



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2004 062 141 A1** 2006.07.06

(12)

## Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2004 062 141.1**

(22) Anmeldetag: **23.12.2004**

(43) Offenlegungstag: **06.07.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **C11B 1/06** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

**A23D 9/013** (2006.01)

(71) Anmelder:

**Nutrinova Nutrition Specialties & Food  
Ingredients GmbH, 65929 Frankfurt, DE**

(72) Erfinder:

**Fabritius, Dirk, Dr., 55116 Mainz, DE**

(74) Vertreter:

**Luderschmidt, Schüler & Partner, Patentanwälte,  
65929 Frankfurt**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
gezogene Druckschriften:

**DE 4 96 466 A**

**EP 05 15 460 B1**

**WO 04/0 22 678 A1**

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Herstellung eines Rohöls aus Gemischen von Mikroorganismen und Pflanzen, das so hergestellte Öl sowie die spezifischen Verwendungen des so hergestellten und gegebenenfalls zusätzlich raffinierten Öls**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Rohöls aus Mikroorganismen und Pflanzen, das so hergestellte Öl sowie die spezifischen Verwendungen des so hergestellten und gegebenenfalls zusätzlich raffinierten Öls in Nahrungsmitteln, in Nahrungsergänzungsmitteln oder in kosmetischen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen.

## Beschreibung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Rohöls aus Gemischen von Mikroorganismen und Pflanzen, das so hergestellte Öl sowie die spezifischen Verwendungen des so hergestellten und gegebenenfalls zusätzlich raffinierten Öls in Nahrungsmitteln, in Nahrungsergänzungsmitteln, oder in kosmetischen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen.

### Stand der Technik

**[0002]** Öle, welche langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie beispielsweise Arachidonsäure (ARA), Docosapentaensäure (DPA), Docosahexaensäure (DHA), Eicosapentaensäure (EPA), Stearidonsäure (SA) oder Dihomogammalinolensäure (DHGLA) enthalten, können aus der Kultivierung von Mikroorganismen gewonnen werden. Hierzu wird normalerweise ein Mikroorganismus, der reich an einer oder mehrerer der genannten Fettsäuren ist, gezüchtet, die Biomasse wird aus der Kultur geerntet, aufgeschlossen und das Öl isoliert. Zur Isolierung des Öls aus der Biomasse wurden bisher vor allem Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln, beispielsweise Hexan, oder mit superkritischen Flüssigkeiten verwendet. Im Allgemeinen wird das Öl aus der Biomasse durch Perkolation der getrockneten Biomasse mit Hexan extrahiert. Solche Extraktionen mit organischen Lösungsmitteln sind beispielsweise in der WO 97/37032, der WO 97/43362, der EP515460 und vielen anderen Dokumenten mehr beschrieben. Eine besonders ausführliche Darstellung findet sich auch im Journal of Dispersion Science and Technology, 10, 561-579, 1989 "Biotechnological Processes for the Production of PUFAs".

**[0003]** Es wird normalerweise angestrebt, einen möglichst hohen Triglyceridanteil im fertigen Öl zu erreichen, insbesondere wenn es für Speisemittel Verwendung finden oder pharmazeutisch/kosmetischen Zwecken zugeführt werden soll. Phospholipide und freie Fettsäuren gelten als Verunreinigungen im fertigen Öl. Lösungsmittel sollen im fertigen Öl ebenfalls nicht mehr in nennenswerten Anteilen vorhanden sein. Bei Verwendung einer Biomasse mit hohem Phospholipidanteil hat, kann man die Phospholipide gegebenenfalls ohne Zusatz weiterer Lösungsmittel (z.B. Ethanol) mithilfe der natürlich vorhandenen Triglyceride, die ja auch als Lösungsmittel wirken, extrahieren. Insbesondere Phospholipide enthaltend PUFAs sind schwer zu isolieren, teuer, aber für viele Anwendungen wünschenswert.

**[0004]** Daher bietet die Extraktion der PUFAs mit Lösungsmitteln eine Reihe prinzipieller Nachteile. So können die PUFAs während der Extraktion mit heißen Lösungsmitteln oder der Abdestillierung des Lösungsmittels mit Luftsauerstoff reagieren und damit

durch eine unerwünschte Oxidation an der Doppelbindung spezifische Abbauprodukte bilden (Degradation), die hochgradig unerwünscht sind. Soll weiterhin das Lösungsmittel komplett abgetrennt werden erfordert dies im Allgemeinen eine Hitzebehandlung bei hoher Temperatur, wobei diese Bedingungen der Degradation weiter förderlich sind. Bei Verwendung organischer Lösungsmittel besteht immer Explosionsgefahr, die teure Sicherheitsvorkehrungen nötig macht. Hexan ist in der Diskussion als Nervengift. Es gibt daher gesetzliche Grenzwerte die kontrolliert werden müssen, was die Kosten weiter erhöht. Auch ist die Entsorgung der entsprechenden Abfälle kostenintensiv.

**[0005]** Außerdem kann das Lösungsmittel wie beispielsweise Hexan auch andere Bestandteile aus der Biomasse lösen, die keine Triglyceride sind, und daher Verunreinigungen darstellen, die später entweder gar nicht abgetrennt werden können oder nur mit hohem Aufwand.

**[0006]** Das nach der Abtrennung des Lösungsmittels erhaltene Rohöl muss dann also weiter raffiniert werden, wenn das Öl als Speiseöl und/oder für pharmazeutische Zwecke erhalten werden soll. Die Raffinierungsschritte umfassen das Degummieren (Entschleimung), die Neutralisierung mit alkalischer Lösung, die Entfärbung, das Entwachsen und die Deodorisierung, um die Verunreinigungen wenigstens zu einem Teil zu entfernen. Dies bedeutet jedoch, dass das Öl, welches die hoch ungesättigten Fettsäuren enthält, Bedingungen ausgesetzt wird, bei denen das Auftreten von physikochemikalischen Reaktionen gerade an den ungesättigten Fettsäuren wahrscheinlich wird.

**[0007]** Es gibt jedoch auch Verfahren zur Extraktion von Biomassen, bei denen ein Lösungsmittel nicht verwendet wird, siehe z.B. die EP-A-1178118. Nach dem dort beschriebenen Verfahren wird ein Lösungsmittel vermieden, in dem eine wässrige Suspension der Biomasse hergestellt wird, und die Ölphase durch Zentrifugation aus der wässrigen Phase abgetrennt wird. Die wässrige Phase enthält Zellwandreste und eine bestimmte Menge von wasserlöslichen Material, welches aus der Biomasse stammt. Ein großer Nachteil dieses Verfahrens ist die Tatsache, dass das Rohöl eine Vielzahl von Verunreinigungen enthält wie beispielsweise polare Lipide, Proteinreste und so weiter. Das so erhaltene Rohöl muss also über konventionelle Verfahren raffiniert werden wie sie für Pflanzenöle und mikrobielle Öle vorbeschrieben sind.

**[0008]** In der WO 2004/022678 wird ein Verfahren zur Herstellung PUFA-enthaltender mikrobieller Öle beschrieben, bei dem ein PUFA enthaltendes Öl aus einer Biomasse aus Mikroorganismen durch Pressen erhalten wird. Der verbliebene Presskuchen wird mit einem Trägeröl gemischt, und erneut gepresst, wobei

das Trägeröl dabei helfen soll, verbleibende PUFAs aus dem Presskuchen zu lösen, wobei man ein zweites Pressöl erhält, welches eine geringere PUFA-Konzentration aufweist als das erste Pressöl. Durch Vermischen beider Öle in wechselnden Gewichtsanteilen können PUFA-Konzentrationen erhalten werden, die für die jeweils gewünschte Anwendung angepasst sind. Im Prinzip wird hier also ein zweites Öl als Lösungsmittel verwendet. Dieses Verfahren besitzt im Prinzip die gleichen Nachteile wie sie für den davor beschriebenen Stand der Technik zutreffen.

**[0009]** Insgesamt ist das Verpressen von bestimmten Biomassen, insbesondere aus Mikroorganismen wie z.B. *Ulkenia spec.* schwierig und erfordert oft drastische Bedingungen wie hohen Drücken und hohen Temperaturen. Dies geht zu Lasten der Ausbeute und Qualität. Weiterhin entsteht hierdurch eine erhebliche Geruchsbelästigung, welche auch eine Gefährdung des Personals in der Produktionsanlage darstellt.

**[0010]** Außerdem kann das Trägeröl selbst oxidiert werden, worunter die Qualität leiden würde. Im schlimmsten Fall kann sich das Trägeröl durch Oxidation selbst entzünden (bekanntes Problem wenn PUFAs auf großen Oberflächen längere Zeit an der Luft lagern (z.B. Aktivkohle, Bleicherde)).

#### Aufgabenstellung

**[0011]** Es ist daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, die Nachteile des Standes der Technik zu vermeiden, in dem ein Verfahren zur Herstellung eines stabilen Öls bereitgestellt wird, wobei das Öl eine oder mehrere mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthält, welche aus der Biomasse stammt und in Form von Triacylglyceriden oder Phospholipiden in relativ reinem Zustand und hoher Ausbeute vorliegt, und bei dem das Öl nur einer minimalen Degradation unterliegt.

**[0012]** Soll das Öl als Speiseöl verwendet werden, ist ein hoher Anteil Triglyceride bevorzugt.

**[0013]** Diese sowie weitere Aufgaben, die sich aus den Nachteilen des diskutierten Stands der Technik für den Fachmann ohne weiteres ergeben, werden gelöst durch ein Verfahren mit allen Merkmalen des Anspruchs 1.

**[0014]** Bevorzugte Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung sind in den abhängigen Unteransprüchen und den nebengeordneten Ansprüchen beschrieben und beansprucht.

**[0015]** Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere Biomassen, die aus der Kultur von Mikroorganismen stammen, insbesondere

aus der Kultur eines Pilzes oder einer Mikroalge, und die mindestens eine der ungesättigten Fettsäuren ARA, DHGLA, DPA, DHA oder EPA enthalten, mit einer zweiten, unterschiedlichen Biomasse vermischt werden, und durch Verpressen der beiden Biomassen ein Öl gewonnen wird.

**[0016]** Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung wird unter einem Öl auch ein Lipid oder ein Fett verstanden.

**[0017]** Aus dem erhaltenen Rohöl können durch dem Fachmann ohne weiteres bekannte Verfahrensschritte einzelne Bestandteile wie Triglyceride oder Phospholipide aufgereinigt werden, je nach gewünschter Anwendung.

**[0018]** Damit betrifft vorliegende Erfindung sowohl das mit dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältliche Rohöl als auch die darüber erhältlichen einzelnen Fraktionen wie beispielsweise Triglyceridgemische oder Phospholipidfraktionen

**[0019]** Unter einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung stellt die zweite Biomasse Sonnenblumensaat dar.

**[0020]** Die zweite Biomasse kann jedoch selbst auch eine mikrobielle Biomasse sein.

**[0021]** Unter einem weiteren bevorzugten Gesichtspunkt wird die mikrobielle Biomasse vor dem Zumischnen der zweiten Biomasse getrocknet. Unter einem weiteren bevorzugten Gesichtspunkt stammen die mikrobiellen Biomassen aus der Kultivierung folgender Organismen *Mortierella*, *Cryptocodium* (Dinoflagellaten), *Thraustochytrium*, *Schizochytrium* (Labyrinthulomycetes), *Phaeodactylum*, *Nanochloropsis*, *Euglena*, *Tetrahymena*, *Spirulina* sowie bevorzugt *Ulkenia spec.*

**[0022]** Es hat sich gezeigt, dass bei der Verwendung von Sonnenblumensaat der Pressvorgang erheblich vereinfacht wird. Dies liegt zum Einen daran, dass die Sonnenblumenkerne als zusätzliche Reinigungsmittel dienen, die den Aufschluss der Biomasse erleichtern. Außerdem sind Sonnenblumenkerne selbst reich an hochwertigem Pflanzenöl. Dieses wird beim Pressvorgang freigesetzt und dient zum Einen als Schmierstoff für die Mühle, erleichtert so das Verpressen, und das mit freigesetzte Sonnenblumenöl dient gleichzeitig als Lösungsmittel für die hohen Anteile an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die als Triglyceride in der mikrobiellen Biomasse vorhanden sind.

**[0023]** Vorteilhaft können Antioxidantien in der Saat/Biomasse einen zusätzlichen stabilisierenden Einfluss auf das Produkt haben. So bildet beispielsweise *Cryptocodium* Antioxidantien, die DHA Öl

stark stabilisieren können. So bietet das Verfahren auf völlig überraschende Weise einen einfachen Ansatz, mikrobielle Öle, die reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind, auf schonende Weise und in hervorragender Ausbeute zur Verfügung zu stellen.

**[0024]** Gleichzeitig kann durch Einstellen der Menge an zugegebenen Sonnenblumenkernen ein Öl erhalten werden, welches unterschiedliche Konzentrationen an PUFAs enthält, und gleichzeitig auch unterschiedliche Mengen an Sonnenblumenölanteilen enthält. Damit können Designeröle entwickelt werden, die spezifisch auf besondere Applikationen angepasst sind.

**[0025]** Auch kann beispielsweise als zweite Biomasse z.B. der Pilz *Mortierella* eingesetzt werden, der hohe Anteile an ARA (Arachidonsäure) enthält. Bei z.B. Verwendung von *Ulkenia* als erster Biomasse erhält man ein Öl, welches DHA und ARA enthält. Weiterhin können die Anteile variiert werden, indem der relative Anteil der Biomassen zueinander variiert wird. Wird als weitere Biomasse Sonnenblumensaat oder eine andere Ölpflanze eingesetzt, so wirken sich die in den Pflanzenölen enthaltenen Anti-Oxidantien günstig auf die Lagerstabilität der PUFA-enhaltenen Öle aus.

**[0026]** Damit betrifft vorliegende Erfindung auch Öle, die mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens herstellbar sind sowie deren Verwendung in Nahrungsmitteln, Nahrungsergänzungsmitteln, pharmazeutischen und kosmetischen Produkten.

**[0027]** Diese Öle stammen erfindungsgemäß also aus einer oder mehreren mikrobiellen Biomassen, die vor dem Verpressen optimalerweise mit Ölfrüchten, bevorzugt Sonnenblumensaat vermischt und/oder vermahlen werden.

**[0028]** Die Herstellung des Öls wird also unter direktem Verpressen des Biomassengemisches durchgeführt. Falls nötig, wird dieses erhaltene Öl dann einer physikalischen Raffinierung unterzogen, um das gewünschte Öl zu erhalten.

**[0029]** Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung bedeutet physikalische Raffinierung, dass eine Reduktion der Phospholipide und der freien Fettsäuren resultiert, und es wird darunter eine Entschleimungsbehandlung verstanden ohne Verwendung von Säuren und ohne Neutralisierung. So wurde unter Verwendung einer Biomasse, welche ARA enthält, beobachtet, dass das Öl praktisch vollständig frei von Fettsäuren und Phospholipiden war und daher abhängig von dem gewünschten Grad der Reinheit eine Entschleimungsbehandlung nicht nötig war.

**[0030]** Wurde jedoch eine Biomasse verwendet, welche DHA enthielt, war eine Entschleimungsbe-

handlung notwendig, insbesondere um Phospholipide zu entfernen.

**[0031]** Die erhaltenen Öle sind z.B. geeignet für die Verwendung in Nahrungsmitteln, insbesondere für die Kinderernährung oder zur Verwendung als Nahrungsergänzungsmittel. Sie kann jedoch auch in kosmetischen oder pharmazeutischen Produkten verwendet werden.

**[0032]** Allerdings ist auch die Biomasse, welche nach dem Pressen verbleibt, ein Verfahrensprodukt, welches bspw. als Tierfuttermittel insbesondere für Haustiere Verwendung findet.

**[0033]** Es ist dabei von besonderem Vorteil, dass die zweite verwendete Biomasse als zusätzliches Aufschlussmittel für die mikrobielle Biomasse wirkt. Wenn die – was normalerweise der Fall ist – mikrobielle Biomasse für sich allein gepresst wird, stellt dies normalerweise an den Pressvorgang sehr hohe Anforderungen. Es wird bei sehr hohen Drücken und oft auch bei erhöhten Temperaturen gepresst, was wiederum schlecht ist für die Qualität des erhaltenen Rohöls, insbesondere bezogen auf mögliche Oxydationsreaktionen der mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Wird als zweite zusätzliche Biomasse Sonnenblumensaat verwendet, so dienen die Schalen der Sonnenblumenkerne als Reibe- und Aufschlussmittel, und es kann bei verringerten Drücken und verringerten Temperaturen gearbeitet werden, was die Qualität des erhaltenen PUFA-Öls erheblich verbessert. Diese Effekte werden schon bei nur geringen Mengen an zugegebener zweiter Biomasse gefunden.

**[0034]** Dabei dient das Öl der Ölsaaten als Lösungsmittel für die PUFA-haltigen mikrobiellen Triglyceride, so dass unter einem bevorzugten Ausführungsbeispiel mit dem erfindungsgemäßen Verfahren auf den Einsatz von Lösungsmitteln zum Herauslösen der Triglyceride verzichtet werden kann.

**[0035]** Erfindungsgemäß ist es besonders bevorzugt, wenn als zweite Biomasse Sonnenblumensaat hinzugegeben wird. Es ist jedoch möglich und für den Fachmann selbstverständlich, dass auch andere zweite Biomassen Verwendung finden können. Insbesondere handelt es sich bei der zweiten Biomasse um eine pflanzliche Biomasse, und hier insbesondere bevorzugt um eine Biomasse in Form von Pflanzenfrüchten wie bspw. Oliven, Nüsse, Pflanzenblätter, Pflanzenhalme und Pflanzenstängel sowie Bohnen, Schoten und Ähnliches.

**[0036]** Ganz besonders bevorzugt handelt es sich um die klassischen Ölfrüchte, eine Aufstellung der klassischen Ölfrüchte findet sich in den dem Fachmann geläufigen Lehrbüchern und braucht an dieser Stelle nicht wiederholt zu werden. Wie gesagt ist

Sonnenblumensaat besonders bevorzugt. Das erfindungsgemäß erhaltene Öl ist besonders gering mit Phospholipiden, freien Fettsäuren, Pigmenten, Polymeren und anderen Substanzen belastet, d.h. Substanzen aus der Biomasse, die keine Triacylglyceride darstellen.

**[0037]** Damit stellt das Verfahren der vorliegenden Erfindung ein besonders selektives Verfahren zur Herstellung von stabilem, hochgereinigtem, PUFA enthaltendem Öl dar. Unter einem besonders bevorzugten Gesichtspunkt betrifft vorliegende Erfindung daher ein Verfahren das ohne die aggressiven und hinderlichen Verfahren wie das Entschleimen, die Neutralisierung, das Entwachsen, und die Entfärbung zu einem hochwertigen PUFA-enthaltendem Öl führt.

**[0038]** Allerdings werden die erfindungsgemäßen Öle, wo immer es angemessen erscheint, einem Raffinationsschritt unterzogen unter Verwendung eines Prozessierungsmittels wie bspw. einem Silikat. Die Behandlung mit dem Prozessierungsmittel kann bspw. während einer Filtration stattfinden. Schließlich werden die Öle einer Deodorisierung bspw. durch Dampfdestillation oder durch molekulare Destillation bei relativ geringer Temperatur unterzogen. Daraus resultierend enthält das resultierende Öl einen besonders kleinen Anteil von Transfettsäuren.

**[0039]** Das erfindungsgemäße Verfahren umfasst auch die nach der Verpressung angeschlossene Verwendung von organischen Lösungsmitteln für normale Prozesse, wie sie auch beim Verarbeiten von Pflanzenölen anfallen, z.B. dem Winterisieren, Raffinieren, Bleichen, Deodorieren usw. Aloe diese Verfahren sind dem Fachmann geläufig und brauchen für die Zwecke der vorliegenden Erfindung hier nicht erläutert zu werden.

**[0040]** Da das Verfahren bevorzugt unter einer Stickstoffschicht und in Gegenwart von Tokopherolen oder Tokotrienolen durchgeführt wird, die entweder natürlicherweise in der zweiten Biomasse vorkommen, oder während des Verfahrens zugefügt werden, sind die enthaltenen PUFAs während des gesamten Prozesses vor dem schädlichen Einfluss des Luftsauerstoffes geschützt.

**[0041]** Die Verwendung der Biomasse als Nahrungsergänzungsmittel, insbesondere für die Tierzucht ist – gegebenenfalls nach Entfernen der Lösungsmittel – uneingeschränkt möglich.

**[0042]** Es hat sich herausgestellt, dass es besonders günstig ist, wenn die beiden Biomassen vor dem Auspressen mit einander vermahlen werden. Dies ist insbesondere dann von Bedeutung, wenn die zweite Biomasse eine Ölsaart ist, die relativ große Früchte umfasst. Bei der bevorzugten Verwendung von Sonnenblumenkernen als zweite Biomasse hat sich ge-

zeigt, dass ein Vermahlen der Biomassen bis zu einem Grad, bei dem die verbleibende Partikelgröße kleiner als 250 µm, besonders günstig war. Bei diesem Vermahlen wird natürlich bereits ein Teil der enthaltenen Triglyceride freigesetzt in Form von Öl. Für das Vermahlen ist es bspw. möglich, eine Kugelmühle oder eine Koluntmühle zu verwenden. Hierbei ist insbesondere die Dauer des Vermahlens, die Größe der Biomassenpartikel, die Temperatur während des Vermahlens, und das Verhältnis zwischen den beiden Biomassen von Bedeutung. Es ist klar, dass, da ja die verwendete zweite Biomasse in Form von Ölsaaten, insbesondere Sonnenblumenkernen, harte Bestandteile aufweist, diese beim Vermahlen bereits die Biomasse sozusagen beschädigen, und das Öl aus der Biomasse z.T. freigesetzt wird. Dies ist ein besonders günstiger Effekt, der ein besonders schonendes Lösen und gleichzeitig ein Lösen mit Vorausschüttel ermöglicht. Deswegen ist dieser Vermahlungsschritt auch ein besonders bevorzugtes Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung. Es ist dabei bevorzugt, wenn die resultierenden Partikel der zweiten Biomasse kleiner 500 µm im Durchschnitt aufweisen, bevorzugt kleiner 300 µm und ganz besonders bevorzugt kleiner 200 µm. Diese Größenangaben beziehen sich auf mindestens 90% der anfänglich vorhandenen Biomasse.

**[0043]** Dabei wird der Mahlvorgang solange durchgeführt, bis 90% der eingesetzten Biomasse die gewünschte Partikelgröße aufweist.

**[0044]** Die Temperatur während des Vermahlens wird so gewählt, dass sie oberhalb des Schmelzpunktes des Öls liegt, welche aus der zweiten Biomasse normalerweise gewonnen wird. Ist bspw. die zweite Biomasse Sonnenblumensaat, so wird eine Temperatur gewählt, die oberhalb des Schmelzpunktes von Sonnenblumenöl liegt. Die Temperatur liegt vorzugsweise bei 20-80°C.

**[0045]** Das Gewichtsverhältnis zwischen der mikrobiellen Biomasse und der zweiten Biomasse liegt zwischen 100:1 bis 1:100. Wie weiter oben ausgeführt, bestimmt ja das Verhältnis aus beiden Biomassen ganz wesentlich die PUFA-Konzentration im erhaltenen Öl. Dabei sind sicherlich Verhältnisse bei denen ein PUFA-Gehalt von zwischen 1 und 10% im fertigen Designeröl erzielt wird, bevorzugt, da es sich hierbei um Konzentrationen handelt, wie sie bei den meisten pharmazeutischen, kosmetischen und nahrungsmitteltechnischen Anwendungen von Vorteil sind. Wird bspw. eine Biomasse erhalten, bei der über 40% PUFAs durch Auspressen der Biomasse erhalten werden können, so kann ein bevorzugtes Verhältnis zwischen mikrobieller Biomasse und zweiter Biomasse, insbesondere der Ölfrüchte, so gewählt sein, dass das resultierende Öl etwa 10% PUFA umfasst. Dazu muss die normale Ausbeute an Öl der zweiten Biomasse in Betracht gezogen werden, welche je-

doch dem Fachmann bei den herkömmlichen Ölfrüchten jederzeit ohne größere Probleme bekannt ist.

**[0046]** Das erhaltene Öl muss dann noch u.U. einer Feinfiltration unterzogen werden, um kleine unlösliche Partikel zu entfernen. Hierzu sind dem Fachmann viele unterschiedliche Verfahren bekannt, bspw. kann das Öl einem mineralischen Adsorbents als Filterhilfsmittel ausgesetzt werden, bspw. Kiesel-erdefiltration.

**[0047]** Schlussendlich wird das gefilterte Öl gä- rungsfrei gemacht, wobei flüchtige Substanzen ent- fernt werden.

**[0048]** Dies kann ebenfalls unter Verwendung der im Stand der Technik bekannten Verfahren durchge- führt werden, es sollten jedoch moderate Bedingun- gen verwendet werden, um den PUFAs keinen Schan- den zuzufügen. Bspw. kann die Dampfdestillation, vorzugsweise unter Vakuum oder die molekulare De- stillation Verwendung finden.

**[0049]** Das so erhaltene Öl kann bspw. in Nahrungs- mittelzusammensetzungen für die menschliche Er- nährung verwendet werden, so wie es ist, oder in Form eines Gemisches mit anderen Ölen wie bspw. Fischölen oder Salatölen oder alternativ in Form einer Emulsion als Salatdressing oder Mayonnaise. Es kann Bestandteil einer diätetischen Milch für Teenager oder Erwachsene sein, als Babynahrung für un- gestillte Babys oder als Milch für kleine Kinder dienen. Es kann ebenfalls in eine pharmazeutische Zu- sammensetzung für die orale, enterale oder parente- rale Verabreichung eingebaut werden oder für die to- pische, dermatologische oder ophthalmologische An- wendung. Es kann ferner ein Bestandteil einer kos- metischen, topischen oder oralen Zusammensetzung sein. Schlussendlich kann es auch als Tiernahrungs- mittel dienen, bspw. als Trocken- oder Feuchtfutter oder als Milch. Die verbleibenden Biomasse kann immer noch mit Vorteil als Tierfutter und für die obigen Zwecke eingesetzt werden.

**[0050]** Außerdem kann aus der verbleibenden Bio- masse mit Vorteil unter Verwendung einer Extraktion mit einem Lösungsmittel, bevorzugt einem organi- schen Lösungsmittel und besonders bevorzugt mit einem unpolaren, mit Wasser nicht mischbarem Lö- sungsmittel, wobei Hexan besonders bevorzugt ist, extrahiert werden, um den durch die Pressung nicht herausgelösten Teils an Öl gewinnen zu können. Die Hexanextraktion solcher Biomassen ist im Stand der Technik ausführlich beschreiben, eine umfassende Darstellung findet sich beispielsweise in der EP 0 515 460 der Martek Corp.

**[0051]** Es sind auf dem Fachgebiet neben der Hexa- nextraktion noch eine Reihe weiterer Extraktionsver-

fahren bestens bekannt, die an dieser Stelle geeignet sind, das Öl, bevorzugt mit hohem Triglyceridgehalt nach dem Abpressen aus dem verbleibenden Press- kuchen zu gewinnen, z.B. die Extraktion mit Chloro- form/Methanol oder auch mit superkritischem CO<sub>2</sub>.

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Öls mit einem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ausge- wählt aus der Gruppe bestehend aus ARA, DPA, DHA, EPA, GLA, SA oder DHGLA, **dadurch gekenn- zeichnet**, dass

a) Mikroorganismen kultiviert werden,  
b) die Biomasse aus a) geerntet wird,  
c) die erhaltene Biomasse mit einer zweiten, von a) unterschiedlichen Biomasse vermischt wird, und  
d) das Öl durch Verpressen der beiden Biomassen von dem verbleibenden Presskuchen gewonnen wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei nach Stufe d) der verbleibende Presskuchen einer Extraktion mit einem Lösungsmittel für das Öl, bevorzugt einem or- ganischen Lösungsmittel und besonders bevorzugt mit einem unpolaren, mit Wasser nicht mischbarem Lösungsmittel, wobei Hexan besonders bevorzugt ist, unterzogen wird, und das Öl nach Extraktion von dem Lösungsmittel gewonnen wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das gewon- nene Öl aus Stufe d) mit einem nach dem Verfahren nach Anspruch 2 gewonnenen Öl vermischt wird.

4. Verfahren nach einem der vorstehenden An- sprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfah- ren bei einer Temperatur durchgeführt wird, die min- destens 5°C, bevorzugt 10°C oberhalb des Schmelz- punktes des am niedrig schmelzenden aus den bei- den Biomassen erhältlichen Öle, insbesondere des aus der zweiten Biomasse erhältlichen Öls, und ganz besonders bevorzugt zwischen 20 und 80°C liegt.

5. Verfahren nach einem der vorstehenden An- sprüche, dadurch gekennzeichnet, dass nach Stufe d) das Öl schonend lösungsmittelfrei und ohne Ver- wendung basischer oder saurer Mittel raffiniert wird, indem mindestens eine der folgenden Stufen durch- geführt wird:

a) Prozessierung unter Verwendung von Silikat, und/oder  
b) Prozessierung unter Verwendung von Kieselerde- filtration, und/oder  
c) Deodorierung unter Dampfdestillation.

6. Verfahren nach einem der vorstehenden An- sprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die erste Bi- omasse mindestens eine Biomasse aus einer der fol- genden Mikroorganismen umfasst Mortierella, Cryptocodium (Dinoflagellaten), Thraustochytri-

um, Schizochytrium (Labyrinthulomycetes), Phaeodactylum, Nanochloropsis, Euglena, Tetrahymena, Spirulina, Chlorella und Ulkenia, wobei Ulkenia bevorzugt ist.

7. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Biomasse der Stufe c) eine Ölsaart ist, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Sonnenblumen, Raps, Borrage, Nachtkerzen, Leinsamen, Schwarzkümmel, Soja, Palmkern, Palm, Perilla, Saflor, Weizenkeim, Mais, Oliven, Palmkern, Sesam, wobei Sonnenblumenkerne besonders bevorzugt sind.

8. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die beiden Biomassen vor Beginn des Pressvorgangs miteinander vermahlen werden.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Vermahlen bei einer Temperatur durchgeführt wird, die mindestens 5°C, bevorzugt 10° C oberhalb des Schmelzpunktes des am niedrig schmelzenden aus den beiden Biomassen erhältlichen Öle, insbesondere des aus der zweiten Biomasse erhältlichen Öls, und ganz besonders bevorzugt zwischen 20 und 80°C liegt.

10. Öl herstellbar nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1-9.

11. Öl nach Anspruch 10 enthaltend keine signifikanten Mengen an zugesetzten organischen Lösungsmitteln, bevorzugt <0,2 ppm.

12. Öl nach Anspruch 10 und/oder 11, enthaltend 1 bis 50 Gew.-% PUFAs.

13. Öl nach Anspruch 10, 11 und/oder 12, enthaltend weniger als 5, bevorzugt weniger als 2 und ganz besonders bevorzugt weniger als 1 Gew.-% Phospholipide.

14. Öl nach Anspruch 10, 11, 12 und/oder 13, enthaltend weniger als 5, bevorzugt weniger als 2 und ganz besonders bevorzugt weniger als 1 Gew.-% freie Fettsäuren.

15. Presskuchen, erhältlich aus Stufe d) aus Anspruch 1.

16. Phospholipidreiche Zusammensetzung, erhältlich aus dem Rohöl erhältlich nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9.

17. Verwendung des Öls nach mindestens einem der Ansprüche 10 bis 14 als Nahrungsmittel und/oder Nahrungsergänzungsmittel.

18. Verwendung des Öls nach mindestens einem

der Ansprüche 10 bis 14 zur Herstellung eines Arzneimittels für menschliche oder tierische Zwecke.

19. Verwendung des Öls nach mindestens einem der Ansprüche 10 bis 14 als Kosmetikum für menschliche oder tierische Zwecke.

20. Verwendung des Presskuchens nach Anspruch 15 als Nahrungsmittel und/oder Nahrungsergänzungsmittel für menschliche oder tierische Zwecke, zur Herstellung eines Arzneimittels für menschliche oder tierische Zwecke und/oder als Kosmetikum für menschliche oder tierische Zwecke.

21. Nahrungsmittel nach Anspruch 17, das eine künstliche Säuglingsnahrung für die Bereitstellung vollständiger parenteraler Ernährung ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen