生物油及びパーム油の代表的な組成の棒グラフを示す。

【０１７４】

【表６】

表5: 全体的な脂肪酸組成

	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
飽和脂肪酸	40.5%	41.5%	28.5%
トランス脂肪酸	0.17%	0.21%	0.22%
モノ不飽和脂肪酸	43.8%	48%	59.1%
ポリ不飽和脂肪酸	14%	10.1%	11.8%
未知	1.5%	0%	0%

【０１７５】

実施例２：例示的な微生物油組成物の分画及び飽和分析

［183］ 脂肪及び油は、様々な鎖長及び飽和レベルの炭化水素の混合物である。分画を用いて、室温油を飽和及び不飽和成分に物理的に分離させることができる。油混合物全体の融点と、それらの飽和／不飽和成分の融点は異なる。親水化は、凝固した脂肪結晶を溶解し、液体油を乳化する表面活性剤（界面活性剤）を利用する。この親水化した縣濁液の遠心分離によって、脂肪は、飽和度に基づいて異なる画分に分離され得る。パーム油及び微生物油を分画し、それらの画分の飽和レベルを比較した。

【０１７６】

分画

［184］ 粗パーム油及びＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油を、例えば、Stein, W., “The Hydrophilization Process for the Separation of Fatty Materials,” Henkel and Cie, GmbH , Presented at AOCS Meeting, New Orleans, May 1967に示される方法を用いて分画した。

【０１７７】

［185］ 油サンプルを秤量し、次いで５０℃に不完全に融解した。次いで、温度を１０分間かけて３２℃に下げた。次いで、温度を３２℃～２０℃の間の選択温度で一定時間保持しながら、以下のように温度をゆっくりと２０℃に下げた：３２℃－３０分；２６℃－１５分；２４℃－１５分；２２℃－１５分；２１℃－１５分；２０℃－１５分。次いで、油サンプルをさらに１時間２０℃に維持した。

【０１７８】

［186］ この温度操作後、油サンプルを湿潤剤溶液中で１：１．５ ｗ／ｗの脂肪対湿潤剤の比で乳化した。湿潤剤は、ＤＩ水中の塩及び洗剤：０．３％（ｗ／ｗ）ラウリル硫酸ナトリウム；４％（ｗ／ｗ）硫酸マグネシウムから構成されていた。油／湿潤剤混合物を徹底的に混合されるまでボルテックスした。サンプルをベンチトップ遠心分離機内で４７００ｒｐｍで５分間遠心分離した。より軽い油相は頂部に移動し、一方、より重い水相（固体の飽和脂肪粒子を含む）は底部に移動した。上部オレイン相を予め秤量したシンチレーションバイアルに吸引することによって水相を分離した。水相を、凝固したステアリン層が上に散在する状態で、全脂肪材料が融解するまで加熱した。この加熱した水相を遠心分離（４７００ｒｐｍ、１分、４０℃）し、ステアリン画分も予め秤量したシンチレーションバイアルに吸引した。

【０１７９】

［187］ 分離されたオレイン及びステアリン画分を秤量し、それらの質量を分画前の油の元の質量と比較した。質量基準では、Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）によって生産された例示的な微生物油は、６８．４％ ｗ／ｗのオレイン及び３１．６％ ｗ／ｗのステアリンであった。比較すると、粗植物由来パーム油サンプルは、この分画方法を用い

て７２％　ｗ／ｗのオレイン及び２８％　ｗ／ｗのステアリンを含むとして分析された。

【０１８０】

飽和レベル測定

［188］　次に、各画分のヨウ素値（ＩＶ）を計算した。これは１００ｇの油サンプルによって吸収されたヨウ素のグラム数で表される。微生物オレイン画分はヨウ素値８１を有し、微生物ステアリン画分はヨウ素値２２を有した。粗パーム油オレイン画分はＩＶ　５３を有し、ステアリン画分はＩＶ　４０を有した。これらの結果は、微生物画分間の飽和及び不飽和脂肪酸のさらにより明確な分画、下流製品の製造に有用であり得る区別を示し、これは、植物由来パーム油が、画分間のこのレベルの差別を達成するために複数の分画工程を必要とし得るためである。

【０１８１】

実施例３：実例的な粗微生物油サンプルの包括的分析。

［189］　Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）によって生産された粗微生物油の１００ｇサンプルを、一般的な物理的化学的特徴付け；脂肪酸含有量；トリグリセリド組成；不けん化脂質含有量；酸化安定性；Ｓｎ－２位のＦＡ；及び汚染物質（３－ＭＣＰＤ、ＧＥ）レベルについて分析した。これらの分析は、標準的なColombianパーム油及びハイブリッドパーム油サンプルと比較して、７０日間にわたって行った。サンプルを暗所、低温、及び大気窒素条件で保存した。

【０１８２】

一般的な物理的化学的特徴付け

［190］　３つの油サンプルを、異なる物理的及び化学的パラメーターに沿って分析した。その分析の結果を表６に示す。用いられた方法は、American Oil Chemists‘ Society（ＡＯＣＳ）のものであり、表中にそれらのＡＯＣＳ識別名によって参照する。

【０１８３】

【表７】

表6: 一般的な物理的化学的特徴付け

パラメーター	単位	方法	機器	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
遊離脂肪酸含有量	%	AOCS Ca 5a-40	865Dosimat plus (Metrohm)	2.58	2.81	2.02
トリグリセリド含有量	%	算術計算	-	96.5	96.3	93.6
ジグリセリド含有量	%	AOCS Cd 11b-91	GC-COC/FID (7890A, Agilent)	0.94	5.49	4.04
モノグリセリド含有量	%	AOCS Cd 11b-91	GC-COC/FID (7890A, Agilent)	< 0.1	< 0.1	< 0.1
すべり融点	ºC	AOCS Cc 3-25	マグネットスターラー (MR-Hei-Std, Heidolph)	< 15	36.2	< 15
色 (Lovibond). 0日目。	赤	AOCS Cc 13e-92(キュベット1“)	分光比色計 PFXi Series 995 (Lovibond)	46	28.4	39
	黄			70	47	70

【０１８４】

［191］　上記の表６に示すように、粗微生物油は、粗パーム油及び粗ハイブリッド油に見出されるものと同様の量の遊離脂肪酸、トリグリセリド、及びモノグリセリドを有する。特定のトリグリセリドも測定し、下記に示す。

【０１８５】
トリグリセリド組成
［192］３つのサンプルのトリグリセリド組成を、ＡＯＣＳ　Ｃｅ　５－８６方法に従ってＧＣ－ＣＯＣ／ＦＩＤ（７８９０Ａ、Ａｇｉｌｅｎｔ）装置上で分析した。表７は、ｗ／ｗ百分率としての値を有するトリグリセリド分析の結果を示す。使用された略語は、以下の通りである。Ｍ：ミリスチン脂肪酸；Ｓ：ステアリン脂肪酸；Ｐ：パルミチン脂肪酸；Ｏ：オレイン脂肪酸；Ｌ：リノール脂肪酸；Ｌａ：ラウリン脂肪酸；Ｌｎ：リノール脂肪酸。粗微生物油についてのクロマトグラムを図２Ａに示し、粗パーム油についてのクロマトグラムを図２Ｂに示し、粗ハイブリッドパーム油についてのクロマトグラムを図２Ｃに示す。
【０１８６】

【表８】

表7:トリグリセリド組成

トリグリセリド	単位	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
MPP	%	0.65	0.60	0.00
MOM+LaPO	%	0.75	0.12	0.00
PPP	%	1.02	6.48	2.11
MOP	%	4.73	1.58	0.55
MLP	%	1.27	0.35	0.00
PPS	%	0.43	1.38	0.35
POP	%	22.53	31.62	19.45
MOO	%	1.89	0.49	0.37
PLP	%	7.51	7.87	5.20
PSS	%	0.00	0.23	0.00
POS	%	10.25	6.11	2.68
POO	%	20.78	23.24	32.62
PLS	%	2.12	1.62	1.38
PLO	%	9.11	8.08	11.53
PLL+POLn	%	2.04	1.41	1.78
SSS	%	0.00	0.00	0.00
SOS	%	1.53	0.60	0.29
SOO	%	4.29	2.46	2.29
OOO	%	4.54	3.63	12.17
SLO	%	1.30	0.98	1.09
OLO	%	2.33	1.14	4.93
OLL	%	0.00	0.00	1.23
LLL	%	0.00	0.00	0.00
LLnL	%	0.00	0.00	0.00
LnLLn	%	0.00	0.00	0.00
LnLnLn	%	0.00	0.00	0.00
OOA	%	0.00	0.00	0.00
LLnLn	%	0.00	0.00	0.00
SOA	%	0.00	0.00	0.00
合計	%	99.06219	100	100

【０１８７】

［193］微生物油サンプルは、脂肪酸及びトリグリセリド含有量の異なるパラメーターに沿って、パーム油及びハイブリッドパーム油の両方との類似性を示した。例えば、微生物油は、約１．２％　ｗ／ｗのパルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリド、約２２．５３％　ｗ／ｗのパルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリド、約２０．７８％　ｗ／ｗのオレイン－オレイン－パルミチントリグリセリド、約１．５３％　ｗ／ｗのステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド、及び約４．２９％　ｗ／ｗのステアリン－オレイン－オレイントリグリセリドから構成されていた。

【０１８８】

Ｓｎ－２位の脂肪酸

［194］ ３つのサンプルを、分子のｓｎ－２位に位置するパルミチン及びステアリン脂肪酸トリグリセリドの量について分析した。結果を表８に示す。用いられた方法は、Luddy et al., “Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semimicro technique,” Journal of the American Oil Chemists’ Society 1964;41(10):693-6及びPina- Rodriguez et al., “Enrichment of amaranth oil with ethyl palmitate at the sn-2 position by chemical and enzymatic synthesis,” Journal of Agricultural andFood Chemistry 2009;57(11):4657-62（各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）から適合させた。

【０１８９】

【表９】

表8: トリグリセリドのsn-2位の脂肪酸

パラメーター	機器	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
sn-2位のパルミチン酸(%)	TLCシリカゲル60 F254 GC-SSL/FID (7890A, Agilent)	12	14.4	NA
sn-2位のステアリン酸(%)		12	14.1	NA

【０１９０】

［195］ 微生物油サンプルは、トリグリセリド分子のｓｎ－２位に位置する許容量のパルミチン酸及びステアリン酸脂肪酸を含み、この油が様々な食品における使用に適していることを示唆している。

【０１９１】

不けん化脂質含有量

［196］ ３つのサンプルの不けん化脂質含有量を分析し、具体的には、各サンプル中のβ－カロテン（データは示さず）、スクアレン、トコフェロール、及びステロールの量を測定した。結果を表８に示す。β－カロテンは、Luterotti et al., “New simple spectrophotometric assay of total carotenes in margarines,” Analytica Chimica Acta 2006;573:466-473（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）の方法を用いて分析した。ステロール組成は、Johnsson et al., “Side-chain autoxidation of stigmasterol and analysis of a mixture of phytosterol oxidation products by chromatographic and spectroscopic methods,” Journal of the American Oil Chemists’ Society 2003;80(8):777-83（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）の方法を用いて分析した。ＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラム結果を図３に示す。用いられた他の方法を表９に示す。微生物油サンプルのステロール組成は、それをパーム油及びハイブリッドパーム油サンプルと区別する非定型ステロールクロマトグラフィープロファイルを示し、さらなる研究が必要である。この実例的なサンプルでは、予期せぬステロール組成が、微生物油サンプルの独特の指紋として機能する。

【０１９２】

【表１０】

表9: 不けん化脂質含有量

パラメーター	方法	機器	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
スクアレン (ppm)	AOCS Ce 1a-13	GC-SSL/FID (7890A, Agilent)	122	389	260
トコフェロール (ppm)	AOCS Ce 8-89	LC-DAD/RID (Prominence, Shimadzu)	< 10	869	761
ステロール(%)	Johnsson et al.	GC-COC/FID (7890A, Agilent)	予期せぬプロファイル	0.07	0.1

【０１９３】

［197］ 表９に示すように、微生物油サンプルは有意なレベルの不けん化脂質、又はトコフェロールを含まない。具体的には、微生物油は、各々、パーム油及びハイブリッドパーム油中の３８９ｐｐｍ及び２６０ｐｐｍと比較して、約１２２ｐｐｍのスクアレンを有する。微生物油はまた、１０ｐｐｍ未満のトコフェロールを含み、一方、パーム油及びハイブリッドパーム油は、各々８６９ｐｐｍ及び７６１ｐｐｍを含んでいた。

【０１９４】

酸化安定性

［198］ サンプルの酸化安定性を、Szydlowska-Czerniak et ah, “Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils,” Food Chemistry 2011 ; 129(3): 1187-92（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）の方法を用いて、血漿の第二鉄塩還元能力（ＦＲＡＰ）を介して分析した（データは示さず）。

【０１９５】

汚染物質（３－ＭＣＰＤ、ＧＥ、及びリン）レベル

［199］ 汚染物質のレベルを各サンプルにおいて評価した。結果を表１０に示す。方法及び機器を、各々第２列及び第３列に示す。

【０１９６】

【表１１】

表10: 汚染物質レベル

汚染物質	方法	機器	粗微生物油	粗パーム油	粗ハイブリッドパーム油
3-MCPD	DGF C-VI 18 (10)	GC-SSL/MSD (7890-5977A, Agilent)	< LOQ	< LOQ	< LOQ
GEs	DGF C-VI 18 (10)	GC-SSL/MSD (7890-5977A, Agilent)	< LOQ	< LOQ	< LOQ
リン含有量	AOCS Ca 12-55	分光光度計 UV-1280 (Shimadzu)	< 1 ppm	25 ppm	20 ppm

【０１９７】

［200］ ３つのサンプルは、全て、定量限界（ＬＯＱ）を下回る汚染物質レベルを有していた。しかしながら、サンプルは、検出されたリンの量が大きく異なっていた。各々２５ｐｐｍ及び２０ｐｐｍを有する粗パーム油及び粗ハイブリッドパーム油とは異なり、粗微生物油は１ｐｐｍ未満のリンを有していた。

【０１９８】

結論

［201］ 上記の分析に基づいて、粗微生物油は、多くの異なるパラメーターに沿ってパーム油／ハイブリッドパーム油とよく一致し、植物由来パーム油の環境に優しい代替物としての使用に対するその適合性を示した。

【０１９９】

実施例４：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）の３つの異なる株からの例示的な微生物油

油性酵母の３つの例示的な株によって生産された微生物油の脂肪酸プロファイル

［202］ 実施例１のＦＡＭＥ及びＧＣ－ＭＳプロトコルを用いて、本開示による例示的な微生物油を、ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）種の油性酵母の３つの実例的な株：株Ａ、株Ｂ、及び株Ｃから分析した。

【０２００】

［203］ 図４Ａは、これらの３つの株によって生産された例示的な微生物油について、ポリ不飽和脂肪酸（ＰＵＦＡ）、モノ不飽和脂肪酸（ＭＵＦＡ）、及び飽和脂肪酸の百分率によって分解された全体的な脂肪酸組成を示す。この分解は、各サンプルにおける同等の飽和脂肪酸対不飽和脂肪酸の比を示し（特に株Ａについて）、株Ａは飽和及び不飽和脂肪酸をほぼ等量で生産した。図４Ｂは、特定の脂肪酸に関する微生物油の脂肪酸組成の分解を示す。３つの全微生物油について、Ｃ１８：１が最も優勢であり、各サンプルの４０～５０％を構成した。次に優勢なのはＣ１６：０であり、各サンプルの１５～３５％を構成し、次いでＣ１８：０及びＣ１８：２であり、これらの各々はサンプルの約１０～２０％を占めた。Ｃ１４：０、Ｃ１６：１、及びＣ１８：３（図示せず）の各々は、サンプルの３％未満を構成した。残りの１％未満は、他の脂肪酸から構成された。

【０２０１】

実施例５：追加の例示的な微生物油の分画

分画プロトコル

［204］ 本開示の例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油の５ｇサンプルを、ホットプレート上で５０℃まで融解した。温度を１０分間かけて３２℃に下げ、次

いでゆっくり２０℃に下げ、サンプルが２度毎に１５分間温度を保つようにした。次いで、サンプルを１時間２０℃に保った。

【０２０２】

［２０５］　０．３％（ｗ／ｗ）ラウリル硫酸ナトリウム及び４％（ｗ／ｗ）硫酸マグネシウムからなる湿潤剤を油サンプル（１：１．５　ｗ／ｗ油対湿潤剤）に加えた。油サンプルを徹底的にボルテックスし、次いで４１００ｇで５分間遠心分離した。

【０２０３】

［２０６］　液体、より高い百分率の不飽和脂肪酸（オレイン）を含む上部脂質相を予め秤量したバイアルに移動した。下部脂質相（ステアリン）を残りの水性材料と共に、ステアリンが完全に融解するまで加熱した。次いでサンプルを１分間遠心分離した後、ステアリン層を別個の予め秤量したバイアルに移動した。このプロセスを粗パーム油の１０ｇサンプルを用いて繰り返した。

【０２０４】

例示的な微生物油の脂肪酸プロファイルに対する分画の効果

［２０７］　本開示の例示的なＲ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油を分画した。図５Ａは、代表的な微生物油についての全体的な脂肪酸組成に関する分画の結果を示す。この図は、粗微生物油と比較してオレイン画分中のより高い百分率の不飽和脂肪酸、及びステアリン画分中のより高い百分率の飽和脂肪酸を示す。微生物中間画分は、オレインプロファイルとステアリンプロファイルの中間のプロファイルを有する。図５Ｂは、特定の脂肪酸に関する粗微生物油及び画分の各々についての分解を示す。

【０２０５】

ヨウ素値計算

［２０８］　ヨウ素値は、マレーシア・パーム油委員会（Malaysian Palm Oil Board）の試験方法に基づいて決定した。手短には、約０．５ｇの油を２０ｍＬの１：１シクロヘキサン／氷酢酸に溶解した。２５ｍＬのＷｉｊｓ試薬（酢酸に溶解した一塩化ヨウ素）を加え、溶液をよく撹拌した後、暗所内に１時間置いた。ブランクサンプルを、いずれの油サンプルも加えることなく、同じように調製した。

【０２０６】

［２０９］　インキュベーション時間の終わりに、２０ｍＬの１００ｇ／Ｌヨウ化カリウム及び１５０ｍＬのＤＩ水を加えた。０．１Ｍチオ硫酸ナトリウムの標準容積溶液を、溶液の黄色が退色し始めるまで滴加した。５ｇ／Ｌデンプン溶液を、溶液が深い青色に変わるまで加えた。追加のチオ硫酸塩滴定液を、溶液が混合により透明となるまで加えた。ブランク溶液を並行して滴定した。いくつかのサンプルについては、Metrohmの８９２プロフェッショナルランシマットも使用して、ヨウ素値を確認し、その場合、デンプン溶液は、指標として、もはや必要としなかった。

【０２０７】

［２１０］　ヨウ素値をＩＶ＝１２．６９×Ｃ×（Ｖ１－Ｖ２）／Ｍとして計算し、式中、Ｃはチオ硫酸ナトリウムの濃度であり、Ｖ１は、ブランク試験に使用したチオ硫酸ナトリウムの体積（ｍＬでの）であり、Ｖ２は、測定に使用したチオ硫酸ナトリウムの体積（ｍＬでの）であり、Ｍは、試験油サンプルの質量（ｇでの）である。

【０２０８】

例示的な微生物油についてのヨウ素値（ＩＶ）に対する分画の効果

［２１１］　ヨウ素値に対する分画の効果を、本開示の実例的な粗Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）微生物油、並びにそのステアリン及びオレイン画分について、上記のプロトコルを用いて評価した。結果を下記の表１１にまとめる。

【０２０９】

【表１２】

表11: 本開示の例示的な分画微生物油のIV。

ステロール	IV, 複製1(g/100g脂肪)	IV, 複製2(g/100g脂肪)
粗微生物油	62.6	62.9
微生物ステアリン	22.4	22.4
微生物オレイン	80.9	81.5

【０２１０】

本開示の例示的な微生物油に対する分画の視覚的効果

［212］　Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）からの例示的な粗微生物油を分画した。図６Ａ～６Ｂは、様々なサンプルに対する分画の視覚的効果を示す。図６Ａは、分画された粗パーム油（右）と比較した分画された微生物油（左）を示す。分画されたサンプルの両方は、室温で液体である頂部オレイン層と、室温で固体である底部ステアリン層を含む。図６Ｂは、別の分画された微生物油（左）と、分画（右）しなかった微生物油を示す。これらの画像は、植物由来パーム油と同様の分画能力を示す、本開示の例示的な微生物油の特性を示し、これは、全ての微生物油には当てはまらない特性である。

【０２１１】

実施例６：本開示の例示的な微生物油のステロール分析

材料及び方法

［213］　これらのサンプル：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）から得られた本開示の例示的な微生物油（「酵母微生物油」）、粗パーム油（ＣＰＯ）、ＲＢＤパーム油（ＲＢＤＰＯ）及び藻類油の各々に存在するステロールの含有量を測定するために、以下の手順に従った。最初に、各油を秤量して４０ｍｇを得た。全ての油サンプルを、２００μｇ／ｍＬのトリデカン酸メチルエステル内部基準（ＩＳＴＤ）を含む２００μＬのヘキサンに溶解した。次いで、油サンプルを真空炉内で２時間６０℃に設定して、蒸発により有機溶媒を除去した。次いで、各サンプルの半分を１００μＬのピリジンに再懸濁した（「プレーン」調製物）。各サンプルの他の半分を、目的の標的に対応する、０．４ｍｇ／ｍＬの５つの精製ステロール標準の各々を含む１００μＬのピリジン溶液に再懸濁した（「スパイクイン」調製物）。最後に、プレーン及びスパイクイン調製物の両方を、１００μＬのＢＳＴＦＡ＋１０％のＴＣＭＳ（Thermo Scientific、ＵＳＡ）を添加することによってさらに誘導体化し、９２℃で２時間インキュベートした。

【０２１２】

［214］　誘導体化した油サンプルを、Ａｇｉｌｅｎｔ（登録商標）５９７５質量選択検出器に結合したＡｇｉｌｅｎｔ（登録商標）７８９０Ｂ　ＧＣ　Ｓｙｓｔｅｍを用いて分析した。ＧＣは、１ｍＬ／分で一定のヘリウムガス流を用いてスプリットレスモードで操作した。１μＬの誘導体化油を、PAL3 Sampler（CTC Analytics、SwitzerlandからのModel Pal RSI 120）を用いて、ＨＰ－５ｍｓ　Ｕｌｔｒａ　Ｉｎｅｒｔカラム上に注入した。各油の総イオンクロマトグラム（図７Ａ～７Ｄ）は、以下のようにＧＣ炉プログラムを使用することによって得られた：初期の炉温度を最初に７０℃で１分間保ち、次いで７０℃から２５５℃に２０℃／分の速度で昇温させ；次いで炉温度をさらに１５℃／分の速度で増加させて２８３℃に到達させ；最後に、炉温度が３００℃に到達するまで、昇温速度を１５℃／分に増大させ、ここで９分間保った。総実行時間は、３９分であった。例えば図８に視覚的に表すように、ＭａｓｓＨｕｎｔｅｒソフトウエア（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（登録商標）、ＵＳＡ）を使用して目的の化合物を表す

ピークを抽出及び統合した。次いで、抽出され、統合されたピークの各々を、ＩＳＴＤ及びそれらの対応するスパイクインステロールピーク面積の両方に対して正規化した。抽出に使用した分子イオンの質量を表１２に示す。全てのピークを手動で検査し、それらの電子イオン化（ＥＩ）スペクトルを、各ステロールについて既知のスペクトルと比較して検証した。図９Ａ～９Ｅは、粗パーム油スパイクイン調製物から抽出されたステロールの実例的なＥＩスペクトルを示す。

【０２１３】

【表１３】

表12: 抽出に使用したステロール化合物の質量。

ステロール化合物	分子イオン(m/z)
コレステロール	458
エルゴステロール	468
カンペステロール	472
スチグマステロール	484
シトステロール	486
トリデカン酸メチルエステル(ISTD)	228

【０２１４】

［215］ 抽出したピークを、最初に、対応する実行のＩＳＴＤピークに対して正規化した。各スパイクイン実行の場合、各ステロール標準の残留ピークを、プレーン実行の正規化ピーク面積をスパイクイン実行から差し引くことによって較正した。各ステロールの残留ピークを４回の油サンプル実行にわたって平均し、次いで、標的にわたる検出器シグナルの差異について、プレーンピーク面積を再正規化するために使用した。これらの最終的な、再正規化されたピーク面積を使用して、油サンプルの各々についての総ステロール含有量（表１３）及びステロールプロファイル（表１４）を計算した。

【０２１５】

【表１４】

表13: 総ステロール含有量。

サンプル	総ステロール (ppm)
酵母微生物油	2297
粗パーム油	452
RBDパーム油	251
藻類油	388

【０２１６】
【表１５】

表14: ステロールプロファイル。

ステロール	酵母微生物油	粗パーム油	RBDパーム油	藻類油
エルゴステロール	100%	n.d.	n.d.	50.81%
コレステロール	n.d.	1.71%	1.58%	n.d.
カンペステロール	n.d.	5.49%	5.20%	2.75%
スチグマステロール	n.d.	14.57%	15.82%	12.80%
シトステロール	n.d.	78.22%	77.39%	33.63%

【０２１７】
［216］ 結果は、本開示の例示的な酵母微生物油が、農業パーム植物又は藻類由来の他の３つのサンプルとは対照的に、エルゴステロールのみを含み、コレステロール、カンペステロール、スチグマステロール、又はシトステロールを含まなかったことを示す。
【０２１８】
実施例７：本開示の例示的な微生物油のカロテノイド分析
油サンプル
［217］ ６つの油サンプルを分析して、各々内に存在するカロテノイドを同定した。
［218］ －サンプル１：農業パーム油。
［219］ －サンプル２：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）から得られた本開示の例示的な微生物油；脂質の溶媒抽出を伴う強酸（H_2SO_4）処理。
［220］ －サンプル３：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）から得られた本開示の例示的な微生物油；脂質の溶媒抽出を伴う強酸（ＨＣｌ）処理。
［221］ －サンプル４：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）から得られた本開示の例示的な微生物油；脂質の溶媒抽出を伴う弱酸（H_3PO_4）処理。
［222］ －サンプル５：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）から得られた本開示の例示的な微生物油；脂質の無酸抽出。
［223］ －サンプル６：Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）から得られた本開示の例示的な微生物油；脂質の無酸抽出。
【０２１９】
カロテノイド分析材料及び方法
［224］ サンプル調製物。油サンプルをジエチルエーテルで希釈した。各溶液を均質相中で１時間けん化した。酸性化及び洗浄後、ＵＶ／Ｖｉｓ及びＨＰＬＣ分析を行った。
【０２２０】
［225］ ＵＶ／Ｖｉｓ分析。各サンプルについて、初期の全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを２００～６００ｎｍの波長で収集した。この全体的なスペクトルは、サンプル内の総カロテノイド含有量の推定を可能にする、サンプルのカロテノイドの全ての総重複吸光度を示す。ＵＶ／Ｖｉｓスペクトルは、Ｊａｓｃｏ Ｖ－５３０分光光度計を使用してベンゼン中で記録した。（$E^{1\%}_{1cm}$＝２５００）
【０２２１】
［226］ 高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）ダイオードアレイ検出器（ＤＡＤ）分析。ＨＰＬＣ－ＤＡＤアッセイは、Ｄｉｏｎｅｘ Ｕｌｔｉｍａｔｅ ３０００ ＨＰＬＣシステムを使用して、λ＝４５０ｎｍでの吸光度を検出して行った。温度は２２℃に

維持した。データ収集は、Ｃｈｒｏｍｅｌｅｏｎ　７．２ソフトウエアにより行った。用いたカラムは、３μＭビーズサイズ及び２５０×４．６ｍｍ　ｉ．ｄの寸法を有するＹＭＣカロテノイドＣ３０カラムであった。緩衝液Ａは、以下の組成を有した：８１％のＭｅＯＨ、１５％のＴＢＭＥ、４％のH_2O。緩衝液Ｂは、この組成を有した：６％のＭｅＯＨ、９０％のＴＢＭＥ、４％のH_2O。クロマトグラムは、線形勾配で行った：０分　１００％の緩衝液Ａ～７０分　７０％の緩衝液Ｂ。流速は１．００ｃｍ^3／分に維持した。

【０２２２】

［227］　カロテノイド同定。ＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムにおける対応するピークを用いて、各分析物について吸光度スペクトルを収集した。個々のカロテノイドの同一性は、その分析物の保持時間及びＵＶ／Ｖｉｓスペクトルと、既知の標準との比較に基づいて確認した。

【０２２３】

結果

［228］　サンプル１。サンプル１、農業パーム油についての全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを図１０Ａに示し、個々の波長での吸光度は表１５に同定されている。全体的なＵＶ／Ｖｉｓスペクトルは、４５０ｎｍ付近を中心とする予想された分布を示す。４５９ｎｍでの吸光度を用いて概算した総カロテノイド含有量は、約４７８ｐｐｍであると決定された。

【０２２４】

【表１６】

表15: サンプル1、特定の波長でのUV/Vis Abs。

ピーク番号	λ (nm)	Abs
1	279	0.29772
2	433	0.58054
3	459	0.7978
4	486	0.69501

【０２２５】

［229］　サンプル１について、４５０ｎｍでの吸光度を報告するＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを図１０Ｂに示し、個々のピークは表１６に同定されている。予想通り、このサンプルは、既知の農業パーム油関連カロテノイドα－及びβ－カロテン、並びにその誘導体を含んでいた。

【０２２６】

【表１７】

表16: サンプル1、HPLCピーク同定。

ピーク番号	保持時間(分)	ピーク名称	高さ(mAU)	面積 mAU*分	相対面積(%)	タイプ
1	27.76	(13Z)-β-カロテン	11.517	3.793	1.59	BMB
2	29.52	α-カロテン	174.265	68.511	28.75	BMB
3	30.81	(13Z)-α-カロテン	27.930	10.790	4.53	Rd
4	33.16	β-カロテン	277.067	113.661	47.69	BMB
5	35.41	(9Z)-β-カロテン	103.203	41.585	17.45	BMB
合計:			593.982	238.341	100.00	

【０２２７】

［230］サンプル２。サンプル２、強酸抽出した微生物油についての全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを図１１Ａに示す。全体的なＵＶ／Ｖｉｓスペクトルは、おそらく強酸処理によるカロテノイド分解のために、３００～５００ｎｍ範囲において本質的に吸光度を示さない。サンプル２について、４５０ｎｍでの吸光度を報告するＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを図１１Ｂに示し、同定可能なピークは存在しない。

【０２２８】

［231］サンプル３。サンプル３、強酸抽出した微生物油についての全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを図１２Ａに示す。全体的なＵＶ／Ｖｉｓスペクトルは、おそらく強酸処理によるカロテノイド分解のために、３００～５００ｎｍ範囲において本質的に吸光度を示さない。サンプル３について、４５０ｎｍでの吸光度を報告するＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを図１２Ｂに示し、同定可能なピークは存在しない。

【０２２９】

［232］サンプル４。サンプル４、弱酸抽出した微生物油についての全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを図１３Ａに示す。４９６ｎｍでの吸光度を用いて概算した総カロテノイド含有量は、約１６９ｐｐｍであると決定された。サンプル４について、４５０ｎｍでの吸光度を報告するＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを図１３Ｂに示し、個々のピークは表１７に同定されている。Ｒ．トルロイデス（R.toruloides）からの微生物油に予想される通り、微生物油はトルラロジン（torularhodin）及びトルレンの両方、並びに他の未同定カロテノイドを含むとして同定され、そのうちのいくつかは、これらのカロテノイドの誘導体に対応し得る。サンプルはまた、β－カロテン及びその誘導体を含んでいた。

【０２３０】

【表１８】

表17: サンプル4、HPLCピーク同定。

ピーク番号	保持時間(分)	ピーク名称	λ_{max} (nm)	面積 mAU*分	相対面積(%)	タイプ
1	**28.11**	**(13*Z*)-β-カロテン**	**443, 469**	**5.562**	**3.52**	**BMB***
2	**33.60**	**β-カロテン**	**451, 477**	**16.376**	**10.35**	**BMB**
3	**35.93**	**(9*Z*)-β-カロテン**	**446, 471**	**6.326**	**4.00**	**BMB**
4	50.53	未同定(ui)	384, 464, 488	16.446	10.40	BM*
5	51.89	ui	382, 473	11.777	7.45	M*
6	**52.57**	**トルラロジン**	**496, 527**	**13.675**	**8.65**	**M***
7	53.57	ui	447, 473, 503	29.848	18.87	MB*
8	59.59	ui.	検出せず	3.951	2.50	BM*
9	60.56	ui	457, 482, 514	13.147	8.31	MB*
10	**71.95**	**トルレン**	**461, 486, 519**	**41.050**	**25.96**	**BMB***
合計:				158.157	100.00	

【０２３１】

［233］ サンプル５。サンプル５、無酸抽出した微生物油についての全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを図１４Ａに示し、個々の波長での吸光度は表１８に同定されている。全体的なＵＶ／Ｖｉｓスペクトルは、４７５ｎｍ付近にピークを示す。４９６ｎｍでの吸光度を用いて概算した総カロテノイド含有量は、約４７１ｐｐｍであると決定された。

【０２３２】

【表１９】

表18: サンプル5、特定の波長でのUV/Vis Abs。

ピーク番号	λ (nm)	Abs
1	283	1.76214
2	470	0.73005
3	496	0.85332
4	529	0.59645

【０２３３】

［２３４］　サンプル５について、４５０ｎｍでの吸光度を報告するＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを図１４Ｂに示し、個々のピークは表１９に同定されている。サンプル４と同様に、このサンプルは、トルレン、トルレンの可能な誘導体、β－カロテン及びβ－カロテン誘導体を含んでいた。

【０２３４】

【表２０】

表19: サンプル5、HPLCピーク同定。

ピーク番号	保持時間(分)	ピーク名称	λ_{max} (nm)	面積 mAU*分	相対面積(%)	タイプ
1	**28.53**	**(13*Z*)-β-カロテン**	**443, 469**	**10.770**	**3.47**	**BMB**
2	**34.08**	**β-カロテン**	**451, 477**	**34.796**	**11.20**	**BMB**
3	**36.42**	**(9*Z*)-β-カロテン**	**446, 471**	**5.851**	**1.88**	**BMB**
4	43.15	未同定	434, 456, 484,	3.528	1.14	BMB
5	46.42	ui	検出せず	3.873	1.25	BMB
6	50.97	ui Z異性体	381, 480	34.250	11.03	BM*
7	52.35	ui	452, 479, 511	30.971	9.97	M*
8	54.15	ui.	449, 473, 503	24.712	7.96	MB*
9	59.98	ui	452, 477, 508	5.799	1.87	BM*
10	60.93	ui	457, 482, 514	42.164	13.58	MB*
11	**72.21**	**トルレン**	**461, 486, 519**	**113.867**	**36.66**	**BMB**
合計:				310.583	100.00	

【０２３５】

［２３５］　サンプル６。サンプル６、無酸抽出した微生物油についての全体的なＵＶ／Ｖｉｓ吸光度スペクトルを図１５に示し、個々の波長での吸光度は表２０に同定されている。全体的なＵＶ／Ｖｉｓスペクトルは、４７５ｎｍ付近にピークを示す。４９６ｎｍでの吸光度を用いて概算した総カロテノイド含有量は、約８０２ｐｐｍであると決定された。

【０２３６】

【表２１】

表20: サンプル6、特定の波長でのUV/Vis Abs。

ピーク番号	λ (nm)	Abs
1	283	2.44332
2	467	0.81861
3	496	0.94825
4	529	0.65319

【０２３７】

［236］ サンプル６について、４５０ｎｍでの吸光度を報告するＨＰＬＣ－ＤＡＤクロマトグラムを図１５Ｂに示し、個々のピークは表２１に同定されている。サンプル４及び５と同様に、このサンプルは、トルレン、トルレンの可能な誘導体、β－カロテン及びβ－カロテン誘導体を含んでいた。

【０２３８】

【表２２】

表21: サンプル6、HPLCピーク同定。

ピーク番号	保持時間 (分)	ピーク名称	λ_{max} (nm)	面積 mAU*分	相対面積 (%)	タイプ
1	27.97	(13Z)-β-カロテン	443, 469	8.173	4.74	BMB
2	33.38	β-カロテン	451, 477	20.985	12.18	BM*
3	35.58	(9Z)-β-カロテン	446, 471	4.204	2.44	MB*
4	49.37	ui. 混合物	384, 464, 488	19.266	11.18	BM*
5	50.57	未同定	452, 479, 511	17.971	10.43	M*
6	52.11	ui	447, 473, 503	16.588	9.63	MB*
7	57.63	ui	検出せず	2.188	1.27	BM *
8	58.27	ui	nd	6.683	3.88	M*
9	58.64	ui.	457, 482, 514	17.293	10.04	MB*
10	69.28	トルレン	461, 486, 519	58.958	34.22	BMB
合計:				172.311	100.00	

【０２３９】

［237］ 全体として、これらの結果は、本開示の例示的な微生物油が、トルレン及び／

又はトルロルホジン、並びにβ－カロテン及びその誘導体を含むことを示す。これは、α－及びβ－カロテン並びにそれらの誘導体を優勢に含む農業パーム油と対照的である。

【０２４０】

本発明の番号付き実施形態

［238］ 添付の特許請求の範囲にかかわらず、本開示は、以下の番号付き実施形態を記載する：

【０２４１】

１． 油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物。

【０２４２】

２． 油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物であって、前記組成物は、エルゴステロールを含み、カンペステロール、β－シトステロール、又はスチグマステロールを含まない、組成物。

【０２４３】

３． 油性酵母によって生産される精製及び／又は脱臭された微生物油組成物であって、前記組成物は、カロテン、トルレン及びトルロルホジンからなる群から選択される少なくとも１つの色素を含み、クロロフィルを含まない、組成物。

【０２４４】

４． 漂白され、それによりＲＢＤ微生物油組成物を生成するが、測定可能な量の色素が残留する、実施形態３の組成物。

【０２４５】

５． 油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物であって、前記組成物は、２つの画分に分画可能であり、２つの画分は、微生物オレイン及び微生物ステアリンであり、各画分は、組成物の元の質量の少なくとも１０％を構成し、画分のヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる、組成物。

【０２４６】

６． 油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、前記組成物は、総脂肪酸に対して以下の量の脂肪酸を含む、組成物：

ａ）少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１６～１８炭素長の鎖長を有する飽和脂肪酸；

ｂ）少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１８炭素鎖長を有する不飽和脂肪酸；及び

ｃ）約３０％ ｗ／ｗ未満の総ポリ不飽和脂肪酸。

【０２４７】

７． 油性酵母によって生産される精製、漂白、及び／又は脱臭された（ＲＢＤ）微生物油組成物であって、前記組成物は、見かけ密度、屈折率、けん化値、不けん物、ヨウ素値、すべり融点、脂肪酸組成、トリグリセリド含有量、全体的な飽和レベル、並びにモノ及びポリ不飽和脂肪酸のレベルからなる群から選択される植物由来パーム油と同様の１つ以上の特性を有する、組成物。

【０２４８】

８． ａ）少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１６～１８炭素長の鎖長を有する飽和脂肪酸；

ｂ）少なくとも約３０％ ｗ／ｗの１８炭素鎖長を有する不飽和脂肪酸；

ｃ）約３０％ ｗ／ｗ未満の総ポリ不飽和脂肪酸；

ｄ）少なくとも約５０ｐｐｍのエルゴステロール；を含む、油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、

前記組成物は、フィトステロール又はクロロフィルを含まず、前記組成物は、ヨウ素値、トリグリセリド含有量、すべり融点、酸化安定性、及び全体的な飽和レベルからなる群から選択される植物由来パーム油と同様の１つ以上の特性を有する、組成物。

【０２４９】

９． １０～４５％のＣ１６飽和脂肪酸を含む、実施形態１～８の任意の１つの組成物。

【０２５０】

１０． １０～７０％のＣ１８不飽和脂肪酸を含む、実施形態１～９の任意の１つの組成

物。
【０２５１】
１１．３～３０％のＣ１８飽和脂肪酸を含む、実施形態１～１０の任意の１つの組成物。
【０２５２】
１２．植物由来パーム油のものと同様のけん化値を含む、実施形態１～１１の任意の１つの組成物。
【０２５３】
１３．１５０～２１０のけん化値を含む、実施形態１～１２の任意の１つの組成物。
【０２５４】
１４．植物由来パーム油のものと同様のヨウ素値を含む、実施形態１～１３の任意の１つの組成物。
【０２５５】
１５．５０～６５のヨウ素値を含む、実施形態１～１４の任意の１つの組成物。
【０２５６】
１６．植物由来パーム油のものと同様のすべり融点を含む、実施形態１～１５の任意の１つの組成物。
【０２５７】
１７．３０℃～４０℃のすべり融点を含む、実施形態１～１６の任意の１つの組成物。
【０２５８】
１８．植物由来パーム油のものと同様の飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～１７の任意の１つの組成物。
【０２５９】
１９．少なくとも３０％の飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～１８の任意の１つの組成物。
【０２６０】
２０．最大７０％の飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～１９の任意の１つの組成物。
【０２６１】
２１．植物由来パーム油のものと同様の不飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～２０の任意の１つの組成物。
【０２６２】
２２．少なくとも３０％の不飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～２１の任意の１つの組成物。
【０２６３】
２３．最大７０％の不飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～２２の任意の１つの組成物。
【０２６４】
２４．植物由来パーム油のものと同様のモノ及びポリ不飽和脂肪酸組成を含む、実施形態１～２３の任意の１つの組成物。
【０２６５】
２５．全脂肪酸の百分率としての３０～５０％のモノ不飽和脂肪酸を含む、実施形態１～２４の任意の１つの組成物。
【０２６６】
２６．全脂肪酸の百分率としての５～２５％のポリ不飽和脂肪酸を含む、実施形態１～２５の任意の１つの組成物。
【０２６７】
２７．植物由来パーム油のものと同様のトリグリセリド含有量を含む、実施形態１～２６の任意の１つの組成物。
【０２６８】
２８．全グリセリドの百分率としての９０～９８％のトリグリセリド含有量を含む、実施形態１～２７の任意の１つの組成物。
【０２６９】

２９．　１００ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含み、又はフィトステロール、コレステロール、若しくはプロトテカステロールから選択されるステロールを含まない、実施形態１～２８の任意の１つの組成物。

【０２７０】

３０．　１００ｐｐｍ未満のフィトステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のフィトステロールを含み、又はフィトステロールを含まない、実施形態１～２９の任意の１つの組成物。

【０２７１】

３１．　１００ｐｐｍ未満のカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含み、又はカンペステロール、β－シトステロール、スチグマステロールからなる群から選択されるフィトステロールを含まない、実施形態１～３０の任意の１つの組成物。

【０２７２】

３２．　１００ｐｐｍ未満のコレステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のコレステロールを含み、又はコレステロールを含まない、実施形態１～３１の任意の１つの組成物。

【０２７３】

３３．　１００ｐｐｍ未満のプロトテカステロールを含み、又は５０ｐｐｍ未満のプロトテカステロールを含み、又はプロトテカステロールを含まない、実施形態１～３２の任意の１つの組成物。

【０２７４】

３４．　エルゴステロールを含み、又は少なくとも５０ｐｐｍのエルゴステロールを含み、又は少なくとも１００ｐｐｍのエルゴステロールを含む、実施形態１～３３の任意の１つの組成物。

【０２７５】

３５．　全ステロールの百分率としての少なくとも６０％　ｗ／ｗのエルゴステロール含有量を含む、実施形態１～３４の任意の１つの組成物。

【０２７６】

３６．　色素を含まない、実施形態１～３５の任意の１つの組成物。

【０２７７】

３７．　クロロフィルを含まない、実施形態１～３６の任意の１つの組成物。

【０２７８】

３８．　カロテン、トルレン及びトルロルホジンからなる群から選択される色素を含む、実施形態１～３７の任意の１つの組成物。

【０２７９】

３９．　カロテン、トルレン及びトルロルホジンの各々を含む、実施形態１～３８の任意の１つの組成物。

【０２８０】

４０．　少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのカロテンを含む、実施形態１～３９の任意の１つの組成物。

【０２８１】

４１．　カロテンを含み、カロテンは、β－カロテン及び／又はその誘導体である、実施形態１～４０の任意の１つの組成物。

【０２８２】

４２．　少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのトルレン及び／又はその誘導体を含む、実施形態１～４１の任意の１つの組成物。

【０２８３】

４３．　少なくとも１０ｐｐｍ、又は少なくとも５０ｐｐｍ、又は少なくとも１００ｐｐｍのトルロルホジン及び／又はその誘導体を含む、実施形態１～４２の任意の１つの組成物。

【０２８４】

４４．　油性酵母は組換え酵母である、実施形態１～４３の任意の１つの組成物。

【０２８５】

４５．　油性酵母は、ヤロウィア（Yarrowia）、カンジダ（Candida）、ロドトルラ（Rhodotorula）、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）、メツクニコウィア（Metschnikowia）、クリプトコッカス（Cryptococcus）、トリコスポロン（Trichosporon）、又はリポマイセス（Lipomyces）属のものである、実施形態１～４４の任意の１つの組成物。

【０２８６】

４６．　油性酵母は、ロドスポリジウム（Rhodosporidium）属のものである、実施形態１～４５の任意の１つの組成物。

【０２８７】

４７．　油性酵母は、ロドスポリジウム・トルロイデス（Rhodosporidium toruloides）種のものである、実施形態１～４６の任意の１つの組成物。

【０２８８】

４８．　分画可能である、実施形態１～４７の任意の１つの組成物。

【０２８９】

４９．　微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよい、実施形態１～４８の任意の１つの組成物。

【０２９０】

５０．　微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、各画分は、組成物の出発質量の少なくとも１０％を構成する、実施形態１～４９の任意の１つの組成物。

【０２９１】

５１．　微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、画分のヨウ素値（ＩＶ）は、少なくとも１０異なる、実施形態１～５０の任意の１つの組成物。

【０２９２】

５２．　微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、画分のＩＶは、少なくとも２０異なる、実施形態１～５１の任意の１つの組成物。

【０２９３】

５３．　微生物オレイン及び微生物ステアリンに分画されてもよく、画分のＩＶは、少なくとも３０異なる、実施形態１～５２の任意の１つの組成物。

【０２９４】

５４．　油性酵母によって生産される微生物油組成物であって：

ａ）１０％　ｗ／ｗ未満のパルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリド；

ｂ）１５％　ｗ／ｗを超えるパルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリド；及び

ｃ）１５％　ｗ／ｗを超えるオレイン－オレイン－パルミチントリグリセリド

を含む、組成物。

【０２９５】

５５．　前記パルミチン－パルミチン－パルミチントリグリセリドの含有量は、約０．８％～１．３％　ｗ／ｗである、実施形態５４の微生物油組成物。

【０２９６】

５６．　前記パルミチン－パルミチン－オレイントリグリセリドの含有量は、約１６．９％～２８．２％　ｗ／ｗである、実施形態５４又は５５の微生物油組成物。

【０２９７】

５７．　前記オレイン－オレイン－パルミチントリグリセリドの含有量は、約１５．７％～２６．０％　ｗ／ｗである、実施形態５４～５６の任意の１つの微生物油組成物。

【０２９８】

５８．　さらに、１０％　ｗ／ｗ未満のステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド含有量及び１０％　ｗ／ｗ未満のステアリン－オレイン－オレイントリグリセリド含有量を含む、実施形態５４～５７の任意の１つの微生物油組成物。

【０２９９】

５９．　前記ステアリン－ステアリン－オレイントリグリセリド含有量は、約１．２％～１．９％　ｗ／ｗである、実施形態５４～５８の任意の１つの微生物油組成物。

【０３００】

６０．　前記ステアリン－オレイン－オレイントリグリセリド含有量は、約３．２％～５．４％　ｗ／ｗである、実施形態５４～５９の任意の１つの微生物油組成物。

【０３０１】

６１．　油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、トリグリセリドを含み、４０％を超える前記トリグリセリドが１つの不飽和側鎖を有する、組成物。

【０３０２】

６２．　３０％を超える前記トリグリセリドが２つの不飽和側鎖を有する、実施形態６１の微生物油組成物。

【０３０３】

６３．　１０％～１５％のパルミチン及び／又はステアリン脂肪酸は、トリグリセリド分子のｓｎ－２位に位置する、実施形態５４～６２の任意の１つの組成物。

【０３０４】

６４．　油性酵母によって生産される微生物油組成物であって、総脂肪酸に対して以下の量の脂肪酸を含む、組成物：

ａ）約７．０％～３５％のステアリン酸；

ｂ）約１０％～５０％のオレイン酸；及び

ｃ）約８％～２０％のリノール酸。

【０３０５】

６５．　さらに、国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２１／０１５３０２号に列挙される原料を含む、実施形態１～６４の任意の１つの組成物。

【０３０６】

６６．　国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２１／０１５３０２号に列挙される方法を介して生産される、実施形態１～６５の任意の１つの組成物。

【０３０７】

６７．　実施形態１～６６の任意の１つによる微生物油組成物の製造方法であって：

ａ）油性酵母及び炭素源を提供する工程と、

ｂ）前記油性酵母を培養し、それにより前記微生物油を生産する工程と、を含む、方法。

【０３０８】

６８．　さらに、国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２１／０１５３０２号に開示されている組成物又は方法工程を含む、実施形態６７の方法。

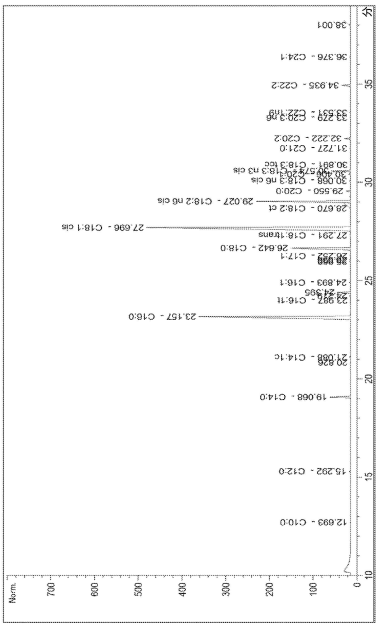
【０３０９】

参照による組み込み

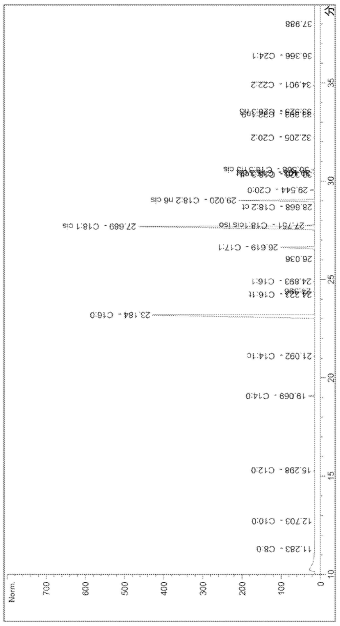
［239］　本明細書に引用される全ての参考文献、論文、刊行物、特許、特許公開、及び特許出願は、全ての目的のためにそれらの全体が参照により組み込まれる。しかしながら、本明細書に引用される任意の参考文献、論文、刊行物、特許、特許公開、及び特許出願の言及は、それらが有効な先行技術を構成し、又は世界中の任意の国における一般常識の一部を形成することの承認又は任意の形態の示唆として解釈されず、またされるべきではない。次の国際ＰＣＴ出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０２１／０１５３０２号。

【図面】

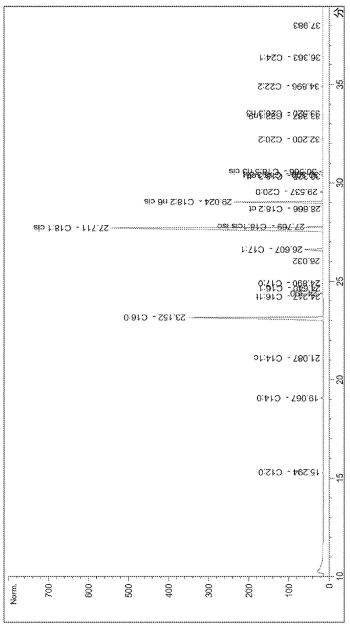
【図１Ａ】



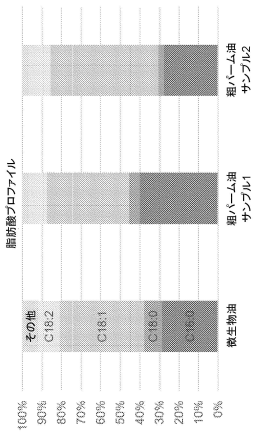
【図１Ｂ】



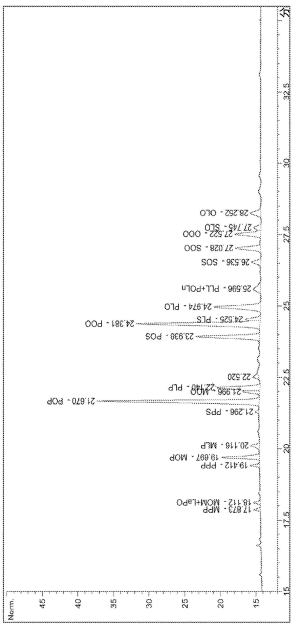
【図１Ｃ】



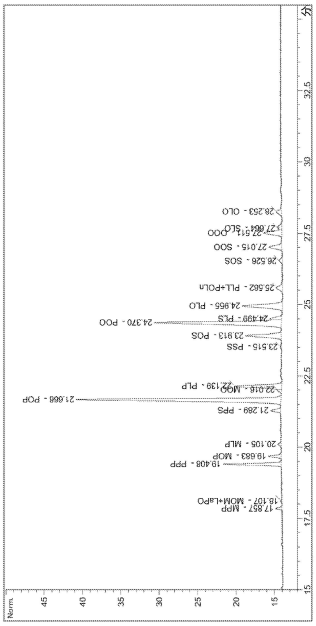
【図１Ｄ】



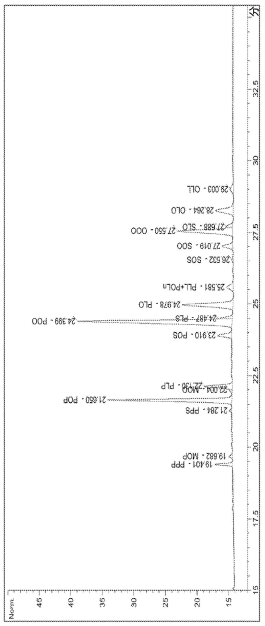
【図２Ａ】



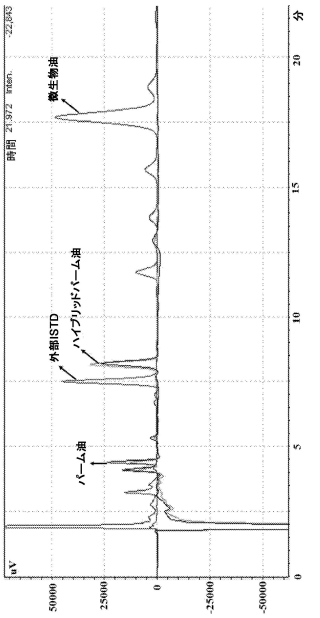
【図２Ｂ】



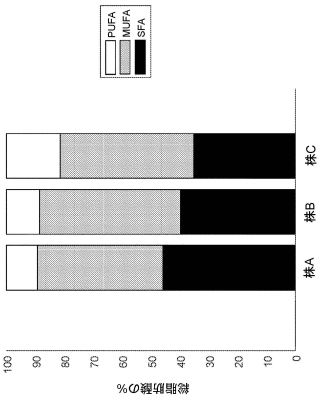
【図２Ｃ】



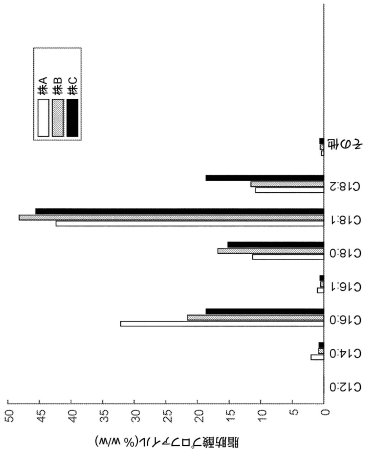
【図３】



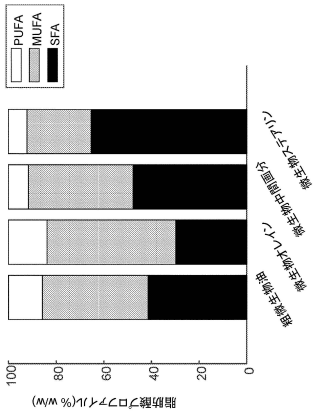
【図４Ａ】



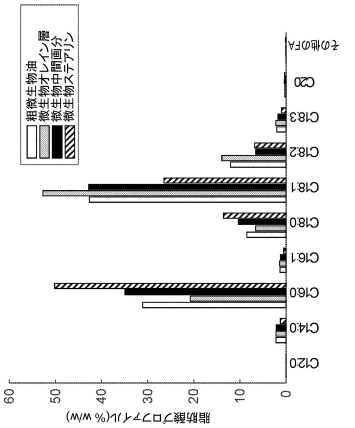
【図４Ｂ】



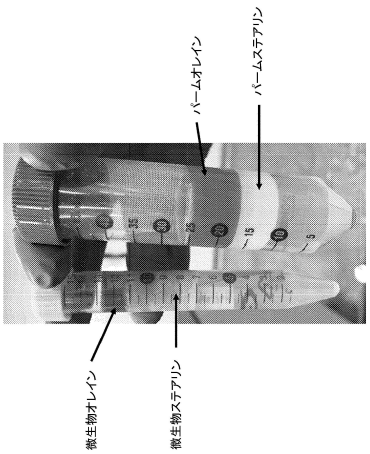
【図５Ａ】



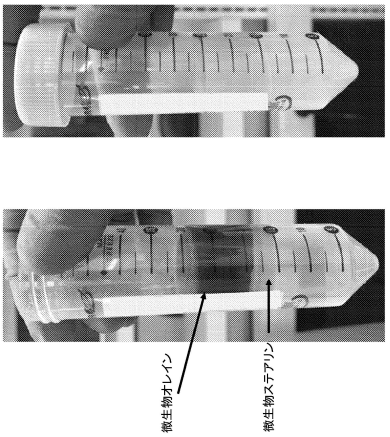
【図５Ｂ】



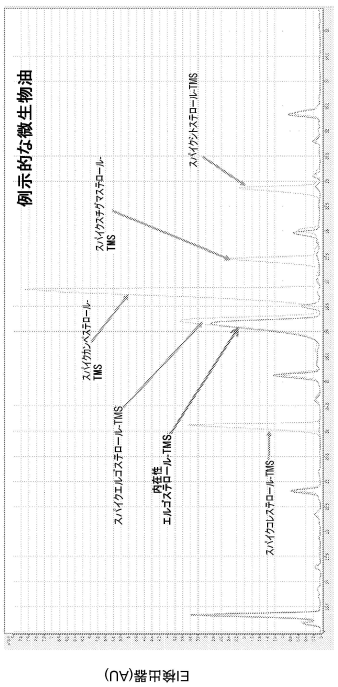
【図６Ａ】



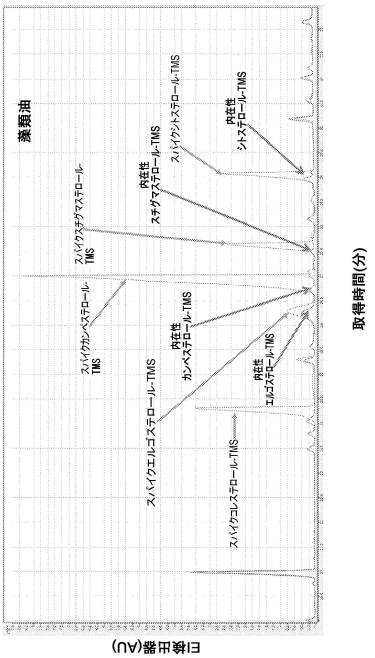
【図６Ｂ】



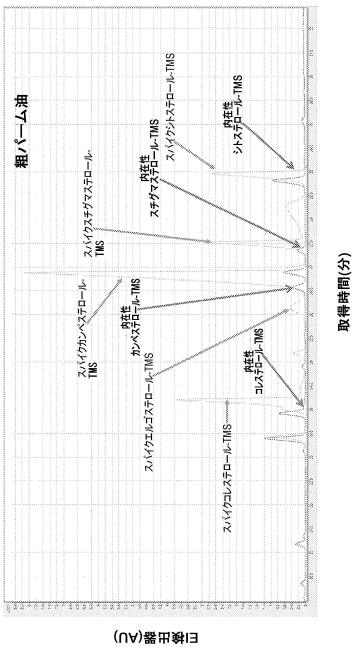
【図７Ａ】



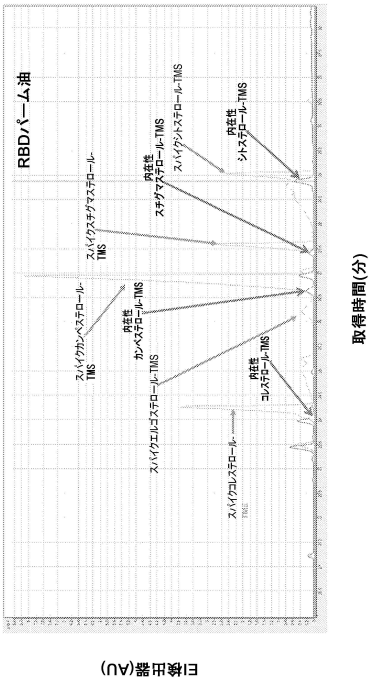
【図７Ｂ】



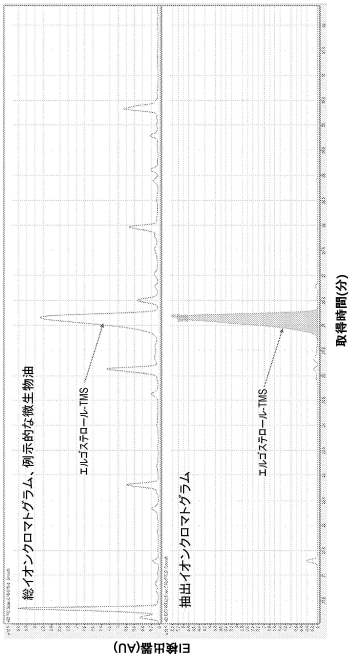
【図７Ｃ】



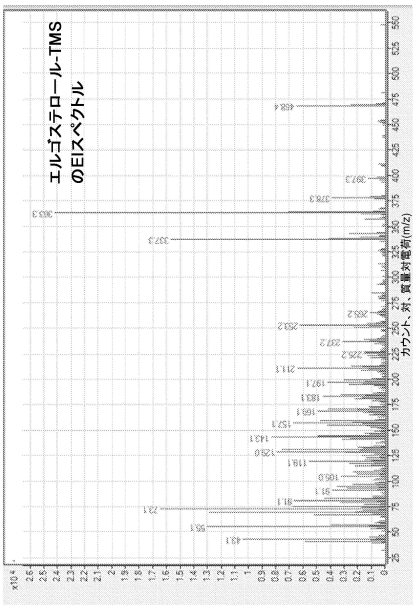
【図７Ｄ】



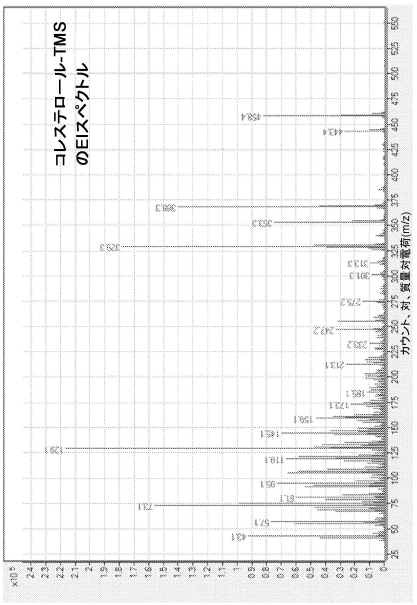
【図８】



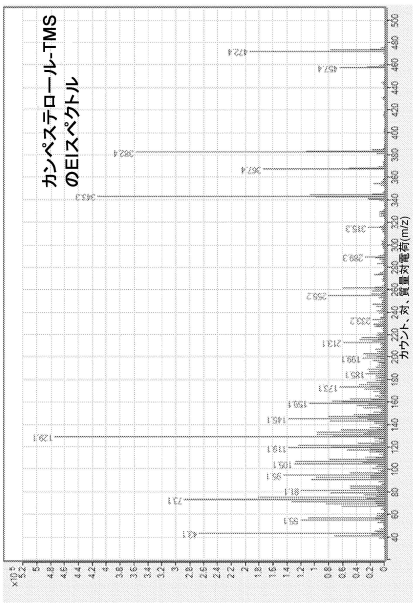
【図９Ａ】



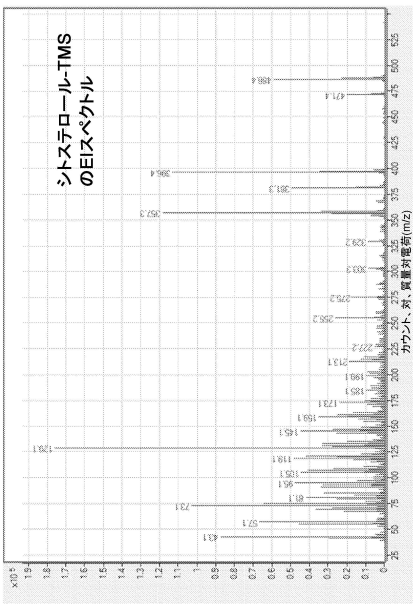
【図９Ｂ】



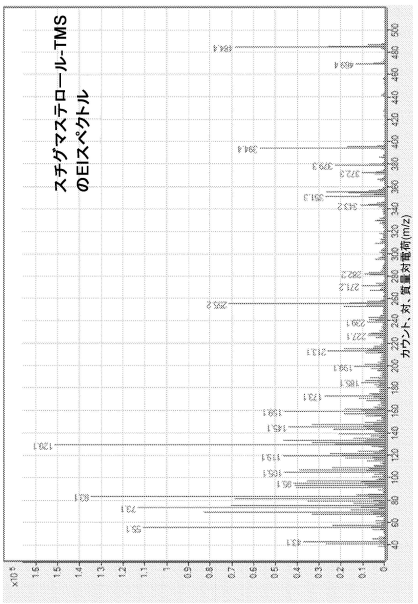
【図９Ｃ】



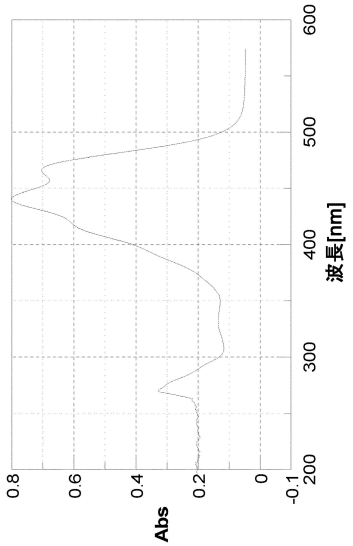
【図９Ｄ】



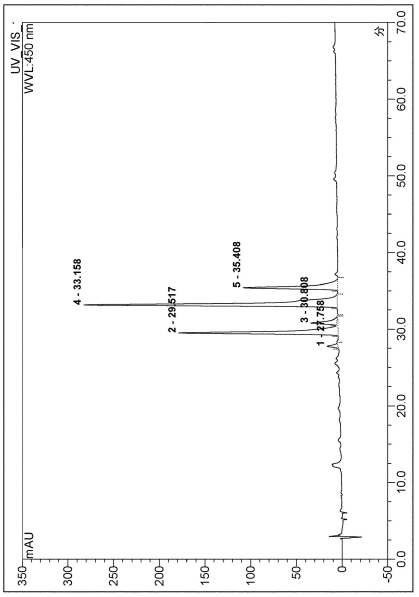
【図９Ｅ】



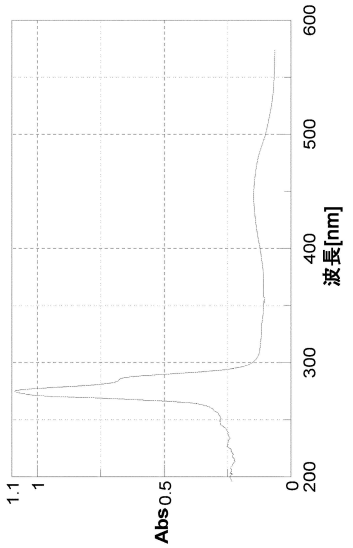
【図１０Ａ】



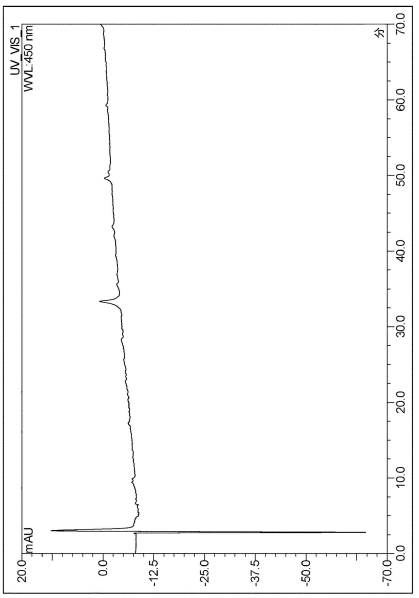
【図１０Ｂ】



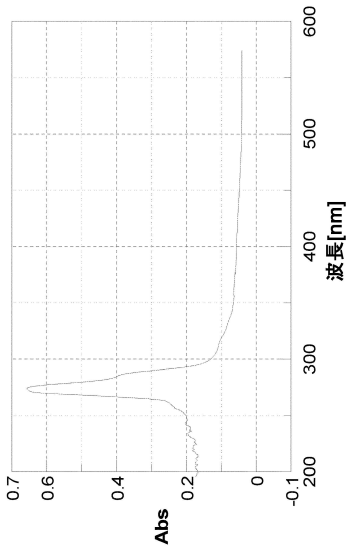
【図１１Ａ】



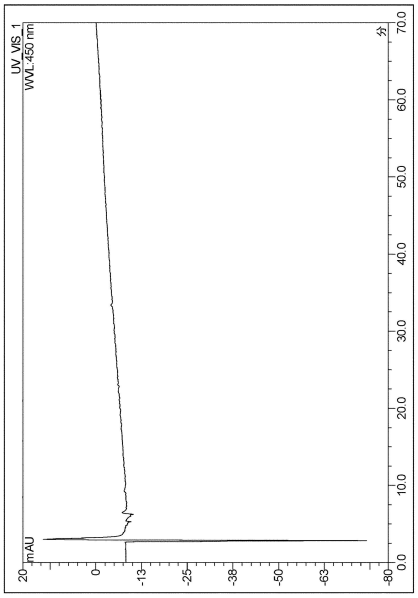
【図１１Ｂ】



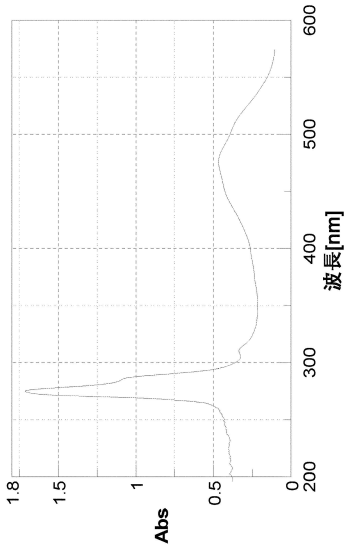
【図１２Ａ】



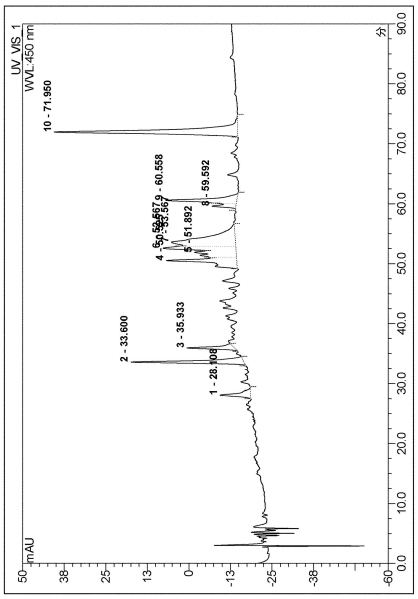
【図１２Ｂ】



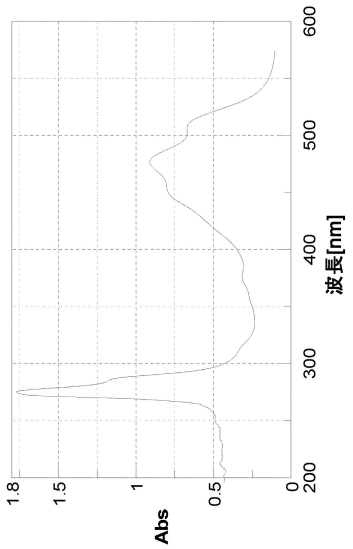
【図１３Ａ】



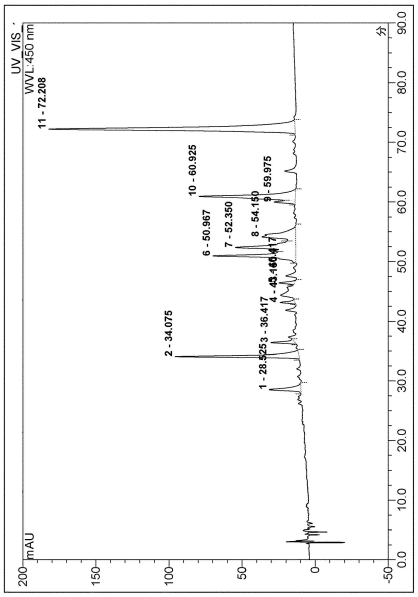
【図１３Ｂ】



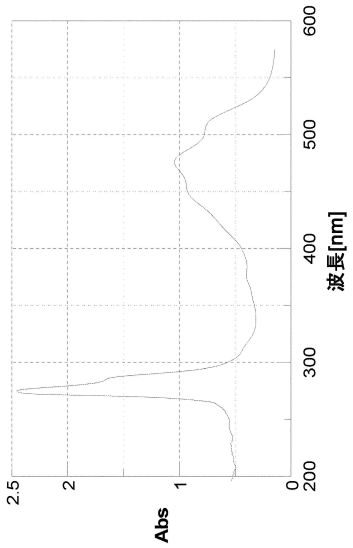
【図１４Ａ】



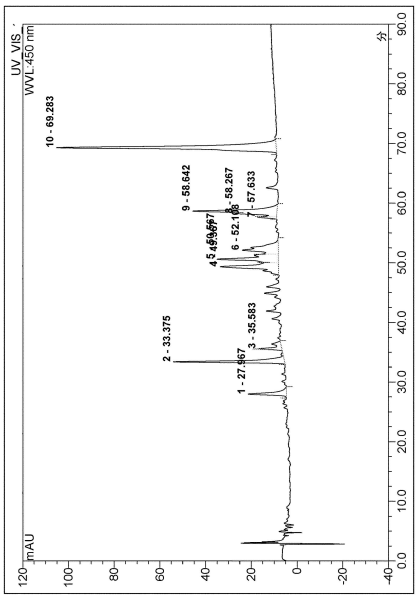
【図１４Ｂ】



【図１５Ａ】



【図１５Ｂ】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/17458

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - C12P 7/64; A23D 9/00 (2021.01)
CPC - C12P 7/64; A23D 9/00; A23D 9/013

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2013/0316410 A1 (SOLAZYME, INC.) 28 November 2013 (28.11.2013); para [0009]-[0010], [0015]-[0016], [0020], [0026], [0059], [0072], [0091], [0099]-[0100], [0113]-[0114], [0145]-[0146], [0183], [0192]-[0205], [0240], [0313]-[0314], [0326], [0334], [0394], [0461], [0526]; Fig. 20	1-4, 6-8, (9-11, 14-38, 40-41, 44-45, 48)/(1-4, 6-8), 61-62, 63/(61-62), 64, 65/(1-4, 6-8, 61, 64) --- (9-11, 14-38, 40-41, 44-45, 65)/5, (12-13, 39, 42-43, 46-47, 49-53)/(1-4, 6-8), 54-60, 63/(54-60), 65/54
X -- Y	US 2007/0003686 A1 (FICHTALI et al.) 04 January 2007 (04.01.2007); para [0039]-[0040], [0071]-[0072], [0080], [0148], [0151]-[0152]	5, (48-53)/5 --- (9-47, 65)/5
Y	US 2005/0084941 A1 (ABE et al.) 21 April 2005 (21.04.2005); para [0084]-[0085]	12-13
Y	WO 2017/017188 A1 (FUNDACION TECNALIA RESEARCH & INNOVATION et al.) 02 February 2017 (02.02.2017); pg 5 ln 3-5, 11-13	39, 42-43
Y	US 2012/0083023 A1 (YU et al.) 05 April 2021 (05.04.2012); para [0011]; claim 4	46-47
Y	US 2016/0227810 A1 (UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC. et al.) 11 August 2016 (11.08.2016); para [0107], [0196], [0220]	54-60, 63/(54-60), 65/54

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 March 2021	MAY 14 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Lee Young Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/17458

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TIEFENBACHER K. F. "Technology of Main Ingredients-Sweeteners and Lipids", Chapter 3, "The Technology of Wafers and Waffles", 2017, pp. 123-225, retrieved from the Internet: < DOI: 10.1016/B978-0-12-809438-9.00003-X >, see entire document, especially, pg 199	14
A	US 2014/0206891 A1 (NOOR et al.) 24 July 2014 (24.07.2014); para [0018]	16-17
A	US 2019/0048381 A1 (C16 BIOSCIENCES, INC.) 14 February 2019 (14.02.2019); see entire document	1-65
A	US 2012/0203018 A1 (FRANKLIN et al.) 09 August 2012 (09.08.2012); see entire document	1-65

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

フロントページの続き

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １００１９ ニューヨーク ウェスト ５４番 ストリート ６１９ ７階 シー１６ バイオサイエンシズ，インコーポレイテッド内

(72)発明者 マクナマラ，ハロルド エム．
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １００１９ ニューヨーク ウェスト ５４番 ストリート ６１９ ７階 シー１６ バイオサイエンシズ，インコーポレイテッド内

(72)発明者 ティク，シャラ
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １００１９ ニューヨーク ウェスト ５４番 ストリート ６１９ ７階 シー１６ バイオサイエンシズ，インコーポレイテッド内

(72)発明者 ヘラー，デビッド
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １００１９ ニューヨーク ウェスト ５４番 ストリート ６１９ ７階 シー１６ バイオサイエンシズ，インコーポレイテッド内

(72)発明者 モエブス，コランタン
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １００１９ ニューヨーク ウェスト ５４番 ストリート ６１９ ７階 シー１６ バイオサイエンシズ，インコーポレイテッド内

Ｆターム（参考） 4B064 AD85 CA06 CD04 DA10 DA20
4B065 AA72X CA13 CA41 CA50
4H059 BA33 BA40 BB02 BB03 BB04 BB06 BB57 BC03 BC13 BC47
BC48 CA09 CA24 DA02 DA05 DA06 EA03 EA21 EA24 EA25