



Europäisches
Patentamt
European
Patent Office
Office européen
des brevets



(11)

EP 2 145 942 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
20.01.2010 Patentblatt 2010/03

(51) Int Cl.:
C11B 1/06 (2006.01)

C11B 1/10 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **08012759.0**

(22) Anmeldetag: **15.07.2008**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT
RO SE SI SK TR**

Benannte Erstreckungsstaaten:

AL BA MK RS

(71) Anmelder: **Lonza Ltd.
4052 Basel (CH)**

(72) Erfinder: **Die Erfindernennung liegt noch nicht vor**

(54) Verfahren zur Isolierung von Ölen aus Zellen und Biomasse

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Isolierung von Ölen aus Zellen, **dadurch gekennzeichnet, dass** die nach der Zerstörung der Zellen mittels Hochdruckhomogenisation entstandene Emulsion demulgiert wird. Durch Mischung verschiedener Biomas-

sen und gegebenenfalls Zugabe von weiteren Ölen im Überschuss, können beliebige Fettsäure- bzw. Öl zusammensetzungen in einem einfachen Schritt gewonnen werden.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung umfasst ein Verfahren zur Isolierung von Ölen und/oder Fetten aus Zellen und Biomasse sowie gemäss diesem Verfahren erhältliche Öle, Fette und Ölmischungen.

5 [0002] Biologisch in Zellen erzeugte Produkte müssen oft aufwendig isoliert werden. Hierzu ist es nötig, die Zellen zu zerstören. Dies kann auf unterschiedliche Art und Weise geschehen. Im Stand der Technik beschriebene Methoden des Zellaufschlusses sind z.B. chemische oder biologische Behandlung, Einwirken von osmotischem Druck, Gefrieren und Auftauen, Ultraschall, Gefrierdispersion, Pressen, Nassvermahlung in Rührwerkskugelmühlen oder Hochdruckhomogenisation (S. Schultz et al., Hochdruckhomogenisation als ein Verfahren zur Emulsionsherstellung, Chem. Ing. Tech. 10 2002, 74 (7), 901-909).

[0003] Bei der Hochdruckhomogenisation wird das aufzuschliessende Fluid mit hohem Druck durch einen engen Spalt gepresst. Durch die geringe Spalthöhe werden nach dem Gesetz von Bernoulli eine sehr hohe Geschwindigkeit und ein sehr niedriger Druck erreicht. Durch die sich schlagartig aufbauende hohe Energiedichte, den Druckabfall und der daraus resultierenden Kavitation kommt es zu einer Beschädigung der Zellmembran.

15 [0004] Der Nachteil dieser Methode besteht darin, dass sie neben der erwünschten Zerstörung der Zellmembranen auch zu einer unerwünschten Stabilisierung der entstehenden Emulsion aufgrund der feinen Verteilung von Öltröpfchen in der kontinuierlichen wässrigen Phase führt. Zudem enthält die homogenisierte Brühe fein verteilte Zellbestandteile, weswegen man auch von einer Suspo-Emulsion spricht. Die Zellbestandteile können dabei zusätzlich einen stabilisierenden Effekt auf die Emulsion ausüben. Weiterhin wird eine Emulsion durch wasserlösliche Salze von Fettsäuren oder Proteinen stabilisiert, welche beide in der Fermentationsbrühe zu erwarten sind.

20 [0005] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, ein Verfahren bereitzustellen, welches die Isolation von Ölen, bevorzugt mehrfach ungesättigte Fettsäuren (engl: polyunsaturated fatty acids (PUFAs)) enthaltender Öle, aus Zellen oder Biomasse in einer höheren Ausbeute und mit besserer Qualität als mit aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren ermöglicht.

25 [0006] Diese Aufgabe wird durch das erfindungsgemäße Verfahren gelöst, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass die mittels Hochdruckhomogenisation erzeugte Suspo-Emulsion demulgiert wird.

[0007] Dabei kann die erfindungsgemäße Demulgation mechanisch, physikalisch, (elektro-)chemisch oder durch beliebige Kombination dieser Demulgationsmethoden erfolgen.

30 [0008] Die mechanische Demulgation erfolgt bevorzugt mittels Zentrifugation, Sedimentation, Flotation, Ultra-Filtration mit Kapillar-Membranen oder anderen Membranen.

[0009] Die mechanische Demulgation erfolgt bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0-100°C.

[0010] Die physikalische Demulgation erfolgt bevorzugt mittels Physisorption oder Extraktion der erhaltenen Suspo-Emulsion mit einem oder mehreren linearen, zyklischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffen, wie z.B. Propan, Hexan, Cyclohexan oder Toluol.

35 [0011] Ein besonders bevorzugtes Lösemittel ist Hexan.

[0012] Die physikalische Demulgation erfolgt bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0-100°C.

[0013] Die elektrochemische Demulgation erfolgt bevorzugt mittels Elektrokoagulation oder Elektrophorese. Die chemische Demulgation erfolgt bevorzugt mittels Chemisorption, Elektrolytzugabe oder eines oberflächenaktiven Hilfsstof- fes.

40 [0014] Bevorzugt ist die chemische Demulgation mittels eines Tensids, besonders bevorzugt mit einem Fettalkoholethoxylat, insbesondere mit Triethylenglycolmonodecylether.

[0015] Das erfindungsgemäße Tensid wird in einer Konzentration von bis zu 25 g/l, bevorzugt von 10-20 g/l und besonders bevorzugt von 20 g/l eingesetzt.

[0016] Die chemische Demulgation erfolgt bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0-100°C.

45 [0017] Die Erfindung umfasst des Weiteren Öle erhältlich gemäss dem erfindungsgemäßen Verfahren. In einer bevorzugten Ausführungsform enthalten diese Öle omega-3 und/oder omega-6 Fettsäuren wie z.B. Docosahexaensäure (DHA), Docosapentaensäure (DPA), Eicosapentaensäure (EPA), Alphalinolensäure (ALA), Arachidonsäure (ARA), Gammalinolensäure (GLA), Dihomogammalinolensäure (DHGLA), Linolensäure (LA), oder Mischungen der genannten Fettsäuren. Tab. 1 zeigt ein Beispiel für ein DHA reiches Öl gemäss der vorliegenden Erfindung. Mischungen von einer oder mehrerer der genannten omega-3 und/oder omega-6 Fettsäuren mit gesättigten oder einfach ungesättigten Fett- säuren bilden eine weitere bevorzugte Ausführungsform.

Tabelle 1: Typische Zusammensetzung des erfindungsgemäßen Öls

Chemischer Name (englisch)	Abkürzung	Mittelwert aus Doppelbestimmung GC-Flächen%
Tetradecanoic acid	Myristin	1.7

(fortgesetzt)

	Chemischer Name (englisch)	Abkürzung	Mittelwert aus Doppelbestimmung GC-Flächen%
5	Pentadecanoic acid	Pentadecan	1.1
	Hexadecanoic acid	Palmitin	24.7
10	Heptadecanoic acid	Heptadecan	0.4
	Octadecanoic acid	Stearin	0.7
15	All-cis-4,7,10,13-eicosatetraenoic acid	ETA (7)	0.5
	All-cis-8,11,14,17-eicosatetraenoic acid	ETA (3)	0.7
	All-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid	EPA	0.1
20	All-cis-4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid	DPA (6)	12.2
	All-cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid	DPA (3)	0.4
	All-cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid	DHA	53.2
25	Andere	Andere	3.5
			Mass %
30	All-cis-4,7,10,13,16;19-docosahexaenoic acid	DHA	22.9

[0018] Das mit dem erfindungsgemässen Verfahren erhältliche Öl ist gegenüber dem mittels der im Stand der Technik bekannten Verfahren erzeugten Öl durch eine besonders hohe Qualität, welche sich in einer Peroxidzahl von < 5 meq/kg und einem Anisidinwert von < 30 manifestiert, gekennzeichnet.

[0019] Erfindungsgemäss können Mikroorganismen verwendet werden, welche sich zur Gewinnung von PUFA eignen. Diese Mikroorganismen finden sich beispielsweise bei den Bakterien unter der Gattung *Vibrio* (z. B.: *Vibrio marinus*) oder unter den Dinoflagellaten (*Dinophyta*), dort insbesondere die Gattung *Cryptothecodinium*, wie *C. cohnii* oder unter den Stramenopiles, wie die *Pinguiophyceae* wie z.B. *Glossomastix*, *Phaeomonas*, *Pinguiochrysis*, *Pinguiococcus* und *Polydochrysis*. Bevorzugte Mikroorganismen zur fermentativen Herstellung von PUFA gehören zu den Stramenopiles (oder *Labyrinthothomycota*), insbesondere zur Ordnung *Thraustochytriales*, (*Thraustochytriidea*) und dort wieder insbesondere zu den Gattungen *Japonochytrium*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium*, *Althomia*, *Labytinthuloides*, *Aplanochytrium* und *Ulkenia*, sowie Zygomycetes wie *Mortierella alpina*, *Mortierella elongata* oder andere Spezies, *Pythium insidiosum*, *Pythium irregulare* oder andere Spezies.

[0020] Durch Mischung von zwei oder mehr verschiedenen Öl-haltigen Biomassen in beliebigen Verhältnissen können durch geschickte Auswahl der Biomassen, bzw. der entsprechenden Ölzusammensetzungen der Biomassen, nahezu alle gewünschten spezifischen Öl- bzw.- Fettsäurespektren gewonnen werden. Bevorzugt sind z.B. Mischungen von omega-3 DHA-haltiger und omega-6 Arachidonsäure (ARA)-haltiger Biomasse, z.B. von *Ulkenia spec.* und *Mortierella alpina*, gegebenenfalls unter Zugabe weiterer Öl-haltiger Biomassen.

[0021] In einer weiteren Ausführungsform kann Biomasse oder Zellmaterial von ein oder mehr Quellen gemeinsam unter Zugabe von weiteren Ölen extrahiert werden. Durch die Auswahl der Biomasse(n) und der weiteren Öle, sowie der eingesetzten Verhältnisse, können ebenfalls viele gewünschte Ölzusammensetzungen in einem Schritt gewonnen werden.

[0022] In einer bevorzugten Ausführung werden Biomassen oder Zellen mit einem hohen PUFA-Gehalt unter Zugabe eines Überschuss an Ölen mit niedrigerem PUFA-Gehalt extrahiert, wodurch eine Stabilisierung (Schutz vor Oxidation) der PUFA erfolgt. Als Öle eignen sich insbesondere Pflanzenöle wie Sonnenblumenöl, Olivenöl, Palmöl, Distelöl, Boregöl, Nachtkerzenöl, Maisöl, Sojaöl, Leinöl, Rapsöl, aber auch tierische Öle, wie Fischöl, Krillöl, etc. sowie fraktionierte Öle auf dieser Basis, sowie darüber hinaus beliebige Ölmischungen.

[0023] In einer besonders bevorzugten Form wird mit einem Überschuss von Palm Olein extrahiert. Palm Olein (fraktionierte Palm Öl) enthält ein Gemisch aus PUFA, einfach ungesättigten und gesättigten Fettsäuren. Die relative Zusammensetzung ist ca. 44% Ölsäure, 10% Linolsäure, 40% Palmitinsäure und 5% Stearinsäure. In einer ganz besonders bevorzugten Form wird DHA und ARA-haltige Biomasse im Verhältnis von 5:1 bis 1:5 (bezogen auf ARA bzw. DHA-

Gehalt) mit einem bis zu zwanzigfachen Überschuss von pflanzlichen oder tierischen Ölen, wie Sonnenblumenöl, Olivenöl, Palmolein-Öl, Fischöl etc. extrahiert.

[0024] Die Erfindung wird durch folgende, nicht limitierende Beispiele erläutert.

5 Beispiel 1

[0025] Wässrige Fermentationsbrühe Ulkenia sp. Stamm SAM2179 wird kontinuierlich einem Hochdruckhomogenisator (z.B. APV 2000) zugeführt. Die Hochdruckhomogenisation kann dabei ein- oder zweistufig erfolgen, wobei der Druck der letzten Stufe so hoch gewählt wird, dass der überwiegende Teil der Algenzellen zerstört wird. Der für die obige Fermentationsbrühe notwendige Druck des Hochdruckhomogenisators zum quantitativen Aufschluss der Zellen betrug dabei mindestens 60MPa. Die dabei entstehende Suspo-Emulsion kann nun erfindungsgemäß durch

- 10
15
- a) mechanische
 - b) physikalische
 - c) chemische

Methoden demulgiert, d.h. eine Freisetzung des PUFA-haltigen Öls erreicht werden.

- 20
- a) Als mechanische Demulgation kann z.B. Zentrifugation in Betracht gezogen werden. Aus 50mL der hochdruckhomogenisierten wässrigen Mikroalgensuspension erhielt man nach 24 Stunden Röhren bei 60°C und anschliessender Zentrifugation für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute 0.74g Öl, entsprechend einer Ölausbeute von 62% (wobei davon der DHA-Anteil 20.2 Gew% betrug).

25

 - b) 500 g der hochdruckhomogenisierten Suspo-Emulsion wurden mit 200mL Hexan bei Zimmertemperatur ausgeschüttelt und anschliessend wurde diese Lösung für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die so erhaltene Hexanphase separiert. Die verbleibende wässrige Phase wurde noch zweimal mit je 200mL Hexan extrahiert und zentrifugiert. Nach Vereinigung der organischen Phasen und Abdampfen des Hexans bei 200 mbar und 40°C am Rotationsverdampfer verblieb 13.8 g Öl, entsprechend einer Ölausbeute von 92% (wobei davon der DHA-Anteil 33.1 Gew% betrug).

30

 - c) 50mL der hochdruckhomogenisierten wässrigen Mikroalgensuspension wurden mit 0.75 g des Fettalkoholethoxylats Dehydol D3 sechs Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wurde diese Lösung für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und so 1.14 g Öl enthalten, entsprechend einer Ölausbeute von 95% (wobei davon der DHA-Anteil 33.3 Gew% betrug).

35 Beispiel 2

[0026] Wässrige Fermentationsbrühe mit DHA-haltiger Ulkenia (Stamm SAM2179) Biomasse (Ölgehalt ca. 50%, DHA-Gehalt im Öl ca. 44%) wurde mit ARA-haltiger Biomasse (*Mortierella alpina*, Ölgehalt ca. 55%, ARA-Gehalt im Öl ca. 40%) im Verhältnis 1:1 (jeweils bezogen auf Biomassetrockengewichtgehalt) kontinuierlich einem Hochdruckhomogenisator (z.B. APV 2000) zugeführt. Die Hochdruckhomogenisation kann dabei ein- oder zweistufig erfolgen, wobei der Druck der letzten Stufe so hoch gewählt wird, dass der überwiegende Teil der Zellen zerstört wird. Der für die obige Fermentationsbrühe notwendige Druck des Hochdruckhomogenisators zum quantitativen Aufschluss der Zellen betrug dabei mindestens 60MPa. Die dabei entstehende Suspo-Emulsion kann nun erfindungsgemäß durch mechanische, physikalische oder chemische Methoden demulgiert und somit eine Freisetzung des PUFA-haltigen Öls erreicht werden. 50 mL der hochdruckhomogenisierten wässrigen Suspension wurden mit 0.75 g des Fettalkoholethoxylats Dehydol D3 sechs Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wurde diese Lösung für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und so ca. 1 g Öl enthalten, entsprechend einer Ölausbeute von ca. 90-95% und einem Verhältnis von DHA zu ARA von ca. 1:1.

50 Beispiel 3

[0027] Wässrige Fermentationsbrühe mit DHA-haltiger Ulkenia (Stamm SAM2179) Biomasse wurde unter Zugabe von Sonnenblumenöl im Überschuss kontinuierlich einem Hochdruckhomogenisator (z.B. APV 2000) zugeführt. Es wurde folgendes Mischungsverhältnis gewählt:

- i) Fermentationsbrühe von DHA-haltiger Ulkenia Biomasse (5,5 Liter, entsprechend ca. 335 g Biotrockenmasse, Ölgehalt ca. 50%, DHA-Gehalt im Öl ca. 50%)

ii) 0.095 kg Sonnenblumenöl.

[0028] Die Hochdruckhomogenisation erfolgte gemäss Bsp. 2.

5 [0029] 50 mL der hochdruckhomogenisierten wässrigen Suspension wurden mit 0.75 g des Fettalkoholethoxylats Dehydol D3 sechs Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wurde diese Lösung für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und so ca. 2.3 g Öl enthalten, entsprechend einer Ölausbeute von ca. 95% und einem DHA-Gehalt von 32%.

Beispiel 4

10 [0030] Extraktion von ARA-haltiger Biomasse wurde unter Zugabe von Fischöl (DHA-Gehalt 25%) und Plamitolein-Öl im Überschuss mittels Hochdruckhomogenisator (z.B. APV 2000). Es wurde folgendes Mischungsverhältnis gewählt:

- 15 i) ARA-haltige Mortierella alpina Biomasse (entsprechend ca. 225 g Biotrockenmasse, Ölgehalt ca. 55%, ARA-Gehalt im Öl ca. 40%)
 ii) 0.3 kg Palmitolein-Öl.
 iii) 0.2 kg Fischöl (DHA 25%)

[0031] Die Hochdruckhomogenisation erfolgte gemäss Bsp. 2.

20 [0032] 50 mL der hochdruckhomogenisierten wässrigen Suspension wurden mit 0.75 g des Fettalkoholethoxylats Dehydol D3 sechs Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wurde diese Lösung für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und so ca. 5 g Öl enthalten, entsprechend einer Ölausbeute von ca. 95% und einem ARA-Gehalt von ca. 8% und einem DHA Gehalt von ca. 8%.

25 **Beispiel 5**

30 [0033] Wässrige Fermentationsbrühe mit DHA-haltiger Ulkenia (Stamm SAM2179) Biomasse (Ölgehalt ca. 50%, DHA-Gehalt im Öl ca. 44%) wurde mit ARA-haltiger Biomasse (Mortierella alpina, Ölgehalt ca. 55%, ARA-Gehalt im Öl ca. 40%) im Verhältnis 1:2 (jeweils bezogen auf trockene Biomasse) unter Zugabe von Palmolein im Überschuss kontinuierlich einem Hochdruckhomogenisator (z.B. APV 2000) zugeführt. Es wurde folgendes Mischungsverhältnis gewählt:

- 35 i) Fermentationsbrühe von DHA-haltiger Ulkenia Biomasse (5,5 Liter, entsprechend ca. 335 g Biotrockenmasse, Ölgehalt ca. 50%, DHA-Gehalt im Öl ca. 44%)
 ii) ARA-haltige Mortierella alpina Biomasse (entsprechend ca. 665 g Biotrockenmasse, Ölgehalt ca. 55%, ARA-Gehalt im Öl ca. 40%)
 iii) 1.3 kg Palmolein Öl.

[0034] Die Hochdruckhomogenisation erfolgte gemäss Bsp. 2.

40 [0035] 50 mL der hochdruckhomogenisierten wässrigen Suspension wurden mit 0.75 g des Fettalkoholethoxylats Dehydol D3 sechs Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Danach wurde diese Lösung für 10 Minuten bei 3300 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und so ca. 5 g Öl enthalten, entsprechend einer Ölausbeute von ca. 95% und einem Verhältnis von DHA zu ARA von ca. 1:2.

45 **Patentansprüche**

1. Verfahren zur Isolierung eines Öls aus Zellen und/oder Biomasse, **dadurch gekennzeichnet, dass** die nach der Zerstörung der Zellen mittels Hochdruckhomogenisation entstandene Emulsion demulgiert wird.
- 50 2. Verfahren gemäss Anspruch 1, wobei die Demulgation chemisch erfolgt.
3. Verfahren gemäss Anspruch 2 wobei die Demulgation mittels eines Tensids erfolgt.
4. Verfahren gemäss Anspruch 3 wobei es sich bei dem Tensid um ein Fettalkoholethoxylat handelt.
- 55 5. Verfahren gemäss Anspruch 4 wobei es sich bei dem Tensid um Triethylenglycolmonodecylether handelt.
6. Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 3-5, wobei das Tensid in einer Konzentration von bis zu 25

g/l, bevorzugt von 10-20 g/l und besonders bevorzugt von 20 g/l eingesetzt wird.

7. Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 1-6, wobei die Demulgation bei einer Temperatur von 0-100°C erfolgt.

5 8. Verfahren gemäss Anspruch 1, wobei die Demulgation mechanisch erfolgt.

9. Verfahren gemäss Anspruch 8, wobei die Demulgation mittels einer Zentrifuge erfolgt.

10 10. Verfahren gemäss den Ansprüchen 8 und/oder 9, wobei die Demulgation bei einer Temperatur von 0-100°C erfolgt.

11. Verfahren gemäss Anspruch 1, wobei die Demulgation physikalisch erfolgt.

15 12. Verfahren gemäss Anspruch 11, wobei die Demulgation mittels Extraktion der Suspo-Emulsion mit einem oder mehreren linearen, zyklischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffen erfolgt.

13. Verfahren gemäss Anspruch 12, wobei es sich bei dem Lösemittel um Hexan handelt.

20 14. Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 11-13, wobei die Demulgation bei einer Temperatur von 0-100°C erfolgt.

- 25 15. Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 1-14, wobei Omega-3 PUFA-produzierende Mikroorganismen verwendet werden, die zur Gruppe von Thraustochytriales gehören, wie z.B. Stämme von Ulkenia, Thraustochytrium und/oder Schizochytrium und/oder omega-6 produzierende Mikroorganismen wie Mortierella oder Pythium

- 30 16. Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 1-15, wobei den Zellen bzw. der Biomasse vor der Hochdruckhomogenisation mindestens ein weiteres Öl und/oder mindestens eine weitere Öl-haltige Biomasse zugegeben wird.

- 35 17. Verfahren gemäss Anspruch 16, wobei es sich um Öle mit einer niedrigeren PUFA-Konzentration handelt.

- 30 18. Verfahren gemäss Anspruch 17, wobei es sich um Pflanzenöle, tierische Öle und/oder fraktionierte Öle handelt.

- 35 19. Verfahren gemäss Anspruch 18, wobei die Öle ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Sonnenblumenöl, Olivenöl, Palmöl, Distelöl, Boregöl, Nachtkerzenöl, Maisöl, Sojaöl, Leinöl, Rapsöl, Fischöl und/oder Krillöl.

- 40 20. Verfahren gemäss Anspruch 18, wobei es sich um fraktioniertes Palmöl handelt.

- 45 21. Verfahren gemäss Anspruch 16, wobei es sich um eine DHA-haltige und eine ARA-haltige Biomasse im Verhältnis von 5:1 bis 1:5 handelt.

- 40 22. Öl, erhältlich gemäss einem Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 1-21.

- 45 23. Öl gemäss Anspruch 22, enthaltend Docosahexaensäure (DHA) und/oder Docosapentaensäure (DPA).

50 24. Öl gemäss Anspruch 23, wobei das Öl eine Peroxidzahl von < 5 meq/kg und einen Anisidinwert von < 30 aufweist.

- 55 25. Mischung von mindestens 2 Zellarten und/oder Biomassen zur Anwendung in einem Verfahren gemäss mindestens einem der Ansprüche 1-21.

50 26. Mischung gemäss Anspruch 25, enthaltend mindestens ein weiteres Öl.

- 55 27. Mischung gemäss Anspruch 26, wobei es sich bei dem Öl um Pflanzenöle, Tieröle und/oder fraktionierte Öle handelt.

- 55 28. Mischung gemäss Anspruch 27, wobei es sich bei dem Öl um Sonnenblumenöl, Olivenöl, Palmöl, Distelöl, Boregöl, Nachtkerzenöl, Maisöl, Sojaöl, Leinöl, Rapsöl, Fischöl und/oder Krillöl handelt.

- 55 29. Verwendung des Öls gemäss mindesten einem der Ansprüche 22-24 als Zusatz für Lebensmittel, Nahrungsergänzungsmittel, Tierfutter.

EP 2 145 942 A1

- 30.** Verwendung gemäss Anspruch 29, wobei es sich um spezielle Ernährungsprodukte wie z.B. Babymilch, Babynahrung, medizinische Ernährungsprodukte, dietätische Produkte sowie um Produkte gemäss PARNUTS ("foods for particular nutritional uses") handelt.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 08 01 2759

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	WO 97/04121 A (ZENECA LTD [GB]; LIDDELL JOHN MACDONALD [GB]) 6. Februar 1997 (1997-02-06) * Beispiele 1-3 *	1-24,29, 30	INV. C11B1/06 C11B1/10
X	WO 02/10423 A (DSM NV [NL]; BIJL HENDRIK LOUIS [NL]; SCHAAP ALBERT [NL]) 7. Februar 2002 (2002-02-07) * Beispiele 1-3 *	1-24,29, 30	
X	WO 01/60974 A (NORFERM DA [NO]; GOLDING LOUISE [GB]; JÖHANNESSEN ARILD [NO]; KLEPPE G) 23. August 2001 (2001-08-23) * Beispiele 1,2 *	25-28	
X	WO 2006/046943 A (MARTEK BIOSCIENCES CORP [US]; WEAVER CRAIG A [US]; KOBZEFF JOSEPH M [U] 4. Mai 2006 (2006-05-04) * Seite 5, Zeile 14 - Seite 10, Zeile 22 * * Beispiele 1-8 *	1-24,29, 30	
X	EP 1 166 652 A (SUNTORY LTD [JP]; NAGASE & CO LTD [JP]) 2. Januar 2002 (2002-01-02) * Absatz [0057] *	22-30	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) C11B
A	US 2005/170479 A1 (WEAVER CRAIG A [US] ET AL) 4. August 2005 (2005-08-04) * Absätze [0024], [0025], [0029], [0030] * * Beispiele 1-8 *	1-30	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
3	Recherchenort Den Haag	Abschlußdatum der Recherche 6. März 2009	Prüfer Rooney, Kevin
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 08 01 2759

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patendokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

06-03-2009

Im Recherchenbericht angeführtes Patendokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9704121	A	06-02-1997	AT AU CA DE DE DK EP ES JP US	201907 T 6467096 A 2226427 A1 69613228 D1 69613228 T2 843733 T3 0843733 A1 2158323 T3 2001507379 T 6180376 B1		15-06-2001 18-02-1997 06-02-1997 12-07-2001 11-10-2001 03-09-2001 27-05-1998 01-09-2001 05-06-2001 30-01-2001
WO 0210423	A	07-02-2002	AU AU BR CA CN EP JP MX NO NZ US ZA	9371101 A 2001293711 B2 0112942 A 2417571 A1 1447860 A 1178118 A1 2004504849 T PA03000878 A 20030510 A 523884 A 2004067574 A1 200300787 A		13-02-2002 24-08-2006 08-07-2003 07-02-2002 08-10-2003 06-02-2002 19-02-2004 06-06-2003 31-03-2003 24-09-2004 08-04-2004 19-02-2004
WO 0160974	A	23-08-2001	AT AU AU BR CA CN DE DE EP ES JP US US	278010 T 3212201 A 2001232122 B2 0108412 A 2400605 A1 1426460 A 60105985 D1 60105985 T2 1265982 A2 2230270 T3 2003523196 T 2003138878 A1 2007003602 A1		15-10-2004 27-08-2001 23-11-2006 11-03-2003 23-08-2001 25-06-2003 04-11-2004 24-11-2005 18-12-2002 01-05-2005 05-08-2003 24-07-2003 04-01-2007
WO 2006046943	A	04-05-2006	KEINE			
EP 1166652	A	02-01-2002	AT AU AU CA DE DK	361676 T 766660 B2 2830600 A 2362515 A1 60034775 T2 1166652 T3		15-06-2007 23-10-2003 21-09-2000 08-09-2000 17-01-2008 10-09-2007

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 08 01 2759

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

06-03-2009

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 1166652 A		ES 2286999 T3 WO 0051444 A1 US 6596766 B1	16-12-2007 08-09-2000 22-07-2003
US 2005170479 A1	04-08-2005	KEINE	

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- **S. Schultz et al.** Hochdruckhomogenisation als ein Verfahren zur Emulsionsherstellung. *Chem. Ing. Tech.*, 2002, vol. 74 (7), 901-909 [**0002**]