

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

用於從微生物細胞獲得微生物油之方法(一)

PROCESSES FOR OBTAINING MICROBIAL OIL
FROM MICROBIAL CELLS

【技術領域】

發明領域

本發明係有關於用於從微生物細胞獲得微生物油之方法。

【先前技術】

發明背景

[0001] 本文揭示用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其係藉由溶解該等細胞以形成溶解的細胞組成物且接而從該溶解的細胞組成物回收該油。本文進一步揭示微生物油，其包含藉由本文所述之至少一種方法而從微生物細胞回收的一個或更多個PUFAs。

[0002] 含有一個或更多個PUFAs的微生物油係由微生物所生產，例如，舉例而言，藻類及真菌類。

[0003] 一種用於從微生物細胞獲得含PUFA的油之典型的方法，涉及使能夠生產所欲的油之微生物於一發酵器、小池或生物反應器中生長，以生產微生物細胞生質；從該生質生長的發酵培養基分離該生質；乾燥該微生物細胞生質，使用水不互溶性有機溶劑(例如，己烷)來從該乾燥的細

胞萃取該油；以及從該油移除該有機溶劑(例如，己烷)。此方法進一步會涉及用水稀釋含有該細胞生質的該發酵培養基，接著離心以從該經稀釋的發酵培養基分離該生質。

[0004]另一種用於從微生物細胞獲得含PUFA的油之方法，涉及使能夠生產所欲的油之微生物於一發酵器、小池或生物反應器中生長，以生產微生物細胞生質；使該含PUFA的油釋放至該細胞生長的發酵培養基之內，其係藉由使用機械力(例如，均質化)、酵素處理，或是化學處理來使細胞壁破裂；以及使用水不互溶性有機溶劑，例如異丙醇來從形成的組成物回收該油，該形成的組成物含有含PUFA的油、細胞碎屑和液體。該油可以從該組成物予以機械地分離，以及醇類必須從該油和含水生質廢棄物流二者予以移除。

[0005]以上從微生物細胞獲得含PUFA的油之方法之任一者的工業規模利用，需要使用大量的揮發性且可燃的有機溶劑，其產生了危險的操作條件且需要使用高價的防爆設備。此外，使用有機溶劑會產生一種有機溶劑廢棄物流，其需要實施高價的溶劑回收方法來處理對於揮發性有機化合物(VOC)的排放之嚴格的限制，其又會導致需要更大的人力以及昂貴的設備。

[0006]並且，以上的方法中使用熱來乾燥細胞及/或從該回收的油移除溶劑，會使含PUFA的油降解且增加能量使用，其進一步增加加工的成本。當含PUFA的油暴露於氧時，譬如當微生物細胞壁完整性破裂時，及/或微生物細胞

暴露於熱時，會發生降解。

[0007]一種用於從微生物細胞獲得含PUFA的油之無溶劑方法，涉及使能夠生產所欲的油之微生物於一發酵器、小池或生物反應器中生長，以生產微生物細胞生質；使該含PUFA的油釋放至該細胞生長的發酵培養基之內，其係藉由使用機械力(例如，均質化)、酵素處理，或是化學處理來使細胞壁破裂；以及藉由提升pH、添加鹽、加熱，及/或攪拌該形成的組成物，而從形成的組成物回收該油，該形成的組成物含有含PUFA的油、細胞碎屑和液體。然而，此種用於從細胞獲得含PUFA的油之無溶劑方法，會需要很長的油回收時間、大量的鹽，及/或許多步驟，其會增加加工的成本。

[0008]因此，對於從微生物細胞獲得含高品質含PUFA的油之方法仍然有一需求，該方法不使用揮發性有機溶劑、可以使用容易可得到的設備、需要最小數目的步驟、具有更短的油回收時間，以及能提供了高產率的高品質含PUFA的油。

【發明內容】

發明概要

[0009]本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含降低該溶解的細胞組成物之pH以形成去乳化溶解的細

胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油。

[0010] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含降低該溶解的細胞組成物之pH至大約6或更小，以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油。

[0011] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含藉由添加以重量計大約0.5%至大約20%的量的酸來降低該溶解的細胞組成物之pH，以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油。

[0012] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含降低該溶解的細胞組成物之pH至大約6或更小，以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油，其中該(a)或該(b)中至少一

者進一步包含加熱該組成物達至少70°C的溫度。

[0013] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含藉由添加以重量計大約0.5%至大約20%的量的酸來降低該溶解的細胞組成物之pH，以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油，其中該(a)或該(b)中至少一者進一步包含加熱該組成物達至少70°C的溫度。

[0014] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含添加酸來降低該溶解的細胞組成物之pH至大約6或更小，及攪拌該溶解的細胞組成物，以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油。

[0015] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物，其包含降低該溶解的細胞組成物之pH以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以

及(d)回收該油，其中該(a)及該(b)組合在一起形成單步溶解及去乳化步驟。

[0016] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成溶解的細胞組成物；(b)去乳化該溶解的細胞組成物以形成去乳化溶解的細胞組成物；(c)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(d)回收該油，其中該(a)及該(b)組合在一起形成單步溶解及去乳化步驟，其包含提升pH。

[0017] 本文揭示一種用於從一個或更多個微生物細胞獲得包含一個或更多個多不飽和脂肪酸(PUFAs)的微生物油之方法，其包含(a)於合適形成去乳化溶解的細胞組成物的pH下溶解包含該微生物油之該細胞(lysing the cells comprising the microbial oil at a pH suitable to form a demulsified lysed cell composition)；(b)從該去乳化溶解的細胞組成物分離該油；以及(c)回收該油，其中該去乳化溶解的細胞組成物係於溶解期間獲得。

[0018] 本文揭示一種藉由本文所述之任一方法而獲得的微生物油。

【圖式簡單說明】

(無)

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

[0019] 多不飽和脂肪酸(PUFAs)係根據離脂肪酸的甲基

端之第一個雙鍵的位置之來分類： ω -3(n-3)脂肪酸在第三個碳上具有第一個雙鍵，而 ω -6(n-6)脂肪酸在第六個碳上具有第一個雙鍵。舉例而言，二十二碳六烯酸("DHA")為一種具有22個碳的鏈長及6個雙鍵的 ω -3長鏈多不飽和脂肪酸(LC PUFA)，通常稱為"22:6 n-3"。於一個具體例中，PUFA係選自於 ω -3脂肪酸、 ω -6脂肪酸，以及其等之混合。於另一個具體例中，PUFA係選自於LC-PUFAs。於更進一步的具體例中，PUFA係選自於二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳五烯酸(DPA)、二十碳四烯酸(arachidonic acid, ARA)、 γ -次亞麻油酸(GLA)、雙高- γ -次亞麻油酸(dihomo-gamma-linolenic acid, DGLA)、十八碳四烯酸(stearidonic acid, SDA)，以及其等之混合。於另一個具體例中，PUFA係選自於DHA、ARA，以及其等之混合。於進一步的具體例中，PUFA為DHA。於更進一步的具體例中，PUFA為ARA。

[0020] LC-PUFAs為含有至少3個雙鍵且18個或更多個碳或是20個或更多個碳之鏈長的脂肪酸。 ω -6系列之LC-PUFAs包括，但不限於，雙高- γ -次亞麻油酸(C20:3n-6)、二十碳四烯酸(C20:4n-6) ("ARA")、二十二碳四烯酸(docosatetraenoic acid)或二十二碳四烯酸(adrenic acid) (C22:4n-6)，以及二十二碳五烯酸(C22:5n-6) ("DPA n-6")。 ω -3系列之LC-PUFAs包括，但不限於，二十碳三烯酸(C20:3n-3)、二十碳四烯酸(C20:4n-3)、二十碳五烯酸(C20:5n-3) ("EPA")、二十二碳五烯酸(C22:5n-3)，以及二十

二碳六烯酸(C22:6n-3)。LC-PUFA亦包括帶有大於22個碳以及4個或更多個雙鍵之脂肪酸，包括但不限於，C24:6(n-3)與C28:8(n-3)。

[0021]PUFAs可以為以下形式：游離脂肪酸、鹽、脂肪酸酯(如甲酯或乙酯)、單醯甘油(MAG)、二醯甘油酯(DAG)、三醯甘油酯(TAG)形式，及/或磷脂質(PL)。

[0022]高度不飽合脂肪酸(HUFAs)為含有4個或更多個不飽和碳碳雙鍵之 ω -3及/或 ω -6多不飽和脂肪酸。

[0023]當使用於本文中，一"細胞"係提及一種含油生物材料，例如衍生自含油的微生物之生物材料。由微生物生產的油或從微生物細胞獲得的油係提及為"微生物油"。由藻類及/或真菌所生產的油亦分別地被稱為藻類油及/或真菌油。

[0024]當使用於本文中，一"微生物細胞"或"微生物"係提及生物，例如藻類、細菌、真菌、原生生物、酵母菌，以及其等之組合，例如單細胞生物。於一些具體例中，一微生物細胞為一真核細胞。適合供本發明使用的一微生物細胞包括，但不限於，金黃藻(golden algae)(例如，原生藻菌(*Stramenopiles*)界的微生物]、綠藻(green algae)、矽藻(diatoms)、二鞭毛藻(dinoflagellates)(例如，甲藻(*Dinophyceae*)目的微生物，其包括隱甲藻(*Cryptocodinium*)屬的成員，例如舉例而言，寇氏隱甲藻(*Cryptocodinium cohnii*)或寇氏隱甲藻(*C. cohnii*)；破囊壺菌目(*Thraustochytriales*)的微型藻類；酵母菌(子囊菌或擔子

菌)，以及白黴(*Mucor*)和被孢黴(*Mortierella*)屬的真菌，包括但不限於高山被孢黴(*Mortierella alpina*)及舒馬克氏被孢黴(*Mortierella sect. schmuckeri*)，以及腐黴(*Pythium*)，包括但不限於*Pythium insidiosum*。

[0025]於一個具體例中，微生物細胞係來自被孢黴屬(*Mortierella*)、隱甲藻屬(*Crypthecodinium*)，或是破囊壺菌目(*Thraustochytriales*)。於更進一步的具體例中，微生物細胞係來自於寇氏隱甲藻(*Crypthecodinium cohnii*)。於再更進一步的具體例中，微生物細胞係選自於寇氏隱甲藻(*Crypthecodinium cohnii*)、高山被孢黴(*Mortierella alpina*)、破囊壺菌屬(*Thraustochytrium*)、裂殖壺菌屬(*Schizochytrium*)，以及其等之混合。

[0026]於更進一步的具體例中，微生物細胞包括，但不限於屬於以下的微生物：被孢黴屬(*Mortierella*)、耳黴屬(*Conidiobolus*)、腐黴屬(*Pythium*)、疫黴屬(*Phytophthora*)、青黴菌屬(*Penicillium*)、枝孢屬(*Cladosporium*)、白黴屬(*Mucor*)、鐮孢屬(*Fusarium*)、麴菌屬(*Aspergillus*)、紅酵母屬(*Rhodotorula*)、蟲黴屬(*Entomophthora*)、次孢囊黴屬(*Echinozporangium*)，以及水黴屬(*Saprolegnia*)。於另一個具體例中，ARA係從被孢黴屬(*Mortierella*)之微生物細胞獲得，被孢黴屬微生物細胞包括但不限於長形被孢黴(*Mortierella elongata*)、微小被孢黴(*Mortierella exigua*)、喜濕被孢黴(*Mortierella hygrophila*)、高山被孢黴(*Mortierella alpina*)、舒馬克氏被孢黴(*Mortierella schmuckeri*)，以及迷

你被孢黴(*Mortierella minutissima*)。於另一個具體例中，ARA係從以下的微生物細胞獲得：長形被孢黴(*Mortierella elongata*)IFO8570、微小被孢黴(*Mortierella exigua*)IFO8571、喜濕被孢黴(*Mortierella hygrophila*)IFO5941、高山被孢黴(*Mortierella alpina*)IFO8568、ATCC16266、ATCC32221、ATCC42430、CBS219.35、CBS224.37、CBS250.53、CBS343.66、CBS527.72、CBS529.72、CBS608.70，以及CBS754.68，以及其等之突變體。於更進一步的具體例中，微生物細胞係來自高山被孢黴(*Mortierella alpina*)。

[0027]於更進一步中，微生物細胞係來自破囊壺菌目(*Thraustochytriales*)的微型藻類，其包括但不限於破囊壺菌屬(*Thraustochytrium*) (物種包括阿魯迪曼達雷(*arudimentale*)、金黃色(*aureum*)、班思寇拉(*benthicola*)、格洛巴森(*globosum*)、肯內伊(*kinnei*)、摩提夫(*motivum*)、馬堤盧蒂曼達雷(*multirudimentale*)、厚皮(*pachydermum*)、普洛利芬盧(*proliferum*)、紅破囊壺菌(*roseum*)，以及紋狀破囊壺菌(*striatum*))；裂殖壺菌屬(*Schizochytrium*)(物種包括聚裂殖壺菌(*aggregatum*)、利納賽恩(*limnaceum*)、紅樹林(*mangrovei*)、迷努頓(*minutum*)、歐克多斯波倫(*octosporum*))；巫肯尼亞菌屬(*Ulkenia*)(物種包括阿米巴戴亞(*amoeboidea*)、開古蓮西斯(*keruelensis*)、微小(*minuta*)、普羅弗達(*profunda*)、拉迪亞它(*radiata*)、沙伊廉斯(*sailens*)、沙勒乃利阿納(*sarkariana*)、賽索凱特羅皮思

(*schizochytrids*)、維蘇爾傑西斯(*visurgensis*)、約肯西斯(*yorkensis*))；*Aurantiaochytrium*屬；*Oblongichytrium*屬、*Sicyoidochytrium*屬、*Parientichytrium*屬、*Botryochytrium*屬；及其等之組合。在巫肯尼亞菌(*Ulkenia*)範圍內所說明之物種將視為是裂殖壺菌屬(*Schizochytrium*)之成員。於另一個具體例中，微生物細胞係來自破囊壺菌目(*Thraustochytriales*)。於再另一個具體例中，微生物細胞係來自破囊壺菌屬(*Thraustochytrium*)。於還有一個進一步的具體例中，微生物細胞係來自裂殖壺菌屬(*Schizochytrium*)。於更進一步的具體例中，微生物細胞係選自於破囊壺菌屬(*Thraustochytrium*)、裂殖壺菌屬(*Schizochytrium*)，或是其等之混合。

[0028]於一個具體例中，該方法包含溶解含有微生物油之微生物細胞以形成一溶解的細胞組成物。術語“溶解(lyse)”及“溶解(lysing)”提及一種使微生物細胞的壁及/或膜破裂的方法。於一個具體例中，該微生物細胞係藉由接受至少一種處理來溶解，該至少一種處理係選自於機械處理、化學處理、酵素處理、物理處理，以及其等之組合。於另一個具體例中，該方法包含溶解含有微生物油之微生物細胞以形成一溶解的細胞組成物，其中該溶解係選自於機械處理、化學處理、酵素處理、物理處理，以及其等之組合。

[0029]於一些具體例中，在溶解該細胞之前，該細胞可以被清洗及/或低溫殺菌。於一些具體例中，清洗該細胞包

括使用水溶液，例如水，來移除任何細胞外的水溶性或水分散性化合物。於一些具體例中，該細胞可以被清洗一次、二次、三次，或更多次。於一些具體例中，低溫殺菌該細胞包括加熱該細胞以使任何不受歡迎的酵素去活性，舉例而言可能降解油或是降低PUFAs的產率之任何的酵素。於一些具體例中，該細胞可以被清洗以及接而在溶解該細胞之前予以低溫殺菌。於一些具體例中，要被溶解的細胞係含括於發酵肉湯內。

[0030]於一個具體例中，該方法包含溶解含有微生物油之未清洗的微生物細胞，以形成一溶解的細胞組成物。於一個具體例中，一種含括含有微生物油之微生物細胞的發酵肉湯，係首先用舉例而言水，來清洗以及接而該細胞溶解以形成溶解的細胞組成物。於其他的具體例中，該方法包含溶解發酵肉湯內之未清洗的細胞，以形成溶解的細胞組成物。

[0031]機械處理包括但不限於，均質化、超音波、冷壓、碾磨，以及其等之組合。於一些具體例中，該方法包含藉由均質化來溶解該細胞。於一些具體例中，該方法包含用一均質機來溶解該細胞。

[0032]均質化包括但不限於，使用下列的方法：法式細胞破碎機(French cell press)、音波發生器、均質機、微射流均質儀(microfluidizer)、球磨機、棒磨機、卵石磨機(pebble mill)、玻珠研磨機(bead mill)、高壓輥磨機、立軸式衝擊機、工業摻和機、高剪切混合機、槳式混合器、polytron均質機、

工業均質機(例如，Niro Soavi VHP Homogenizer及APV Rannie and APV Gaulin homogenizers)、工業高剪切流式處理器(high shear fluid processors) (例如，Microfluidics high shear fluid processor)、細胞溶解/玻珠研磨機均質機(例如，Dyno-Mill and Buhler)，以及其等之組合。於一些具體例中，細胞係流動通過選擇性地加熱的一均質機。於一些具體例中，適當的均質化可以包括1次至3次通過高壓及/或低壓之均質機。

[0033]於一些具體例中，在均質化的期間之壓力為150巴至1,400巴(bar)；150巴至1,200巴；150巴至900巴；150巴至300巴；300巴至1,400巴；300巴至1,200巴；300巴至900巴；400巴至800巴；500巴至700巴；或是600巴。於一些具體例中，在均質化的期間之壓力為2,000磅每平方吋(psi)至20,000 psi；2,000 psi至18,000 psi；2,000 psi至16,000 psi；2,000 psi至14,000 psi；2,000 psi至12,000 psi；2,000 psi至10,000 psi；2,000 psi至8,000 psi；2,000 psi至6,000 psi；2,000 psi至4,000 psi；4,000 psi至20,000 psi；4,000 psi至18,000 psi；4,000 psi至16,000 psi；4,000 psi至14,000 psi；4,000 psi至12,000 psi；4,000 psi至10,000 psi；4,000 psi至8,000 psi；4,000 psi至6,000 psi；6,000 psi至20,000 psi；6,000 psi至18,000 psi；6,000 psi至16,000 psi；6,000 psi至14,000 psi；6,000 psi至12,000 psi；6,000 psi至10,000 psi；6,000 psi至8,000 psi；8,000 psi至20,000 psi；8,000 psi至18,000 psi；8,000 psi至16,000 psi；8,000 psi至14,000 psi；8,000 psi至

12,000 psi ; 8,000 psi至10,000 psi ; 10,000 psi至20,000 psi ; 10,000 psi至18,000 psi ; 10,000 psi至16,000 psi ; 10,000 psi至14,000 psi ; 10,000 psi至12,000 psi ; 12,000 psi至20,000 psi ; 12,000 psi至18,000 psi ; 12,000 psi至16,000 psi ; 12,000 psi至14,000 psi ; 14,000 psi至20,000 psi ; 14,000 psi至18,000 psi ; 14,000 psi至16,000 psi ; 16,000 psi至20,000 psi ; 16,000 psi至18,000 psi ; 或是18,000 psi至20,000 psi 。

[0034]於一些具體例中，該微生物細胞係在均質化之前，於高剪切混合機內混合。於一些具體例中，高剪切混合機係以以下範圍來操作：至少5,000 rpm；至少7,500 rpm；至少10,000 rpm；至少12,500 rpm；至少15,000 rpm；5,000 rpm至15,000 rpm；5,000 rpm至12,500 rpm；5,000 rpm至10,000 rpm；5,000 rpm至7,500 rpm；7,500 rpm至15,000 rpm；7,500 rpm至12,500 rpm；7,500 rpm至10,000 rpm；10,000 rpm至15,000 rpm；10,000 rpm至12,500 rpm；或是12,500 rpm至15,000 rpm 。

[0035]物理處理包括但不限於：加熱，其含括但不限於，電阻、對流、蒸汽加熱、流體浴、太陽能，以及其等之組合。於一些具體例中，細胞係於一槽之內加熱，該槽包括電阻線圈於其之壁之內/於其之壁之上。於一些具體例中，細胞係於一種液體浴中予以加熱，該液體浴包括通經該處的管子。

[0036]化學處理包括但不限於：提升細胞之pH、降低細胞之pH、使細胞接觸一化學品；及其等之組合。

[0037]於一些具體例中，藉由提升細胞之pH來溶解細胞。於一些具體例中，藉由添加鹼類來提升pH。鹼類包括但不限於：氫氧化物鹽(例如，LiOH、NaOH、KOH、Ca(OH)₂，以及其等之組合)、碳酸鹽類(例如，Na₂CO₃、K₂CO₃、MgCO₃，以及其等之組合)、碳酸氫鹽類(例如，LiHCO₃、NaHCO₃、KHCO₃，以及其等之組合)，以及其等之組合。鹼可以為固體(例如，結晶、顆粒，與小丸)的形式；液體的形式(例如，水溶液，以及其等之組合)。

[0038]於一些具體例中，該鹼的pK_b為1至12，1至10，1至8，1至6，1至5，2至12，2至10，2至8，2至6，2至5，3至10，3至6，3至5，4至10，4至8，4至6，5至10，或是5至8。當使用於本文中，術語"pK_b"係提及鹼之鹼締合常數，K_b，的負對數。K_b提及鹼於水中的游離之平衡常數，其中：

$B + H_2O \rightleftharpoons HB^+ + OH^-$ ；以及鹼的K_b，B，係定義如

$$\text{同： } K_b = \frac{[HB^+][OH^-]}{[B]} \text{。}$$

[0039]於一些具體例中，pH係選自於大約8或以上；大約9或以上；大約10或以上；大約11或以上；以及大約12或以上。於其他的具體例中，pH係選自於以下的pH：7至13；7至12；7至11；7至10；7至9；8至13；8至12；8至11；8至10；8至9；9至12；9至11；9至10；10至12；以及10至11。

[0040]於一些具體例中，細胞的pH可以藉由氯鹼方法來提升。於一些具體例中，含氯化鈉與細胞的發酵肉湯係接受電解，其會導致氫氧化鈉的形成，此會使該細胞之pH

提升。於一些具體例中，發酵肉湯包括氯化鈣或氯化鉀代替氯化鈉，或是除了氯化鈉外尚有氯化鈣或氯化鉀，以及解會解分別地導致氫氧化鈣或氫氧化鉀的形成，藉此使該細胞的pH提升。

[0041]於一些具體例中，藉由降低細胞之pH來溶解細胞。於一些具體例中，藉由添加酸類來降低pH。酸類包括但不限於：硫酸(sulfuric)；磷酸；鹽酸；氫溴酸；氫碘酸；次氯酸；亞氯酸；氯酸；過氯酸；氟硫酸(fluorosulfuric)；硝酸；氟銻酸(fluoroantimonic)；氟硼酸；六氟磷酸；鉻酸；硼酸；乙酸；檸檬酸；甲酸；以及其等之組合。於一些具體例中，pH係選自於大約7或更低；大約6.5或更低；大約6或更低；大約5.5或更低；大約5或更低；大約4.5或更低；大約4或更低；大約3.5或更低；大約3或更低；大約2.5或更低；大約2或更低；大約1.5或更低；大約1或更低；以及大約0.5或更低。於其他的具體例中，pH係選自於大約0.5至大約7；大約0.5至大約6.5；大約0.5至大約6；大約0.5至大約5.5；大約0.5至大約5；大約0.5至大約4.5；大約0.5至大約4；大約0.5至大約3.5；大約0.5至大約3；大約0.5至大約2.5；大約0.5至大約2；大約0.5至大約1.5；大約0.5至大約1；大約1至大約7；大約1至大約6.5；大約1至大約6；大約1至大約5.5；大約1至大約5；大約1至大約4.5；大約1至大約4；大約1至大約3.5；大約1至大約3；大約1至大約2.5；大約1至大約2；大約1至大約1.5；大約1.5至大約7；大約1.5至大約6.5；大約1.5至大約6；大約1.5至大約5.5；大約1.5至大

約5；大約1.5至大約4.5；大約1.5至大約4；大約1.5至大約3.5；大約1.5至大約3；大約1.5至大約2.5；大約1.5至大約2；大約2至大約7；大約2至大約6.5；大約2至大約6；大約2至大約5.5；大約2至大約5；大約2至大約4.5；大約2至大約4，大約2至大約3.5；大約2至大約3；大約2至大約2.5；大約2.5至大約7；大約2.5至大約6.5；大約2.5至大約6；大約2.5至大約5.5；大約2.5至大約5；大約2.5至大約4.5；大約2.5至大約4；大約2.5至大約3.5；大約2.5至大約3；大約3至大約7；大約3至大約6.5；大約3至大約6；大約3至大約5.5；大約3至大約5；大約3至大約4.5；大約3至大約4；大約3至大約3.5；大約3.5至大約7；大約3.5至大約6.5；大約3.5至大約6；大約3.5至大約5.5；大約3.5至大約5；大約3.5至大約4.5；大約3.5至大約4；大約4至大約7；大約4至大約6.5；大約4至大約6；大約4至大約5.5；大約4至大約5；大約4至大約4.5；大約4.5至大約7；大約4.5至大約6.5；大約4.5至大約6；大約4.5至大約5.5；大約4.5至大約5；大約5至大約7；大約5至大約6.5；大約5至大約6；大約5至大約5.5；大約5.5至大約7；大約5.5至大約6.5；大約5.5至大約6；大約6至大約7；大約6至大約6.5；以及大約6.5至大約7。

[0042]於一些具體例中，添加下列量的酸來降低pH：大約2%至大約10%，大約2%至大約9%，大約2%至大約8%，大約2%至大約7%，大約2%至大約6%，大約3%至大約6%，大約4%至大約6%，大約5%至大約6%，大約2%至大約5%，大約2%至大約4%，大約2%至大約3%，大約3%

至大約5%，大約3%至大約4%，或是大約4%至大約5%重量(或體積)計之細胞肉湯。

[0043] 酵素處理係指使細胞接觸一個或更多個酵素。酵素包括但不限於：蛋白酶、纖維素酶、半纖維素酶、殼質酶、果膠酶(pectinase)，以及其等之組合。蛋白酶之非限制性實例包括絲胺酸蛋白酶、酰胺酸(theronine)蛋白酶、半胱胺酸蛋白酶、天冬胺酸蛋白酶、金屬蛋白酶、麩胺酸蛋白酶、鹼性蛋白酶(alacase)，以及其等之組合。纖維素酶之非限制性實例包括蔗糖酶、麥芽糖酶、乳糖酶、 α -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶、澱粉酶、溶菌酶、神經胺糖酸苷酶、半乳糖苷酶、 α -甘露糖苷酶、葡萄糖醛酸酶、玻尿酸酶、聚三葡萄糖酶、葡萄糖腦苷脂酶、半乳糖基神經醯胺酶、乙醯半乳糖胺酶、岩藻糖苷酶、己糖胺酶、艾杜糖醛酸酶(iduronidase)、麥芽糖酶-葡萄糖澱粉酶，以及其等之組合。殼質酶之非限制性實例包括殼三糖苷酶(chitotriosidase)。果膠酶(pectinase)之非限制性實例包括果膠解離酶(pectolyase)、果膠裂解酶(pectozyme)、聚半乳糖醛酸酶，以及其等之組合。於一些具體例中，一些酵素係由加熱來活化。於一些具體例中，溶解不包括使用酵素。

[0044] 當使用於本文中，一"溶解的細胞組成物"提及一組成物，其包含一個或更多個溶解的細胞，含括細胞碎屑和該細胞之其他的內含物，組合以微生物油(來自該等溶解的細胞)，以及選擇性地，含有液體(來自該等溶解的細胞)、營養物及微生物細胞的肉湯。於一些具體例中，一微生物

細胞係包含於含有水的發酵肉湯或培養基之內。於一些具體例中，一溶解的細胞組成物提及一組成物，其包含一個或更多個溶解的細胞、細胞碎屑、微生物油、該細胞之天然的內含物，以及來自一肉湯之含水組份。於一個具體例中，該溶解的細胞組成物包含液體、細胞碎屑以及微生物油。於一些具體例中，溶解的細胞組成物係為油水型乳液 (oil-in-water emulsion) 的形式，其包含連續的水相和分散的油相之混合物。於一些具體例中，分散的油相係存在以大約1%至大約60%；大約1%至大約50%；大約1%至大約40%；大約1%至大約30%；大約1%至大約20%；大約5%至大約60%；大約5%至大約50%；大約5%至大約40%；大約5%至大約30%；大約5%至大約20%；大約10%至大約60%；大約10%至大約50%；大約10%至大約40%；大約20%至大約60%；20%至50%；20%至大約40%；大約30%至大約60%；大約30%至大約50%；或是大約40%至大約60%重量(或體積)計之經乳化之溶解的細胞組成物之濃度。

[0045]於一些具體例中，溶解微生物細胞會導致由細胞或細胞生質之內源性材料形成乳液，內源性材料包括但不限於：蛋白質、磷脂質、碳水化合物，以及其等之組合。縱然不被任何的特定的理論所束縛，據信本發明的方法會碎裂或去乳化經乳化之溶解的細胞組成物，允許微生物油從該溶解的細胞組成物分離。術語"乳液"和"經乳化的"係提及二個或更多個不互溶相或層的混合物，其中一個相或層係分散於另一個相或層之內。術語"碎裂(break)"、"碎裂

(break-up)"、"去乳 化 (demulsify)"、"去乳 化 作 用 (demulsification)"、"去乳 化 (demulsifying)"，以及"碎 裂 (breaking)"係提及一種分離乳液的不互溶相或層之方法。舉例而言，去乳 化或碎 裂一經乳 化之溶解的細胞組成物係提及一種方法，一經乳 化之溶解的細胞組成物係藉由該方法而由具有一個或更多個相或層的一乳液改變成具有二個或更多個相或層的組成物。舉例而言，於一些具體例中，本發明的方法使一經乳 化之溶解的細胞組成物由單相碎 裂成二相或更多相。於一些具體例中，該二相或更多相包括一油相及一水相。於一些具體例中，本發明的方法使一經乳 化之溶解的細胞組成物碎 裂成至少三相。於一些具體例中，該三相係選自於一油相、一水相，以及一固相。於一些具體例中，該三相係選自於一油相、一乳液相、一水相，以及一固相。

[0046]於一些具體例中，該方法包含去乳 化溶解的細胞組成物，其係藉由降低該溶解的細胞組成物之pH。於一些具體例中，藉由添加酸類來降低pH。酸類包括但不限於：硫酸；磷酸；鹽酸；氫溴酸；氫碘酸；次氯酸；亞氯酸；氯酸；過氯酸；氟硫酸 (fluorosulfuric)；硝酸；氟銻酸 (fluoroantimonic)；氟硼酸；六氟磷酸；鉻酸；硼酸；乙酸；檸檬酸；甲酸；以及其等之組合。於一些具體例中，pH係選自於7或更小；大約6.5或更小；大約6或更小；大約5.5或更小；大約5或更小；大約4.5或更小；大約4或更小；大約3.5或更小；大約3或更小；大約2.5或更小；大約2或更小；

大約1.5或更小；大約1或更小；以及大約0.5或更小。於一些具體例中，該方法包含降低該溶解的細胞組成物之pH達大約6或更小。於其他的具體例中，pH係選自於大約0.5至大約7；大約0.5至大約6.5；大約0.5至大約6；大約0.5至大約5.5；大約0.5至大約5；大約0.5至大約4.5；大約0.5至大約4；大約0.5至大約3.5；大約0.5至大約3；大約0.5至大約2.5；大約0.5至大約2；大約0.5至大約1.5；大約0.5至大約1；大約1至大約7；大約1至大約6.5；大約1至大約6；大約1至大約5.5；大約1至大約5；大約1至大約4.5；大約1至大約4；大約1至大約3.5；大約1至大約3；大約1至大約2.5；大約1至大約2；大約1至大約1.5；大約1.5至大約7；大約1.5至大約6.5；大約1.5至大約6；大約1.5至大約5.5；大約1.5至大約5；大約1.5至大約4.5；大約1.5至大約4；大約1.5至大約3.5；大約1.5至大約3；大約1.5至大約2.5；大約1.5至大約2；大約2至大約7；大約2至大約6.5；大約2至大約6；大約2至大約5.5；大約2至大約5；大約2至大約4.5；大約2至大約4；大約2至大約3.5；大約2至大約3；大約2至大約2.5；大約2.5至大約7；大約2.5至大約6.5；大約2.5至大約6；大約2.5至大約5.5；大約2.5至大約5；大約2.5至大約4.5；大約2.5至大約4；大約2.5至大約3.5；大約2.5至大約3；大約3至大約7；大約3至大約6.5；大約3至大約6；大約3至大約5.5；大約3至大約5；大約3至大約4.5；大約3至大約4；大約3至大約3.5；大約3.5至大約7；大約3.5至大約6.5；大約3.5至大約6；大約3.5至大約5.5；大約3.5至大約5；大約3.5至大約4.5；大約3.5至大約4；大約3.5至大約3.5；大約3.5至大約3；大約3.5至大約2.5；大約3.5至大約2；大約3.5至大約1.5；大約3.5至大約1；大約4至大約7；大約4至大約6.5；大約4至大約6；大約4至大約5.5；大約4至大約5；大約4至大約4.5；大約4至大約4；大約4至大約3.5；大約4至大約3；大約4至大約2.5；大約4至大約2；大約4至大約1.5；大約4至大約1；大約5至大約7；大約5至大約6.5；大約5至大約6；大約5至大約5.5；大約5至大約5；大約5至大約4.5；大約5至大約4；大約5至大約3.5；大約5至大約3；大約5至大約2.5；大約5至大約2；大約5至大約1.5；大約5至大約1；大約6至大約7；大約6至大約6.5；大約6至大約6；大約6至大約5.5；大約6至大約5；大約6至大約4.5；大約6至大約4；大約6至大約3.5；大約6至大約3；大約6至大約2.5；大約6至大約2；大約6至大約1.5；大約6至大約1；大約7至大約7；大約7至大約6.5；大約7至大約6；大約7至大約5.5；大約7至大約5；大約7至大約4.5；大約7至大約4；大約7至大約3.5；大約7至大約3；大約7至大約2.5；大約7至大約2；大約7至大約1.5；大約7至大約1。

4.5；大約3.5至大約4；大約4至大約7；大約4至大約6.5；大約4至大約6；大約4至大約5.5；大約4至大約5；大約4至大約4.5；大約4.5至大約7；大約4.5至大約6.5；大約4.5至大約6；大約4.5至大約5.5；大約4.5至大約5；大約5至大約7；大約5至大約6.5；大約5至大約6；大約5至大約5.5；大約5.5至大約7；大約5.5至大約6.5；大約5.5至大約6；大約6至大約7；大約6至大約6.5；以及大約6.5至大約7。於一些具體例中，該方法包含降低該溶解的細胞組成物之pH達大約0.5至大約6。

[0047]於一些具體例中，該方法包含去乳化溶解的細胞組成物，其係藉由添加以下量的酸：大約0.5%至大約20%、大約0.5%至大約15%、大約0.5%至大約10%、大約0.5%至大約9%、大約0.5%至大約8%、大約0.5%至大約7%、大約0.5%至大約6%、大約0.5%至大約5%、大約0.5%至大約4%、大約0.5%至大約3%、大約0.5%至大約2%，以及大約0.5%至大約1%，重量(或體積)計之細胞肉湯或溶解的細胞組成物。於一具體例中，該方法包含去乳化溶解的細胞組成物，其係藉由添加大約0.5%至大約20%重量計之溶解的細胞組成物的量的酸。

[0048]於一些具體例中，該方法進一步包含於溶解細胞之前，溶解細胞的期間，或是溶解細胞之後，予以加熱。於一些具體例中，該方法包含加熱該溶解的細胞組成物及/或細胞達至少10°C，至少20°C，至少25°C，至少30°C，至少35°C，至少40°C，至少45°C，至少50°C，至少55°C，至

少60℃，至少65℃，至少70℃，至少75℃，至少80℃，至少85℃，至少90℃，至少95℃，或至少100℃。於其他的具體例中，該方法包含加熱該溶解的細胞組成物及/或細胞達大約10℃至大約100℃、大約10℃至大約90℃、大約10℃至大約80℃、大約10℃至大約70℃、大約20℃至大約100℃、大約20℃至大約90℃、大約20℃至大約80℃、大約20℃至大約70℃、大約30℃至大約100℃、大約30℃至大約90℃、大約30℃至大約80℃、大約30℃至大約70℃、大約40℃至大約100℃、大約40℃至大約90℃、大約40℃至大約80℃、大約50℃至大約100℃、大約50℃至大約90℃、大約50℃至大約80℃、大約50℃至大約70℃、大約60℃至大約100℃、大約60℃至大約90℃、大約60℃至大約80℃、大約70℃至大約100℃、大約70℃至大約90℃、大約80℃至大約100℃、大約80℃至大約90℃，或是大約90℃至大約100℃。於進一步的具體例中，該方法包含加熱該溶解的細胞組成物從大約70℃至大約100℃、大約70℃至大約90℃、大約80℃至大約100℃、大約80℃至大約90℃，或是大約90℃至大約100℃。於更進一步的具體例中，該方法包含加熱該溶解的細胞組成物達至少70℃，至少75℃，至少80℃，至少85℃，至少90℃，至少95℃，或至少100℃。於更進一步的具體例中，該方法進一步包含加熱該溶解的細胞組成物達至少70℃。於再另一個具體例中，該方法進一步包含加熱該溶解的細胞組成物達大約70℃至大約100℃。

[0049]於一些具體例中，該方法進一步包含加熱該溶解的細胞組成物直到該溶解的細胞組成物含有選自於以下的平均粒徑為止：5微米至25微米；5微米至20微米；5微米至15微米；10微米至25微米；10微米至20微米；10微米至15微米；15微米至25微米；15微米至20微米；以及20微米至25微米。於另一個具體例中，該溶解的細胞組成物之平均粒徑係選自於25微米或更小，20微米或更小，15微米或更小，10微米或更小，以及5微米或更小。於另一個具體例中，該溶解的細胞組成物之平均粒徑係25微米或更小。於一些具體例中，平均粒徑可以使用，例如Beckman Coulter LS 13 320粒徑分析儀(Beckman Coulter, Brea, CA)來測量。於一些具體例中，平均粒徑可以使用，例如Malvern MS2000粒徑分析儀(Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, United Kingdom)來測量。於一些具體例中，該溶解的細胞組成物被加熱足夠的時間以去乳化該溶解的細胞組成物。

[0050]於一些具體例中，細胞及/或溶解的細胞組成物可以於一種密閉系統中或於具有蒸發器的一種系統中予以加熱。於一些具體例中，細胞及/或溶解的細胞組成物可以於一種具有蒸發器的一種系統中予以加熱，以便藉由蒸發來移除該細胞及/或該溶解的細胞組成物內存在的一部分的水。於一些具體例中，一種方法包含於具有蒸發器的一系統中加熱細胞及/或溶解的細胞組成物，來移除高至1%，5%，10%，15%，20%，25%，30%，35%，40%，45%或50%重量(或體積)計之該細胞及/或該溶解的細胞組成物內存在

的水。於一些具體例中，一種方法包含於具有蒸發器的一系統中加熱細胞及/或溶解的細胞組成物，來移除以下重量(或體積)計的水：1%至50%，1%至45%，1%至40%，1%至35%，1%至30%，1%至25%，1%至20%，1%至15%，1%至10%，1%至5%，5%至50%，5%至45%，5%至40%，5%至35%，5%至30%，5%至25%，5%至20%，5%至15%，5%至10%，10%至50%，10%至45%，10%至40%，10%至35%，10%至30%，10%至25%，10%至20%，10%至15%，15%至50%，15%至45%，15%至40%，15%至35%，15%至30%，15%至25%，15%至20%，20%至50%，20%至45%，20%至40%，20%至35%，20%至30%，20%至25%，25%至50%，25%至45%，25%至40%，25%至35%，25%至30%，30%至50%，30%至45%，30%至40%，30%至35%，35%至50%，35%至45%，35%至40%，40%至50%，40%至45%，或是45%至50%。

[0051]於一些具體例中，該方法進一步包含添加一種乳化劑至溶解的細胞組成物。於一些具體例中，該乳化劑為一種清潔劑。於一些具體例中，該乳化劑為一種界面活性劑。於一些具體例中，於溶解之前、溶解的期間，或是溶解之後添加該乳化劑。於一具體例中，於溶解之後添加該乳化劑。於一些具體例中，添加該乳化劑至溶解的細胞組成物。當使用於本文中，術語"乳化劑"係提及一種使乳液安定的物質。乳化劑係選自於離子性乳化劑、非離子性乳化劑，以及其等之組合。於一些具體例中，該乳化劑為一

種離子性乳化劑。

[0052]於一些具體例中，離子性乳化劑係選自於陰離子性乳化劑、陽離子性乳化劑，以及其等之組合。於一些具體例中，陰離子性乳化劑可以為陰離子硫酸鹽乳化劑，例如舉例而言，烷基硫酸鹽(例如硫酸月桂酯鈉、月桂基硫酸鈉(SLS)/十二烷基硫酸鈉(SDS)，及其等之組合)，烷基醚硫酸鹽(例如月桂醇聚醚(laureth)硫酸鈉/月桂基醚硫酸鈉、肉豆蔻醇聚醚(myreth)硫酸鈉，及其等之組合)，以及其等之組合；陰離子磺酸鹽乳化劑，例如舉例而言，多庫酯鹽(docusate) (例如磺琥珀酸二辛酯鈉、磺酸鹽氟界面活性劑(例如全氟辛烷磺酸鹽及全氟丁烷磺酸鹽)、烷基苯磺酸鹽，及其等之組合)；陰離子磷酸鹽乳化劑(例如烷基芳基醚磷酸鹽、烷基醚磷酸鹽，及其等之組合)；陰離子羧酸鹽乳化劑(例如烷基羧酸鹽(如硬脂酸鈉、月桂醯肌氨酸鈉(sodium lauroyl sarcosinate)、羧酸鹽氟界面活性劑(如全氟壬酸鹽、全氟辛酸鹽及其等之組合))，及其等之組合)；以及其等之組合。於一些具體例中，乳化劑為一種陰離子性乳化劑。於一個具體例中，陰離子性乳化劑係選自於陰離子硫酸鹽乳化劑、陰離子磺酸鹽乳化劑、陰離子磷酸鹽乳化劑、陰離子羧酸鹽乳化劑，以及其等之組合。於另一個具體例中，陰離子性乳化劑為陰離子硫酸鹽乳化劑。於更進一步的具體例中，陰離子硫酸鹽乳化劑係選自於硫酸月桂酯鈉、十二烷基硫酸鈉、月桂醇聚醚(laureth)硫酸鈉、月桂基醚硫酸鈉、肉豆蔻醇聚醚(myreth)硫酸鈉，及其等之組合。於再更

進一步的具體例之中，陰離子硫酸鹽乳化劑係十二烷基硫酸鈉。

[0053]於一些具體例中，陽離子性乳化劑可以為一種pH依賴性一級胺；pH依賴性二級胺；pH依賴性三級胺；奧替尼啶二鹽酸鹽(octenidine dihydrochloride)；永久性荷電四級銨陽離子(例如烷基三甲基銨鹽(例如十六烷基三甲基溴化銨(cetyl trimethylammonium bromide)(CTAB)/十六烷基三甲基溴化銨(hexadecyl trimethyl ammonium bromide)、十六烷基三甲基氯化銨(CTAC)，及其等之組合)，十六烷基氯化吡啶鎰(pyridinium)(CPC)、氯化苯甲烷銨(BAC)、氯化本索寧(benzethonium chloride) (BZT)、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷、二甲基二(十八烷基)氯化銨、二(十八烷基)二甲基溴化銨(DODAB)，及其等之組合)；以及其等之組合。

[0054]於一些具體例中，乳化劑之分子量係選自於500克/莫耳或更小、450克/莫耳或更小、400克/莫耳或更小、350克/莫耳或更小，以及300克/莫耳或更小。於另一個具體例中，乳化劑之分子量係選自於250克/莫耳至500克/莫耳、250克/莫耳至450克/莫耳、250克/莫耳至400克/莫耳、250克/莫耳至350克/莫耳、250克/莫耳至300克/莫耳、300克/莫耳至500克/莫耳、300克/莫耳至450克/莫耳、300克/莫耳至400克/莫耳、300克/莫耳至350克/莫耳、350克/莫耳至500克/莫耳、350克/莫耳至450克/莫耳、350克/莫耳至400克/莫耳、400克/莫耳至500克/莫耳、400克/莫耳至450克/莫耳，以及450克/莫耳至500克/莫耳。舉例而言，SDS的分子量係

288克/莫耳，以及CTAB的分子量係364克/莫耳。於更進一步的具體例中，乳化劑之分子量係選自於250克/莫耳至450克/莫耳、250克/莫耳至400克/莫耳、250克/莫耳至350克/莫耳，以及250克/莫耳至300克/莫耳。

[0055]於一些具體例中，添加如粉末的乳化劑。於一些具體例中，添加配於溶液內的乳化劑，其具有以下量之乳化劑濃度：5%至50%、5%至45%、5%至40%、5%至35%、5%至30%、10%至50%、10%至45%、10%至40%、10%至35%、10%至30%、15%至50%、15%至45%、15%至40%、15%至35%、15%至30%、20%至50%、20%至45%、20%至40%、20%至35%、20%至30%、25%至50%、25%至45%、25%至40%、25%至35%、25%至30%、30%至50%、30%至45%、30%至40%，以及30%至35%。

[0056]於一些具體例中，添加的乳化劑的量係選自於下列(例如，以粉末形式或配於溶液內)：0.2%至10%、0.2%至9.5%、0.2%至9%、0.2%至8.5%、0.2%至8%、0.2%至7.5%、0.2%至7%、0.2%至6.5%、0.2%至6%、0.2%至5.5%、0.2%至5%、0.2%至4.5%、0.2%至4%、0.2%至3.5%、0.2%至3%、0.2%至2.5%、0.2%至2%、0.2%至1.5%、0.2%至1%、0.2%至0.5%、0.5%至10%、0.5%至9.5%、0.5%至9%、0.5%至8.5%、0.5%至8%、0.5%至7.5%、0.5%至7%、0.5%至6.5%、0.5%至6%、0.5%至5.5%、0.5%至5%、0.5%至4.5%、0.5%至4%、0.5%至3.5%、0.5%至3%、0.5%至2.5%、0.5%至2%、0.5%至1.5%、0.5%至1%、1%至10%、1%至9.5%、1%至9%、

1%至8.5%、1%至8%、1%至7.5%、1%至7%、1%至6.5%、1%至6%、1%至5.5%、1%至5%、1%至4.5%、1%至4%、1%至3.5%、1%至3%、1%至2.5%、1%至2%、1%至1.5%、1.5%至10%、1.5%至9.5%、1.5%至9%、1.5%至8.5%、1.5%至8%、1.5%至7.5%、1.5%至7%、1.5%至6.5%、1.5%至6%、1.5%至5.5%、1.5%至5%、1.5%至4.5%、1.5%至4%、1.5%至3.5%、1.5%至3%、1.5%至2.5%、1.5%至2%、2%至10%、2%至9.5%、2%至9%、2%至8.5%、2%至8%、2%至7.5%、2%至7%、2%至6.5%、2%至6%、2%至5.5%、2%至5%、2%至4.5%、2%至4%、2%至3.5%、2%至3%、2%至2.5%、2.5%至10%、2.5%至9.5%、2.5%至9%、2.5%至8.5%、2.5%至8%、2.5%至7.5%、2.5%至7%、2.5%至6.5%、2.5%至6%、2.5%至5.5%、2.5%至5%、2.5%至4.5%、2.5%至4%、2.5%至3.5%、2.5%至3%、3%至10%、3%至9.5%、3%至9%、3%至8.5%、3%至8%、3%至7.5%、3%至7%、3%至6.5%、3%至6%、3%至5.5%、3%至5%、3%至4.5%、3%至4%，以及3%至3.5%，重量(或體積)計之發酵肉湯或溶解的細胞組成物。於另一個具體例中，添加的乳化劑的量係選自於下列(例如，以粉末形式或配於溶液內)：0.2%至5%、0.5%至5%、1%至5%、1.5%至5%、2%至5%、2.5%至5%，以及3%至5%，重量(或體積)計之發酵肉湯或溶解的細胞組成物。於更進一步的具體例中，該乳化劑添加的量為該溶解的細胞組成物之0.2重量%至10重量%。

[0057]於一些具體例中，乳化劑會降低發酵肉湯或溶解

的細胞組成物之界面張力(interfacial tension) (即，表面張力)。當使用於本文中，術語"界面張力"或"表面張力"係提及作用於二相之間的界面處一公尺長的虛線(imaginary line one meter in length)上的力。於一些具體例中，由乳化劑所形成的乳液的界面張力係比內源性材料所形成的乳液更低。於一些具體例中，界面張力可以以達因/cm(dynes/cm)來測量。

[0058]於一些具體例中，乳化劑會增加發酵肉湯或溶解的細胞組成物之 ζ 電位(zeta potential)絕對值(亦即，增加正 ζ 電位或是降低負 ζ 電位)。於一些具體例中，添加陰離子性乳化劑能導致發酵肉湯或溶解的細胞組成物之 ζ 電位的下移(亦即，降低正 ζ 電位或是增加負 ζ 電位)。於一些具體例中，添加陽離子性乳化劑能導致發酵肉湯或溶解的細胞組成物之 ζ 電位的上移(亦即，增加正 ζ 電位或是降低負 ζ 電位)。當使用於本文中，術語" ζ 電位"係提及乳液中粒子之間的電動電位。於一些具體例中， ζ 電位可以以mV來測量。於一些具體例中，由乳化劑所形成的乳液的 ζ 電位係比內源性材料形成的乳液更高。

[0059]於一些具體例中，添加離子性乳化劑能創造油水型(oil-in-water)乳液。於一些具體例中，油水型乳液包括但是不限於，油、水，以及離子性乳化劑。

[0060]於一些具體例中，該方法進一步包含添加一種鹽類至溶解的細胞組成物。術語"鹽類"提及一種離子性化合物，其係藉由以一種金屬(例如，鹼金屬、鹼土金屬，及過

渡金屬)或一種帶正電荷的化合物(例如， NH_4^+ 與類似物)而從酸取代一氫離子而形成。於一些具體例中，鹽類可以為鹼金屬鹽類、鹼土金屬鹽類、硫酸鹽鹽類，或其等之組合。鹽類中存在的帶負電荷的離子的物種包括但不限於：鹵化物、硫酸鹽、硫酸氫鹽、亞硫酸鹽、磷酸鹽、磷酸氫鹽、磷酸二氫鹽、碳酸鹽、碳酸氫鹽，以及其等之組合。於一些具體例中，鹽類係選自於：氯化鈉、硫酸鈉、碳酸鈉、氯化鈣、硫酸鉀、硫酸鎂、麩胺酸鈉、硫酸銨、氯化鉀、氯化鐵、硫酸鐵、硫酸鋁、乙酸銨，以及其等之組合。於一些具體例中，一鹽類不包括 NaOH 。一鹽類可以添加為一固體(例如，以結晶質、非晶形的、造粒化的，及/或顆粒的形式)，及/或為含有，舉例而言，水之溶液(例如，一稀液溶液、一飽和的溶液，或是一過飽和的溶液)，以及其等之組合。

[0061]於一些具體例中，添加下列量的鹽類：5 g/l至25 g/l，5 g/l至10 g/l，10 g/l至15 g/l，15 g/l 至20 g/l，20 g/l至25 g/l，或是10 g/l至20 g/l。

[0062]於其他的具體例中，添加至該溶解的細胞組成物之鹽類的量是20%或更少，15%或更少，10%或更少，7.5%或更少，5%或更少，或是2%或更少，重量(或體積)計之溶解的細胞組成物。於一些具體例中，添加下列量的鹽類至該溶解的細胞組成物：大約0.05%至大約20%、大約0.1%至大約20%、大約0.1%至大約15%、大約0.1%至大約10%、大約0.5%至大約20%、大約0.5%至大約15%、大約0.5%至大

約10%、大約0.5%至大約5%、大約0.5%至大約4%、大約0.5%至大約3%、大約0.5%至大約2.5%、大約0.5%至大約2%、大約0.5%至大約1.5%、大約0.5%至大約1%、大約1%至大約20%、大約1%至大約15%、大約1%至大約10%、大約1%至大約5%、大約1%至大約4%、1%至大約3%、大約1%至大約2.5%、大約1%至大約2%、大約1%至大約1.5%、大約1.5%至大約5%、大約1.5%至大約4%、大約1.5%至大約3%、大約1.5%至大約2.5%、大約1.5%至大約2%、大約2%至大約20%、大約2%至大約15%、大約2%至大約10%、大約2%至大約5%、大約2%至大約4%、大約2%至大約3%、大約2%至大約2.5%、大約2.5%至大約5%、大約2.5%至大約4%、大約2.5%至大約3%、大約3%至大約5%、大約3%至大約4%、大約4%至大約5%、大約5%至大約20%、大約5%至大約15%、大約5%至大約10%、大約10%至大約20%、大約10%至大約15%，或是大約15%至大約20%，重量(或體積)計之溶解的細胞組成物(例如肉湯總重量(或體積))。舉例而言，當一種溶解的細胞組成物稱重為1,000 kg時，要添加0.5%至20%重量(或體積)計的量的鹽類，則需要添加5 kg至200 kg的鹽至該溶解的細胞組成物。於一些具體例中，添加下列量的鹽類至該溶解的細胞組成物：大約0.05%至大約20%、大約0.1%至大約20%重量(或體積)計、大約0.5%至大約15%重量(或體積)計，或是大約2%至大約10%，重量(或體積)計之溶解的細胞組成物。

[0063]於一些具體例中，該方法進一步包含(i)於溶解細

胞之前，溶解細胞的期間，或是溶解細胞之後；(i) 於去乳
化溶解的細胞組成物之前，去乳化的細胞組成物的期
間，或是去乳化的細胞組成物之後；或其等之組合，
進行攪拌。術語"攪拌(agitating)"和"攪拌(agitation)"係指一
種經由施加一力來影響細胞及/或溶解的細胞組成物內的
運動之方法。於一些具體例中，該方法包含藉由攪動、混
合、摻合、振盪、振動，或其等之組合而來攪拌細胞及/或
溶解的細胞組成物。

[0064]於一些具體例中，攪拌器是一種分散型攪拌器，
其分散鹼及/或鹽類於該細胞組成物或該溶解的細胞組成
物之內。於一些具體例中，攪拌器具有加熱板。於一些具
體例中，攪拌器具有供攪動用的外罩。於一些具體例中，
一攪拌器具有一個或更多個葉輪。當使用於本文中，"葉輪"
係提及一種配置來在旋轉時讓細胞組成物或溶解的細胞
組成物運動的一元件。適合供本發明使用的葉輪包括直葉
片葉輪、拉什頓葉片葉輪(Rushton blade impeller)、軸流式
葉輪、徑向流式葉輪、凹面的葉片盤葉輪、高效能葉輪、
螺旋槳、槳、渦輪機，以及其等之組合。

[0065]於一些具體例中，本發明的方法包含分別以0.1
hp/1,000 gal至10 hp/1,000 gal，0.5 hp/1,000 gal至8 hp/1,000
gal，1 hp/1,000 gal至6 hp/1,000 gal，或是2 hp/1,000 gal至5
hp/1,000 gal的細胞或組成物，來攪拌細胞及/或溶解的細胞
組成物。於一些具體例中，該方法包含分別以0.1 hp/1,000
gal至10 hp/1,000 gal的細胞或組成物，來攪拌細胞及/或溶

解的細胞組成物。

[0066]於一些具體例中，本發明包含用下列轉速進行攪拌：10 rpm或更低、20 rpm或更低、50 rpm或更低、100 rpm或更低、150 rpm或更低、200 rpm或更低、250 rpm或更低、300 rpm或更低、350 rpm或更低、400 rpm或更低、10 rpm至400 rpm、10 rpm至350 rpm、10 rpm至300 rpm、10 rpm至250 rpm、10 rpm至200 rpm、10 rpm至150 rpm、10 rpm至100 rpm、10 rpm至50 rpm、10 rpm至20 rpm、20 rpm至400 rpm、20 rpm至350 rpm、20 rpm至300 rpm、20 rpm至250 rpm、20 rpm至200 rpm、20 rpm至150 rpm、20 rpm至100 rpm、20 rpm至50 rpm、50 rpm至400 rpm、50 rpm至350 rpm、50 rpm至300 rpm、50 rpm至250 rpm、50 rpm至200 rpm、50 rpm至150 rpm、50 rpm至100 rpm、100 rpm至400 rpm、100 rpm至350 rpm、100 rpm至300 rpm、100 rpm至250 rpm、100 rpm至200 rpm、100 rpm至150 rpm、150 rpm至400 rpm、150 rpm至350 rpm、150 rpm至300 rpm、150 rpm至250 rpm、150 rpm至200 rpm、200 rpm至400 rpm、200 rpm至350 rpm、200 rpm至300 rpm、200 rpm至250 rpm、250 rpm至400 rpm、250 rpm至350 rpm、250 rpm至300 rpm、300 rpm至400 rpm、300 rpm至350 rpm，或是350 rpm至400 rpm。於一些具體例中，攪拌器係以350 rpm或更低的速率發生。

[0067]於一些具體例中，該方法包括使用一攪拌器來攪拌細胞及/或溶解的細胞組成物，該攪拌器具有90 ft/min至1,200 ft/min、200 ft/min至1,000 ft/min、300 ft/min至800

ft/min、400 ft/min至700 ft/min，或是500 ft/min至600 ft/min的葉輪葉尖速率。於一些具體例中，該方法包含用一攪拌器來攪拌，該攪拌器具有200 ft/min至1000 ft/min的葉輪葉尖速率。

[0068]於一些具體例中，一種方法包括使用一攪拌器來攪拌細胞及/或溶解的細胞組成物，該攪拌器具有下列葉輪葉尖速率：5 cm/sec至900 cm/sec、5 cm/sec至750 cm/sec、5 cm/sec至500 cm/sec、5 cm/sec至350 cm/sec、5 cm/sec至300 cm/sec、5 cm/sec至250 cm/sec、5 cm/sec至200 cm/sec、5 cm/sec至150 cm/sec、5 cm/sec至100 cm/sec、5 cm/sec至50 cm/sec、5 cm/sec至25 cm/sec、25 cm/sec至900 cm/sec、25 cm/sec至750 cm/sec、25 cm/sec至500 cm/sec、25 cm/sec至350 cm/sec、25 cm/sec至300 cm/sec、25 cm/sec至250 cm/sec、25 cm/sec至200 cm/sec、25 cm/sec至150 cm/sec、25 cm/sec至100 cm/sec、25 cm/sec至50 cm/sec、50 cm/sec至900 cm/sec、50 cm/sec至750 cm/sec、50 cm/sec至500 cm/sec、50 cm/sec至350 cm/sec、50 cm/sec至300 cm/sec、50 cm/sec至250 cm/sec、50 cm/sec至200 cm/sec、50 cm/sec至150 cm/sec、50 cm/sec至100 cm/sec、100 cm/sec至900 cm/sec、100 cm/sec至750 cm/sec、100 cm/sec至500 cm/sec、100 cm/sec至350 cm/sec、100 cm/sec至300 cm/sec、100 cm/sec至250 cm/sec、100 cm/sec至200 cm/sec、100 cm/sec至150 cm/sec、150 cm/sec至900 cm/sec、150 cm/sec至750 cm/sec、150 cm/sec至500 cm/sec、150 cm/sec至350 cm/sec、

150 cm/sec至300 cm/sec、150 cm/sec至250 cm/sec、150 cm/sec至200 cm/sec、200 cm/sec至900 cm/sec、200 cm/sec至750 cm/sec、200 cm/sec至500 cm/sec、200 cm/sec至350 cm/sec、200 cm/sec至300 cm/sec、200 cm/sec至250 cm/sec、250 cm/sec至900 cm/sec、250 cm/sec至750 cm/sec、250 cm/sec至500 cm/sec、250 cm/sec至350 cm/sec、250 cm/sec至300 cm/sec、300 cm/sec至900 cm/sec、300 cm/sec至750 cm/sec、300 cm/sec至500 cm/sec、300 cm/sec至350 cm/sec、350 cm/sec至900 cm/sec、350 cm/sec至850 cm/sec、350 cm/sec至800 cm/sec、350 cm/sec至750 cm/sec、350 cm/sec至700 cm/sec、350 cm/sec至650 cm/sec、350 cm/sec至600 cm/sec、350 cm/sec至550 cm/sec、350 cm/sec至500 cm/sec、350 cm/sec至450 cm/sec、350 cm/sec至400 cm/sec、400 cm/sec至900 cm/sec、400 cm/sec至850 cm/sec、400 cm/sec至800 cm/sec、400 cm/sec至750 cm/sec、400 cm/sec至700 cm/sec、400 cm/sec至650 cm/sec、400 cm/sec至600 cm/sec、400 cm/sec至550 cm/sec、400 cm/sec至500 cm/sec、400 cm/sec至450 cm/sec、450 cm/sec至900 cm/sec、450 cm/sec至850 cm/sec、450 cm/sec至800 cm/sec、450 cm/sec至750 cm/sec、450 cm/sec至700 cm/sec、450 cm/sec至650 cm/sec、450 cm/sec至600 cm/sec、450 cm/sec至550 cm/sec、450 cm/sec至500 cm/sec、500 cm/sec至900 cm/sec、500 cm/sec至850 cm/sec、500 cm/sec至800 cm/sec、500 cm/sec至750 cm/sec、500 cm/sec至700 cm/sec、500 cm/sec至650 cm/sec、

500 cm/sec至600 cm/sec、500 cm/sec至550 cm/sec、550 cm/sec至900 cm/sec、550 cm/sec至850 cm/sec、550 cm/sec至800 cm/sec、550 cm/sec至750 cm/sec、550 cm/sec至700 cm/sec、550 cm/sec至650 cm/sec、550 cm/sec至600 cm/sec、600 cm/sec至900 cm/sec、600 cm/sec至850 cm/sec、600 cm/sec至800 cm/sec、600 cm/sec至750 cm/sec、600 cm/sec至700 cm/sec、600 cm/sec至650 cm/sec、650 cm/sec至900 cm/sec、650 cm/sec至850 cm/sec、650 cm/sec至800 cm/sec、650 cm/sec至750 cm/sec、650 cm/sec至700 cm/sec、700 cm/sec至900 cm/sec、700 cm/sec至850 cm/sec、700 cm/sec至800 cm/sec、700 cm/sec至750 cm/sec、750 cm/sec至900 cm/sec、750 cm/sec至850 cm/sec、750 cm/sec至800 cm/sec、800 cm/sec至900 cm/sec、800 cm/sec至850 cm/sec，或者850 cm/sec至900 cm/sec。術語"葉輪葉尖速率"係指當葉輪環繞其之中央軸旋轉時，其之最外部分的速率。

[0069]於一些具體例中，該攪拌(以及選擇性地如本文中所說明之額外的步驟)係於含有一葉輪之容器內執行，其中該葉輪直徑對該容器體積之比率為0.1至0.5，0.1至0.4，0.2至0.5，0.2至0.4，0.3至0.5，或是0.3至0.4。

[0070]於一些具體例中，該攪拌(以及選擇性地如本文中所說明之額外的步驟)係於含有一葉輪之容器內執行，其中該葉輪直徑對該容器內徑之比率為至少0.25，至少0.34，至少0.65，0.25至0.65，0.25至0.33，0.3至0.6，0.3至0.5，0.3至0.4，0.34至0.65，0.34至0.6，0.34至0.55，0.37至0.55，

0.4至0.65，0.4至0.6，0.4至0.5，或是0.42至0.55。

[0071]於一些具體例中，攪拌包含混合細胞及/或溶解的細胞組成物以致該細胞及/或該溶解的細胞組成物被放置於由下列雷諾數來說明的流動條件之下：10至10,000，1,000至10,000，1,500至10,000，或是2,000至10,000。於一些具體例中，一溶解的細胞乳液在該攪拌的期間具有2,000或更多，3,000或更多，或是5,000或更多，或是2,000至10,000，3,000至10,000，或是5,000至10,000的雷諾數。

[0072]於一些具體例中，該等攪拌器皿可具有2個葉輪。於一些具體例中，該等葉輪為拉什頓葉片葉輪。於一些具體例中，該等葉輪係以至少等於最小的葉輪的直徑之距離彼此分離。於一些具體例中，該等葉輪從尖端至尖端為30英吋至40英吋、33英吋至37英吋、33英吋、34英吋、35英吋、36英吋或37英吋。於一些具體例中，該等攪拌器皿具有至少10,000公升，至少20,000公升，至少30,000公升，至少40,000公升或至少50,000公升的體積。於一些具體例中，該等攪拌器皿具有90英吋至110英吋、95英吋至105英吋、98英吋、99英吋、100英吋、101英吋，或是102英吋的內徑。於一些具體例中，第一個葉輪係座落於從該攪拌器皿的底部為15英吋至20英吋、16英吋至19英吋，或是17英吋至18英吋，以及第二個葉輪係座落於第一個葉輪之上60英吋至80英吋、65英吋至75英吋、68英吋、69英吋、70英吋、71英吋、72英吋、73英吋、74英吋，或是75英吋。於一些具體例中，一溶解的細胞組成物係以至少50 rpm、

至少60 rpm，或至少70 rpm予以攪拌。於一些具體例中，一溶解的細胞組成物係以50 rpm至70 rpm、50 rpm至60 rpm，或是60 rpm至70 rpm予以攪拌。

[0073]於一些具體例中，該方法進一步包含攪拌該溶解的細胞組成物。於一些具體例中，攪拌溶解的細胞組成物之方法會去乳化該溶解的細胞。

[0074]於一些具體例中，去乳化期間形成的油滴之平均粒徑係選自於：5微米至50微米；5微米至45微米；5微米至40微米；5微米至35微米；5微米至30微米；5微米至25微米；5微米至20微米；5微米至15微米；10微米至50微米；10微米至45微米；10微米至40微米；10微米至35微米；10微米至30微米；10微米至25微米；10微米至20微米；10微米至15微米；15微米至50微米；15微米至45微米；15微米至40微米；15微米至35微米；15微米至30微米；15微米至25微米；15微米至20微米；20微米至50微米；20微米至45微米；20微米至40微米；20微米至35微米；20微米至30微米；20微米至25微米；25微米至50微米；25微米至45微米；25微米至40微米；25微米至35微米；25微米至30微米；30微米至50微米；30微米至45微米；30微米至40微米；30微米至35微米；35微米至50微米；35微米至45微米；35微米至40微米；40微米至50微米；40微米至45微米；以及45微米至50微米。於另一個具體例中，去乳化期間形成的油滴之平均粒徑係選自於：至少10微米、至少15微米、至少20微米、至少25微米、至少30微米、至少35微米，以及至少40微米

或更大。於另一個具體例中，去乳化期間形成的油滴之平均粒徑係選自於：至少10微米、至少15微米、至少20微米，以及至少25微米。於一些具體例中，平均粒徑可以使用，例如 Beckman Coulter LS 13 320 粒徑分析儀 (Beckman Coulter, Brea, CA) 來測量。於一些具體例中，平均粒徑可以使用，例如 Malvern MS2000 粒徑分析儀 (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, United Kingdom) 來測量。

[0075] 於一些具體例中，該溶解的細胞組成物係經受乳化劑、酸類、鹽類、熱以及攪拌，而形成去乳化溶解的細胞組成物。

[0076] 於一些具體例中，該方法進一步包含組合該溶解及該去乳化步驟，來形成單步溶解及去乳化步驟。

[0077] 於一些具體例中，該方法進一步包含組合該溶解及該去乳化步驟，來形成單步溶解及去乳化步驟，其包含提升該細胞及該溶解的細胞組成物之 pH。於一些具體例中，該單步溶解及去乳化步驟包含提升該細胞及該溶解的細胞組成物之 pH 至大約 8 或以上。於一些具體例中，該單步溶解及去乳化步驟包含添加鹼來提升該細胞及該溶解的細胞組成物之 pH。於一些具體例中，該單步溶解及去乳化步驟包含添加鹼來提升該細胞及該溶解的細胞組成物之 pH 至大約 8 或以上。

[0078] 於一些具體例中，該單步溶解及去乳化步驟可以添加的鹼係選自於業已如上所述的鹼。於一些具體例中，該單步溶解及去乳化步驟之該細胞及該溶解的細胞組成物

之pH可以被提升至選自於下列的pH：大約8或以上；大約9或以上；大約10或以上；大約11或以上；以及大約12或以上。於其他的具體例中，該單步溶解及去乳化步驟之該細胞及該溶解的細胞組成物之pH可以被提升至選自於下列的pH：7至13；7至12；7至11；7至10；7至9；8至13；8至12；8至11；8至10；8至9；9至12；9至11；9至10；10至12；以及10至11。

[0079]於一些具體例中，細胞係於合適的pH下溶解，以形成去乳化溶解的細胞組成物。於其他的具體例中，合適的pH係藉由添加業已如上所述鹼類來達成。於一些具體例中，合適的pH係選自於7至13；7至12；7至11；7至10；7至9；8至13；8至12；8至11；8至10；8至9；9至13；9至12；9至11；9至10；10至13；10至12；以及10至11。於其他的具體例中，合適的pH係選自於10至13。於更進一步的具體例中，合適的pH係選自於至少10、至少11、至少12，以及至少13。

[0080]於其他的具體例中，合適的pH係藉由添加選自於以下量的鹼類來達成：大約0.5%至大約20%、大約0.5%至大約15%、大約0.5%至大約10%、大約0.5%至大約9%、大約0.5%至大約8%、大約0.5%至大約7%、大約0.5%至大約6%、大約0.5%至大約5%、大約0.5%至大約4%、大約0.5%至大約3%、大約0.5%至大約2%，以及大約0.5%至大約1%，重量(或體積)計之細胞肉湯或組成物。於一具體例中，合適的pH係藉由添加大約0.5%至大約20%重量計之肉湯的量的

鹼類來達成。

[0081]於其他的具體例中，合適的pH係藉由添加業已如上所述的酸類來達成。於一些具體例中，合適的pH係選自於7或更小；大約6.5或更小；大約6或更小；大約5.5或更小；大約5或更小；大約4.5或更小；大約4或更小；大約3.5或更小；大約3或更小；大約2.5或更小；大約2或更小；大約1.5或更小；大約1或更小；以及大約0.5或更小。於一些具體例中，合適的pH係選自於大約6或更小。於其他的具體例中，pH係選自於大約0.5至大約7；大約0.5至大約6.5；大約0.5至大約6；大約0.5至大約5.5；大約0.5至大約5；大約0.5至大約4.5；大約0.5至大約4；大約0.5至大約3.5；大約0.5至大約3；大約0.5至大約2.5；大約0.5至大約2；大約0.5至大約1.5；大約0.5至大約1；大約1至大約7；大約1至大約6.5；大約1至大約6；大約1至大約5.5；大約1至大約5；大約1至大約4.5；大約1至大約4；大約1至大約3.5；大約1至大約3；大約1至大約2.5；大約1至大約2；大約1至大約1.5；大約1.5至大約7；大約1.5至大約6.5；大約1.5至大約6；大約1.5至大約5.5；大約1.5至大約5；大約1.5至大約4.5；大約1.5至大約4；大約1.5至大約3.5；大約1.5至大約3；大約1.5至大約2.5；大約1.5至大約2；大約2至大約7；大約2至大約6.5；大約2至大約6；大約2至大約5.5；大約2至大約5；大約2至大約4.5；大約2至大約4，大約2至大約3.5；大約2至大約3；大約2至大約2.5；大約2.5至大約7；大約2.5至大約6.5；大約2.5至大約6；大約2.5至大約5.5；大約2.5至大

約5；大約2.5至大約4.5；大約2.5至大約4；大約2.5至大約3.5；大約2.5至大約3；大約3至大約7；大約3至大約6.5；大約3至大約6；大約3至大約5.5；大約3至大約5；大約3至大約4.5；大約3至大約4；大約3至大約3.5；大約3.5至大約7；大約3.5至大約6.5；大約3.5至大約6；大約3.5至大約5.5；大約3.5至大約5；大約3.5至大約4.5；大約3.5至大約4；大約4至大約7；大約4至大約6.5；大約4至大約6；大約4至大約5.5；大約4至大約5；大約4至大約4.5；大約4.5至大約7；大約4.5至大約6.5；大約4.5至大約6；大約4.5至大約5.5；大約4.5至大約5；大約5至大約7；大約5至大約6.5；大約5至大約6；大約5至大約5.5；大約5.5至大約7；大約5.5至大約6.5；大約5.5至大約6；大約6至大約7；大約6至大約6.5；以及大約6.5至大約7。於一些具體例中，合適的pH係選自於大約0.5至大約6。

[0082]於一些具體例中，該方法包含去乳化含有微生物油之未清洗的溶解細胞，以形成未清洗的去乳化溶解的細胞組成物；以及接而從該未清洗的去乳化溶解的細胞組成物分離該油。未清洗的去乳化溶解的細胞組成物係指一種例如不用水或緩衝液清洗溶解的細胞組成物的方法，其繼而例如，藉由離心來移除。清洗溶解的細胞組成物會減少從細胞獲得的油之整體產率。

[0083]於任擇的具體例中，該溶解的細胞組成物之清洗次數可以減少1次、2次、3次或更多次。於一些具體例中，該清洗不超過1次、2次，或3次。

[0084]於一些具體例中，形成溶解的細胞組成物、添加乳化劑至該溶解的細胞組成物、使溶解的細胞組成物接觸酸或溶解的細胞組成物的pH下降、使溶解的細胞組成物接觸鹽類、加熱該溶解的細胞組成物，以及攪拌溶解的細胞組成物之各種組合，可以發生於一單一器皿內。於一些具體例中，使細胞接觸酸或細胞的pH下降、添加乳化劑至該溶解的細胞組成物、使細胞接觸鹽類、加熱細胞，以及攪拌細胞之各種組合，可以發生於一單一器皿內。於一些具體例中，該單一器皿包括一種發酵器皿。於一些具體例中，該發酵器皿可以具有至少20,000公升，至少50,000公升，至少100,000公升，至少120,000公升，至少150,000公升，至少200,000公升，或是至少220,000公升的體積。於一些具體例中，該發酵器皿可以具有20,000公升至220,000公升，20,000公升至100,000公升，20,000公升至50,000公升，50,000公升至220,000公升，50,000公升至150,000公升，50,000公升至100,000公升，100,000公升至220,000公升，100,000公升至150,000公升，100,000公升至120,000公升，150,000公升至220,000公升，150,000公升至200,000公升，或是200,000公升至220,000公升的體積。

[0085]於一些具體例中，形成於一器皿中之一數量的細胞及/或溶解的細胞組成物可以轉移至一個或更多個攪拌器皿內。於一些具體例中，該等攪拌器皿可具有至少20,000公升，至少30,000公升，至少40,000公升或至少50,000公升的體積。於一些具體例中，該等攪拌器皿可具有20,000公

升至50,000公升，20,000公升至40,000公升，20,000公升至30,000公升，30,000公升至50,000公升，30,000公升至40,000公升或是40,000公升至50,000公升的體積。

[0086]一般而言，本文所述之方法不使用一種有機溶劑來從微生物細胞獲得、分離，或者用其他方式回收微生物油。於一些具體例中，從微生物細胞獲得微生物油不使用有機溶劑。於另一個具體例中，在本文所述之方法期間，足以獲得微生物油的量或濃度之有機溶劑不添加至細胞、不添加至溶解的細胞組成物，及/或不添加至油。有機溶劑包括極性溶劑、非極性溶劑、水互溶溶劑、水不互溶溶劑，以及其等之組合。

[0087]於一些具體例中，該方法進一步包含從去乳化溶解的細胞組成物分離油。於一些具體例中，該方法包含從該去乳化溶解的細胞組成物分離油，其係藉由離心該去乳化溶解的細胞組成物。於一些具體例中，一種油係從去乳化溶解的細胞組成物分離出，其係藉由允許該去乳化溶解的細胞組成物靜置，其中該脂質係利用重力而自該去乳化溶解的細胞組成物分離出(例如，如同分離層)。於一些具體例中，分離係藉由一親脂性膜來達成。於一些具體例中，該分離包含於10°C至100°C的溫度下離心。於一些具體例中，從該去乳化溶解的細胞組成物分離出該油，首先係藉由提升pH(例如，透過添加如上所述的鹼)，然後離心該去乳化溶解的細胞組成物來獲得該油。

[0088]於一些具體例中，該去乳化溶解的細胞組成物之

pH係藉由添加鹼至該去乳化溶解的細胞組成物來提升。該去乳化溶解的細胞組成物可以添加的鹼為上文中提出的一樣的該等。於一些具體例中，pH係選自於大約7.5或以上；大約8或以上；大約9或以上；大約10或以上；大約11或以上；以及大約12或以上。於其他的具體例中，pH係選自於7至13；7至12；7至11；7至10；7至9；8至13；8至12；8至11；8至10；8至9；9至12；9至11；9至10；10至12；以及10至11。

[0089]於一些具體例中，該方法包含從該去乳化溶解的細胞組成物分離油，其係藉由於下列的溫度下離心該去乳化溶解的細胞組成物：至少10℃，至少20℃，至少25℃，至少30℃，至少35℃，至少40℃，至少45℃，至少50℃，至少55℃，至少60℃，至少65℃，至少70℃，至少75℃，至少80℃，至少85℃，至少90℃，至少95℃，或至少100℃。於一些具體例中，該方法包含從該去乳化溶解的細胞組成物分離油，其係藉由於下列的溫度下離心該去乳化溶解的細胞組成物：10℃至100℃、10℃至90℃、10℃至80℃、20℃至100℃、20℃至90℃、20℃至80℃、25℃至100℃、25℃至90℃、25℃至80℃、25℃至75℃、30℃至100℃、30℃至90℃、30℃至80℃、40℃至100℃、40℃至90℃、40℃至80℃、50℃至100℃、50℃至90℃、50℃至80℃、50℃至70℃、60℃至100℃、60℃至90℃、60℃至80℃、60℃至70℃、70℃至100℃、70℃至90℃、70℃至80℃、80℃至100℃、80℃至90℃，或

是90 °C至100°C。

[0090]於一些具體例中，離心係以下列(去乳化溶解的細胞組成物進入離心機內之)進料速率予以實施：每分鐘1公斤(kg/min)至500 kg/min，1 kg/min至400 kg/min，1 kg/min至300 kg/min，1 kg/min至200 kg/min，1 kg/min至100 kg/min，1 kg/min至75 kg/min，1 kg/min至50 kg/min，1 kg/min至40 kg/min，1 kg/min至30 kg/min，1 kg/min至25 kg/min，1 kg/min至10 kg/min，10 kg/min至500 kg/min，10 kg/min至400 kg/min，10 kg/min至300 kg/min，10 kg/min至200 kg/min，10 kg/min至100 kg/min，10 kg/min至75 kg/min，10 kg/min至50 kg/min，10 kg/min至40 kg/min，10 kg/min至30 kg/min，20 kg/min至500 kg/min，20 kg/min至400 kg/min，20 kg/min至300 kg/min，20 kg/min至200 kg/min，20 kg/min至100 kg/min，20 kg/min至75 kg/min，20 kg/min至50 kg/min，20 kg/min至40 kg/min，25 kg/min至500 kg/min，25 kg/min至400 kg/min，25 kg/min至300 kg/min，25 kg/min至200 kg/min，25 kg/min至100 kg/min，25 kg/min至75 kg/min，25 kg/min至50 kg/min，30 kg/min至60 kg/min，30 kg/min至50 kg/min，30 kg/min至40 kg/min，50 kg/min至500 kg/min，100 kg/min至500 kg/min，或是200 kg/min至500 kg/min。

[0091]於一些具體例中，該方法包含以下列的離心力來離心去乳化溶解的細胞組成物：1,000 g至25,000 g，1,000 g至20,000 g，1,000 g至10,000 g，2,000 g至25,000 g，2,000 g

至20,000 g，2,000 g至15,000 g，3,000 g至25,000 g，3,000 g至20,000 g，5,000 g至25,000 g，5,000 g至20,000 g，5,000 g至15,000 g，5,000 g至10,000 g，5,000 g至8,000 g，10,000 g至25,000 g，15,000 g to 25,000 g，或至少1,000 g，至少2,000 g，至少4,000 g，至少5,000 g，至少7,000 g，至少8,000 g，至少10,000 g，至少15,000 g，至少20,000 g，或是至少25,000 g。當使用於本文中，"g"係指標準重力或大概 9.8 m/s^2 。於一些具體例中，該方法包含以4,000 rpm至14,000 rpm，4,000 rpm至10,000 rpm，6,000 rpm至14,000 rpm，6,000 rpm至12,000 rpm，8,000至14,000 rpm，8,000 rpm至12,000 rpm，或是8,000 rpm至10,000 rpm，來離心去乳化溶解的細胞組成物。

[0092]於一些具體例中，回收該油可以舉例而言，藉由傾析、撇除、真空吸除、泵抽、吸除、抽除、虹吸，或是用別的方法，而從該經分離的組成物表面來回收該微生物油回收。

[0093]於一些具體例中，該方法包含乾燥業已回收的油，俾以從該油移除水。於一些具體例中，乾燥該油可以包括但不限於，加熱該油以蒸發水。於一些具體例中，在乾燥之後，以油之重量(或體積)百分比計，該油具有少於3%，少於2.5%，少於2%，少於1.5%，少於1%，少於0.5%，少於0.1%，或是0%之水含量。於一些具體例中，在乾燥之後，以油之重量(或體積)百分比計，該油具有0%至3%，0%至2.5%，0%至2%，0%至1.5%，0%至1%，0%至0.5%，0.1%

至3%，0.1%至2.5%，0.1%至2%，0.1%至1.5%，0.1%至1%，0.1%至0.5%，0.5%至3%，0.5%至2.5%，0.5%至2%，0.5%至1.5%，0.5%至1%，1%至3%，1%至2.5%，1%至2%，1%至1.5%，1.5%至3%，1.5%至2.5%，1.5%至2%，2%至3%，2%至2.5%，或是2.5%至3%之水含量。

[0094] 本文揭示一種能藉由本文所述之任一方法而獲得的微生物油。於一些具體例中，該油包含至少30重量(或體積)%的二十碳四烯酸。於一些具體例中，該油包含至少30重量(或體積)%的二十二碳六烯酸。

[0095] 甲氧苯胺值(AV)係依據AOCS法定方法Cd 18-90予以判定。於一具體例中，本文所述之油的AV為低於大約50；低於大約40；低於大約30；低於大約20；低於大約15；或是低於大約10。於一些具體例中，該油的AV為低於大約50。術語甲氧苯胺值係提及在該油的氧化期間出現的次級反應產物，例如醛和酮之量度(measure)。

[0096] 過氧化物值(PV)係依據AOCS法定方法Cd 8-53予以判定。於一具體例中，本文所描述之油的PV為低於大約20 meq/kg；低於大約10 meq/kg；或是低於大約5 meq/kg。於一些具體例中，該油的PV為低於大約5 meq/kg。術語過氧化物值係提及在該油的氧化期間出現的初級反應產物，例如過氧化物及氫過氧化物之量度。當使用於本文中，過氧化物值係以meq/kg來測量。

[0097] 於一些具體例中，該油之磷含量為100 ppm或更少，95 ppm或更少，90 ppm或更少，85 ppm或更少，80 ppm

或更少，75 ppm或更少，70 ppm或更少，65 ppm或更少，60 ppm或更少，55 ppm或更少，50 ppm或更少，45 ppm或更少，40 ppm或更少，35 ppm或更少，30 ppm或更少，25 ppm或更少，20 ppm或更少，15 ppm或更少，10 ppm或更少，9 ppm或更少，8 ppm或更少，7 ppm或更少，6 ppm或更少，5 ppm或更少，4 ppm或更少，3 ppm或更少，2 ppm或更少，或是1 ppm或更少的。於一些具體例中，該油具有大約8 ppm或更少之磷含量。

[0098]於一些具體例中，該油包含一個或更多個PUFAs。於一些具體例中，該油包含至少10%，至少15%，至少20%，至少25%，至少30%，至少35%，至少40%，至少45%，至少50%，至少60%，至少70%，或至少80%的PUFA(以PUFA重量計)。於一些具體例中，該油包含至少10%，至少15%，至少20%，至少25%，至少30%，至少35%，至少40%，至少45%，至少50%，至少60%，至少70%，或至少80%的DHA(以DHA重量計)，及/或至少10%，至少15%，或至少20%的DPA n-6(以DPA n-6重量計)，及/或至少10%，至少15%，或至少20%的EPA(以EPA重量計)，及/或至少10%，至少15%，至少20%，至少25%，至少30%，至少35%，至少40%，至少45%，至少50%，至少55%，至少60%，至少65%，至少70%，至少75%，或至少80%的ARA(以ARA重量計)。於一些具體例中，一種油包含少於50%，少於40%，少於30%，少於20%，少於15%，少於10%，或少於5%的EPA(以EPA重量計)。於一些具體例中，一種油包含

少於50%，少於40%，少於30%，少於20%，少於15%，少於10%，或少於5%的DHA(以DHA重量計)。於一些具體例中，一種油包含少於10%，少於5%，少於2%，少於1%，或少於0.5%重量(或體積)計的固醇。

[0099]於一些具體例中，一種油包含至少50%，至少60%，至少70%，至少80%，至少90%，至少95%，或是50%至95%，50%至90%，50%至85%，50%至80%，50%至75%，60%至95%，60%至90%，60%至85%，70%至95%，70%至90%，70%至85%，75%至95%，75%至90%，或是75%至85%重量(或體積)計的三酸甘油酯。

[0100]於一些具體例中，該等三酸甘油酯包含至少10%，至少20%，至少30%，至少35%，至少40%，至少50%，至少60%，至少70%或至少80%重量(或體積)計的DHA。該等三酸甘油酯包含至少10%，至少20%，至少30%，至少35%，至少40%，至少45%，至少50%，至少55%，至少60%，至少65%，至少70%，至少75%，或至少80%重量(或體積)計的ARA。於一些具體例中，該等三酸甘油酯包含至少50%，至少40%，至少30%，至少20%，至少15%，至少10%，或至少5%重量(或體積)計之EPA。

[0101]於一具體例中，藉由本文所述之任一方法而獲得及/或回收的微生物油為一種粗製油。於另一個具體例中，此處所描述之油為一種精製油。一種"粗製油"為一種從微生物細胞獲得的、不經進一步加工的油。一種"精製油"為一種藉由用精製、漂白，以及/或去臭之標準的精製加工來

處理粗製油所獲得的油。參見，例如，美國專利案號 5,130,242。於一些具體例中，精製包括但不限於：苛性精製法、去膠、酸處理、鹼處理、冷卻、加熱、漂白、去臭、脫酸，以及其等之組合。

[0102]於一些具體例中，該方法包含濃縮含有微生物細胞的發酵肉湯。於一些具體例中，該方法包含濃縮溶解的細胞組成物。當使用於本文中，"濃縮"係提及自一組成物移除水。濃縮可以包括，但不限於，蒸發、化學乾燥、離心與類似物，以及其等之組合。於一些具體例中，細胞組成物或溶解的細胞組成物被濃縮以提供的油濃度為至少4%，至少5%，至少10%，至少15%，至少20%，至少25%，或至少30%重量(或體積)計之溶解的細胞組成物。於一些具體例中，細胞組成物或溶解的細胞組成物被濃縮以提供的油濃度為4%至40%，4%至30%，4%至20%，4%至15%，5%至40%，5%至30%，5%至20%，10%至40%，10%至30%，10%至20%，15%至40%，15%至30%，20%至40%，20%至30%，25%至40%，或是30%至40%重量(或體積)計之溶解的細胞組成物。

[0103]供本發明使用的微生物細胞之有效的培養條件包括但不限於，允許油生產之有效的培養基、生物反應器、溫度、pH，以及氧條件。一種有效的培養基係指典型培養一微生物細胞，例如，破囊壺菌目微生物細胞的任何培養基。此等培養基典型地包含一水性培養基，其具有可吸收之碳、氮，與磷酸鹽來源，以及適當的鹽類、礦物質、金

屬，與其他營養物，例如維生素。供本發明使用之微生物細胞可以被培養於慣用的發酵生物反應器、震盪燒瓶、試管、微滴定盤，以及培養皿內。

[0104]於一些具體例中，一種微生物細胞包含至少30%重量(或體積)計的油，至少35%重量(或體積)計的油，至少40%重量(或體積)計的油，至少50%重量(或體積)計的油，至少60%重量(或體積)計的油，至少70%重量(或體積)計的油，或至少80%重量(或體積)計的油。於一些具體例中，一種供本發明使用之微生物細胞能夠產生每小時每公升至少0.1克(g/L/h)的DHA，至少0.2 g/L/h的DHA，至少0.3 g/L/h的DHA，或至少0.4 g/L/h的DHA。於一些具體例中，一種供本發明使用之微生物細胞能夠產生每小時每公升至少0.01克(g/L/h)的ARA，至少0.05 g/L/h的ARA，至少0.1 g/L/h的ARA，至少0.2 g/L/h的ARA，至少0.3 g/L/h的ARA，或至少0.4 g/L/h的ARA。

[0105]於一些具體例中，一種依據本文所述之任一方法而獲得的油、廢生質，或其等之組合可以直接地使用作為一食品或食品的成分，例如下列食品的成分：嬰兒食品、嬰兒配方奶粉、飲料、醬汁、牛奶為主的食品(例如牛奶、酸酪乳、乾酪與冰淇淋)、油類(例如，烹調油或沙拉醬)，以及烘焙食物；營養補給品(例如，以膠囊或錠劑形式)；供用於任何非人類動物之飼料或飼料補充品(例如，其等之產物(例如，肉、牛奶，或是雞蛋)係供人類消耗之該等)；食物補充品；以及藥物(以直接或附加物療法應用)。術語"動

物"係提及任一種屬於動物界之生物，以及包括會衍生產物(例如，牛奶、雞蛋、家禽肉、牛肉、豬肉或羔羊肉)之任何人類動物，及任何非人類動物。於一些具體例中，該油及/或生質可以使用於海產食品中。海產食品係衍生自，但非限制，魚、蝦與貝。術語"產物"包括此等動物衍生的任何產物，含括，但非限制，肉、雞蛋、牛奶或其他的產物。當將該油及/或生質餵此等動物時，多不飽和油可被併入該肉、牛奶、雞蛋或此等動物之其它產物中以增加此等油之含量。

實施例

實施例1

[0106]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60°C下低溫殺菌歷時1小時。未清洗的細胞肉湯係以180 RPM的速度攪拌且加熱至60°C。藉由添加50wt% NaOH溶液來調整肉湯pH至7-7.5，以及以肉湯重量為基準，添加0.5%的量之Alcalase® 2.4 FG(可得自於Novozymes (Franklinton, NC))，來溶解細胞。於維持攪拌之時，透過添加98重量%的H₂SO₄溶液將溶解的細胞組成物之pH調整到4。添加以溶解的細胞組成物之2重量%的量之固體NaCl，以及使該組成物加熱至90°C且保持20小時。藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7.5-8.5，以及繼而以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出91.7% DHA(以DHA重量計)。

實施例2

[0107]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60°C下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加20重量%的H₂SO₄溶液來調整該細胞肉湯的pH至2，以及接而使該肉湯加熱至90°C且保持45小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7.5-8.5，以及繼而以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出51.62% DHA(以DHA重量計)。

實施例3

[0108]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60°C下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加：20重量%的H₂SO₄溶液來調整該細胞肉湯的pH至2，以肉湯之2重量%的量之固體NaCl；以及使該肉湯加熱至90°C且保持18小時。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出38.82% DHA(以DHA重量計)。

實施例4

[0109]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60°C下低溫殺菌

歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之2重量%的98重量% H_2SO_4 溶液，以及使該肉湯加熱至90℃歷時4小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，保持在90℃歷時21小時，以及繼而以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出72% DHA(以DHA重量計)。該粗製油具有145的甲氧苯胺值(AV)。

實施例5

[0110]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。未清洗的細胞肉湯係以180 RPM的速度攪拌且加熱至60℃。藉由添加：50wt% NaOH來調整肉湯pH至7-7.5，以及以肉湯重量為基準，添加0.5%的量之Alcalase 2.4 FG(可得自於Novozymes (Franklinton, NC))，來溶解細胞。於維持攪拌之時，透過添加98重量%的 H_2SO_4 溶液將溶解的細胞組成物之pH調整到4，然後將該組成物加熱至90℃。於90℃45小時之後，以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出81% DHA(以DHA重量計)。該粗製油具有14.5的AV。

實施例6

[0111]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60℃下低溫殺菌

歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之2.5重量%的98重量% H_2SO_4 溶液，以及接而使該肉湯加熱至90℃歷時5小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，在90℃幾個小時後，以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出92.5% DHA(以DHA重量計)。

實施例7

[0112]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之2重量%的98重量% H_2SO_4 溶液，以及接而使該肉湯加熱至90℃歷時5-6小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，且在90℃幾個小時後，以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出82.63% DHA(以DHA重量計)。

實施例8

[0113]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之1重量%的98重量% H_2SO_4 溶液，以及使該肉湯加熱至90

℃ 歷時5-10小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，以及以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出42% DHA(以DHA重量計)。

實施例9

[0114]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之3重量%的98重量%H₂SO₄溶液，以及使該肉湯加熱至90℃ 歷時1-5小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，以及以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出88% DHA(以DHA重量計)。

實施例10

[0115]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之4重量%的70wt%硝酸溶液，以及使該肉湯加熱至90℃ 歷時1小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，以及以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗

製油產出82% DHA(以DHA重量計)。

實施例11

[0116]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之2重量%的70wt%硝酸溶液，以及使該肉湯加熱至90℃歷時5-6小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，以及以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出58.5% DHA(以DHA重量計)。

實施例12

[0117]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之2.5重量%的70wt%硝酸溶液，以及使該肉湯加熱至90℃歷時5小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整pH至7-8.5，且在90℃幾個小時後，以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出74% DHA(以DHA重量計)。

實施例13

[0118]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌

歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之4重量%的磷酸，以及使該肉湯加熱至90℃歷時5小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整pH至7-8.5，以及在90℃幾個小時後，以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以回收粗製油。此組成物之45g樣本產出1.0mL的粗製油。

實施例14

[0119]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(350 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之8重量%的磷酸，以及使該肉湯加熱至90℃歷時3小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7-8.5，且在90℃幾個小時後，以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)該組成物歷時5分鐘以回收粗製油。此組成物之45g樣本產出0.5mL的粗製油。

實施例15

[0120]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(2000L)放置於處理槽內、以190 rpm予以攪拌。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之4重量%的98重量% H_2SO_4 溶液，以及使該肉湯加熱至90-95℃歷時1小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由使該組成物冷卻至75℃，

添加50wt% NaOH溶液來調整pH至7-8.5，使該組成物混合過夜，以及以8 L/min、1754 RPM同軸離心該組成物以提供粗製油，該粗製油產出93% DHA(以DHA重量計)，以及具有0.69 meq的過氧化物值(PV)、23.9的AV，及1.04的游離脂肪(FFA)含量之粗製油。

實施例16

[0121]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(550L)放置於處理槽內、以193 rpm予以攪拌。將細胞肉湯加熱至60℃，透過添加50wt.% NaOH溶液來調整pH至7.3-7.5，以及添加以肉湯之0.5重量%的量之鹼性蛋白酶(alcalase)。2小時之後，透過添加98重量%的H₂SO₄溶液將溶解的細胞組成物之pH調整到4，且加熱至90℃，同時維持攪拌。於90℃ 20小時之後，從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由使該組成物冷卻至75℃，透過添加50wt.% NaOH溶液來調整pH至8.5，保持該組成物過夜，以及以8 L/min、1754 RPM同軸離心該組成物以提供粗製油，該粗製油產出84% DHA(以DHA重量計)，以及具有0 meq的PV、7.3的AV，及0.17的FFA含量之粗製油。

實施例17

[0122]將一種含有微生物細胞(被孢黴(*Mortierella*))之細胞肉湯(2500-3000公升)放置於傾析槽(decanting tank)內數小時至澄清。一旦澄清，將50-60%無生質的液體抽出丟棄。濃縮的未清洗低溫殺菌的細胞肉湯接而通經一種符合

(in line to)處理槽之高剪切混合機(Siemens ULTRA-Turrax UTL 1000/10，以60 Hz)。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添加以肉湯之3重量%的98重量% H_2SO_4 溶液來調整pH達0.9至1.5，以及使該肉湯加熱至94℃歷時20-24小時，或者直到於10mL肉湯稀釋中之1mL於去離子水中產出25 μm 或更小的粒徑為止。該去乳化溶解的細胞組成物係用除氧水(deoxygenated water)稀釋成10%的固體含量(使用Omnimark Uwave濕氣分析儀產生的數量)，以及設若加水造成溫度下降至低於85℃，則予以再加熱至85℃。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來調整該組成物的pH至7.8-8.2，允許該組成物混合30分鐘或者直到離心一樣本顯示完全沒有乳液層為止，以及以1750 RPM且以7公升/min之流率同軸離心(Seital SR1010)該組成物歷時7-10小時以回收粗製油。

[0123]三個分開的細胞肉湯批次各自獨立接受以上的方法。

第1批次粗製油產出86.6% ARA(以ARA重量計)，以及具有26.1的AV及0.39 meq的PV之乾燥、過濾的粗製油。

第2批次粗製油產出87.6% ARA(以ARA重量計)，以及具有14的AV及0.31 meq的PV之乾燥、過濾的粗製油。

第3批次粗製油產出85% ARA(以ARA重量計)，以及具有24.7的AV及0.51 meq的PV之乾燥、過濾的粗製油。

實施例18

[0124]將一種含有微生物細胞(被孢黴(*Mortierella*))之

細胞肉湯(1000 mL)於70℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化的細胞組成物係藉由添加以肉湯之4重量%的硝酸(70%溶液)來將pH調整至0.7-1.0，以及使該肉湯加熱至90℃同時以200 rpm的速度攪拌歷時30小時。從該去乳化的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50% w/w NaOH溶液來調整該組成物的pH至8.0-8.2，以及以8,000g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出74.13% ARA(以ARA重量計)(根據FAME分析)，以及具有27.9的AV之粗製油。

實施例19

[0125] 將一種含有微生物細胞(被孢黴(*Mortierella*))之細胞肉湯(1000 mL)於70℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化的細胞組成物係藉由添加以肉湯之15重量%的磷酸(85%溶液)來將pH調整至0.7至1.5，以及使該組成物加熱至90℃同時以200 rpm的速度攪拌歷時50小時。該去乳化的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50% w/w NaOH溶液來調整該組成物的pH至8.0-8.2，以及以8,000g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出42.61% ARA(以ARA重量計)。該粗製油具有16.1的AV。

實施例20

[0126] 將一種含有微生物細胞(被孢黴(*Mortierella*))之細胞肉湯(1000 mL)於70℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化的細胞組成物係藉由添加以肉湯之6重量%的鹽

酸(32%溶液)來將pH調整至0.7-1.5，以及使該肉湯加熱至90℃同時以200 rpm的速度攪拌歷時50小時。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50% w/w NaOH溶液來調整該組成物的pH至8.0-8.2，以及以8,000g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出72.61% ARA(以ARA重量計)。該粗製油具有11.1的AV。

實施例21

[0127]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由：添加12.5wt% NaOH溶液至細胞肉湯來調整pH至11，添加以肉湯之2重量% NaCl，以及使該組成物加熱至90℃。於90℃ 25小時之後，從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出71% DHA(以DHA重量計)。

實施例22

[0128]將一種含有微生物細胞(被孢黴(*Mortierella*))之未清洗細胞肉湯(2129.8kg)於70℃下低溫殺菌歷時1小時，然後通經一種符合(in line to)處理槽之高剪切混合機(Siemens ULTRA-Turrax UTL 1000/10，以60 Hz)。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由：添加以肉湯之3.5重量%的98%硫酸(85%溶液)來將pH調整至.07至1.5；加熱至90℃：

以及保持28小時同時以200 RPM的速度攪拌。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50%的NaOH溶液及以該組成物的重量計2%的NaCl，來中和該組成物且調整pH至8.0，以及繼而離心(Seital SR1010)該組成物以提供產出77.4% ARA(以ARA重量計)之粗製油，以及具有12.4的AV、2.27%的FFA含量，及0.13 meq的PV之粗製油。

實施例23

[0129]將一種含有微生物細胞(寇氏隱甲藻(*Crypthecodinium cohnii*))之經清洗的細胞肉湯(750g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。藉著使細胞肉湯以12,000 PSI、通經一種均質機(Microfluidizer M110)二次而使細胞機械地溶解。將溶解的細胞組成物放置於一種圓形燒瓶內，以及藉由添加以組成物之4重量%的硫酸(98%純的)溶液，加熱至90℃同時以200 RPM予以攪拌，以及保持28小時來進行去乳化。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由添加50wt% NaOH溶液來中和該組成物且調整pH至8.0，以及繼而以8000 g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出45% DHA(以DHA重量計)(根據FAME分析)，以及具有12.35的AV和1.09 meq.的PV之粗製油。

實施例24

[0130]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之未清洗的細胞肉湯(750 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時，以及放置於1L燒瓶內以250 RPM予以

攪拌。使溫度上升至60℃來減少因黏度所需的混和時間。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由：添加以肉湯之4重量%的50% NaOH來調整pH至12.62；加熱至90℃；以及允許反應歷時26小時直到pH降至7.75為止。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出88% DHA(以DHA重量計)(根據FAME分析)。

實施例25

[0131]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之未清洗的細胞肉湯(750 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時，以及放置於1L燒瓶內以250 RPM予以攪拌。使溫度上升至60℃來減少因黏度所需的混和時間。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由：添加以肉湯之4重量%的50% NaOH來調整pH至12.93；加熱至90℃；以及允許反應歷時26小時直到pH降至7.95為止。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000g離心(Thermo Sorvell ST)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出82.5% DHA(以DHA重量計)(根據FAME分析)。

實施例26

[0132]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之未清洗的細胞肉湯(750 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時，以及放置於1L燒瓶內以250 RPM予以攪拌。使溫度上升至60℃來減少因黏度所需的混和時間，且使pH提升至7.5。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由添

加：以肉湯之3.5重量%%的50% NaOH來調整pH至12.28；加熱至90℃；以及允許反應歷時32小時直到pH降至7.88為止。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出88% DHA(以DHA重量計)(根據FAME分析)。

實施例27

[0133]將一種含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之未清洗的細胞肉湯(750 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時，以及放置於1L燒瓶內以250 RPM予以攪拌。使溫度上升至60℃來減少因黏度所需的混和時間。形成去乳化溶解的細胞組成物係藉由：添加以肉湯之4.0重量%%的50% NaOH來調整pH至12.87；加熱至90℃；以及允許反應歷時36小時直到pH降至8.15為止。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000g離心(Thermo Sorvell ST 40R)該組成物歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出84% DHA(以DHA重量計)(根據FAME分析)。

比較實施例1

[0134]將含有微生物細胞(裂殖壺菌屬物種(*Schizochytrium* sp.))之細胞肉湯(300 g)於60℃下低溫殺菌歷時1小時。未清洗的細胞肉湯係以180 RPM的速度攪拌且加熱至60℃。藉由添加50wt% NaOH溶液來調整細胞的pH至7-7.5，以及添加以肉湯重量為基準，0.5%的量之

Alcalase® 2.4 FG(可得自於Novozymes (Franklinton, NC))，來溶解細胞。當維持攪拌的時候，使溶解的細胞組成物去乳化，此係透過同時添加12.5wt% NaOH溶液來調整pH到10-11以及2%組成物重量計的量的CaCl₂，然後將該組成物加熱至90°C且保持68小時來進行。從該去乳化溶解的細胞組成物分離微生物油，其係藉由以8000 RPM離心(Thermo Scientific Sorvell ST40R Centrifuge)歷時5分鐘以提供粗製油，該粗製油產出62.5% DHA(以DHA重量計)，以及43.8的AV之粗製油。

【符號說明】

(無)

I651408

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：

※ I P C 分類：

【發明名稱】(中文/英文)

用於從微生物細胞獲得微生物油之方法(一)

PROCESSES FOR OBTAINING MICROBIAL OIL FROM MICROBIAL CELLS

【中文】

本發明係有關於用於從細胞獲得脂質的方法，其係藉由溶解該細胞以形成溶解的細胞組成物，以及從去乳化溶解的細胞組成物獲得該脂質。本發明亦針對一種藉由本發明的方法所製備的脂質。本發明亦針對具有特定的甲氧苯胺值、過氧化物值，及/或磷含量之微生物脂質。

【英文】

The present invention relates to processes for obtaining a lipid from a cell by lysing the cell to form a lysed cell composition and obtaining the lipid from the demulsified lysed cell composition. The invention is also directed to a lipid prepared by the processes of the present invention. The invention is also directed to microbial lipids having a particular anisidine value, peroxide value, and/or phosphorus content.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ ）圖。(無)

【本代表圖之符號簡單說明】：

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

(無)

申請專利範圍

1. 一種用於從一或多個微生物細胞獲得包含一或多個多不飽和脂肪酸的微生物油之方法，其中該方法包含：

(a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成一經溶解的細胞組成物；

(b)去乳化該經溶解的細胞組成物以形成一經去乳化溶解的細胞組成物；

(c)從該經去乳化溶解的細胞組成物分離出該油；以及

(d)回收該油；

其中該(b)包含降低該經溶解的細胞組成物之pH至6或更小，且其中該(c)進一步包含提升該經去乳化溶解的細胞組成物之pH。

2. 如請求項1之方法，其中該(a)或該(b)中至少一者進一步包含加熱該等細胞或該組成物達至少70℃。
3. 如請求項1之方法，其中該(a)或該(b)中至少一者進一步包含加熱該等細胞或該組成物達70℃至100℃。
4. 如請求項1之方法，其中該(b)進一步包含下列之一或多者：

(a)添加乳化劑至該經溶解的細胞組成物；

(b)降低該pH達0.5至6；

(c)添加呈0.5%至20%之量的一酸，以該經溶解的細胞組成物之重量計；

(d)添加呈0.05%至20%的量的一鹽，以該經溶解的細胞組成物之重量計；及/或

(e)攪拌該經溶解的細胞組成物。

5. 如請求項1之方法，其中該(a)進一步包含攪拌該等細胞。
6. 如請求項4或5之方法，其中該酸係選自於：硫酸(sulfuric)、磷酸(phosphoric)、鹽酸(hydrochloric)、氫溴酸(hydrobromic)、氫碘酸(hydroiodic)、次氯酸(hypochlorous)、亞氯酸(chlorous)、氯酸(chloric)、過氯酸(perchloric)、氟硫酸(fluorosulfuric)、硝酸(nitric)、氟銻酸(fluoroantimonic)、氟硼酸(fluoroboric)、六氟磷酸(hexafluorophosphoric)、鉻酸(chromic)、硼酸(boric)、乙酸(acetic)、檸檬酸(citric)、甲酸(formic)，以及其等之組合。
7. 如請求項6之方法，其中該酸為硫酸。
8. 如請求項1之方法，其中該(a)的該等細胞為未清洗的，及/或該(a)的該等細胞係包含於發酵液(fermentation broth)內。
9. 如請求項1之方法，其中該(c)進一步包含離心該經去乳化溶解的細胞組成物。
10. 如請求項1之方法，其中該多不飽和脂肪酸係選自於 ω -3脂肪酸、 ω -6脂肪酸，以及其等之混合。
11. 如請求項1之方法，其中該多不飽和脂肪酸係選自於二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳五烯酸(DPA)、二十碳四烯酸 (ARA)、 γ -次亞麻油酸

- (GLA)、雙高- γ -次亞麻油酸 (DGLA)、十八碳四烯酸 (SDA)，以及其等之混合。
12. 如請求項11之方法，其中該多不飽和脂肪酸為二十二碳六烯酸(DHA)。
 13. 如請求項11之方法，其中該多不飽和脂肪酸為二十碳四烯酸(ARA)。
 14. 如請求項1之方法，其中該等微生物細胞為藻類、真菌、原生生物，或是細菌細胞。
 15. 如請求項1之方法，其中該等微生物細胞為酵母菌細胞。
 16. 如請求項1之方法，其中該等微生物細胞係來自於被孢黴屬(*Mortierella*)、隱甲藻屬(*Crypthecodinium*)，或是破囊壺菌目(*Thraustochytriales*)。
 17. 如請求項16之方法，其中該等微生物細胞係來自於破囊壺菌屬 (*Thraustochytrium*) 、 裂 殖 壺 菌 屬 (*Schizochytrium*)，或是其等之混合。
 18. 如請求項16之方法，其中該等微生物細胞係來自於高山被孢黴(*Mortierella alpina*)。
 19. 如請求項1之方法，其中該經溶解的細胞組成物包含液體、細胞碎屑以及微生物油。
 20. 如請求項1之方法，其中從該等細胞獲得該油不使用有機溶劑。
 21. 如請求項1之方法，其中該經去乳化溶解的細胞組成物之平均粒徑係25微米或更小。
 22. 如請求項4之方法，其中該乳化劑為一離子性乳化劑。

23. 如請求項22之方法，其中該離子性乳化劑係選自於陰離子硫酸鹽乳化劑、陰離子磺酸鹽乳化劑、陰離子磷酸鹽乳化劑、陰離子羧酸鹽乳化劑及其等之組合。
24. 如請求項22之方法，其中該離子性乳化劑為一選自於硫酸月桂酯鈉、十二烷基硫酸鈉、月桂醇聚醚(laureth)硫酸鈉、月桂基醚硫酸鈉、肉豆蔻醇聚醚(myreth)硫酸鈉及其等之組合的陰離子硫酸鹽乳化劑。
25. 如請求項4之方法，其中該乳化劑係以一從0.2%至10%之量添加，以該經溶解的細胞組成物之重量計。
26. 如請求項4之方法，其中該鹽係選自於以下所構成的群組：鹼金屬鹽類、鹼土金屬鹽類、硫酸鹽鹽類，以及其等之組合。
27. 如請求項1之方法，其中該(d)的該油為粗製油。
28. 如請求項27之方法，其中該(d)進一步包含精製該粗製油以獲得一精製油。
29. 如請求項1之方法，其中該油包含至少30重量%的二十碳四烯酸。
30. 如請求項1之方法，其中該油包含至少30重量%的二十二碳六烯酸。
31. 如請求項1之方法，其中該油具有低於50的甲氧苯胺值。
32. 如請求項1之方法，其中該油具有8 ppm或更少之磷含量。
33. 如請求項1之方法，其中該油具有低於5 meq/kg的過氧化物值。

34. 如請求項1之方法，其中該(a)及該(b)係組合在一起形成一單步溶解及去乳化步驟。
35. 一種用於從一或多個微生物細胞獲得包含一或多個多不飽和脂肪酸的微生物油之方法，其中該方法包含：
- (a)溶解包含該微生物油之該等細胞以形成一經溶解的細胞組成物；
 - (b)去乳化該經溶解的細胞組成物以形成一經去乳化溶解的細胞組成物；
 - (c)從該經去乳化溶解的細胞組成物分離出該油；以及
 - (d)回收該油；
- 其中該(a)及該(b)組合在一起形成一單步溶解及去乳化步驟，其包含提升pH，且其中該(c)進一步包含提升該經去乳化溶解的細胞組成物之pH。
36. 如請求項35之方法，其中該單步溶解及去乳化步驟包含提升該pH至8或以上。
37. 如請求項35之方法，其中該單步溶解及去乳化步驟包含添加一鹼來提升該pH至8或以上。
38. 一種油，其係藉由如請求項1-37中任一項之方法所獲得者。