



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0035592

(51)⁷ A23D 9/013; C11B 5/00; A23L 1/314; (13) B
A23D 9/007; A23D 9/06

(21) 1-2014-01764

(22) 01/11/2012

(86) PCT/US2012/000534 01/11/2012

(87) WO/2013/066373 10/05/2013

(30) 61/554,291 01/11/2011 US

(45) 25/05/2023 422

(43) 25/11/2014 320A

(73) DSM IP Assets B. V. (NL)

Het Overloon 1, Heerlen, The Netherlands

(72) CRAWFORD, Kristine Sheila (US); XUEJUN, Tang (US); STEFANSKI, Michael, Lenn (US).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) DẦU CHỨA AXIT BÉO ĐA BẤT BẢO HÒA CÓ TÍNH ỔN ĐỊNH OXY HÓA,
SẢN PHẨM THỰC PHẨM CHỨA DẦU NÀY VÀ QUY TRÌNH CHẾ BIẾN SẢN
PHẨM THỰC PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến dầu chứa axit béo đa bất bão hòa ổn định oxy hóa, trong đó dầu này chứa (i) ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi; (ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và (iii) ít hơn khoảng 1000ppm lexitin. Sáng chế còn đề cập đến sản phẩm thực phẩm chứa dầu này và quy trình chế biến sản phẩm thực phẩm này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dầu chứa một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Dầu chứa axit béo đa bất bão hòa (*polyunsaturated fatty acid*: PUFA) có thể oxy hóa và trở nên có mùi ôi trong quá trình bảo quản. Điều này dẫn đến hương vị và mùi vị khó chịu trong dầu cũng như trong các sản phẩm mà trong đó dầu này được đưa vào. PUFA có 4 hoặc nhiều hơn 4 liên kết đôi C-C có thể kém ổn định về mặt oxy hóa hơn PUFA mà có số liên kết đôi ít hơn. Ngoài ra, sự có mặt của các kim loại, như sắt, có thể làm tăng tốc độ mà ở đó dầu chứa PUFA oxy hóa.

Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này đã nỗ lực làm giảm mức độ oxy hóa của dầu chứa PUFA bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau bao gồm đưa dẫn xuất axit ascorbic vào, như ascorbyl palmitat kết hợp với lexitin. Tuy nhiên, vẫn còn có nhu cầu về dầu chứa PUFA ổn định hơn về mặt oxy hóa.

Hiện nay người ta đã phát hiện ra rằng, việc kết hợp các dẫn xuất axit ascorbic, như, ascorbyl palmitat với lexitin sẽ làm gia tăng mức độ oxy hóa của dầu chứa 30% ít nhất một PUFA có 4 hoặc nhiều hơn 4 liên kết đôi cacbon-cacbon.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, sáng chế sẽ đề xuất các phương án không làm giới hạn sau đây. Các phương án được mô tả trong sáng chế này có thể được kết hợp hoặc phân chia một cách thích hợp để tạo ra phương án kết hợp phụ để bao gồm các phương án bổ sung cần thiết.

Sáng chế đề cập đến dầu chứa một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị mô tả giá trị cảm quan hương cá theo thời gian của dầu theo các Ví dụ 7a, 7b, 7c, 8e, và 8f.

Fig.2 là đồ thị mô tả giá trị cảm quan hương cá theo thời gian của dầu theo các Ví dụ 7a, 7d, 7e, và 8b.

Fig.3 là đồ thị mô tả giá trị cảm quan hương cá theo thời gian của dầu theo các Ví dụ 7a, 7f, 7g, và 8c.

Fig.4 là đồ thị mô tả giá trị cảm quan hương cá theo thời gian của dầu theo các Ví dụ 7a, 7h, 7i, và 7j.

Fig.5 là đồ thị mô tả giá trị cảm quan hương cá theo thời gian của dầu theo các Ví dụ 7a, 7c, 7k, và 8a.

Fig.6 là đồ thị mô tả nồng độ của sắt (ppb) chứa trong dầu hầu như không có lexitin (Ví dụ 7a, 7c, 7h, 8a-c, và 8f) đối với dầu chứa hỗn hợp tocopherol, ascorbyl palmitat, và lexitin (Ví dụ 7b).

Fig.7 là đồ thị mô tả giá trị cảm quan hương cá theo thời gian của dầu theo các Ví dụ 7a, 8d, và 7m.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất dầu chứa (i) ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi; (ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và (iii) ít hơn khoảng 1000ppm lexitin.

Sáng chế đề xuất dầu chứa (i) ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi; (ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và (iii) ít hơn khoảng 750ppm chất chống oxy hóa thứ hai được chọn từ dẫn xuất axit ascorbic.

Sáng chế đề xuất dầu chứa (i) ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi; (ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và (iii) ít hơn khoảng 30ppb sắt. Một cách tùy ý, dầu chứa ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi.

Sáng chế đề xuất dầu chứa (i) ít nhất khoảng 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi cacbon-cacbon; (ii) ít nhất một chất

chống oxy hóa thứ nhất; và (iii) phương tiện để làm cải thiện độ ổn định oxy hóa, trong đó dầu này có hương cá nhỏ hơn 1,5.

Như được sử dụng ở đây, % trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi được biểu thị liên quan đến tổng trọng lượng của toàn bộ các axit béo trong dầu.

Như được sử dụng ở đây, % trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa dùng để chỉ phần trăm trọng lượng của toàn bộ các axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi có mặt trong dầu.

Như được sử dụng ở đây, % trọng lượng của một axit béo cụ thể hoặc hỗn hợp bất kỳ của axit béo cụ thể này được biểu thị liên quan đến tổng trọng lượng của toàn bộ các axit béo trong dầu.

Thuật ngữ “hầu như không chứa” khi được sử dụng để mô tả lexitin tức là nhỏ hơn hoặc bằng khoảng 150ppm, khoảng 15ppm, khoảng 10ppm, khoảng 5ppm, khoảng 1ppm, và khoảng 0ppm.

Thuật ngữ “hầu như không chứa” khi được sử dụng để mô tả dẫn xuất axit ascorbic tức là nhỏ hơn hoặc bằng khoảng 3ppm, khoảng 2,5ppm, khoảng 2ppm, khoảng 1,5ppm, khoảng 1ppm, khoảng 0,5ppm, khoảng 0.

Thuật ngữ “không chứa” khi được sử dụng để mô tả lexitin hoặc dẫn xuất axit ascorbic tức là không có mặt lượng phát hiện được.

Thuật ngữ “lexitin” khi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, lexitin hướng dương, lexitin đậu nành, lexitin trứng, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít hơn khoảng 1200ppm lexitin, nhỏ hơn khoảng 1000ppm lexitin, nhỏ hơn 750ppm lexitin, nhỏ hơn khoảng 500ppm lexitin, nhỏ hơn khoảng 250ppm lexitin, hoặc nhỏ hơn khoảng 200ppm lexitin. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này không chứa lexitin. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này hầu như không chứa lexitin.

Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có hàm lượng sắt là nhỏ hơn khoảng 30ppb hoặc cụ thể hơn nhỏ hơn hoặc bằng khoảng 25ppb, 20ppb, 15ppb, 10ppb, 5ppb, 1ppb, 0,5ppb, hoặc 0,2ppb. Theo phương án khác, hàm lượng sắt là 0ppb.

Thuật ngữ “chất chống oxy hóa” khi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dẫn xuất axit ascorbic, tocopherol, dịch chiết trà xanh, và/hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, chất oxy hóa là chất oxy hóa thứ nhất được chọn từ tocopherol, dịch chiết trà xanh, và/hoặc hỗn hợp của chúng. Theo phương án khác, chất oxy hóa là chất chống oxy hóa thứ hai được chọn từ dẫn xuất axit ascorbic.

Thuật ngữ “dẫn xuất axit ascorbic” khi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, axit ascorbic, ascorbyl palmitat, ascorbyl stearat, và/hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, dẫn xuất axit ascorbic là ascorbyl pamiat.

Theo phương án khác, dẫn xuất axit ascorbic có mặt trong dầu được mô tả trong sáng chế này với lượng nằm trong khoảng từ 0ppm đến 50ppm, khoảng từ 0ppm đến 250ppm, khoảng từ 0ppm đến 300ppm, khoảng từ 0ppm đến 400ppm, khoảng từ 0ppm đến 750ppm, khoảng từ 50ppm đến 250ppm, khoảng từ 50ppm đến 300ppm, khoảng từ 50ppm đến 400ppm, khoảng từ 50ppm đến 750ppm, khoảng từ 250ppm đến 750ppm, khoảng từ 250ppm đến 400ppm, khoảng từ 250ppm đến 300ppm, khoảng từ 300ppm đến 400ppm. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít hơn khoảng 750ppm dẫn xuất axit ascorbic, nhỏ hơn khoảng 400ppm dẫn xuất axit ascorbic, nhỏ hơn khoảng 300ppm dẫn xuất axit ascorbic, nhỏ hơn khoảng 250ppm dẫn xuất axit ascorbic, hoặc nhỏ hơn khoảng 50ppm dẫn xuất axit ascorbic. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này hầu như không chứa dẫn xuất axit ascorbic. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này hầu như không chứa ascorbyl palmitat. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 250ppm dẫn xuất axit ascorbic. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 250ppm ascorbyl palmitat. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này không chứa dẫn xuất axit ascorbic. Theo phương án khác, dầu không chứa ascorbyl palmitat.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này hầu như không chứa dẫn xuất axit ascorbic và hầu như không chứa lexitin. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này hầu như không chứa ascorbyl palmitat và hầu như không chứa lexitin. Theo phương án khác, dầu không chứa dẫn xuất axit ascorbic và không chứa lexitin. Theo phương án khác nữa, dầu không chứa ascorbyl palmitat và không chứa lexitin.

Theo phương án khác nữa, ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất là tocopherol. Theo phương án khác, ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất là tocopherol bổ sung. Theo phương án khác nữa, ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất

là tocopherol hỗn hợp. Theo phương án khác, ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất là dl- α -tocopherol, d- α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol và δ -tocotrienol, hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo phương án khác, thuật ngữ “tocopherol”, tức là chất đồng phân bất kỳ của tocopherol (hoặc hỗn hợp của nó), bao gồm, nhưng không giới hạn ở dl- α -tocopherol (tức là, tocopherol tổng hợp), d- α -tocopherol (tức là, tocopherol tự nhiên), β -, γ -, và δ -tocopherol dl- α -tocopherol, và α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol và δ -tocotrienol.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa tocopherol với lượng nằm trong khoảng từ 900ppm đến 3400ppm, khoảng từ 900ppm đến 2400ppm, khoảng từ 900ppm đến 2000ppm, khoảng từ 900ppm đến 1700ppm, khoảng từ 900ppm đến 1400ppm, khoảng từ 1400ppm đến 3400ppm, khoảng từ 1400ppm đến 2400ppm, khoảng từ 1400ppm đến 2000ppm, khoảng từ 1400ppm đến 1700ppm, khoảng từ 1700ppm đến 3400ppm, khoảng từ 1700ppm đến 2400ppm, khoảng từ 1700ppm đến 2000ppm, khoảng từ 2000ppm đến 3400ppm, khoảng từ 2000ppm đến 2400ppm, hoặc khoảng từ 2400ppm đến 3400ppm. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít hơn khoảng 3400ppm tocopherol, nhỏ hơn khoảng 2400ppm tocopherol, nhỏ hơn khoảng 2000ppm tocopherol, nhỏ hơn khoảng 1700ppm tocopherol, nhỏ hơn khoảng 1400ppm tocopherol, hoặc nhỏ hơn khoảng 900ppm tocopherol. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít nhất khoảng 900ppm tocopherol, ít nhất khoảng 1400ppm tocopherol, ít nhất khoảng 1700ppm tocopherol, ít nhất khoảng 2000ppm tocopherol, ít nhất khoảng 2400ppm tocopherol, hoặc ít nhất khoảng 3400ppm tocopherol. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 1400ppm tocopherol, khoảng 1700ppm tocopherol, hoặc khoảng 2400ppm tocopherol.

Thuật ngữ “tocopherol bổ sung” khi được sử dụng ở đây bao gồm các chất đồng phân và các dẫn xuất của tocopherol mà được thêm vào dầu được mô tả trong sáng chế này. Tocopherol bổ sung, bao gồm, ví dụ, α -tocopherol, dl- α -tocopherol, d- α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, D- α -tocopherol, D- β -tocopherol, D- γ -tocopherol, D- δ -tocopherol, và/hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa tocopherol bổ sung với lượng nằm trong khoảng từ 0ppm đến 2500ppm, khoảng từ 0ppm đến 1500ppm, khoảng từ 0ppm đến 900ppm khoảng từ 0ppm đến 800ppm, khoảng từ 0ppm đến 500ppm, khoảng từ 50ppm đến 5000ppm, khoảng từ 500ppm đến 3500ppm, khoảng từ 500ppm đến 2500ppm, khoảng từ 500ppm đến 1500ppm, khoảng từ 500ppm đến 900ppm, khoảng từ 500ppm đến 800ppm, khoảng từ 300ppm đến 700ppm, khoảng từ 800ppm đến 2500ppm, khoảng từ 800ppm đến 1500ppm, khoảng từ 800ppm đến 900ppm, khoảng từ 900ppm đến 2500ppm, khoảng từ 900ppm đến 1500ppm, hoặc khoảng từ 1500ppm đến 2500ppm. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít hơn khoảng 2500ppm tocopherol bổ sung, nhỏ hơn khoảng 1500ppm tocopherol bổ sung, nhỏ hơn khoảng 900ppm tocopherol bổ sung, nhỏ hơn khoảng 800ppm tocopherol bổ sung, hoặc nhỏ hơn khoảng 500ppm tocopherol bổ sung. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 500ppm tocopherol bổ sung, khoảng 800ppm tocopherol bổ sung, hoặc khoảng 1500ppm tocopherol bổ sung.

Theo một phương án, tocopherol được chọn từ α -tocopherol, dl- α -tocopherol, d- α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, D- α -tocopherol, D- β -tocopherol, D- γ -tocopherol, D- δ -tocopherol, và/hoặc hỗn hợp của chúng.

Thuật ngữ “tocopherol hỗn hợp” khi được sử dụng ở đây bao gồm hỗn hợp của các chất đồng phân và dẫn xuất của các tocopherol bổ sung, bao gồm, ví dụ, hỗn hợp của dl- α -tocopherol, d- α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, D- α -tocopherol, D- β -tocopherol, D- γ -tocopherol, và D- δ -tocopherol.

Theo một phương án, tocopherol hỗn hợp là hỗn hợp của D- α -tocopherol, D- β -tocopherol, D- γ -tocopherol, và D- δ -tocopherol. Theo phương án khác, tocopherol hỗn hợp là hỗn hợp của khoảng từ 9 đến 20% D- α -tocopherol, khoảng từ 1 đến 4% D- β -tocopherol, khoảng từ 50 đến 65% D- γ -tocopherol, và khoảng từ 20 đến 35% D- δ -tocopherol. Theo phương án khác nữa, tocopherol hỗn hợp là tocopherol hỗn hợp tự nhiên.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa tocopherol hỗn hợp với lượng nằm trong khoảng từ 900ppm đến 3400ppm, khoảng từ 900ppm đến

2400ppm, khoảng từ 900ppm đến 2000ppm, khoảng từ 900ppm đến 1700ppm, khoảng từ 900ppm đến 1400ppm, khoảng từ 1400ppm đến 3400ppm, khoảng từ 1400ppm đến 2400ppm, khoảng từ 1400ppm đến 2000ppm, khoảng từ 1400ppm đến 1700ppm, khoảng từ 1700ppm đến 3400ppm, khoảng từ 1700ppm đến 2400ppm, khoảng từ 1700ppm đến 2000ppm, khoảng từ 2000ppm đến 3400ppm, khoảng từ 2000ppm đến 2400ppm, hoặc khoảng từ 2400ppm đến 3400ppm. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít hơn khoảng 3400ppm tocopherol hỗn hợp, nhỏ hơn khoảng 2400ppm tocopherol hỗn hợp, nhỏ hơn khoảng 2000ppm tocopherol hỗn hợp, nhỏ hơn khoảng 1700ppm tocopherol hỗn hợp, nhỏ hơn khoảng 1400ppm tocopherol hỗn hợp, hoặc nhỏ hơn khoảng 900ppm tocopherol hỗn hợp. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 1400ppm tocopherol hỗn hợp, khoảng 1700ppm tocopherol hỗn hợp, hoặc khoảng 2400ppm tocopherol hỗn hợp.

Dầu được mô tả trong sáng chế này còn có thể chứa tocopherol tự nhiên, ở dạng, ví dụ, tocotrienol mà các vi sinh vật tạo ra trong quá trình lên men và cuối cùng được chứa trong dầu thô. Lượng tocopherol tự nhiên chứa trong dầu thô có thể nằm trong khoảng từ, ví dụ, khoảng 25ppm đến 500ppm tocotrienol.

Thuật ngữ “dịch chiết trà xanh” bao gồm, ví dụ, dịch chiết trà xanh chứa, ví dụ, hợp chất polyphenolic (*tức là*, catechin). Ví dụ về hợp chất polyphenolic mà có thể có mặt trong dịch chiết trà xanh bao gồm epigallocatechin galat 25 (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin galat (ECG), epicatechin (EC), và hỗn hợp của nó. Theo một phương án, dịch chiết trà xanh chứa ít nhất một hợp chất polyphenolic với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 90%, khoảng từ 5% đến 85%, khoảng từ 10% đến 80%, khoảng từ 15% đến 75%, khoảng từ 20% đến 70%, khoảng từ 25% đến 65%, khoảng từ 30% đến 60%, khoảng từ 35% đến 55%, hoặc khoảng từ 40% đến 50% tính theo trọng lượng của dịch chiết trà xanh, không kể các chất mang bất kỳ.

Thuật ngữ “chất phản ứng điều vị” bao gồm, ví dụ, dịch chiết hương thảo và vani. Dịch chiết hương thảo có thể được chiết từ, ví dụ, *Rosmarinus officinalis*. Dịch chiết hương thảo có thể là, ví dụ, chất hữu cơ. Dịch chiết hương thảo có thể thu được bằng cách sấy khô lá hương thảo, lá này thuộc họ tía tô (*Perilla*), tán lá đã sấy khô, và đưa chất đã được nghiền tạo thành vào chiết bằng nước, nước nóng, hexan, etanol, axeton, etyl axetat, hoặc hỗn hợp của các dung môi bất kỳ này. Ví dụ về các thành phần được tìm thấy trong dịch chiết hương thảo bao gồm axit cafeic, carnosol, axit carnosic,

axit metoxy carnosic, axit rosmarinic, rosmanol, rosmaridiphenol, rosmaridiquinon, và/hoặc hỗn hợp của chúng. Các loại dịch chiết hương thảo khác nhau là có bán trên thị trường, và một hoặc nhiều loại bất kỳ có thể được sử dụng trong sáng chế. Dịch chiết hương thảo thích hợp có bán trên thị trường từ, ví dụ, Kalsec (Kalamazoo, MI, USA) dưới tên thương mại Herbalox®; Vitiva (Markovci, Slovenia) dưới tên thương mại Inolens®; Naturex (Avignon, France) dưới tên thương mại StabileEnhance®; và Ecom Food Industries Corporation (Ontario, Canada) có mã sản phẩm NR 3401.

Theo một phương án, chất phản ứng điều vị là dịch chiết hương thảo. Theo phương án khác, dịch chiết hương thảo được chiết từ *Rosmarinus officinalis*.

Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa dịch chiết hương thảo với lượng nằm trong khoảng từ 0ppm đến 5000ppm, khoảng từ 0ppm đến 3500ppm, khoảng từ 0ppm đến 3000ppm, khoảng từ 0ppm đến 2000ppm, khoảng từ 0ppm đến 750ppm, khoảng từ 0ppm đến 500ppm, khoảng từ 50ppm đến 5000ppm, từ 50ppm đến 7,500ppm, khoảng từ 50ppm đến 10,000ppm, khoảng từ 500ppm đến 5000ppm, khoảng từ 500ppm đến 4000ppm, khoảng từ 500 đến 3500ppm, khoảng từ 500ppm đến 3000ppm, khoảng từ 500ppm đến 2000ppm, khoảng từ 500ppm đến 750ppm, khoảng từ 750ppm đến 5000ppm, khoảng từ 750ppm đến 3500ppm, khoảng từ 750ppm đến 3000ppm, khoảng từ 750ppm đến 2000ppm, khoảng từ 2000ppm đến 5000ppm, khoảng từ 2000ppm đến 3500ppm, khoảng từ 2000ppm đến 3000ppm, khoảng từ 3000ppm đến 3500ppm, khoảng từ 3500ppm đến 5000ppm. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít hơn khoảng 5000ppm dịch chiết hương thảo, nhỏ hơn khoảng 3500ppm dịch chiết hương thảo, nhỏ hơn khoảng 3000ppm dịch chiết hương thảo, nhỏ hơn khoảng 200ppm dịch chiết hương thảo, nhỏ hơn khoảng 750ppm dịch chiết hương thảo, hoặc nhỏ hơn khoảng 500ppm dịch chiết hương thảo. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 5000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 3500ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 3000ppm dịch chiết hương thảo, hoặc khoảng 2000ppm dịch chiết hương thảo.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 1700 tocopherol hỗn hợp, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 800ppm tocopherol bổ sung, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat,

với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3500ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 1400ppm tocopherol hỗn hợp, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3500ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 500ppm tocopherol bổ sung, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 2000ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 2400ppm tocopherol hỗn hợp, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 2000ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 1500ppm tocopherol bổ sung, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 5000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 1700 tocopherol hỗn hợp, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 5000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 800ppm tocopherol bổ sung, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu hầu như không chứa lexitin.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 1700 tocopherol hỗn hợp, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu không chứa lexitin. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 800ppm tocopherol bổ sung, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu không chứa lexitin. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3500ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 1400ppm tocopherol hỗn hợp, với điều kiện là dầu không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 3500ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 500ppm tocopherol bổ sung, với điều kiện là dầu không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 2000ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 2400ppm tocopherol hỗn hợp, với điều kiện là dầu không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 2000ppm dịch chiết hương thảo và khoảng 1500ppm tocopherol bổ sung, với điều kiện

là dầu không chứa lexitin và ascorbyl palmitat. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 5000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 1700 tocopherol hỗn hợp, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu không chứa lexitin. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 5000ppm dịch chiết hương thảo, khoảng 800ppm tocopherol bổ sung, và khoảng 250ppm ascorbyl palmitat, với điều kiện là dầu không chứa lexitin.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất dầu chứa ít nhất khoảng 30%, tính theo trọng lượng của hàm lượng axit béo trong dầu, của ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi cacbon-cacbon; ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và phương tiện để làm cải thiện độ ổn định oxy hóa.

Mức p-Anisidin (p-AV) được xác định theo Phương pháp chính thức của AOCS Cd 18-90. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có mức p-AV nhỏ hơn khoảng 40; nhỏ hơn khoảng 30; hoặc nhỏ hơn khoảng 20.

Mức peroxit (*Hàm lượng peroxit*: PV) được xác định theo Phương pháp chính thức của AOCS Cd 8-53. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có mức PV nhỏ hơn khoảng 20mili đương lượng/kg; nhỏ hơn khoảng 10mili đương lượng/kg; hoặc nhỏ hơn khoảng 5mili đương lượng/kg.

Mức Rancimat được xác định bằng thử nghiệm tiêu chuẩn về độ ổn định của dầu, bằng cách sử dụng thiết bị rancimat được vận hành ở 90°C, với lưu lượng khí được đặt ở tốc độ 10 lít/giờ (AOCS Cd 12b-92). Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có mức RANXIMAT nhỏ hơn hoặc bằng 3, đến khoảng 4, khoảng 5, khoảng 6, khoảng 7, khoảng 8, khoảng 9, khoảng 10, khoảng 11, khoảng 12, khoảng 13, khoảng 14, khoảng 15, khoảng 16, khoảng 17, khoảng 18, khoảng 19 trong điều kiện bảo quản thích hợp. Theo một phương án, mức rancimat được xác định sau khoảng 3 tháng, khoảng 5 tháng, khoảng 6 tháng, khoảng 7 tháng, hoặc 8 tháng bảo quản thích hợp. Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu những điều kiện như thế nào để bảo quản dầu được mô tả trong sáng chế này. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng (25°C) trong túi polyetylen tỷ trọng thấp Nylon/Foil/PE kèm theo chân không khi được đậy kín bằng nhiệt trong môi trường N₂ (Heritage Packaging) hoặc đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic (Elemental Container Inc.)

Các giá trị cảm quan hương biển/cá (mùi) và vị biển/cá (vị) được đánh giá theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu *Sensory Evaluation Techniques*. Meilgaard *et al.*, CRC Press; 4 edition (December 13, 2006). Một nhóm gồm 8 đến 18 người có kinh nghiệm sẽ được thử vị (hoặc mùi) của mẫu. Mỗi người này sẽ xác định giá trị của mẫu. Sau đó, tất cả các giá trị được lấy trung bình số học và kết quả được làm tròn lên hoặc xuống đến số tiếp theo. Giá trị hương cá/biển $\geq 1,5$ và vị cá/biển $\geq 2,5$ được mong đợi là chấp nhận được bởi đông đảo mọi người.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có giá trị cảm quan hương cá nhỏ hơn 1,5 sau khoảng 3 tháng, sau khoảng 4 tháng, sau khoảng 5 tháng, sau khoảng 6 tháng, sau khoảng 7 tháng, sau khoảng 8 tháng, hoặc sau khoảng 9 tháng bảo quản thích hợp. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có giá trị hương cá nhỏ hơn 1,5 tại khoảng thời gian được chọn từ 0-3 tháng, 0-4 tháng, 0-5 tháng, 0-6 tháng, 0-7 tháng, 0-8 tháng, hoặc 0-9 tháng. Theo một phương án, việc bảo quản thích hợp được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng (25°C) trong túi polyetylen tỷ trọng thấp Nylon/Foil/PE được đóng gói bằng chân không rồi được dán kín bằng nhiệt trong môi trường N₂ hoặc đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có giá trị cảm quan vị cá nhỏ hơn 2,5 sau khoảng 3 tháng, sau khoảng 4 tháng, sau khoảng 5 tháng, sau khoảng 6 tháng, sau khoảng 7 tháng, sau khoảng 8 tháng, hoặc sau khoảng 9 tháng bảo quản thích hợp. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này có giá trị hương cá nhỏ hơn 1,5 tại khoảng thời gian được chọn từ 0-3 tháng, 0-4 tháng, 0-5 tháng, 0-6 tháng, 0-7 tháng, 0-8 tháng, hoặc 0-9 tháng. Theo một phương án, việc bảo quản thích hợp được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng (25°C) trong túi polyetylen tỷ trọng thấp Nylon/Foil/PE được bao gói bằng chân không rồi được hàn kín bằng nhiệt trong môi trường N₂ hoặc đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic.

Theo một phương án, ít nhất một C₁₈₋₂₂ PUFA có 4 liên kết đôi cacbon-cacbon được chọn từ axit docosaehexaenoic ("DHA"), axit eicosapentaenoic ("EPA"), axit arachidonic ("ARA"), axit omega-3 docosapentaenoic ("DPA n-3"), và axit omega-6 docosapentaenoic ("DPA n-6"). Theo một số phương án, dầu chứa omega-3 PUFA. Theo các phương án khác, omega-3 PUFA được chọn từ DHA, EPA, DPA n-3, và hỗn hợp của chúng.

Theo một số phương án, dầu được đặc trưng bởi ít nhất một trong số các axit béo sau đây (hoặc este của nó), được biểu thị dưới dạng % trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Các phương án được mô tả trong sáng chế này còn có thể chứa khoảng 3% hoặc hoặc nhỏ hơn các axit béo khác hoặc este của nó.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít nhất khoảng 30% trọng lượng, ít nhất khoảng 35% trọng lượng, ít nhất khoảng 40% trọng lượng, ít nhất khoảng 45% trọng lượng, hoặc ít nhất khoảng 50% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 30% trọng lượng đến 60% trọng lượng, khoảng từ 30% trọng lượng đến 50% trọng lượng, khoảng từ 30% trọng lượng đến 40% trọng lượng, khoảng từ 40% trọng lượng đến 60% trọng lượng, hoặc khoảng từ 40% trọng lượng đến 50% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít nhất khoảng 30% trọng lượng, ít nhất khoảng 35% trọng lượng, ít nhất khoảng 40% trọng lượng, ít nhất khoảng 45% trọng lượng, hoặc ít nhất khoảng 50% trọng lượng của DHA. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 30% trọng lượng đến 60% trọng lượng, khoảng từ 30% trọng lượng đến 50% trọng lượng, khoảng từ 30% trọng lượng đến 40% trọng lượng, khoảng từ 40% trọng lượng đến 60% trọng lượng, hoặc khoảng từ 40% trọng lượng đến 50% trọng lượng của DHA.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít nhất khoảng 35% trọng lượng của DHA+EPA, ít nhất khoảng 40% trọng lượng, ít nhất khoảng 45% trọng lượng, ít nhất khoảng 50% trọng lượng của DHA+EPA, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 80% trọng lượng, nhỏ hơn khoảng 70% trọng lượng, hoặc nhỏ hơn khoảng 60% trọng lượng của DHA+ EPA.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, hoặc ít nhất khoảng 50%, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, của ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 30% đến 60%, khoảng từ 30% đến 50%, khoảng từ 30% đến 40%, khoảng từ 40% đến 60%, hoặc khoảng từ 40% đến 50%, tính theo trọng

lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, của ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, hoặc ít nhất khoảng 50%, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, của DHA. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 30% đến 60%, khoảng từ 30% đến 50%, khoảng từ 30% đến 40%, khoảng từ 40% đến 60%, hoặc khoảng từ 40% đến 50%, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, của DHA.

Theo phương án khác, dầu chứa ít hơn khoảng 80%, nhỏ hơn khoảng 70%, hoặc nhỏ hơn khoảng 60%, tính theo trọng lượng của toàn bộ axit béo, của ít nhất một C₁₈₋₂₂ PUFA có 4 liên kết đôi cacbon-cacbon.

Hiệu lực của DHA và EPA được xác định theo AOCS Official Method Ce 1b-89. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 200mg DHA/g dầu, khoảng từ 300mg DHA/g dầu, khoảng từ 350mg DHA/g dầu, khoảng từ 400mg DHA/g dầu, hoặc khoảng từ 500mg DHA/g dầu. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 120mg EPA/g dầu hoặc khoảng từ 130mg EPA/g dầu. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 200mg DHA/g dầu đến 600mg DHA/g dầu, khoảng từ 200mg DHA/g dầu đến 500mg DHA/g dầu, khoảng từ 200mg DHA/g dầu đến 400mg DHA/g dầu, khoảng từ 300mg DHA/g dầu đến 600mg DHA/g dầu, khoảng từ 300mg DHA/g dầu đến 500mg DHA/g dầu, hoặc khoảng từ 300mg DHA/g dầu đến 400mg DHA/g dầu. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 100mg EPA/g dầu đến 250mg EPA/g dầu. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng từ 400mg DHA + EPA/g dầu hoặc khoảng từ 500mg DHA+EPA/g dầu.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 2% hoặc ít hơn ARA, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 3% hoặc ít hơn EPA, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 18% hoặc ít hơn hoặc khoảng 12% đến 18%, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, của DPA n-6. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 10% hoặc

ít hơn, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, của các axit béo khác.

Theo một số phương án, dầu là hầu như không chứa EPA. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “hầu như không chứa EPA” có thể dùng để chỉ dầu trong đó EPA là nhỏ hơn khoảng 3%, tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Theo một số phương án, dầu chứa, nhỏ hơn khoảng 2% EPA tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, nhỏ hơn khoảng 1% EPA tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, nhỏ hơn khoảng 0,5% EPA tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, nhỏ hơn khoảng 0,2% EPA tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, hoặc nhỏ hơn khoảng 0,01% EPA tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Theo một số phương án, dầu không chứa lượng phát hiện được của EPA bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, dầu không chứa EPA.

Theo một số phương án, dầu còn có thể hầu như không chứa ARA. Theo một số phương án, lượng ARA là nhỏ hơn khoảng 3% tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Theo một số phương án, lượng ARA chứa trong dầu nhỏ hơn khoảng 2% tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, nhỏ hơn khoảng 1% tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, nhỏ hơn khoảng 0,5% tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, nhỏ hơn khoảng 0,2% tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu, hoặc nhỏ hơn khoảng 0,01% tính theo trọng lượng của tổng hàm lượng axit béo của dầu. Theo một số phương án, dầu không chứa lượng phát hiện được của ARA.

Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 2% trọng lượng hoặc ít hơn ARA. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 3% trọng lượng hoặc ít hơn EPA. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này chứa khoảng 18% trọng lượng hoặc ít hơn hoặc khoảng 12% trọng lượng đến 18% trọng lượng của DPA n-6. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này có thể chứa khoảng 10% trọng lượng hoặc ít hơn các axit béo khác.

Theo một số phương án, dầu là hầu như không chứa EPA. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “hầu như không chứa EPA” có thể dùng để chỉ dầu trong đó lượng EPA là nhỏ hơn khoảng 3% trọng lượng. Theo một số phương án, dầu chứa, nhỏ hơn khoảng

2% trọng lượng EPA nhỏ hơn khoảng 1% trọng lượng EPA, nhỏ hơn khoảng 0,5% trọng lượng EPA, nhỏ hơn khoảng 0,2% trọng lượng EPA, hoặc nhỏ hơn khoảng 0,01% trọng lượng EPA. Theo một số phương án, dầu không chứa lượng phát hiện được của EPA bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, dầu không chứa EPA.

Theo một số phương án, dầu còn có thể hầu như không chứa ARA. Theo một số phương án, dầu chứa ít hơn khoảng 3% trọng lượng ARA. Theo một số phương án, dầu chứa nhỏ hơn 2% trọng lượng ARA, nhỏ hơn khoảng 1% trọng lượng, nhỏ hơn khoảng 0,5% trọng lượng, nhỏ hơn khoảng 0,2% trọng lượng, hoặc nhỏ hơn khoảng 0,01% trọng lượng ARA. Theo một số phương án, dầu không chứa lượng phát hiện được của ARA.

Dầu được mô tả ở đây có thể được sử dụng trong ứng dụng bất kỳ, nơi mà dầu này được cần đến. Dầu có thể được sử dụng trong, ví dụ, các sản phẩm thực phẩm (bao gồm cả đồ uống và thực phẩm bổ sung ăn kiêng), thức ăn cho động vật, và/hoặc các sản phẩm chăm sóc cá nhân. Các sản phẩm này có thể ở dạng, ví dụ như, dạng lỏng, dạng nhũ tương, dạng gel và/hoặc dạng rắn. Các sản phẩm này có thể ở dạng sản phẩm dùng ngay (sẵn sàng cho người dùng) cũng như các sản phẩm cần phải được chế biến thêm (ví dụ, bằng cách cất, hòa tan, đun nóng v.v.). Theo một phương án, dầu được mô tả ở đây là dầu ăn được. Theo phương án khác, dầu được mô tả ở đây là dầu ăn được mà được sử dụng trong các sản phẩm thực phẩm. Các sản phẩm thực phẩm tiêu biểu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thanh dinh dưỡng, thực phẩm bổ sung ăn kiêng, thanh yến mạch (*granola bar*: yến mạch trộn với đường, quả khô, mật và vùng và đóng thành thanh), các sản phẩm được nướng (ví dụ, bánh mì, bánh cuộn, bánh quy, bánh quy giòn, bánh hoa quả, hoặc bánh ngọt), mì, đồ gia vị, đồ trộn salad, hỗn hợp súp, thực phẩm ăn liền snack, nước quả chế biến, nước sốt, nước sốt từ thịt, xi-rô, đồ uống, bột uống khô, và mứt đặc hoặc mứt thạch.

Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này là hữu cơ. Thuật ngữ “hữu cơ” như được sử dụng ở đây, bao gồm, ví dụ, tiêu chuẩn được thiết lập bởi *the U.S. Department of Agriculture* (USDA) và *the European Union* (EU) để bao hàm thuật ngữ này trong việc dán nhãn sản phẩm thực phẩm. Tiêu chuẩn EU được nêu trên đây, ví dụ trong Regulation EC 834/2007, và trong chuẩn US the USDA được nêu trên đây, ví dụ, trong *the National Organic Program Regulation* ở 7 C.F.R., Part 205.

Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả ở đây là tự nhiên. Thuật ngữ “tự nhiên” như được sử dụng ở đây, bao gồm, ví dụ, sử dụng thuật ngữ này trong việc dán nhãn thực phẩm liên quan đến các sản phẩm thực phẩm mà không chứa chất màu thêm vào, chất điều vị nhân tạo, hoặc các chất tổng hợp khác.

Ít nhất một C₁₈₋₂₂ PUFA có 4 liên kết đôi cacbon-cacbon có thể thu được từ các nguồn khác nhau bao gồm, ví dụ, động vật sống dưới nước, như cá, động vật có vú biển, và loài giáp xác (như loài nhuyễn thể và các loài giáp xác khác); nguồn động vật bao gồm, ví dụ, mô động vật mà bao gồm, ví dụ não, gan, và mắt và các sản phẩm động vật bao gồm, ví dụ, trứng và sữa; vi tảo; cây; và/hoặc hạt giống.

Theo một phương án, ít nhất một C₁₈₋₂₂ PUFA có 4 liên kết đôi cacbon-cacbon là thu được từ vi tảo. Theo phương án khác, vi tảo là từ bậc Thraustochytriales. Bậc Thraustochytriales, bao gồm, ví dụ, giống *Thraustochytrium* (loài bao gồm *arudimentale*, *aureum*, *benthicola*, *globosum*, *kinnei*, *motivum*, *multirudimentale*, *pachydermium*, *proliferum*, *roseum*, *striatum*), giống *Schizochytrium* (loài bao gồm *aggregatum*, *limnaceum*, *mangrovei*, *minutum*, *octosporum*), giống *Ulkenia* (loài bao gồm *amoeboidea*, *kerguelensis*, *minuta*, *profunda*, *radiata*, *sailens*, *sarkariana*, *schizochytrids*, *visurgensis*, *yorkensis*), giống *Aurantiacochytrium*; giống *Oblongichytrium*, giống *Sicyoidochytrium*, giống *Parientichytrium*, giống *Botryochytrium*, và hỗn hợp của chúng. Đối với mục đích của sáng chế, loài được mô tả trong phạm vi *Ulkenia* sẽ được coi là thành phần của giống *Schizochytrium*. Theo phương án khác nữa vi tảo là *Thraustochytrium* sp. Theo phương án khác nữa vi tảo là *Schizochytrium* sp. Theo phương án khác nữa, vi tảo được chọn từ *Thraustochytrium* sp. và *Schizochytrium* sp.

Theo phương án khác, ít nhất một C₁₈₋₂₂ PUFA có 4 liên kết đôi cacbon-cacbon thu được từ thực vật, được nuôi trồng trong môi trường lên men hoặc thực vật thu hoạch được, bao gồm, ví dụ, ngũ cốc (như ngô, lúa mạch, lúa mì, gạo, lúa miến, kê ngọc trai, ngô, lúa mạch đen và yến mạch); các loại đậu; đậu nành; hạt tiêu; rau diếp; đậu Hà Lan; các loài *Brassica*, như, bắp cải, bông cải xanh, xúp lơ, cải Brussel, hạt cải dầu, và củ cải; cà rốt; củ cải đỏ; cà tím; rau bi-na (rau chân vịt); dưa chuột; bí; dưa hấu; dưa đỏ; hoa hướng dương; cây rum; hạt cải dầu; cây lanh; lạc; mù-tạc; hạt cải dầu; đậu chickpea (một họ đậu ở châu Á, vỏ hạt ngắn và phình to, hạt ăn được); đậu lăng; cỏ 3 lá trắng; oliu; cò; lá borage; hoa anh thảo; hạt lanh; và thuốc lá.

Theo một phương án dầu được mô tả trong sáng chế này là dầu thô. Theo phương án khác, dầu được mô tả trong sáng chế này là dầu tinh luyện. Theo phương án khác nữa, dầu được mô tả trong sáng chế này là dầu hoàn thiện. Thuật ngữ “dầu thô” là dầu mà được chiết từ sinh khối của vi sinh vật mà không cần chế biến thêm. Thuật ngữ “dầu tinh luyện” là dầu mà thu được bằng cách xử lý dầu thô bằng quá trình tinh luyện, tẩy trắng, và/hoặc khử mùi tiêu chuẩn. Ví dụ, xem bằng sáng chế Mỹ số 5,130,242. Thuật ngữ “dầu hoàn thiện” là dầu tinh luyện mà được tẩy trắng thêm bằng dầu thực vật. Theo một số phương án, dầu hoàn thiện là dầu tinh luyện mà được tẩy trắng bằng dầu thực vật được chọn từ triglycerit mạch trung bình (MCT), dầu hạt cải dầu, dầu cọ, và dầu hướng dương. Theo một số phương án, dầu hướng dương là dầu hướng dương có hàm lượng oleic cao. Theo phương án khác, dầu hướng dương là chất hữu cơ. Theo phương án khác nữa, dầu hướng dương có hàm lượng oleic cao là chất hữu cơ.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm cải thiện độ ổn định oxy hóa của dầu, phương pháp này bao gồm việc thêm một lượng hữu hiệu ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất to dầu chứa ít nhất 30%, tính theo trọng lượng của hàm lượng axit béo trong dầu, của ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi

Dầu từ vi khuẩn được mô tả trong sáng chế này có thể được thu hồi từ vi tảo bằng phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, dầu có thể được thu hồi bằng cách chiết bằng các kỹ thuật như được mô tả trong, ví dụ, Công bố đơn quốc tế số WO 2001/053512, WO 2001/051598, WO 2001/076715, và WO 2001/076385; Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Mỹ số 2007/0004678 và 2005/012739; và bằng sáng chế Mỹ số 6,399,803. Các quy trình để xử lý sinh khối bằng enzym để thu hồi lipid được bộc lộ trong các Công bố đơn quốc tế số WO 2003/09628; Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Mỹ số 2005/0170479; Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế châu Âu số 0776356 và bằng sáng chế Mỹ số 5,928,696.

Theo một số phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này thu được thông qua các bước sau đây: tạo ra sinh khối bằng cách lên men vi tảo có khả năng tạo ra dầu mà chứa ít nhất một C₁₈₋₂₂ PUFA có 4 liên kết đôi cacbon-cacbon; thu hoạch sinh khối; sấy phun sinh khối; chiết dầu từ sinh khối; tinh luyện dầu (để loại bỏ các axit béo tự do và phospholipit); tẩy trắng dầu (để loại bỏ hợp chất phân cực còn lại bất kỳ và các kim loại tiền oxy hóa, và làm phá vỡ các sản phẩm oxy hóa lipid); lọc lạnh dầu (để loại bỏ chất béo, sáp và chất rắn không hòa tan còn lại bất kỳ); khử mùi dầu (một cách tùy ý, trong

chân không và trong, ví dụ, cột tải nạp, máy khử mùi tron dùng dòng hơi ngược); thêm chất chống oxy hóa vào dầu; và hỗn hợp bất kỳ của chúng. Theo một số phương án, tuân theo sự tăng trưởng được kiểm soát trên mỗi giai đoạn được xác định trước, môi trường nuôi cấy được thu hoạch bằng cách ly tâm, tiếp đó được thanh trùng và sấy phun. Theo một số phương án nhất định, sinh khối đã được sấy khô được đội nitơ và được đóng gói trước khi được bảo quản lạnh ở -20°C . Theo một số phương án nhất định, dầu được chiết từ sinh khối đã được sấy khô bằng cách trộn sinh khối với n-hexan hoặc isohexan trong quy trình một mẻ, quy trình này sẽ phá vỡ các tế bào và cho phép dầu và các mảnh vỡ tế bào được tách riêng. Theo một số phương án nhất định, sau đó dung môi được loại bỏ. Theo một phương án, dầu được mô tả trong sáng chế này được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng (25°C) trong túi polyetylen tỷ trọng thấp Nylon/Foil/PE được bao gói bằng chân không rồi được hàn kín bằng nhiệt trong môi trường N_2 trên thiết bị Model AGV Multivac (Multivac Sepp Haggenmüller GmbH & Co. KG). Theo phương án khác dầu được mô tả trong sáng chế này được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng (25°C) trong đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic.

Tùy thuộc vào việc sử dụng cuối cùng dầu được mô tả trong tài liệu này, dầu này có thể còn chứa thêm các thành phần khác, các thành phần này có thể là hữu hiệu đối với sản phẩm cuối cùng và/hoặc hữu hiệu đối với quy trình chế biến dầu hoàn thiện. Các thành phần bổ sung này có thể bao gồm, ví dụ, chất tạo màu, chất tạo hương, chất độn, chất điều vị, chất nhũ hóa không phải lexitin, chất làm ổn định và các chất ưa mỡ khác.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nguyên liệu

Dịch chiết hương thảo được sử dụng trong Ví dụ 3-15 là thu được từ, ví dụ, Ecom Foods Industries Corporation (Ontario, Canada). Dầu hướng dương có hàm lượng oleic cao được sử dụng trong Ví dụ 3-15 là có được, ví dụ, từ dầu Humko (Memphis, TN) dưới tên thương mại TriSun®. TAP1010 Sun là thu được từ Vitablend (Wolvega, the Netherlands). Lexitin đậu nành được sử dụng trong các Ví dụ dưới đây là có được, ví dụ, từ Archer Daniels Midland Co. (Decatur, IL) dưới tên thương mại Yelkin® Gold. Ascorbyl palmitat được sử dụng trong Ví dụ dưới đây là có được, ví dụ, từ DSM, Nutritional Products (Basel Switzerland).

Ví dụ 1

Sản xuất dầu thô chất lượng cao chứa ít nhất 30% ít nhất một PUFA có ít nhất 4 liên kết đôi cacbon-cacbon. *Shizochytrium sp.* được lưu giữ với số truy cập ATCC là No. PTA-10208 (sau đây được gọi là “PTA-10208”) được nuôi trưởng qua mỗi lần thực hiện lên men, như được mô tả dưới đây. Môi trường và các điều kiện nuôi cấy thông thường được nêu trong Bảng 1.

Trong môi trường nuôi cấy được nạp cacbon (glucoza) và nitơ chứa 1000ppm Cl^- ở 22,5°C ở độ pH = 7,0 với 20% oxy hòa tan trong quá trình nạp nitơ và 10% oxy hóa tan sau đó, PTA-10208 tạo ra trọng lượng tế bào khô là 95g/l sau 200 giờ nuôi cấy trong thể tích thùng lên men 10 lít. Hiệu suất lipit là 53,7g/l; hiệu suất omega-3 là 37g/l; hiệu suất EPA là 14,3g/l; và hiệu suất DHA là 21g/l. Hàm lượng axit béo là 57% tính theo trọng lượng; hàm lượng EPA là 27,7% của FAME; và hàm lượng DHA là 39,1% của FAME. Năng suất lipit là 6,4g/l/ngày, và năng suất omega-3 là 4,4g/l/ngày trong các điều kiện này, với năng suất EPA là 1,7g/l/ngày và năng suất DHA là 2,5g/l/ngày.

Trong môi trường nuôi cấy được nạp cacbon (glucoza) và nitơ chứa 1000ppm Cl^- ở 22,5°C ở độ pH = 7,5 với 20% oxy hòa tan trong quá trình nạp nitơ và 10% oxy hóa tan sau đó, PTA-10208 tạo ra trọng lượng tế bào khô là 56g/l sau 139 giờ nuôi cấy trong thể tích thùng lên men 10 lít. Hiệu suất lipit là 53g/l; hiệu suất omega-3 là 34g/l; hiệu suất EPA là 11,5g/l; và hiệu suất DHA là 22g/l. Hàm lượng axit béo là 58% tính theo trọng lượng; hàm lượng EPA là 21,7% của FAME; và hàm lượng DHA là 41,7% của FAME. Năng suất lipit là 9,2g/l/ngày, và năng suất omega-3 là 5,9g/l/ngày trong các điều kiện này, với năng suất EPA là 2g/l/ngày và năng suất DHA là 3,8g/l/ngày.

Trong môi trường nuôi cấy được nạp cacbon (glucoza) và nitơ chứa 1000ppm Cl^- ở 22,5°C ở độ pH = 7,0 với 20% oxy hòa tan trong quá trình nạp nitơ và 10% oxy hóa tan sau đó, PTA-10208 tạo ra trọng lượng tế bào khô là 93,8g/l sau 167 giờ nuôi cấy trong thể tích thùng lên men 2000 lít. Hiệu suất lipit là 47,2g/l; hiệu suất omega-3 là 33,1g/l; hiệu suất EPA là 10,5g/l; và hiệu suất DHA là 20,4g/l. Hàm lượng axit béo là 50,6% tính theo trọng lượng; hàm lượng EPA là 23% của FAME; và hàm lượng DHA là 42,6% của FAME. Năng suất lipit là 6,8g/l/ngày, và năng suất omega-3 là 4,7g/l/ngày trong các điều kiện này, với năng suất EPA là 1,5g/l/ngày và năng suất DHA là 2,9g/l/ngày.

Trong môi trường nuôi cấy được nạp cacbon (glucoza) và nitơ chứa 1000ppm Cl^- ở 22,5°C ở độ pH = 7,0 với 20% oxy hòa tan trong quá trình nạp nitơ và 10% oxy hóa tan sau đó, PTA-10208 tạo ra trọng lượng tế bào khô là 105g/l sau 168 giờ nuôi cấy trong thể tích thùng lên men 2000 lít. Hiệu suất lipit là 46,4g/l; hiệu suất omega-3 là 33g/l; hiệu suất EPA là 10,7g/l; và hiệu suất DHA là 20,3g/l. Hàm lượng axit béo là 43,9% tính theo trọng lượng; hàm lượng EPA là 24% của FAME; và hàm lượng DHA là 43,7% của FAME. Năng suất lipit là 6,6g/l/ngày, và năng suất omega-3 là 4,7g/l/ngày trong các điều kiện này, với năng suất EPA là 1,5g/l/ngày và năng suất DHA là 2,9g/l/ngày.

Trong môi trường nuôi cấy được nạp cacbon (glucoza) và nitơ chứa 1000ppm Cl^- ở 22,5°C ở độ pH = 7,0 với 20% oxy hòa tan trong quá trình nạp nitơ và 10% oxy hóa tan sau đó, PTA-10208 tạo ra trọng lượng tế bào khô là 64,8g/l sau 168 giờ nuôi cấy trong thể tích thùng lên men 2000 lít. Hiệu suất lipit là 38,7g/l; hiệu suất omega-3 là 29,9g/l; hiệu suất EPA là 8,5g/l; và hiệu suất DHA là 16,7g/l. Hàm lượng axit béo là 59,6% tính theo trọng lượng; hàm lượng EPA là 23% của FAME; và hàm lượng DHA là 42,3% của FAME. Năng suất lipit là 5,53g/l/ngày, và năng suất omega-3 là 3,8g/l/ngày trong các điều kiện này, với năng suất EPA là 1,2g/l/ngày và năng suất DHA là 2,3g/l/ngày.

Bảng 1: Các điều kiện môi trường bình nuôi và điều kiện nuôi cấy thông thường

PTA-10208

Thành phần	Nồng độ (g/l)	Khoảng
Na_2SO_4	8,8	0-25, 2-20, hoặc 3-10
NaCl	0,625	0-25, 0,1-10, hoặc 0,5-5
KCl	1,0	0-5, 0,25-3, hoặc 0,5-2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5,0	0-10, 2-8, hoặc 3-6
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,42	0-10, 0,25-5, hoặc 0,05-3
CaCl_2	0,29	0,1-5, 0,15-3, hoặc 0,2-1
T 154 (dịch chiết nấm men)	1,0	0-20, 0,1-10, hoặc 0,5-5
KH_2PO_4	1,765	0,1-10, 0,5-5, hoặc 1-3
Sau khi hấp bằng nồi hấp (kim loại)		
Thành phần	Nồng độ (mg/l)	Khoảng

Axit xitric	46,82	0,1-5000, 10-3000, hoặc 40-2500
FeSO ₄ ·7H ₂ O	10,30	0,1-100, 1-50, hoặc 5-25
MnCl ₂ ·4H ₂ O	3,10	0,1-100, 1-50, hoặc 2-25
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	9,3	0,01-100, 1-50, hoặc 2-25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,04	0-1, 0,001-0,1, hoặc 0,01-0,1
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,04	0,001-1, 0,005-0,5, hoặc 0,01-0,1
CuSO ₄ ·5H ₂ O	2,07	0,1-100, 0,5-50, hoặc 1-25
NiSO ₄ ·6H ₂ O	2,07	0,1-100, 0,5-50, hoặc 1-25
Sau khi hấp bằng nồi hấp (Vitamin)		
Thành phần	Nồng độ (mg/l)	Khoảng
Thiamin	9,75	0,1-100, 1-50, hoặc 5-25
Ca ^{1/2} -pantotenat	3,33	0,1-100, 0,1-50, hoặc 1-10
Biotin	3,58	0,1-100, 0,1-50, hoặc 1-10
Sau khi hấp bằng nồi hấp (Cacbon)		
Thành phần	Nồng độ (g/l)	Khoảng
Glucosa	30,0	5-150, 10-100, hoặc 20-50
Nạp nitơ		
Thành phần	Nồng độ (mL/L)	Khoảng
NH ₄ OH	23,6	0-150, 10-100, hoặc 15-50
Điều kiện nuôi cấy thông thường bao gồm (riêng lẻ hoặc kết hợp) các điều kiện sau:		
Điều kiện	Khoảng	
Độ pH	khoảng 6,5 – khoảng 8,5, khoảng 6,5 – khoảng 8,0, hoặc khoảng 7,0 – khoảng 8,0	
Nhiệt độ	khoảng 17 – khoảng 30°C, khoảng 20 – khoảng 28°C, hoặc khoảng 22 đến 24°C	
Oxy hòa tan	khoảng 2 – khoảng 100% bão hòa, khoảng 5 – khoảng 50% bão hòa, hoặc khoảng 7 – khoảng 20% bão hòa	
Glucosa được kiểm soát ở mức	khoảng 5 – khoảng 50g/l, khoảng 10 – khoảng 40g/l, hoặc khoảng 20– khoảng 35g/l	

Ví dụ 2**Profin axit béo của PTA-10208**

Hai mẫu sinh khối được sinh ra theo Ví dụ 1 (PTA-10208 Mẫu #1 và PTA-10208 Mẫu #2) được phân tích về tổng hàm lượng dầu thô bằng cách chiết dung môi, các phân nhóm lipid được xác định bằng cách sắc ký lỏng tính năng cao/ứng dụng tìm đầu dò quét ánh sáng dễ bay hơi (HPLC/ELSD), triaxylglycerol (TAG) được phân tích bằng phương pháp HPLC/khối phổ kế (HPLC/MS), và profin của axit béo (FA) được xác định bằng cách sắc ký khí kèm theo phát hiện ion hóa ngọn lửa (*flame ionization detection*: GC-FID). Hàm lượng lipid thô của mỗi sinh khối đã được làm khô đông lạnh được sử dụng bằng cách sử dụng dung môi nghiền cùng với hexan và được so sánh với tổng lượng FAME (mg/g) được tạo ra bằng cách chuyển este hóa trực tiếp, và methyl este của axit béo tạo thành (FAME) được định lượng bằng phép phân tích GC/FID. FA trong lipid thô đã được chiết còn được định lượng bằng cách chuyển este hóa và được định lượng bằng cách sử dụng phép phân tích GC/FID FAME tạo thành. Phần trăm trọng lượng của tất cả các lipid trung tính (*neutral lipids*: NL) và axit béo tự do (*free fatty acid*: FFA) được xác định trong chất béo thô đã được chiết bằng cách sử dụng phương pháp HPLC pha trung bình kèm theo ELSD và phép xác định ion hóa hóa học áp suất khí quyển-phổ khối (*atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry*: APCI-MS). Phương pháp tách riêng và định lượng sterol este (SE), TAG, FFA, 1,3-diaxylglycerol (1,3-DAG), sterol, 1,2-diaxylglycerol (1,2-DAG), và monoaxylglycerol (MAG). Kết quả được thể hiện trong Bảng 2 và 3.

TAG và phospholipid (PL) được tách ra khỏi dầu thô đã được chiết (PTA-10208 Mẫu #1 và PTA-10208 Mẫu #2). TAG được phân tách bằng cách sử dụng phép sắc ký nhanh áp suất thấp và PL được phân tách bằng cách sử dụng phép chiết pha rắn (*chiết pha rắn*: SPE). Tính đồng nhất của mỗi phân đoạn được tách ra được khẳng định bằng phép sắc ký lớp mỏng (*thin layer chromatography*: TLC). Profin axit béo của các phân đoạn TAG và PL đã được phân tách được xác định theo cách chuyển este hóa trực tiếp bằng cách sử dụng GC-FID làm FAME. Kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

Mỗi phân nhóm lipid được phân tách ra khỏi mẫu dầu thô được chiết từ PTA-10208 (PTA-10208 Mẫu #3) bằng cách sử dụng phương pháp HPLC thông thường kèm theo xác định ELSD và APCI-MS.

Quy trình thử nghiệm

Chiết dầu thô – Dầu thô được chiết từ các mẫu sinh khối đã được làm khô lạnh bằng cách sử dụng dung môi nghiền. Ví dụ, khoảng 3g sinh khối được cân vào ống

Swedish. Ba vòng bi và 30ml hexan được đưa vào ống Swedish, ống này được đậy chặt bằng nắp neopren và đưa vào máy lắc trong 2 giờ. Huyền phù đặc tạo thành được lọc bằng cách sử dụng phễu Buchner và giấy lọc Whatman. Dịch lỏng đã lọc được thu gom, dung môi được loại bỏ trong chân không, và lượng lipid thô còn lại được xác định bằng phép đo trọng lực.

Phân tích axit béo – Mẫu sinh khối, lipid thô đã được chiết và các phân nhóm lipid đã được phân lập được phân tích về thành phần axit béo làm FAME. Ngắn gọn, sinh khối đã được làm khô lạnh và các phân nhóm lipid đã được phân lập được cân trực tiếp vào ống thử nghiệm có nắp vặn ren, trong khi các mẫu dầu thô được hòa tan trong hexan để thu được nồng độ là khoảng 2mg/ml. Toluene, chứa chất chuẩn nội, và HCl 1,5N trong metanol được thêm vào mỗi ống. Các ống được cuộn xoáy, tiếp đó đậy lại và được đun nóng đến 100°C trong 2 giờ. Các ống được để nguội, và dung dịch NaCl bão hòa trong nước được thêm vào. Các ống được cuộn xoáy lần nữa và được ly tâm để cho phép các lớp được tách riêng. Tiếp đó, một phần lớp hữu cơ được đưa vào lọ GC (sắc ký khí) và được phân tích bằng phương pháp GC-FID. FAME được định lượng bằng cách sử dụng đường cong có chia độ 3 điểm được tạo ra bằng cách sử dụng Chuẩn tham chiếu Nu-Check-Prep GLC (NuCheck, Elysian, MN). Axit béo có mặt trong dịch chiết được biểu thị dưới dạng mg/g và dưới dạng phần trăm trọng lượng. Hàm lượng chất béo trong mẫu được đánh giá bằng cách sử dụng đáp ứng tương đương với chuẩn nội khi được phân tích bằng phương pháp GC-FID.

Phương pháp HPLC/ELSD/MS

Thiết bị Agilent 1100 HPLC, Alltech 3300 ELSD, Agilent 1100 MSD

Cột Phenomenex Luna Silica, 250x4,6mm, cỡ hạt 5µm w/cột kiểm soát

Pha động A – 99,5% Hexan (Omnisolv); 0,4% Rượu isopropylic (Omnisolv); 0,1% Axit axetic

B – 99,9% Etanol (Omnisolv, 95:5 Etanol:IPA); 0,1% Axit axetic

Gradient

	0 phút	5 phút	15 phút	20 phút	25 phút	26 phút	35 phút
% A	100	100	85	0	0	100	100
% B	0	0	10	100	100	0	0

Nhiệt độ cột	30°C
Tốc độ chảy	1,5ml/phút
Thể tích truyền	5µl
Phát hiện ELSD	Nhiệt độ 35°C, Lưu lượng khí 1,2l/phút
MSD	Khoảng khối lượng 200 – 1200, Thiết bị tạo hương 225V;
Nhiệt độ khí làm khô 350°C; Nhiệt độ bình xịt 325°C; Điện áp mao dẫn 3500V; Dòng Corona 10µA	

Chiết pha rắn – Các phân đoạn PL được tách ra khỏi lipit thô bằng cách chiết pha rắn (*Solid Phase Extraction: SPE*) bằng cách sử dụng ống 2g aminopropyl (Biotage, Uppsala, Sweden) được đặt vào thiết bị Vac Elut (Varian Inc, Palo Alto, USA). Cột được điều kiện hóa bằng 15ml hexan, và khoảng 60mg mỗi mẫu được hòa tan trong 1ml dung dịch CHCl_3 và được nạp vào cột. The cột được rửa bằng 15ml 2:1 CHCl_3 :rượu isopropylic để giữ lại các lipit trung tính, các lipit này gạn bỏ. Tiếp đó, axit béo được rửa giải bằng 15ml dung dịch axit axetic (HOAc) 2% trong ete, rồi được gạn bỏ. Phần PL được rửa giải bằng 1ml Metanol:Cloroform với tỷ lệ 6:1, rồi được thu gom, làm khô trong môi trường nitơ, và được cân.

Sắc ký nhanh – Sắc ký nhanh được sử dụng để tách các phân nhóm lipit có mặt trong dầu thô. Khoảng 200mg dầu thô hòa tan trong hexan được đưa vào đầu của cột. Hệ sử dụng sử dụng Silica Gel 60 (EMD Chemical, Gibbstown, NJ) với pha động chứa ete dầu mỏ và etyl axetat ở tốc độ 5ml/phút (Bảng 6-7) hoặc 3ml/phút (Bảng 8-13). Bước gradien được sử dụng để rửa giải một cách chọn lọc mỗi nhóm lipit ra khỏi cột. Gradien của pha di động bắt đầu từ 100% ete dầu mỏ và kết thúc bằng 50% etyl axetat. Các phân đoạn được thu gom trong các ống dung tích 10ml bằng cách sử dụng máy thu gom phân đoạn tầng rộng Gilson FC 204 (Gilson, Inc., Middleton, WI). Mỗi ống được phân tích bằng phép sắc ký lớp mỏng (*thin layer chromatography: TLC*) và các ống chứa mỗi phân nhóm lipit (được phân định bằng các điểm đơn trên đĩa TLC có hệ số duy trì mong muốn (*retention factor: Rf*) được thu gom lại, cô đặc đến khô, và được cân. Tiếp theo, hàm lượng phân đoạn tổng được xác định bằng phép đo trọng lượng.

Phép phân tích TLC – Phép sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên các đĩa silicagel. Các đĩa được rửa giải bằng cách sử dụng hệ dung môi chứa ete dầu mỏ:axit axetic (với tỷ lệ 80:20:1) và được hiện thị bằng cách sử dụng hơi iot. Giá trị R_f của mỗi

điểm được so sánh với các giá trị được báo cáo trong tài liệu chuyên ngành đối với mỗi phân nhóm lipit.

Phép phân tích các phân đoạn TAG và PL – Các phân đoạn TAG và PL đã được tách riêng được phân tích về thành phần axit béo làm este metyl của axit béo (*fatty acid metyl ester*: FAME). Các phân đoạn TAG được hòa tan trong hexan để thu được nồng độ là khoảng 1-2mg/ml. Các phân phân ước 1ml của dung dịch được cô đặc đến khô trong môi trường nitơ. Toluene, chứa chất chuẩn nội, và dung dịch HCl 1,5N trong metanol được thêm vào mỗi ống. Các ống được cuộn xoay, rồi được đậy nắp lại và được đun nóng đến 100°C trong 2 giờ. Chất chuẩn nội và HCl metanol được thêm trực tiếp vào các ống chứa phân đoạn PL và được đun nóng. Các ống được để nguội, và dung dịch NaCl bão hòa trong nước được thêm vào. Các ống được cuộn xoay lại một lần nữa và được ly tâm để cho phép các lớp được tách riêng. Phần lớp hữu cơ sau đáy được đưa vào lọ GC và được phân tích bằng phép GC-FID. FAME được định lượng bằng cách sử dụng đường cong có chia độ 3 điểm được tạo ra bằng cách sử dụng Chuẩn tham chiếu Nu-Check-Prep GLC 502B (NuCheck, Elysian, MN). Axit béo có mặt trong dịch chiết được biểu thị dưới dạng mg/g và dưới dạng phần trăm của FAME.

PTA-10208 Mẫu #1

Profin axit béo của sinh khối và lipit thô đã được chiết đối với PTA-10208 Mẫu #1 được xác định bằng cách sử dụng GC/FID. FA trong sinh khối được chuyển este hóa tại chỗ bằng cách cân 28,6mg sinh khối trực tiếp vào ống FAME, trong khi mẫu lipit thô đã được chiết được điều chế bằng cách cân 55,0mg lipit thô vào bình có thể tích 50ml và chuyển 1ml vào ống FAME riêng biệt. Hàm lượng lipit thô ước tính của sinh khối được xác định là 53,2% (dưới dạng tổng của FAME) bằng cách sử dụng GC kèm theo phát hiện FID, trong khi 52,0% (trọng lượng) lipid được chiết từ sinh khối khô, thu được tỷ lệ thu hồi là 97,8% tổng lipit. Lipit thô được xác định là 91,9% axit béo (dưới dạng tổng của FAME) bằng cách sử dụng GC/FID. Axit béo chủ yếu chứa trong lipit thô là C16:0 (182,5mg/g), C20:5 n-3 (186,8mg/g), và C22:6 n-3 (423,1mg/g).

Profin của phân nhóm lipit của lipit thô đã được chiết được xác định bằng cách cân 55,0mg lipit thô vào bình lượng thể tích 50ml và chuyển phần phân ước vào lọ dùng để HPLC đối với phép phân tích HPLC/ELSD/MS. Theo phép phân tích HPLC/ELSD/MS, lipit thô chứa 0,2% sterol este (SE), 95,1% TAG, 0,4% sterol, và

0,5% 1,2-diacylglycerol (DAG). 5% của phân đoạn TAG chứa đỉnh mà được rửa giải trực tiếp sau đỉnh TAG, nhưng không tạo ra phổ khối có thể nhận biết.

TAG đã được phân tách từ mẫu này như được xác định bằng phép sắc ký nhanh sẽ tạo ra khoảng 92,4% dầu thô. PL điều kiện được phát hiện bởi phép đo trọng lượng hoặc phép TLC sau khi tách SPE. Axit béo chủ yếu ($> 50\text{mg/g}$) chứa trong TAG là C16:0 (189mg/g), C20:5 n-3 (197mg/g), và C22:6 n-3 (441mg/g).

PTA-10208 Mẫu #2

Profin axit béo của sinh khối và lipit thô đã được chiết đối với PTA-10208 Mẫu #2 được xác định bằng cách sử dụng GC/FID. FA trong sinh khối được chuyển este hóa tại chỗ bằng cách cân 32,0mg sinh khối trực tiếp vào ống FAME, trong khi mẫu lipit thô đã được chiết được điều chế bằng cách cân 60,1mg lipit thô vào bình có thể tích 50ml và chuyển 1ml vào ống FAME riêng biệt. Hàm lượng lipit thô ước tính của sinh khối được xác định là 52,4% (dưới dạng tổng của FAME) bằng cách sử dụng GC kèm theo phát hiện FID, trong khi 48,0% (trọng lượng) lipid được chiết từ sinh khối khô, thu được tỷ lệ thu hồi là 91,7% tổng lipit. Lipit thô được xác định là 95,3% axit béo (dưới dạng tổng của FAME) bằng cách sử dụng GC/FID. Axit béo chủ yếu chứa trong lipit thô là C16:0 (217,5mg/g), C20:5 n-3 (169,3mg/g), và C22:6 n-3 (444,1mg/g).

Profin của phân nhóm lipit của lipit thô đã được chiết được xác định bằng cách cân 60,1mg lipit thô vào bình lượng thể tích 50ml và chuyển phần phân ước vào lọ dùng để HPLC đối với phép phân tích HPLC/ELSD/MS. Theo phép phân tích HPLC/ELSD/MS, lipit thô chứa 0,2% SE, 95,7% TAG, 0,3% sterol, và 0,7% DAG. 5,1% của phân đoạn TAG chứa đỉnh mà được rửa giải trực tiếp sau đỉnh TAG, nhưng không tạo ra phổ khối có thể nhận biết.

TAG đã được phân tách từ mẫu này như được xác định bằng phép sắc ký nhanh sẽ tạo ra khoảng 93,9% dầu thô. PL điều kiện được phát hiện bởi phép đo trọng lượng hoặc phép TLC sau khi tách SPE. Axit béo chủ yếu ($> 50\text{mg/g}$) chứa trong TAG là C16:0 (218mg/g), C20:5 n-3 (167mg/g), và C22:6 n-3 (430mg/g).

PTA-10208 Mẫu #3

Mẫu dầu thô từ vi sinh vật được lắng gạn trong điều kiện ATCC Accession No. PTA-10208 (Mẫu PTA-10208 #3) được phân tích bằng cách sử dụng phương pháp HPLC/ELSD/MS. Toàn bộ 98,38% lipit được thu hồi, cùng với phân đoạn sterol este (SE) chiếm 0,32%, phân đoạn TAG chiếm 96,13%, phân đoạn 1,3-diacylglycerol

(DAG) chiếm 0,22%, phân đoạn 1,2-DAG chiếm 0,78%, và phân đoạn sterol chiếm 0,93%.

Bảng 2: Profin axit béo của sinh khối PTA-10208 và lipid thô được chiết ra (mg/g)

	Mẫu #1 Sinh khối	Mẫu #1 Lipit thô	Mẫu #2 Sinh khối	Mẫu #2 Lipit thô	Mẫu #1 Sinh khối	Mẫu #1 Lipit thô	Mẫu #2 Sinh khối	Mẫu #2 Lipit thô
Axit béo	FAME (mg/g)	FAME (mg/g)	FAME (mg/g)	FAME (mg/g)	Axit béo	FAME (mg/g)	FAME (mg/g)	FAME (mg/g)
C12:0	1,47	2,43	1,80	3,14	C22:0	0,10	0,00	0,08
C14:0	11,62	20,12	16,72	31,03	C20:4 n-7	0,81	0,45	0,67
C14:1	0,00	0,00	0,00	0,00	C20:4 n-6	7,22	12,23	6,84
C15:0	2,43	3,75	3,60	6,22	C22:1 n-9	0,00	0,00	0,00
C16:0	105,04	182,47	117,72	217,49	C20:4 n-5	0,63	0,52	0,00
C16:1	0,00	0,00	0,06	0,01	C20:4 n-3	3,45	5,45	3,33
C18:0	5,37	8,96	4,77	8,37	C20:3 n-3	0,09	0,00	0,11
C18:1 n-9	0,00	3,26	0,00	3,09	C20:5 n-3	107,31	186,83	92,99
C18:1 n-7	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:4 n-9	0,00	0,00	0,00
C18:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	C24:0	0,60	0,00	0,52
C20:0	1,48	1,79	1,40	1,85	C24:1 n-9	1,55	3,26	0,85
C18:3 n-3	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:5 n-6	9,66	15,84	10,27
C20:1 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:5 n-3	20,44	35,13	9,92
C18:4 n-3	0,91	1,61	1,10	2,00	C22:6 n-3	246,98	423,10	245,96
C20:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	Tổng của FAME (mg/g)	527,15	907,18	518,71
C20:3 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00				

Bảng 3: Profin axit béo của sinh khối PTA-10208 và lipit thô đã được chiết (%)

	Mẫu #1 Sinh khối	Mẫu #1 Lipit thô	Mẫu #2 Sinh khối	Mẫu #2 Lipit thô		Mẫu #1 Sinh khối	Mẫu #1 Lipit thô	Mẫu #2 Sinh khối	Mẫu #2 Lipit thô
Axit béo	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME	Axit béo	% FAME	% FAME	% FAME	% FAME
C12:0	0,28	0,27	0,35	0,33	C22:0	0,02	0,00	0,01	0,00
C14:0	2,20	2,22	3,22	3,29	C20:4 n-7	0,15	0,05	0,13	0,04
C14:1	0,00	0,00	0,00	0,00	C20:4 n-6 ARA	1,37	1,35	1,32	1,29
C15:0	0,46	0,41	0,69	0,66	C22:1 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00
C16:0	19,93	20,11	22,70	23,07	C20:4 n-5	0,12	0,06	0,00	0,05
C16:1	0,00	0,00	0,01	0,00	C20:4 n-3	0,65	0,60	0,64	0,59
C18:0	1,02	0,99	0,92	0,89	C20:3 n-3	0,02	0,00	0,02	0,00
C18:1 n-9	0,00	0,36	0,00	0,33	C20:5 n-3 EPA	20,36	20,59	17,93	17,96
C18:1 n-7	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:4 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	C24:0	0,11	0,00	0,10	0,00
C20:0	0,28	0,20	0,27	0,20	C24:1 n-9	0,29	0,36	0,16	0,22
C18:3 n-3	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:5 n-6	1,83	1,75	1,98	1,91
C20:1 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:5 n-3	3,88	3,87	1,91	1,86
C18:4 n-3	0,17	0,18	0,21	0,21	C22:6 n-3 DHA	46,85	46,64	47,42	47,10
C20:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	Tổng của FAME %	100	100	100	100
C20:3 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00					

Bảng 4: Profin axit béo của TAG được phân lập PTA-10208

	Mẫu #1	Mẫu #1	Mẫu #2	Mẫu #2		Mẫu #1	Mẫu #1	Mẫu #2	Mẫu #2
Axit béo	FAME (mg/g)	% FAME	FAME (mg/g)	% FAME	Axit béo	FAME (mg/g)	% FAME	FAME (mg/g)	% FAME
C12:0	2,57	0,27	3,35	0,36	C22:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C14:0	21,07	2,23	31,37	3,41	Chưa biết	0,00	0,00	0,00	0,00
C14:1	0,00	0,00	0,00	0,00	C20:4 n-7	0,39	0,04	0,05	0,01
C15:0	3,89	0,41	6,17	0,67	C20:3 n-3	0,00	0,00	0,00	0,00

	Mẫu #1	Mẫu #1	Mẫu #2	Mẫu #2		Mẫu #1	Mẫu #1	Mẫu #2	Mẫu #2
C16:0	189,28	20,07	218,78	23,75	C20:4 n-6 ARA	12,79	1,36	11,82	1,28
C16:1	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:1 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:0	9,21	0,98	8,07	0,88	C20:4 n-5	0,39	0,04	0,07	0,01
C18:1 n-9	3,35	0,36	3,64	0,40	C20:4 n-3	5,52	0,59	5,09	0,55
C18:1 n-7	0,00	0,00	0,00	0,00	C20:5 n-3 EPA	197,14	20,90	166,68	18,10
C18:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	C24:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:0	1,86	0,20	1,55	0,17	C22:4 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:3 n-3	0,00	0,00	0,00	0,00	C24:1 n-9	1,08	0,11	<0,1	<0,1
C20:1 n-9	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:5 n-6	15,88	1,68	16,57	1,80
C18:4 n-3	1,64	0,17	2,00	0,22	C22:5 n-3	36,05	3,82	16,00	1,74
C20:2 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	C22:6 n-3 DHA	440,99	46,76	429,83	46,67
C20:3 n-6	0,00	0,00	0,00	0,00	Tổng của FAME (mg/g)	943,11	-	921,03	-

Ví dụ 3

Dầu thô có thể thu được theo quy trình được nêu trong Ví dụ 1 và 2. Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với dầu hướng dương có hàm lượng oleic cao (*high oleic sunflower oil*: “HOSO”) để thu được dầu hoàn thiện có hàm lượng DHA + EPA kết hợp là ít nhất khoảng 400mg/g dầu. Các đặc tính thông thường của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này được nêu trong Bảng 13.

Bảng 13: Đặc tính của dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA + EPA kết hợp là ít nhất khoảng 400mg/g dầu

Đặc tính hóa học	Mô tả	Kết quả
Hàm lượng DHA mg/g dầu	Tối thiểu 240	255
Hàm lượng EPA mg/g dầu	Tối thiểu 120	155
Hàm lượng DHA + EPA mg/g dầu	Tối thiểu 400	411
Hàm lượng peroxit mili đương lượng/kg	Tối đa 5,0	0,4
Hàm lượng ansidin	Tối đa 20	<1

Axit béo tự do %	Tối đa 0,25	0,1
Hàm lượng ẩm và chất dễ bay hơi %	Tối đa 0,02	<0,01
Chất không thể xà phòng hóa %	Tối đa 4,5	0,9
Axit béo biến đổi %	Tối đa 1	<1
Hàm lượng thành phần		
Arsenic ppm	Tối đa 0,1	<0,1
Cadimi ppm	Tối đa 0,1	<0,1
Đồng ppm	Tối đa 0,05	<0,02
Sắt ppm	Tối đa 0,2	0,0
Chì ppm	Tối đa 0,1	<0,1
Thủy ngân ppm	Tối đa 0,04	<0,01

Các thành phần khác được chứa trong dầu bao gồm 1200ppm lexitin hướng dương; 2000ppm dịch chiết hương thảo; 2000ppm tocopherol hỗn hợp; và 300ppm ascorbyl palmitat. 2000ppm tocopherol hỗn hợp thu được từ 1700ppm tocopherol được thêm vào (bao gồm 1100ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70. và từ tocopherol hỗn hợp được chứa trong 3000ppm TAP 1010 Sun mà được thêm vào dầu. TAP1010 Sun tạo ra 300ppm ascorbyl palmitat, 300ppm tocopherol hỗn hợp, và 1200ppm lexitin hướng dương.

Ví dụ 4

Dầu hoàn thiện chứa lexitin hướng dương, dịch chiết hương thảo, tocopherol hỗn hợp, và ascorbyl palmitat. Dầu thô có thể thu được theo quy trình được nêu trong Ví dụ 1 và 2. Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA + EPA kết hợp là ít nhất khoảng 500mg/g dầu. Các đặc tính thông thường của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này được nêu trong Bảng 14.

Bảng 14: Đặc tính của dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA + EPA kết hợp là ít nhất khoảng 500mg/g dầu

Các đặc tính hóa học	
Hàm lượng DHA mg/g dầu	Tối thiểu 320
Hàm lượng EPA mg/g dầu	Tối thiểu 130

Hàm lượng DHA + EPA mg/g dầu	Tối thiểu 500
Hàm lượng peroxit mili đương lượng/kg	Tối đa 5,0
Hàm lượng ansidin	Tối đa 20
Axit béo tự do %	Tối đa 0,25
Hàm lượng ẩm và chất dễ bay hơi %	Tối đa 0,02
Chất không thể xà phòng hóa %	Tối đa 4,5
Axit béo biến đổi %	Tối đa 1
Hàm lượng thành phần	
Arsenic ppm	Tối đa 0,1
Cadimi ppm	Tối đa 0,1
Đồng ppm	Tối đa 0,05
Sắt ppm	Tối đa 0,2
Chì ppm	Tối đa 0,1
Thủy ngân ppm	Tối đa 0,04

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 1600ppm lexitin hướng dương; 2000ppm dịch chiết hương thảo; 2400ppm tocopherol hỗn hợp; và 400ppm ascorbyl palmitat. 2400ppm tocopherol hỗn hợp thu được từ 2000ppm tocopherol được thêm vào (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70. và từ tocopherol hỗn hợp được chứa trong 4000ppm TAP 1010 Sun mà được thêm vào dầu. TAP1010 Sun tạo ra 400ppm ascorbyl palmitat, 400ppm tocopherol hỗn hợp, và 1600ppm lexitin hướng dương.

Ví dụ 5

Dầu hoàn thiện chứa dịch chiết hương thảo, tocopherol hỗn hợp, và ascorbyl palmitat. Dầu thô thu được theo quy trình được nêu trong Ví dụ 1 và 2, Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA + EPA kết hợp là ít nhất khoảng 500mg/g dầu. Đặc tính của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này là tương tự với các đặc tính được nêu trong Bảng 14.

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 3000ppm dịch chiết hương thảo; 1700ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào

trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 250ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 6

Hoạt lực; hương cá/biển (mùi); và vị cá/biển (vị) của dầu hoàn thiện theo các Ví dụ 4 và 5 được so sánh. Kết quả của phép so sánh này được nêu trong Bảng 15.

Hoạt lực thu được theo phương pháp AOCS Ce 1b-89 (được cải biến). Các giá trị cảm quan hương biển/cá (mùi) và vị biển/cá (vị) được xác định theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu *Sensory Evaluation Techniques*, Meilgaard *et al.*, CRC Press; 4 edition (December 13, 2006). Một nhóm gồm 8 đến 18 người có kinh nghiệm được thử vị và/hoặc mùi của mẫu dầu hoàn thiện theo các Ví dụ 4 và 5. Mỗi người này sẽ xác định giá trị của mẫu. Sau đó, tất cả các mẫu được lấy trung bình theo số học và kết quả được làm tròn lên hoặc tròn xuống số tiếp theo. Giá trị hương cá/biển $\geq 1,5$ và vị cá/biển $\geq 2,5$ được mong đợi là có thể cảm nhận được bởi đông đảo dân chúng.

Dầu hoàn thiện theo mỗi Ví dụ 4a-d và 5 được đóng gói vào đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic 100g (Elemental Container Inc., part number MC 12532) có nút poly tự nhiên 25mm lồng vào (Elemental Container Inc., part number 024PLUG) và được bảo quản ở 25°C.

Bảng 15

	Thời gian (tháng)	Ví dụ 4a	Ví dụ 4b	Ví dụ 4c	Ví dụ 4d	Trung bình của Ví dụ 4a-d	Ví dụ 5
Hoạt lực	0	359	354	382	348	361	360
DHA (mg/g)	3	372	365	394	346	369	362
Hoạt lực	0	199	213	179	158	187	178
EPA (mg/g)	3	202	218	184	160	191	162
Hương cá/biển	0	1	0	0	1	1	0
	1	2	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	2	1	1
	3	1	1	1	3	2	1
	4	2	1	1	2	2	1
	5	2	1	2	2	2	2
Vị cá/biển	0	1	0	0	1	1	0

	1	2	1	1	1	1	0
	2	2	1	2	2	2	1
	3	1	2	2	3	2	1
	4	2	2	1	3	2	2
	5	3	2	2	3	3	3

Ví dụ 7

Dầu thô có thể thu được từ *Schizochytrium sp* nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246. Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 350mg/g dầu. Các đặc tính thông thường của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này được nêu trong Bảng 16.

Bảng 16: Đặc tính của dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA ít nhất khoảng 350mg/g

Axit béo	Nồng độ (trọng lượng)
14:0	6%-12%
16:0	18%-28%
18:0	Tối đa 2%
18:1	Tối đa 8%
18:2	Tối đa 2%
20:4 ARA	Tối đa 2%
20:5 EPA	Tối đa 3%
22:5n-6 DPA	12%-18%
22:6 DHA	Tối thiểu 35%
Các loại khác	Tối đa 10%
Hàm lượng thành phần	
Arsenic	Tối đa 0,2ppm
Đồng	Tối đa 0,05ppm
Sắt	Tối đa 0,2ppm
Chì	Tối đa 0,1ppm

Thủy ngân	Tối đa 0,04ppm
Các đặc tính hóa học	
Hàm lượng peroxit	Tối đa 5 mili đương lượng/kg
Axit béo tự do	Tối đa 0,25%
Hàm lượng ẩm và chất dễ bay hơi	Tối đa 0,05%
Chất không thể xà phòng hóa	Tối đa 4,5%
Axit béo chuyển hóa	Tối đa 1%

Ví dụ 7a

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 900ppm tocopherol hỗn hợp mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng. Tocopherol hỗn hợp là sẵn có từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7b

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 900ppm tocopherol hỗn hợp mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng; 400ppm ascorbyl palmitat; và 2800ppm lexitin đậu nành. Tocopherol hỗn hợp là sẵn có từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7c

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 900ppm tocopherol hỗn hợp mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng; 750ppm ascorbyl palmitat; và 2800ppm lexitin đậu nành. Tocopherol hỗn hợp là sẵn có từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7d

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm lexitin đậu nành; 3500ppm dịch chiết hương thảo; 1400ppm tocopherol hỗn hợp; và 50ppm ascorbyl palmitat. 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7e

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm Lexitin đậu nành; 3500ppm dịch chiết hương thảo; 1400ppm tocopherol hỗn hợp; và 750ppm ascorbyl palmitat. 1400ppm tocopherol hỗn hợp bao gồm 900ppm mà được

thêm vào theo cách ngược dòng, mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7f

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm Lexitin đậu nành; 3500ppm dịch chiết hương thảo; 3400ppm tocopherol hỗn hợp; và 50ppm ascorbyl palmitat. 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7g

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm Lexitin đậu nành; 3500ppm dịch chiết hương thảo; 3400ppm tocopherol hỗn hợp; và 750ppm ascorbyl palmitat. 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng) là thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 7h

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 500ppm dịch chiết hương thảo.

Ví dụ 7i

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm lexitin đậu nành; 500ppm dịch chiết hương thảo; 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 50ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 7j

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm lexitin đậu nành; 500ppm dịch chiết hương thảo; 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 750ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 7k

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm lexitin đậu nành; 500ppm dịch chiết hương thảo; 3400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 50ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 7l

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm lexitin đậu nành; 500ppm dịch chiết hương thảo; 3400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 750ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 7m

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2800ppm lexitin đậu nành; 2000ppm dịch chiết hương thảo; 2400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 400ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 8

Dầu hoàn thiện chứa dịch chiết hương thảo và tocopherol hỗn hợp. Dầu thô có thể thu được từ *Schizochytrium sp* nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246, Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 350mg/g dầu. Đặc tính của dầu này là tương tự với các đặc tính được nêu trong Bảng 16.

Ví dụ 8a

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 3400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 500ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 17 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat hoặc lexitin.

Bảng 17

Thành phần	Lượng: 96,1% chất béo cùng với			
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,06%	
	EPA	20:5 n-3	1,10%	
	DPA	22:5 n-6	17,54%	
	DPA	22:5 n-3	0,57%	
	DHA	22:6 n-3	44,74%	
	Tổng cộng khoảng 65,01 % trọng lượng			
Tocopherol	3.400ppm			
Dịch chiết hương thảo	500ppm			
Axit oleic cao	7,8%			

Ví dụ 8b

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 1400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 3500ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 18 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat hoặc lexitin.

Bảng 18

Thành phần	Lượng: 96,7% chất béo cùng với		
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,06%
	EPA	20:5 n-3	1,12%
	DPA	22:5 n-6	17,46%
	DPA	22:5 n-3	0,57%
	DHA	22:6 n-3	44,46%
	Tổng cộng khoảng 64,67 % trọng lượng		
Tocopherol	1,400ppm		
Dịch chiết hương thảo	3,500ppm		
Axit oleic cao	7,8%		

Ví dụ 8c

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 3400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại

Tocoblend™ L70; và 3500ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 19 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat hoặc lexitin.

Bảng 19

Thành phần	Lượng: 95,3% chất béo cùng với			
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,07%	
	EPA	20:5 n-3	1,10%	
	DPA	22:5 n-6	17,55%	
	DPA	22:5 n-3	0,57%	
	DHA	22:6 n-3	44,70%	
	Tổng cộng khoảng 64,99 % trọng lượng			
Tocopherol	3.400ppm			
Dịch chiết hương thảo	3.500ppm			
Axit oleic cao	7,5%			

Ví dụ 8d

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 2000ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 20 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat hoặc lexitin.

Bảng 20

Thành phần	Lượng: 95,9% chất béo cùng với			
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,06%	
	EPA	20:5 n-3	1,09%	
	DPA	22:5 n-6	17,49%	
	DPA	22:5 n-3	0,56%	
	DHA	22:6 n-3	44,51%	
	Tổng cộng khoảng 64,71 % trọng lượng			
Tocopherol	2.400ppm			
Dịch chiết hương thảo	2.000ppm			
Axit oleic cao	7,8%			

Ví dụ 8e

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 0ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 21 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat, lexitin, hoặc dịch chiết hương thảo.

Bảng 21

Thành phần	Lượng: 95,8% chất béo cùng với			
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,06%	
	EPA	20:5 n-3	1,09%	
	DPA	22:5 n-6	17,47%	
	DPA	22:5 n-3	0,56%	
	DHA	22:6 n-3	44,48%	
	Tổng cộng khoảng 64,66 % trọng lượng			
Tocopherol	2.400ppm			
Dịch chiết hương thảo	0ppm			
Axit oleic cao	8,0%			

Ví dụ 8f

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 900ppm tocopherol hỗn hợp (mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 2000ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 22 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat hoặc lexitin.

Bảng 22

Thành phần	Lượng: 96,6% chất béo cùng với			
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,06%	
	EPA	20:5 n-3	1,09%	
	DPA	22:5 n-6	17,48%	
	DPA	22:5 n-3	0,57%	
	DHA	22:6 n-3	44,51%	
	Tổng cộng khoảng 64,71 % trọng lượng			

Tocopherol	900ppm
Dịch chiết hương thảo	2.000ppm
Axit oleic cao	8,0%

Ví dụ 8g

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 2000ppm dịch chiết hương thảo. Bảng 23 tóm tắt dầu theo Ví dụ này mà không chứa ascorbyl palmitat hoặc lexitin.

Bảng 23

Thành phần	Lượng: 97,2% chất béo cùng với			
dầu chứa ít nhất một axit béo C ₁₈₋₂₂ đa bất bão hòa có từ 4 đến 6 liên kết đôi cacbon-cacbon	ARA	20:4 n-6	1,06%	
	EPA	20:5 n-3	1,12%	
	DPA	22:5 n-6	17,46%	
	DPA	22:5 n-3	0,56%	
	DHA	22:6 n-3	44,44%	
	Tổng cộng khoảng 64,64 % trọng lượng			
Tocopherol	2,400ppm			
Dịch chiết hương thảo	2,000ppm			
Axit oleic cao	7,8%			

Ví dụ 9**Bảng 24a**

Ví dụ	Giá trị cảm quan hương biển/cá	Giá trị ranximat
8a	1,4 @ 6 Tháng, nhiệt độ trong phòng	5,6
8b	0,9 @ 8 Tháng, nhiệt độ trong phòng	5,3
8c	1,2 @ 8 Tháng, nhiệt độ trong phòng	5,8
8d	1,2 @ 6 Tháng, nhiệt độ trong phòng	5,5
8e	1,3 @ 6 Tháng, nhiệt độ trong phòng	4,1
8f	1,3 @ 7 Tháng, nhiệt độ trong phòng	4,1
8g	1,4 @ 6 Tháng, nhiệt độ trong phòng	5,2

Bảng 24b

	Thời gian (tháng)	Ví dụ 7a	Ví dụ 7b	Ví dụ 7c	Ví dụ 7d	Ví dụ 7e	Ví dụ 7f	Ví dụ 7g	Ví dụ 7h	Ví dụ 7i	Ví dụ 7j	Ví dụ 7k
Hoạt lực DHA (mg/g)	0	427	370	371	368	368	365	375	428	368	365	366
	6	438	368	368	360	368	368	370	425	368	371	377
Hương cá/biển	0	0,3	1,0	0,8	0,8	0,3	0,8	0,3	0,5	1,4	0,5	1,4
	1	0,3	1,6	0,7	0,8	1,3	1,1	1,1	0,3	1,8	1,3	1,9
	2	0,6	1,4	0,5	1,2	1,0	1,0	1,2	0,7	1,7	1,1	1,6
	3	1,2	1,6	1,7	1,6	1,7	1,8	1,8	1,1	2,3	1,7	2,3
	4	1,6	1,9	1,1	1,7	1,6	1,5	1,9	1,6	2,2	1,4	2,2
	5	1,5	1,9	1,2	1,8	1,7	2,0	1,6	1,1	2,2	2,2	2,3
	6	1,5	1,9	1,2	2,3	2,1	2,5	2,0	1,6	2,3	2,2	2,5
	7	1,8	2,2	1,7	2,1	2,1	2,0	2,2	1,6	2,4	2,2	2,5
	8	-	2,2	1,5	2,1	2,2	2,2	2,2	1,8	2,9	2,5	2,6
Vị cá/biển	0	0,7	1,3	1,2	0,9	0,6	0,9	0,5	0,7	1,7	0,9	1,4
	1	0,7	2,5	1,1	1,1	1,2	1,1	1,4	0,6	2,3	1,4	2,5
	2	1,2	2,1	0,7	1,5	1,1	1,1	1,7	1,1	2,2	1,4	2,1
	3	1,6	2,4	2,4	1,9	2,1	2,1	2,1	1,6	2,8	2,1	2,8
	4	2,0	2,4	1,5	2,0	2,1	1,9	2,2	1,9	2,9	2,3	3,0
	5	2,0	2,4	1,5	2,2	2,1	2,4	2,1	1,6	2,9	2,6	2,8
	6	2,2	2,5	1,8	2,7	2,6	-	2,4	2,2	3,1	2,7	3,2
	7	2,5	2,8	1,9	2,6	2,4	2,6	2,5	2,4	3,1	2,6	3,2
	8	-	2,7	1,5	2,6	2,8	3,0	2,5	2,6	3,8	3,0	3,4

Bảng 24c

	Thời gian (tháng)	Ví dụ 7l	Ví dụ 7m (i)	Ví dụ 7m (ii)	Ví dụ 7m (iii)	Ví dụ 8a	Ví dụ 8b	Ví dụ 8c	Ví dụ 8d	Ví dụ 8e	Ví dụ 8f	Ví dụ 8g
Hoạt	0	363	364	377	373	430	430	426	427	426	430	432

lực DHA (mg/g)	6	365	367	368	370	430	425	430	432	429	425	430
Hương cá/biển	0	0,4	0,6	0,3	0,6	0,5	0,3	0,2	0,5	0,3	0,3	0,2
	1	1,0	1,2	0,9	0,8	0,4	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,3
	2	1,3	0,8	1,0	0,9	0,6	0,7	0,6	0,6	0,3	0,7	0,5
	3	1,8	1,7	1,5	1,3	1,2	0,8	1,0	1,0	0,8	0,8	1,0
	4	2,0	1,7	1,4	1,5	1,4	1,2	1,1	1,2	1,3	1,3	1,1
	5	1,8	1,7	1,8	1,6	1,3	1,0	1,1	1,0	0,8	1,0	1,1
	6	2,3	2,5	2,2	1,7	1,4	1,3	1,2	1,3	1,3	1,4	1,4
	7	2,0	2,1	1,9	2,0	1,7	1,2	1,4	1,5	1,6	1,4	1,5
	8	2,5	2,5	-	2,3	2,9	0,9	1,2	1,9	1,7	1,6	-
	9	-	-	-	-	-	1,3	1,9	-	-	1,8	-
Vị cá/biển	0	0,7	0,8	0,5	0,8	0,8	0,5	0,4	0,6	0,5	0,5	0,5
	1	1,3	1,3	1,2	1,0	0,8	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5
	2	1,5	1,2	1,1	1,2	1,1	0,8	0,7	0,8	0,7	0,8	1,0
	3	2,3	2,1	1,9	1,9	1,5	0,9	1,2	1,2	1,5	1,0	1,2
	4	2,4	-	2,1	-	1,9	1,3	1,5	1,4	1,7	1,4	1,3
	5	2,4	2,2	2,2	2,2	1,8	1,4	1,4	1,5	1,3	1,3	1,6
	6	2,8	-	-	-	2,1	1,4	1,5	1,5	1,9	1,6	1,8
	7	2,7	-	2,5	-	2,1	1,4	1,7	1,7	2,3	1,9	2,1
	8	3,0	3,0	-	2,9	3,1	1,3	1,9	2,4	2,4	2,1	-
	9		-	-	-	-	1,9	2,5	-	-	2,3	-

Giá trị Ranximat được xác định bằng thử nghiệm tiêu chuẩn về độ ổn định của dầu, bằng cách sử dụng thiết bị ranximat được vận hành ở 90°C, với lưu lượng khí được đặt ở chế độ 10 lít/giờ (AOCS Cd 12b-92). Hoạt lực thu được theo phương pháp AOCS Ce 1b-89 (được cải biến). Các giá trị cảm quan hương biển/cá (mùi) và vị biển/cá (vị) được xác định theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu *Sensory Evaluation Techniques*, Meilgaard *et al.*, CRC Press; 4 edition (December 13, 2006). Một nhóm gồm 8 đến 18 người có kinh nghiệm được thử vị và/hoặc mùi mẫu dầu hoàn thiện theo các ví dụ 7a-m và 8a-g. Mỗi người này sẽ xác định giá trị của mẫu. Sau đó, tất cả các mẫu được lấy trung bình theo số học và kết quả được làm tròn lên hoặc tròn xuống số

tiếp theo. Giá trị hương cá/biển $\geq 1,5$ và vị cá/biển $\geq 2,5$ được mong đợi là có thể cảm nhận được bởi đông đảo dân chúng.

Dầu hoàn thiện theo Ví dụ 7a-m và 8a-g được đóng gói vào trong túi polyetylen tỷ trọng thấp Nylon/Foil/PE được bao gói bằng chân không rồi được hàn kín bằng nhiệt trong môi trường N_2 trên thiết bị Model AGV Multivac (Multivac Sepp Haggenmüller GmbH & Co. KG) và được bảo quản ở $25^\circ C$.

Ví dụ 10

Dầu hoàn thiện chứa *lexitin* hướng dương, *dịch chiết hương thảo*, *tocopherol* hỗn hợp, và *ascorbyl palmitat*. Dầu thô có thể thu được từ *Schizochytrium sp* nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246. Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 350mg/g dầu. Các đặc tính thông thường của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này được nêu trong Bảng 25.

Bảng 25: Đặc tính của dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 350mg/g dầu

Các đặc tính hóa học	
Hàm lượng DHA mg/g dầu	Tối thiểu 350
Hàm lượng peroxit mili đương lượng/kg	Tối đa 5,0
Hàm lượng ansidin	Tối đa 20
Axit béo tự do %	Tối đa 0,25
Hàm lượng ẩm và chất dễ bay hơi %	Tối đa 0,05
Chất không thể xà phòng hóa %	Tối đa 4,5
Axit béo biến đổi %	Tối đa 1
Hàm lượng thành phần	
Arsenic ppm	Tối đa 0,1
Cadimi ppm	Tối đa 0,1
Đồng ppm	Tối đa 0,05
Sắt ppm	Tối đa 0,2
Chì ppm	Tối đa 0,1
Thủy ngân ppm	Tối đa 0,04

Ví dụ 10a-10e

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 1600ppm Lexitin hướng dương; 2000ppm dịch chiết hương thảo; 2400ppm tocopherol hỗn hợp; và 400ppm ascorbyl palmitat. 2400ppm tocopherol hỗn hợp thu được từ 2000ppm tocopherol được thêm vào (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70. và từ tocopherol hỗn hợp được chứa trong 4000ppm TAP 1010 Sun mà được thêm vào dầu. TAP1010 Sun tạo ra 400ppm ascorbyl palmitat, 400ppm tocopherol hỗn hợp, và 1600ppm lexitin hướng dương.

Ví dụ 11

Dầu hoàn thiện chứa dịch chiết hương thảo, tocopherol hỗn hợp, và ascorbyl palmitat. Dầu thô có thể thu được từ *Schizochytrium sp* nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246, Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 400mg/g dầu. Đặc tính của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này là tương tự với các đặc tính được nêu trong Bảng 26.

Ví dụ 11a-b

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 3000ppm dịch chiết hương thảo; 1700ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 250ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 12

Hoạt lực; hương cá/biển (mùi); và vị cá/biển (vị) của dầu hoàn thiện theo các ví dụ 10a-e và 11a-b được so sánh. Kết quả của phép so sánh này được nêu trong Bảng 27.

Hoạt lực thu được theo phương pháp AOCS Ce 1b-89 (được cải biến). Các giá trị cảm quan hương biển/cá (mùi) và vị biển/cá (vị) được xác định theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu Sensory Evaluation Techniques, Meilgaard *et al.*, CRC Press; 4 edition (December 13, 2006). Một nhóm gồm 8 đến 18 người có kinh nghiệm được thử vị và/hoặc mùi của mẫu dầu hoàn thiện theo các ví dụ 10a-e và 11a-b. Mỗi người này sẽ xác định giá trị của mẫu. Sau đó, tất cả các mẫu được lấy trung bình theo số học và kết quả được làm tròn lên hoặc tròn xuống số tiếp theo. Giá trị hương cá/biển

$\geq 1,5$ và vị cá/biển $\geq 2,5$ được mong đợi là có thể cảm nhận được bởi đông đảo dân chúng.

Dầu hoàn thiện theo mỗi Ví dụ 10a-d và 11a được đóng gói vào đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic (Elemental Container Inc., part number MC 12532) 100g có nút poly tự nhiên 25mm lồng vào (Elemental Container Inc., part number 024PLUG) và được bảo quản ở 25°C.

Dầu hoàn thiện theo mỗi Ví dụ 10e và 11b được đóng gói vào túi phoi nylon được gắn kín bằng nhiệt 300g có trang polyetylen tỷ trọng thấp (LDPE) (được sản xuất bởi Heritage Packaging) và được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng (25°C).

Bảng 27

	Thời gian (tháng)	Ví dụ 10a	Ví dụ 10b	Ví dụ 10c	Ví dụ 10d	Trung bình của Ví dụ 10a-d	Ví dụ 10e	Ví dụ 11a	Ví dụ 11b
Hoạt lực DHA (mg/g)	0	354	364	363	371	363	421	416	420
	3	355	356	354	366	358	418	417	419
Hương cá/biển	0	1	0	0	1	1	0	1	0
	1	2	1	1	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	2	1	1	1	1
	3	1	1	1	3	2	2	2	1
Vị cá/biển	0	1	0	0	1	1	1	1	0
	1	2	1	1	1	1	2	2	1
	2	2	1	2	2	2	1	2	1
	3	1	2	2	3	2	2	2	2

Ví dụ 13

Dầu hoàn thiện chứa *lexitin* hướng dương, *dịch chiết hương thảo*, *tocopherol* hỗn hợp, và *ascorbyl palmitat*. Dầu thô có thể thu được từ *Schizochytrium sp* nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246. Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện can be blended with HOSO để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 400mg/g dầu. Các đặc tính thông thường của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này được nêu trong Bảng 28.

Bảng 28: Đặc tính của dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 400mg/g dầu

Các đặc tính hóa học	
Hàm lượng DHA mg/g dầu	Tối thiểu 400
Hàm lượng peroxit mili đương lượng/kg	Tối đa 5,0
Hàm lượng ansidin	Tối đa 20
Axit béo tự do %	Tối đa 0,25
Hàm lượng ẩm và chất dễ bay hơi %	Tối đa 0,05
Chất không thể xà phòng hóa %	Tối đa 4,0
Axit béo biến đổi %	Tối đa 1
Hàm lượng thành phần	
Arsenic ppm	Tối đa 0,1
Cadimi ppm	Tối đa 0,1
Đồng ppm	Tối đa 0,05
Sắt ppm	Tối đa 0,2
Chì ppm	Tối đa 0,1
Thủy ngân ppm	Tối đa 0,04

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2000ppm dịch chiết hương thảo; 2400ppm tocopherol hỗn hợp; 400ppm ascorbyl palmitat; và 1600ppm lexitin hướng dương. 2400ppm tocopherol hỗn hợp thu được từ 2000ppm tocopherol được thêm vào (bao gồm 900ppm mà được thêm vào theo cách ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70. và từ tocopherol hỗn hợp được chứa trong 4000ppm TAP 1010 Sun mà được thêm vào dầu. TAP1010 Sun tạo ra 400ppm ascorbyl palmitat, 400ppm tocopherol hỗn hợp, và 1600ppm lexitin hướng dương.

Ví dụ 14

Dầu hoàn thiện chứa dịch chiết hương thảo, tocopherol hỗn hợp, và ascorbyl palmitat. Dầu thô có thể thu được từ Schizochytrium sp nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246, Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với HOSO để thu được dầu hoàn thiện

với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 400mg/g dầu. Đặc tính của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này là tương tự với các đặc tính được nêu trong Bảng 28.

Ví dụ 14a

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2000ppm dịch chiết hương thảo; 1700ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào theo cách ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 250ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 14b và 14c

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 3000ppm dịch chiết hương thảo; 1700ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào theo cách ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 250ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 14d

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 5000ppm dịch chiết hương thảo; 1700ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào theo cách ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70; và 250ppm ascorbyl palmitat.

Ví dụ 15

Dầu hoàn thiện chứa dịch chiết hương thảo hữu cơ và tocopherol hỗn hợp. Dầu thô có thể thu được từ *Schizochytrium sp* nhờ quy trình được mô tả trong, ví dụ, WO 91/007498, WO 94/08467, WO 03/105606, và WO2011/153246. Dầu thô còn có thể được xử lý tiếp bằng cách tinh lọc, tẩy trắng và khử mùi để thu được dầu tinh luyện. Dầu tinh luyện còn có thể được trộn cùng với organic HOSO, mà thu được từ, ví dụ, Adams Vegetables Oils, Inc, (Arbuckle, California) để thu được dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 400mg/g dầu. Các đặc tính thông thường của dầu hoàn thiện theo Ví dụ này được nêu trong Bảng 29.

Bảng 29: Đặc tính của dầu hoàn thiện với hàm lượng DHA là ít nhất khoảng 400mg/g dầu

Các đặc tính hóa học	
Hàm lượng DHA mg/g dầu	Tối thiểu 400
Hàm lượng peroxit mili đương lượng/kg	Tối đa 5,0
Hàm lượng ansidin	Tối đa 20

Axit béo tự do %	Tối đa 0,25
Hàm lượng ẩm và chất dễ bay hơi %	Tối đa 0,02
Chất không thể xà phòng hóa %	Tối đa 4,0
Axit béo biến đổi %	Tối đa 1
Hàm lượng thành phần	
Arsenic ppm	Tối đa 0,1
Cadimi ppm	Tối đa 0,1
Đồng ppm	Tối đa 0,05
Sắt ppm	Tối đa 0,2
Chì ppm	Tối đa 0,1
Thủy ngân ppm	Tối đa 0,04

Ví dụ 15a

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 750ppm dịch chiết hương thảo, mà thu được từ, ví dụ, Vitiva (Markovic, Slovenia) dưới tên thương mại Inolens® 4 organic và Naturex, (Avignon, France) dưới tên thương mại Organic StabilEnhance® OSR-4; và 1700ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào trong quá trình ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 15b

Các thành phần khác được chứa trong dầu hoàn thiện bao gồm 2000ppm dịch chiết hương thảo, mà thu được từ, ví dụ, Vitiva (Markovic, Slovenia) dưới tên thương mại Inolens® 4 Organic và Naturex, (Avignon, France) dưới tên thương mại Organic StabilEnhance® OSR-4; và 2400ppm tocopherol hỗn hợp (bao gồm 900ppm mà được thêm vào theo cách ngược dòng), mà thu được từ, ví dụ, Vitablend (Wolvega, the Netherlands) dưới tên thương mại Tocoblend™ L70.

Ví dụ 16

Hoạt lực; hương cá/biển (mùi); và vị cá/biển (vị) của dầu hoàn thiện theo các ví dụ 13, 14, và 15 được so sánh. Kết quả của phép so sánh này được nêu trong Bảng 30,

Hoạt lực thu được theo phương pháp AOCS Ce 1b-89(được cải biến). Các giá trị cảm quan hương biển/cá (mùi) và vị biển/cá (vị) được xác định theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu Sensory Evaluation Techniques, Meilgaard *et al.*, CRC Press; 4 edition (December 13, 2006). Một nhóm gồm 8 đến 18 người có kinh nghiệm

được thử vị và/hoặc mùi của mẫu dầu theo các ví dụ 13, 14, và 15. Mỗi người này sẽ xác định giá trị của mẫu. Sau đó, tất cả các mẫu được lấy trung bình theo số học và kết quả được làm tròn lên hoặc tròn xuống số tiếp theo. Giá trị hương cá/biển $\geq 1,5$ và vị cá/biển $\geq 2,5$ được mong đợi là có thể cảm nhận được bởi đông đảo dân chúng.

Dầu hoàn thiện theo mỗi Ví dụ 13 và 14a-d được đóng gói vào túi phoi nylon được gắn kín bằng nhiệt 300g có trang polyetylen tỷ trọng thấp (LDPE) (được sản xuất bởi Heritage Packaging) và được bảo quản ở 25°C.

Dầu hoàn thiện theo mỗi Ví dụ 15a-b được đóng gói vào đồ chứa nhôm được tráng epoxy-phenolic (Elemental Container Inc., part number MC 12532) 100g có nút poly tự nhiên 25mm lồng vào (Elemental Container Inc., part number 024PLUG) và được bảo quản ở 25°C.

Bảng 30

	Thời gian (tháng)	Ví dụ 13	Ví dụ 14a	Ví dụ 14b	Ví dụ 14c	Ví dụ 14d	Ví dụ 15a	Ví dụ 15b
Hoạt lực DHA (mg/g)	0	420	420	425	423	426	439	423
	3	421	419	415	416	420	428	428
Hương cá/biển	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	1	0	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	-	-
	3	2	2	2	2	1	-	-
	4	2	2	1	2	2	-	-
	5	2	2	2	2	2	-	-
Vị cá/biển	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	2	2
	2	2	1	1	1	1	-	-
	3	2	2	3	2	2	-	-
	4	3	2	2	2	2	-	-
	5	3	2	3	2	2	-	-

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dầu chứa

(i) ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi;

(ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và

(iii) ít hơn khoảng 1000ppm lexitin, trong đó ít nhất một chất chống oxy hóa là tocopherol và dầu này chứa tocopherol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 900 ppm đến khoảng 3400 ppm.

2. Dầu theo điểm 1, trong đó dầu này còn chứa ít hơn khoảng 750ppm chất chống oxy hóa thứ hai được chọn từ dẫn xuất axit ascorbic.

3. Dầu chứa:

(i) ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi;

(ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và

(iii) ít hơn khoảng 750ppm chất chống oxy hóa thứ hai được chọn từ dẫn xuất axit ascorbic, trong đó ít nhất một chất chống oxy hóa là tocopherol và dầu này chứa tocopherol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 900 ppm đến khoảng 3400 ppm.

4. Dầu theo điểm 3, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 150ppm lexitin.

5. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 30ppb sắt.

6. Dầu chứa:

(i) ít nhất ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi;

(ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và

(iii) ít hơn khoảng 30ppb sắt,

trong đó ít nhất một chất chống oxy hóa là tocopherol và dầu này chứa tocopherol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 900 ppm đến khoảng 3400 ppm, và trong đó, một cách tùy ý, dầu chứa ít nhất 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi.

7. Dầu chứa:

(i) ít nhất khoảng 30% trọng lượng một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi cacbon-cacbon;

(ii) ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất; và

(iii) phương tiện để cải thiện độ ổn định oxy hóa, trong đó dầu này có giá trị cảm quan hương cá nhỏ hơn 1,5 và trong đó ít nhất một chất chống oxy hóa là tocopherol và dầu này chứa tocopherol với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 900 ppm đến khoảng 3400 ppm.

8. Dầu theo điểm 6 hoặc 7, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 1000ppm lexitin.

9. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 6 đến 8, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 750ppm chất chống oxy hóa thứ hai.

10. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 7 đến 9, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 30ppb sắt.

11. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này còn chứa chất phản ứng điều vị.

12. Dầu theo điểm 11, trong đó chất phản ứng điều vị này là dịch chiết hương thảo.

13. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này (a) hầu như không chứa chất chống oxy hóa thứ hai được chọn từ dẫn xuất axit ascorbic hoặc (b) không chứa chất oxy hóa thứ hai được chọn từ dẫn xuất axit ascorbic.

14. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó dẫn xuất axit ascorbic có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 50ppm đến 400ppm, ví dụ khoảng từ 100ppm đến 300ppm.

15. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 5, và từ 9 đến 13, trong đó chất oxy hóa thứ hai này là ascorbyl palmitat.

16. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 và từ 11 đến 15, trong đó dầu này có giá trị cảm quan hương cá nhỏ hơn 1,5.

17. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này có

(c) giá trị cảm quan hương cá nhỏ hơn 2,5;

(d) POV nhỏ hơn 5, ví dụ nhỏ hơn 2, ví dụ nhỏ hơn 1 và/hoặc

(e) AnV nhỏ hơn 20, ví dụ nhỏ hơn 10.

18. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một chất chống oxy hóa thứ nhất này là tocopherol hỗn hợp; và/hoặc tocopherol bổ sung.

19. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này là dầu hữu cơ và/hoặc dầu tự nhiên.

20. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này và/hoặc ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi thu được từ ít nhất một trong số các nguồn: vi tảo, cá, thực vật, hạt, hoặc hỗn hợp của chúng.

21. Dầu theo điểm 20, trong đó vi tảo này là *Thraustochytriales*.

22. Dầu theo điểm 20, trong đó vi tảo này là được chọn từ *Thraustochytrium sp.*, *Schizochytrium sp.*, và hỗn hợp của chúng.

23. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi thu được từ thực vật hoặc từ cá.

24. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này là dầu ăn được.

25. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi được chọn từ DHA, EPA, DPA n-3, và hỗn hợp của chúng.

26. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một axit béo đa bất bão hòa có ít nhất 4 liên kết đôi được chọn từ DPA n-6 và ARA.

27. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa ít nhất khoảng 35% trọng lượng, ít nhất khoảng 40% trọng lượng, ít nhất khoảng 45% trọng lượng, ít nhất khoảng 50% trọng lượng của DHA, trong đó dầu này chứa ít hơn khoảng 80% trọng lượng, ít hơn khoảng 70% trọng lượng, hoặc ít hơn khoảng 60% trọng lượng của DHA.

28. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa ít nhất khoảng 35% trọng lượng, ít nhất khoảng 40% trọng lượng, ít nhất khoảng 45% trọng lượng, ít nhất khoảng 50% trọng lượng của DHA+EPA, trong đó dầu này chứa ít hơn

khoảng 80% trọng lượng, ít hơn khoảng 70% trọng lượng, hoặc ít hơn khoảng 60% trọng lượng của DHA+ EPA.

29. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này có

(f) giá trị ranximat nhỏ hơn khoảng 19;

(g) giá trị cảm quan hương cá nhỏ hơn 1,5 tại khoảng thời gian được chọn từ 0-3 tháng, ở 0-4 tháng, ở 0-5 tháng, ở 0-6 tháng, ở 0-7 tháng, ở 0-8 tháng, hoặc ở 0-9 tháng; và/hoặc

(h) giá trị cảm quan hương cá nhỏ hơn 2,5 tại khoảng thời gian được chọn từ 0-3 tháng, ở 0-4 tháng, ở 0-5 tháng, ở 0-6 tháng, ở 0-7 tháng, ở 0-8 tháng, hoặc ở 0-9 tháng.

30. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa lexitin với lượng nhỏ hơn khoảng 10ppm.

31. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa tocopherol với lượng nằm trong khoảng từ 1000ppm đến 3000ppm.

32. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa tocopherol bổ sung nằm trong khoảng từ 300ppm đến 1000ppm.

33. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dầu này chứa dịch chiết hương thảo với lượng nằm trong khoảng từ 1500ppm đến 5000ppm.

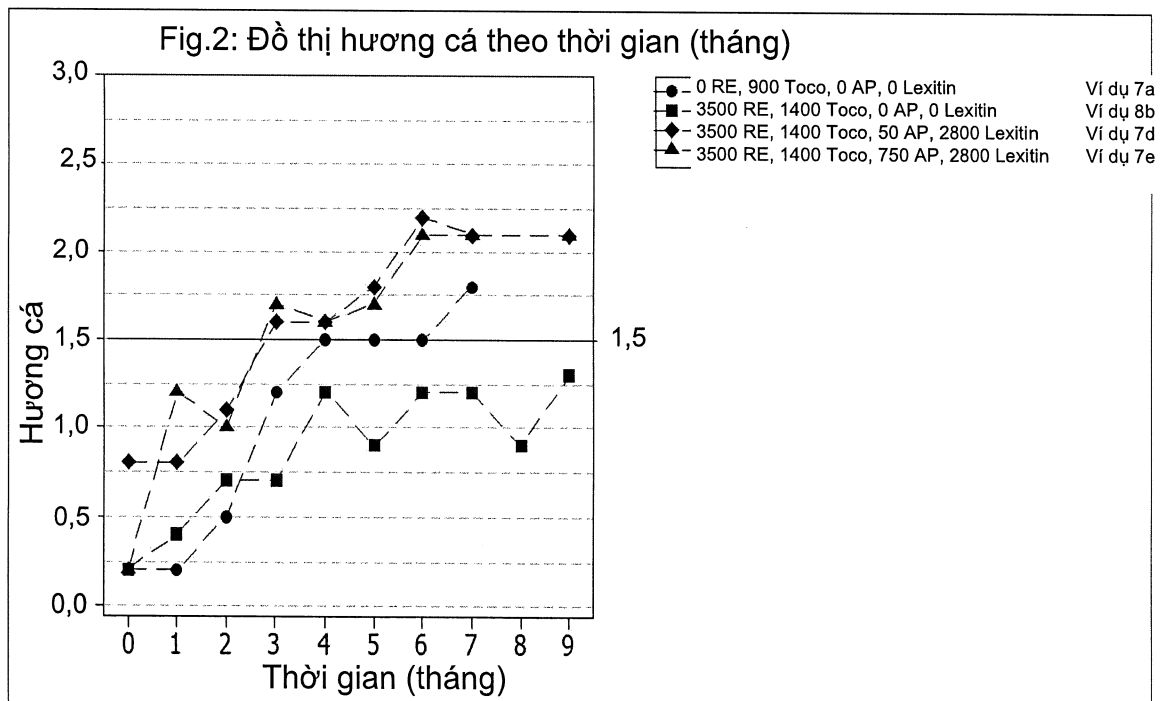
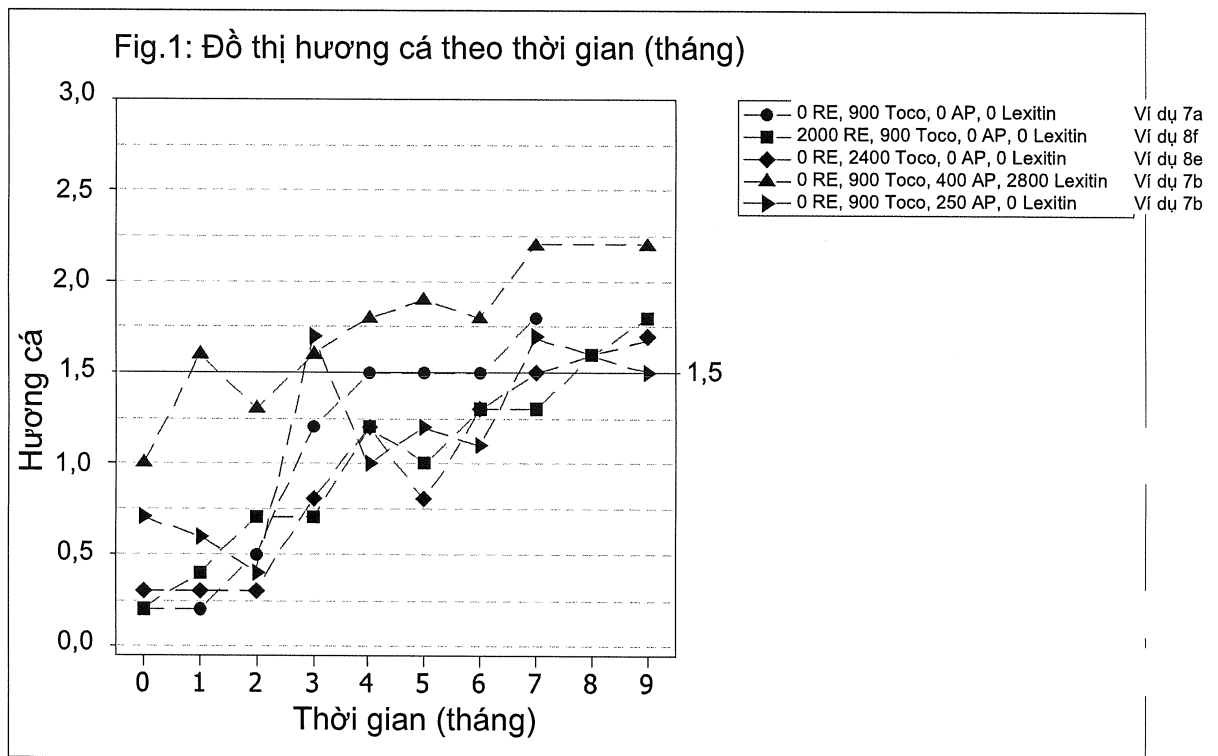
34. Dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó một hoặc nhiều axit béo đa bất bão hòa nêu trên bao gồm axit docosaehexaenoic ("DHA"), axit eicosapentaenoic ("EPA"), axit arachidonic ("ARA"), axit omega-3 docosapentaenoic ("DPA n-3"), và/hoặc axit omega-6 docosapentaenoic ("DPA n-6").

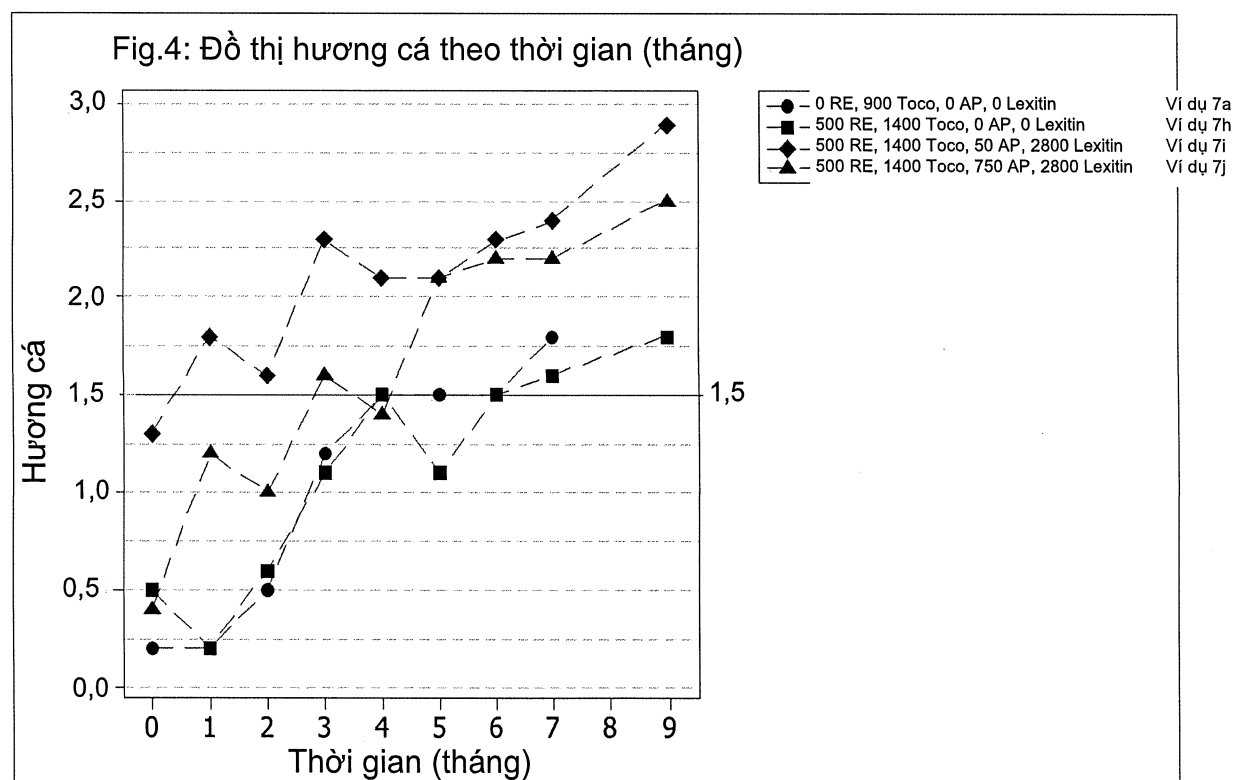
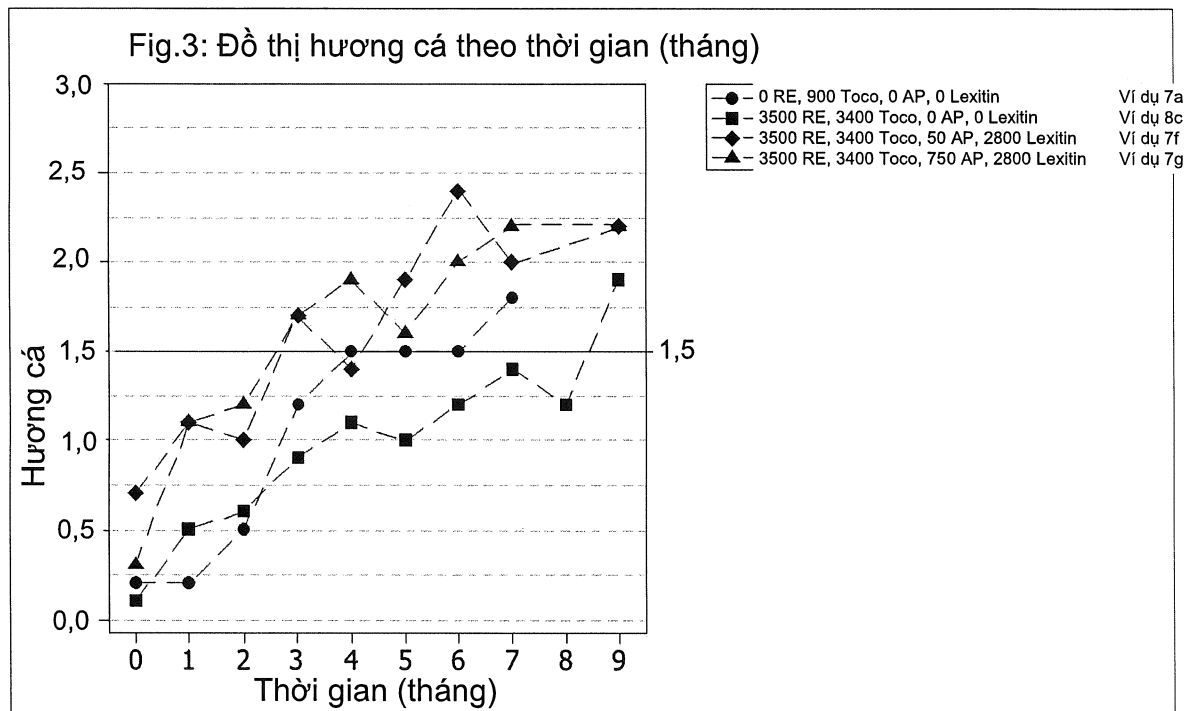
35. Dầu hoàn thiện chứa dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên và ít nhất một dầu bổ sung.

36. Dầu hoàn thiện theo điểm 35, trong đó dầu bổ sung này được chọn từ dầu thực vật.

37. Sản phẩm thực phẩm chứa dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 34 hoặc dầu hoàn thiện theo điểm 35 hoặc 36.

38. Quy trình chế biến sản phẩm thực phẩm bao gồm việc kết hợp dầu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 34 hoặc dầu hoàn thiện theo điểm 35 hoặc 36 vào trong sản phẩm thực phẩm này.





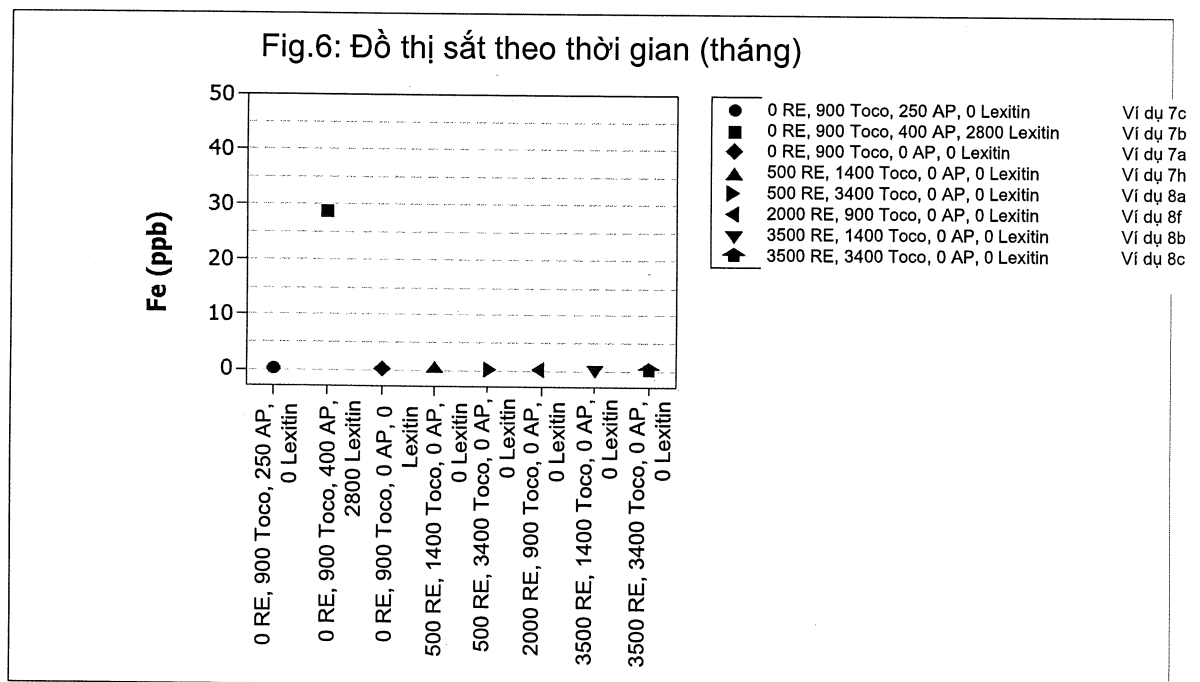
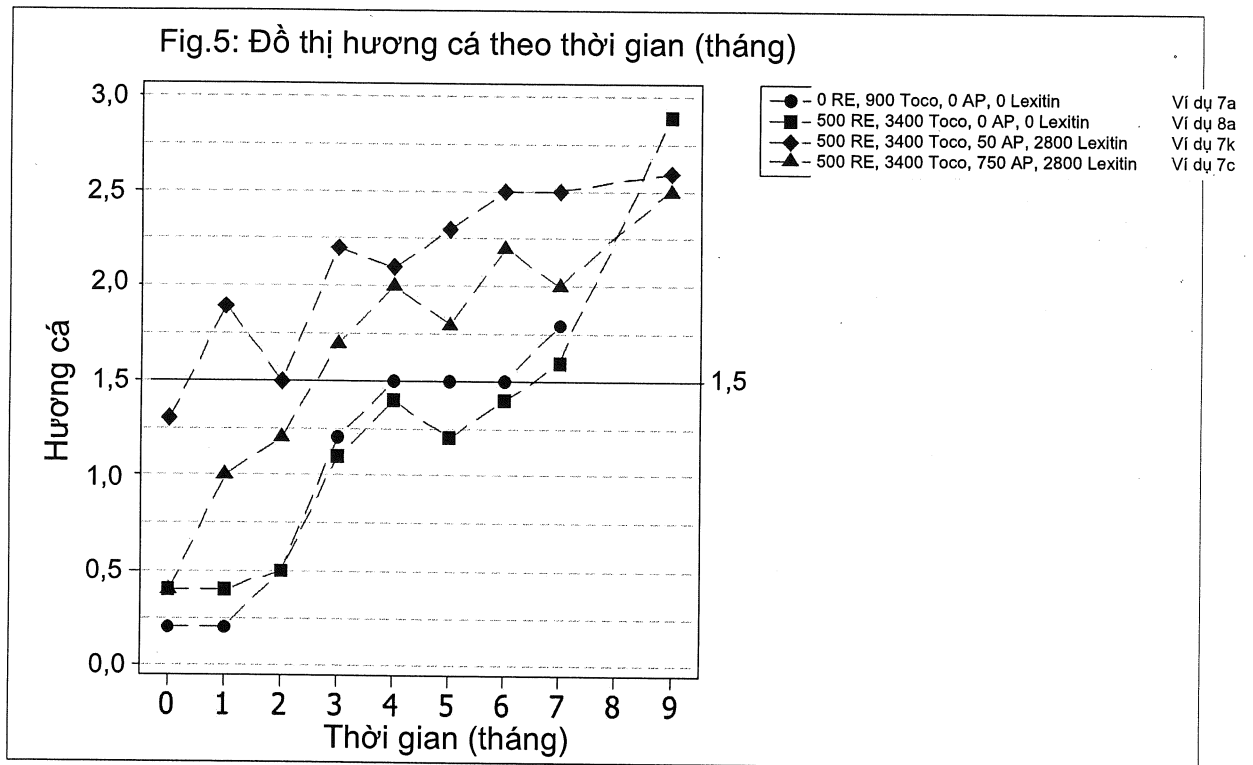


Fig.7: Đồ thị hương cá trung bình theo thời gian (tháng)

