



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201210513 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：100144365

(22)申請日：中華民國 94 (2005) 年 03 月 01 日

(51)Int. Cl. : *A23J7/00 (2006.01)* *A23L1/00 (2006.01)*
A23L1/30 (2006.01) *C07F9/24 (2006.01)*
C07C69/58 (2006.01) *A61K31/202 (2006.01)*
A23D9/00 (2006.01)

(30)優先權：2004/03/01 日本 2004-56928

(71)申請人：三得利控股股份有限公司 (日本) SUNTORY HOLDINGS LIMITED (JP)
日本

(72)發明人：河島洋 KAWASHIMA, HIROSHI (JP)；角田元男 SUMIDA, MOTOO (JP)；白石明
子 SHIRAISHI, AKIKO (JP)

(74)代理人：賴安國；李政憲；王立成

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：3 項 圖式數：0 共 53 頁

(54)名稱

含長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的製造方法及此類磷脂的用途

PRODUCING METHOD OF PHOSPHOLIPIDS INCLUDING LONG-CHAIN POLYUNSATURATED
FATTY ACIDS AS CONSTITUENTS, AND USE OF SUCH PHOSPHOLIPIDS

(57)摘要

本發明提供有效率且穩定地製造含長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂的一種方法。具體而言，本發明提供製造含有長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的一種方法，其中，利用可產生含長鏈多元未飽和脂肪酸之脂質的脂質合成細胞為原料，此方法係包括從脫脂細胞萃取磷脂的一個萃取磷脂的步驟，該脫脂細胞乃自脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪而得。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201210513 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：100144365

(22)申請日：中華民國 94 (2005) 年 03 月 01 日

(51)Int. Cl.：

A23J7/00 (2006.01)

A23L1/00 (2006.01)

A23L1/30 (2006.01)

C07F9/24 (2006.01)

C07C69/58 (2006.01)

A61K31/202 (2006.01)

A23D9/00 (2006.01)

(30)優先權：2004/03/01 日本

2004-56928

(71)申請人：三得利控股股份有限公司 (日本) SUNTORY HOLDINGS LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：河島洋 KAWASHIMA, HIROSHI (JP)；角田元男 SUMIDA, MOTOO (JP)；白石明子 SHIRAISHI, AKIKO (JP)

(74)代理人：賴安國；李政憲；王立成

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：3 項 圖式數：0 共 53 頁

(54)名稱

含長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的製造方法及此類磷脂的用途

PRODUCING METHOD OF PHOSPHOLIPIDS INCLUDING LONG-CHAIN POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AS CONSTITUENTS, AND USE OF SUCH PHOSPHOLIPIDS

(57)摘要

本發明提供有效率且穩定地製造含長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂的一種方法。具體而言，本發明提供製造含有長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的一種方法，其中，利用可產生含長鏈多元未飽和脂肪酸之脂質的脂質合成細胞為原料，此方法係包括從脫脂細胞萃取磷脂的一個萃取磷脂的步驟，該脫脂細胞乃自脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪而得。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於含長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的一種製造方法，以及此類磷脂的用途。本發明特別是有關於有效率且穩定地製造磷脂的一種方法，與利用此方法製造的磷脂，以及此類磷脂的代表性用途。

【先前技術】

吾人習知磷脂具有各種生理功能，包括腦功能的增進，抗壓力的效果，以及降低膽固醇的作用。磷脂有多種不同的存在形式，常見的例子包括磷脂醯膽鹼、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯乙醇胺，以及磷脂醯肌醇。這些磷脂的不同形式具有不同的功能與性質。

在這些不同的磷脂類型中，其組成成分為具有至少 20 個碳原子的長鏈多元未飽和脂肪酸的磷脂（長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂），較之於組成成分不是長鏈多元未飽和脂肪酸的磷脂（非長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂），已知具有改善腦功能的優越效果（請參閱例如 Non-Patent Publication 1 之文獻）。長鏈多元未飽和脂肪酸的具體實例包括，例如 docosahexaenoic 酸，花生四烯酸等。

非磷脂的長鏈多元未飽和脂肪酸衍生物也已知具有改善腦功能效果（請參閱例如 Non-Patent Publication 1 之文獻）。然而一般認為，不像如長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂或非長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之類的磷脂，非磷脂的長鏈多元未飽

和脂肪酸衍生物乃作用於大腦皮質之海馬丘，以改善腦功能。

一般認為，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之所以具優越的腦功能改善效果是因為：(1) 它有實際上存在於腦中的結構，(2) 它能越過血腦屏障，(3) 它不需在肝臟裡被捕獲或轉變，因為它的分子未進入肝臟即被吸收，就能抵達腦組織或身體中其他組織。

底下將更具體地說明這些原因。(1) 吾人已知，腦中的長鏈多元未飽和脂肪酸幾乎完全以磷脂的形式存在。更具體地說，大部分的長鏈多元未飽和脂肪酸以化合物的形態存在，例如磷脂醯膽鹼，磷脂醯絲胺酸，磷脂醯乙醇胺，與磷脂醯肌醇，因此具有腦中的各種功能。(2) 磷脂能抵達腦組織。這已被實驗證明，其中，在腦組織中偵測到由口腔施放之具標記的磷脂(請參閱 Non-Patent Publication 2)。(3) 於被吸收時，磷脂的兩個脂肪酸分子中的一個分子將被水解，並於消化系統中產生溶血磷脂(lysophospholipids)。溶血磷脂在小腸中被吸收，並在淋巴管吸收之前，於小腸細胞中被重組成磷脂(請參閱 Non-Patent Publication 3)。如此，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂不進入肝臟而循環於身體中。

傳統上，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂向來取自動物的器官、蛋或其他含大量長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的部位，經製備程序或純化而得。以一個具體例子來說，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂可用牛腦來製備，或者用得自豬肝或魚蛋的磷脂餾出物來純化(請參閱 Non-Patent Publication 2/3)。還有，已知有些特別的海生菌類能製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂

(請參閱 Non-Patent Publication 4)。再者，也已經知道能產生花生四烯酸的絲狀菌類，除了大量含三酸甘油酯的花生四烯酸外，也製造少量含磷脂的花生四烯酸(請參閱 Non-Patent Publication 5)。

在磷脂的工業生產上，若從原料萃取出以三酸甘油酯為主要成分的油或脂肪時，磷脂通常與油或脂肪一同萃取。可用己烷或類似的溶劑作萃取溶劑。

萃取出的油或脂肪含有膠質，可能導致油或脂肪的染色並產生泡沫。因此，經由一個去膠程序去除膠質，使幾乎所有的磷脂成分轉移到膠質裡。於是可以膠質的純化來製造磷脂。

在製造大豆卵磷脂作為磷脂的例子裡，大豆在此例中是原料，係使用己烷為溶劑，從大豆中萃取原料油。剩餘的脫脂大豆用來作食物或飼料等等。另一方面，因為原料油含有膠質，於是藉由一去膠程序分離膠質，然後純化。大豆卵磷脂就是經由此過程來製造。若量測上述大豆卵磷脂一系列的生產步驟後的大豆卵磷脂或磷脂含量，事實上有 1.5%到 2.5%的磷脂含於原料油中，但純化後的油只有不及 0.05%的磷脂含量。因此，顯然磷脂主要是經去膠程序去除(請參閱 Non-Patent Publication 6)。

[專利文獻 1]

特開 2003-48831(公開日：平成 15 (2003)年 2 月 21 日，公開公報)

[專利文獻 2]

特開平 11-35587(公開日：平成 11 (1999)年 2 月 9 日，公開公報)

[專利文獻 3]

特開平 8-59678(公開日：平成 8 (1996)年 3 月 5 日，公開公報)

[非專利文獻 1]

G. Toffano et al. , Nature Vol.260 p331-333 (1976)

[非專利文獻 2]

G. Toffano et al. Clinical Trial Journal Vol.24 p18-24 (1987)

[非專利文獻 3]

Katsumi Imaizumi , Clinical Nutrition (Rinsho Eiyo) , Vol. 67 , p. 119 (1985)

[非專利文獻 4]

Kazunaga Yazawa et al. , Oil Science (Abura Kagaku) , Vol. 44 , pp. 787-793 (1995)

[非專利文獻 5]

S. jareonkitmongkol et al. , Apple Environ Microbiol Vol.59 p4300-4304 (1993)

[非專利文獻 6]

Oils and Fats Handbook , Saiwai Shobou , p. 178-184 (1988)

但是，利用傳統的技術，難以有效率且穩定地製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。

具體而言，因為現有的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂都衍生自上述的動物器官或動物的卵黃，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的來源有限，而且只能得到少量的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。因此供應不穩定，而且無法總是得到同樣的品質。此外，由於有狂牛疫病，利用牛腦或其他動物器官已經變得很困難了。

至於利用微生物的技術，在從海生菌類衍生的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂中，其大部分的脂肪酸是支鏈脂肪酸，這是菌類特有的，卻很少見於人類或其他動物。因此，衍生自海生菌類的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂不適合作為營養組成物供人類消費。再者，雖然產生花生四烯酸的絲狀菌類可製造含花生四烯酸的磷脂，在大量的三酸甘油酯混合物中發現只有少量。因此，這個方法難以用於工業應用。

本發明的創作乃著眼於上面的問題。本發明的一個目的為提供可以有效率且穩定地製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的一種技術，且以穩定的品質與穩定的產量，提供低成本的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。本發明的另一目的為提供此技術的代表性用途。

【發明內容】

本發明的發明人奮力不懈，致力於解決上述問題。本發明的創作中，用生產長鏈多元未飽和脂肪酸脂質的脂質合成細胞作為原料，以製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，獲得下列(1)和(2)兩項發現。(1) 從細胞萃取三酸甘油酯時，萃取物中以三酸甘油酯為主要成分的部份幾乎不含任何磷脂，這和磷脂與

三酸甘油酯一起出現的預期結果相反。經萃取抽離三酸甘油酯取得的剩餘細胞中，存留有大量的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。(2) 使用如有機溶劑的萃取劑，可藉一簡單程序從脫脂細胞中，輕易地萃取出長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。

也就是說，本發明提供製造含長鏈多元未飽和脂肪酸成分的磷脂(長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂)的一種方法，其中，利用可產生含長鏈多元未飽和脂肪酸之脂質的脂質合成細胞為原料，此方法係包括從脫脂細胞萃取磷脂的一個萃取磷脂的步驟，該脫脂細胞乃自脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪而得。

較佳者是，此製造方法更包括抽離油或脂肪的一個步驟，從脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪並取得脫脂細胞，而且該抽離油或脂肪的步驟先於萃取磷脂的步驟進行。

用於本發明的脂質合成細胞並無特別限制，但比較好的是用選自下列的至少一種菌類：孢黴屬 (*Mortierella*)、耳黴屬 (*Conidiobolus*)、腐黴屬 (*Pythium*)、疫黴屬、青黴屬 (*Penicillium*)、枝孢屬 (*Cladosporium*)、白黴屬 (*Mucor*)、鐮孢屬 (*Fusarium*)、曲黴屬 (*Aspergillus*)、紅酵母屬 (*Rhodotorula*)、蟲黴屬 (*Entomophthora*)、*Echinosporangium* 屬以及水黴屬 (*Saprolegnia*)。在孢黴屬的脂質合成細胞中較好是用孢黴亞屬的菌類，而在孢黴亞屬的脂質合成細胞中較好是用 *Mortierella alpina*。

在這個製造方法中，進行萃取磷脂的步驟時，較佳的是，利用至少一種脂肪族有機溶劑與水之精煉物或超臨界態二氧

化碳氣作為萃取劑，從脫脂細胞中萃取磷脂。較佳的是，使用下列任一種脂肪族有機溶劑：飽和碳氫化合物、醇類、飽和碳氫化合物與醇類之混合溶劑，以及鹵代碳氫化合物與醇類之混合溶劑。較佳的是，使用含下列至少一種的精煉物：己烷、乙醇、甲醇、含水乙醇、異丙基醇和丙酮；或者使用含己烷與乙醇混合溶劑的精煉物。己烷與乙醇的混合溶劑之己烷：乙醇體積比的較佳範圍是自 4：1 至 0：6。

此製造磷脂的方法中，進行抽離油或脂肪的步驟時，較佳的是，利用下列至少一種手段從脂質合成細胞抽離油或脂肪：施加壓力壓縮萃取、蒸餾萃取(rendering extraction)及利用萃取劑萃取。較佳的方式是，利用至少一種脂肪族有機溶劑與水之精煉物或超臨界態二氧化碳氣作為萃取劑，從脫脂細胞中萃取磷脂。選用的脂肪族的有機溶劑係以己烷為較佳。用於抽離油或脂肪的步驟裡的脂質合成細胞係以脫水細胞為較佳。

本發明的磷脂乃利用前述的製造方法製造，而且含有長鏈多元未飽和脂肪酸的成分。此長鏈多元未飽和脂肪酸成分並無特別限定，但較佳者為選自下列至少一種：eicosadienoic 酸，eicosatrienoic 酸，eicosatetraenoic 酸，eicosapentaenoic 酸，docosadienoic 酸，docosatrienoic 酸，docosatetraenoic 酸，docosapentaenoic 酸，docosaheptaenoic 酸，tetracosadienoic 酸，tetracosatrienoic 酸，tetracosatetraenoic 酸，tetracosapentaenoic 酸和 tetracosahexaenoic 酸。

長鏈多元未飽和脂肪酸分子中，至少有一碳-碳雙鍵為共

軛(conjugated)鍵，而且長鏈多元未飽和脂肪酸以含花生四烯酸、docosaheptaenoic 酸或此兩種之混合者為較佳。相對於全部長鏈多元未飽和脂肪酸磷脂中所含全部的脂肪酸成分，以花生四烯酸的比例佔 5 重量%或以上者為較佳。

具體而言，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂以選自下列至少一種甘油磷脂者為較佳：磷脂醯膽鹼、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯肌醇、磷脂酸、和心磷脂。當長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂至少含磷脂醯膽鹼時，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，以花生四烯酸的比例佔 15 重量%或以上者為較佳。當長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂至少含磷脂醯絲胺酸時，相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，以花生四烯酸的比例佔 20 重量%或以上者為較佳。

本發明的磷脂中，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂至少含磷脂醯膽鹼和磷脂醯絲胺酸，且長鏈多元未飽和脂肪酸至少含花生四烯酸，更且，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸的比例佔 40 重量%或以上，更且，相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸的比例佔 20 重量%或以上。

調製此磷脂，可使長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂含磷脂醯膽鹼，其至少包括 dihom- γ -linolenic 酸為長鏈多元未飽和脂肪酸成分，且使相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，dihom- γ -linolenic 酸的比例佔 3 重量%或以上。再者，調製此磷脂，可使長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂含磷脂醯絲胺酸，其至少包括 dihom- γ -linolenic 酸為長鏈多元

未飽和脂肪酸成分，且使相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，dihomo- γ -linolenic 酸的比例佔 1 重量%或以上。

本發明製造脂質混合物的一種方法包括：前述磷脂製造方法中的一個萃取磷脂的步驟；與製備磷脂溶液的一個製備溶液的步驟，係於該萃取磷脂步驟中取得含長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的磷脂，將其溶解於含長鏈多元未飽和脂肪酸成分之一液態脂質。

較好的是，此製造方法更包括一個抽離油或脂肪的步驟，其中，以得自抽離油或脂肪的步驟之油或脂肪作為液態脂質，且將於抽離油或脂肪的步驟中抽離出的油或脂肪的一部分去除，以於萃取磷脂的步驟中萃取長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，其係溶解於液態脂質中之一脂質混合物。

本發明的一種脂質混合物係以製造脂質混合物的方法來製造，且至少含有：長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，與一包含有長鏈多元未飽和脂肪酸作為成分的液態脂質。其中較好的是，相對於全部液態脂質中的全部脂肪酸，長鏈多元未飽和脂肪酸的比例佔 11 重量% 或以上。

本發明的脂質混合物若含磷脂，則其不必要為得自上述製造脂質混合物的方法。

本發明的脂質混合物可使用作為營養成分，亦可再處理，例如，置入封裝膜內或於片劑內。

於本發明中，脂質混合物可使用作為食品。也就是說，本發明包括含脂質混合物的食品。此外，於本發明中，食用

品可包括如含油之水一的散佈液體，其係以由磷脂形成之一脂質體的型態存在。食用品的一個具體例子為一種營養品。

為求更完整地理解本發明的特質與優點，請參考底下對實施方式的詳細說明。

【實施方式】

底下將詳細描述本發明的一個實施例。請注意，本發明完全不受下列描述的限制。具體而言，本實施例依序描述磷脂與它的一種製造方法，以及本發明的用途。

(I) 本發明的磷脂與它的一種製造方法

本發明提供含長鏈多元未飽和脂肪酸成分的磷脂(長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂)，係利用可產生含長鏈多元未飽和脂肪酸之脂質的脂質合成細胞，以其作為原料。本發明亦提供製造磷脂的一種方法(在適當處將簡稱為“製造方法”)，其係可製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。具體而言，本發明的製造方法包括至少萃取磷脂的一個步驟，係從脫脂細胞萃取磷脂，且該脫脂細胞乃得自抽離該脂質合成細胞中含三酸甘油酯的油或脂肪。

也就是說，在本發明中，利用已抽離如三酸甘油酯之油或脂肪的脫脂細胞(剩餘的細胞)，係作為長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的來源。如此，本發明可包括抽離油或脂肪的一個步驟，係從脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪並取得脫脂細胞，且該抽離油或脂肪的步驟乃先於萃取磷脂的步驟進行。

<脂質合成細胞>

本發明中，只要是能產生長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的微生物，作為原料的脂質合成細胞並無特別限制，具體的例子如下：孢黴屬 (*Mortierella*)、耳黴屬 (*Conidiobolus*)、腐黴屬 (*Pythium*)、疫黴屬、青黴屬 (*Penicillium*)、枝孢屬 (*Cladosporium*)、白黴屬 (*Mucor*)、鐮孢屬 (*Fusarium*)、曲黴屬 (*Aspergillus*)、紅酵母屬 (*Rhodotorula*)、蟲黴屬 (*Entomophthora*)、*Echinosporangium* 屬以及水黴屬 (*Saprolegnia*)。

選擇作為原料的脂質合成細胞乃根據其產生的長鏈多元未飽和脂肪酸種類。例如，可能只用一種品種，或用兩種或更多的品種的組合。

在這些脂質合成細胞中，已知許多孢黴屬的種或品種能產生含花生四烯酸成分的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，係為長鏈多元未飽和脂肪酸的一種成分(此後稱花生四烯酸-磷脂)。若使用的是孢黴屬的脂質合成細胞，較佳者為孢黴亞屬的細胞，例如：*Mortierella alpine*，*Mortierella polycephala*，*Mortierella exigua*，*Mortierella hygrophila* 以及 *Mortierella elongata*。

更具體地舉例來說，能產生花生四烯酸-磷脂的孢黴亞屬的細菌品種如下：*M. polycephala* IF06335、*M. elongata* IF08570、*M. exigua* IF08571、*M. hygrophila* IF05941、*M. alpina* IF08568、ATCC16266、ATCC32221、ATCC42430、CBS219.35、CBS224.37、CBS250.53、CBS343.66、CBS527.72、

CBS529.72、CBS608.70 與 CBS754.68。

孢黴亞屬之外，下列的品種能產生花生四烯酸-磷脂：
Echinosporangium transversalis ATCC16960、*Conidiobolus heterosporus* CBS138.57、與 *Saprolegnia lapponica* CBS284.38。

這些品種全部都可從下列單位取得：Institute for Fermentation、Osaka (IFO)、American Type Culture Collection、ATCC、與 Centrralbureau voor Schimmelcultures (CBS)以及其他單位。

另一個能產生花生四烯酸-磷脂的孢黴亞屬品種的例子，亦即 *M. elongata* SAM0219 (International Deposit No. FERMBP-1239 based on Budapest Treaty)的品種，乃由包括本發明之發明人的研究團隊從土壤中分離出，亦可取得。

另外，一個較特別的孢黴亞屬微生物的例子是 *M. elongata* SAM1860 (International Deposit No. FERMBP-3589 based on Budapest Treaty) 的品種，係由包括本發明之發明人的研究團隊從土壤中分離出，其能產生長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，其中長鏈多元未飽和脂肪酸成分為 dihomog- γ -linolenic 酸。

再者，孢黴亞屬微生物的一個更具體的例子是 *M. alpina* SAM2086 (International Deposit No. FERMBP-6032 based on Budapest Treaty)的品種，係由包括本發明之發明人的研究團隊從土壤中分離出，其能產生脂肪酸成分為 mead 酸的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。

<脂質合成細胞的培養>

本發明適用於培養能產生長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的微生物(脂質合成細胞)，故可充分地生產細胞。於此，本發明的一種製造方法可包括培養脂質合成細胞的脂質合成細胞培養的一個步驟。

培養脂質合成細胞的方法並無特別限定，且視脂質合成細胞的種類而定，可以使用傳統的方法。一般而言，可用液態或固態的培養基，使其接芽於欲培養的脂質合成細胞的孢子或菌絲，或於該脂質合成細胞的預培養溶液。若對該細胞有大量需求，通常以使用液態培養基為較佳。培養的設備則無特別限定。對於小規模的培養，可利用置於各式試管或燒瓶的液態培養基，以震動方式培養細胞，或以接芽於瓊脂平板的方式作靜態培養。對於大規模的培養，則可利用包括震動發酵槽的各式發酵槽。

對於使用的培養基種類也無須特別限定，其為根據使用的脂質合成細胞種類加以適當選擇，並從已知的成分製備。另一可行方式是，使用已知組成成分的培養基，或用可購得的培養基。

若使用液態培養基，碳的來源沒有特別限定，亦可適當地使用一般的糖類。這些糖類的具體例子包括：葡萄糖、果糖、木糖、蔗糖、麥芽糖、可溶澱粉、糖漿、甘油、與甘露醇。這些碳源可單獨使用，或使用其中兩種或更多種的組合。

氮的來源也沒有特別限定，亦可適當地使用習知的來源。

一些例子包括：天然來源包括消化蛋白質、酵母萃取物、麥芽萃取物、肉類萃取物、cazamino 酸、穀物浸泡發酵液(corn steep liquor)、大豆蛋白質、脫脂大豆、和棉花籽沉澱物；有機來源如尿素；以及無機來源如硝酸鈉、硝酸銨、與硫酸銨。在這些來源中，衍生自大豆的天然來源特別適合本發明，雖然合適的來源種類乃隨培養的品種而不同。

此類來源的具體例子包括大豆、脫脂大豆、大豆薄片、食用大豆蛋白質、大豆凝脂殘渣、豆奶、與大豆粉。在這些例子當中，可用熱變質脫脂大豆，或更好是用一種脫脂大豆，其係得自於溫度在大約 70°C 到 90°C 之間的熱處理，和隨後去除可溶於乙醇之成分。這些氮的來源可單獨使用，或使用其中兩種或更多種的組合。

碳的來源與氮的來源以外的成分亦無特別限定。若有需要，可適當地選擇並加入已知的礦質養分。此類養分來源的例子包括：如磷酸的離子之無機酸之離子；鹼金屬或鹼土金屬的離子，如鈣離子、鈉離子、鎂離子；VIIB 族到 VIII 族的金屬離子，如鐵、鎳，鈷、和錳；IB 族到 IIB 族的金屬離子，如銅和鋅；以及各種維他命。

液態培養基中的各成分的含量(百分比)並無特別限定，而且如果不阻礙脂質合成細胞的成長，可適當地使用習用的量。在實務上，加入的碳的來源總量一般以從 0.1 重量%到 40 重量%的範圍為較佳，更好的是從 1 重量%到 25 重量%。至於氮的來源，加入的總量一般以從 0.01 重量%到 10 重量%的範圍為較佳，更好的是從 0.1 重量%到 10 重量%。採取餵養培養的方式

時，加入碳的來源最初總量以從 1 重量%到 5 重量%，且加入氮的來源最初總量以從 0.1 重量%到 6 重量%為較佳。碳的來源與氮的來源皆可餵食於培養基；然而，以只餵食碳的來源為較佳。

請注意，在本發明的製造方法中，培養基可加入未飽和脂肪酸的先驅物質，以增加含長鏈多元未飽和脂肪酸之未飽和脂肪酸的產量。未飽和脂肪酸之先驅物質的非限制性例子包括：碳氫化合物，如十六烷或十八烷；脂肪酸或其鹽類，如油酸或亞麻油酸；脂肪酸酯，如乙基酯、脂肪酸甘油酯、或脂肪酸山梨醇酐酯；以及油或脂肪，如橄欖油、大豆油、菜籽油、棉花油、和椰子油。這些先驅物質可單獨使用，或使用其中兩種或更多種的組合。

加入的未飽和脂肪酸之先驅物質的總量並無特別限定。一般來說，相對於培養基的總重量，加入範圍從 0.001%到 10%的未飽和脂肪酸之先驅物質，或以相對於培養基的總重量從 0.5%到 10%為較佳。可用這些先驅物質作為唯一的碳的來源，以培養脂質合成細胞。

培養條件無特別限定，係根據培養的品種類型適當地選擇。例如，培養的溫度一般說來在從 5°C 到 40°C 的範圍內，以取 20°C 到 30°C，然後取 5°C 到 20°C 為較佳。先在較高的溫度範圍培養細胞，然後再用較低的溫度範圍，如此的溫度控制可增加產生的未飽和脂肪酸中多元未飽和脂肪酸的比例。

培養基的 pH 值亦無特別限定。一般使用從 4 到 10 的 pH 值範圍，而使用從 5 到 9 的 pH 值範圍為較佳。培養的時間亦無特別限定。一般來說，培養的時間從 2 到 30 天，以 5 到 20

天為較佳，且以 5 到 15 天為更佳。外加於培養基的程序無特別限定，其係適當地選擇自習知的培養方法，包括攪拌氣曝培養法，震動培養法，和靜態培養法。

<抽離油或脂肪的步驟>

本發明中，對於培養脂質生成細胞的步驟中所收集的細胞，萃取磷脂的步驟係於完成抽離油或脂肪的步驟後進行。此抽離油或脂肪的步驟是為了從已收集的細胞群聚製造脫脂細胞(剩餘的細胞)，其中，從細胞中萃取出並除油或脂肪，如三酸甘油酯。於此步驟中，將去除全部的或部分的非磷脂脂質，而幾乎不去除任何長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。易言之，抽離油或脂肪的步驟是為萃取磷脂的步驟之前置步驟。然而應注意，在抽離油或脂肪的步驟中抽離的油或脂肪，如三酸甘油酯，係含長鏈多元未飽和脂肪酸成分，因此具有含長鏈多元未飽和脂肪酸之油或脂肪的高市場價值。

在抽離油或脂肪的步驟中，可直接使用尚為活細胞之已收集的細胞，或在殺菌後使用之。此外，可在培養溶液中處理細胞，無須收集。另一可行方式為，直接使用團聚型態的已收集細胞，或先將其處理成平板，長條，顆粒，粉末或任何其他型態。收集細胞的方法亦無特別限定。當培養的細胞為少量時，可用一般的離心機進行離心沉澱。另一方面，當收集的細胞為大量時，以利用連續式離心沉澱來分離細胞為較佳，可加上用濾膜過濾等等，或省略之。

收集的細胞可保持濕潤，或經脫水取得脫水細胞。本發明

中，以使用脫水細胞為較佳。在這種做法中，可有效率地抽離油或脂肪(見範例)。使濕潤的細胞脫水的方法無特別限定。可利用習知的脫水程序，如通風乾燥，熱處理，減壓，與冷凍真空乾燥。

因此，於培養脂質生成細胞的步驟之後，本發明的製造方法可包括收集細胞的一個步驟，與處理已收集之細胞的處理一個步驟。於此處理細胞的步驟中，可將已收集的細胞處理成任何型態，或將濕潤的細胞脫水而取得脫水細胞。

在抽離油或脂肪的步驟中，從細胞抽離油或脂肪的方法無特別限定，可利用習知的萃取方法。具體而言，至少有下列方法可供利用：以外加壓力壓縮萃取；利用熱水或蒸氣以蒸餾萃取(rendering extraction)；及利用各種萃取劑的萃取方法。

只要能藉施加壓力於使用的材料上萃取出細胞中油的成分，以外加壓力壓縮萃取的方法無特別限定。例如，可用分批次施以液壓的方式，或用如連續式壓榨裝置的儀器。

蒸餾萃取的方法無特別限定，可為乾式或濕式。具體言之，有直接用火燒的乾式方法，或用壓力鍋的蒸氣蒸餾(濕式)方法可供利用。

更具體地來解釋乾式方法，油或脂肪經由加熱細胞，例如直接用火燒或用包覆蒸氣。在蒸氣蒸餾方法中，具體言之，是將細胞曝露於加熱的蒸氣下。藉由加熱與攪拌，將以乳狀液的形式取得油的成分，連同如水和蛋白質的其他成分。利用離心機，多餘的水將被分離，並取得原料油，其中可選擇性地進行過濾。蒸氣蒸餾的條件並無特別限定。例如，可在從 3 kg/cm^2

到 4 kg/cm^2 的熱蒸氣下進行溶離 4 到 6 小時。

用於萃取的萃取劑種類沒有特別限定。一般來說，將使用含至少一種脂肪族的有機溶劑和水的精煉物。另一可行的方式是利用超臨界狀態的二氧化碳氣。在這類精煉物中，脂肪族的有機溶劑的具體例子包括：飽和的碳氫化合物，如己烷，石油醚（以戊烷與己烷為主要成分之有機溶劑）；酮類，如丙酮；醇類如甲醇，乙醇，丙醇，和丁醇；酯類，如乙酸乙酯；與含鹵素的碳氫化合物，如氯仿，和二氯甲烷。至於水，可用溶有已知溶質的水溶液。這些精煉物可單獨使用，或使用其中兩種或更多種的組合。為有效率地去除如三酸甘油酯的油或脂肪，在上面所舉的精煉物的例子中，以己烷或石油醚的飽和碳氫化合物為較佳，且以己烷為更佳。

使用萃取劑的萃取步驟，可分批次或連續地進行。使用萃取劑的萃取條件亦無特別限定。溫度，使用的萃取劑量，與萃取時間係可適當地選擇，其係根據萃取的油或脂肪的種類，如三酸甘油酯，與使用的細胞數量（體積，重量）而定。於萃取時，以輕輕攪拌使細胞散佈於萃取劑中為較佳。用這種方式，可有效率地進行萃取。

請注意，於抽離油或脂肪的步驟之後，產生的脫脂細胞可直接使用於萃取磷脂的步驟，或經處理並儲存以待稍後使用。如以上所述，抽離油或脂肪的步驟是製造脫脂細胞的步驟中的一個步驟，也是一個製造其自身具有市場價值的油或脂肪之步驟。因此，若油或脂肪是所需的產物，則脫脂細胞可視為殘渣。在這種情況下，可將在油或脂肪的生產中得到的脫脂細胞副產

品儲存，以供作為本發明使用的製造原料。如此，本發明的製造方法中，不一定需要有抽離油或脂肪的步驟。

<萃取磷脂的步驟>

在本發明的製造方法中，從脫脂細胞萃取出磷脂的萃取磷脂的步驟是不可或缺的。在萃取磷脂的步驟中，從脫脂細胞萃取磷脂的方法無特別限定。然而，如同抽離油或脂肪的步驟，以使用萃取劑的萃取法為較佳。

用於從脫脂細胞萃取磷脂的萃取劑無特別限定。如同抽離油或脂肪的步驟，可適當地使用含至少一種脂肪族的有機溶劑和水的精煉物，或超臨界狀態的二氧化碳氣。在此類精煉物中，脂肪族的有機溶劑的例子包括：

飽和的碳氫化合物，如己烷，石油醚(以戊烷與己烷為主要成分之有機溶劑)；酮類，如丙酮；醇類如甲醇、乙醇、丙醇、和丁醇；酯類，如乙酸乙酯；含鹵素的碳氫化合物，如氯仿，和二氯甲烷；氰化的碳氫化合物，如氰甲烷；與醚類，如二乙基醚。至於水，可用溶有已知溶質的水溶液。這些精煉物可單獨使用，或使用其中兩種或更多種的組合。

在上面例舉的精煉物中，較佳的脂肪族的有機溶劑例子包括：飽和碳氫化合物，醇類，飽和碳氫化合物與醇類的混合溶劑，與鹵化碳氫化合物和醇類的混合溶劑。在飽和碳氫化合物中，以己烷為較佳。在醇類中，以乙醇為較佳。在飽和碳氫化合物與醇類的混合溶劑中，以己烷和乙醇的混合溶劑為較佳。在鹵化碳氫化合物和醇類的混合溶劑中，以氯仿和甲醇的混合

溶劑為較佳。

當用於食品時，這些有機溶劑中以己烷和/或乙醇為較佳。當使用己烷和乙醇的混合物時，以己烷:乙醇之體積比為從 4:1 到 0:6 較佳，而更佳者為從 4:1 到 1:4 之體積比，再更佳者為從 4:1 到 2:4 之體積比。在己烷:乙醇之體積比為 0:6 的個案中，使用的是含 100%乙醇的有機溶劑。當使用己烷和乙醇的混合溶劑時，可加入少量的水。

使用萃取劑的萃取可分批次或連續地進行。使用萃取劑的萃取條件亦無特別限定。溫度，使用的萃取劑量，與萃取時間係可適當地選擇，其係根據萃取的油或脂肪的種類，如三酸甘油酯，與使用的細胞數量(體積，重量)而定。於萃取時，以輕輕攪拌，使細胞散佈於萃取劑中為較佳。用這種方式，可有效率地進行萃取。

<其他的步驟>

如同上面所述，本發明的製造方法至少包括萃取磷脂的步驟，且以包括抽離油或脂肪的步驟為較佳。此外，本方法亦可包括其他步驟。此類步驟的具體例子是，如上所述，收集細胞的步驟和處理細胞的步驟。再者，如將於後面的例子闡述，可另外包括一個純化磷脂的步驟，其係將自萃取磷脂的步驟所得的磷脂純化。

對於具體的進行純化磷脂的步驟的方法，亦即將從萃取磷脂的步驟所得的原料磷脂純化，其方式並無特別限定。在後面的例子裡，乃用薄膜層析法純化磷脂。然而，本方法不受此限

制，且可使用各種溶劑分餾法，如管柱層析法或丙酮分餾法。用於層析的載體無特別限定，可適當地使用習知的載體。用於層析的溶劑亦無特別限定，可適當地使用習知的溶劑。

<本發明的磷脂>

本發明的磷脂係以如上所述之製造方法製造。易言之，本發明的磷脂乃萃取自脫脂細胞，且含長鏈多元未飽和脂肪酸成分，且該脫脂細胞係從脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪而取得。

只要含長鏈多元未飽和脂肪酸成分，本發明的磷脂無特別限定，且可為任何習知的磷脂。此類磷脂的具體例子包括：甘油磷脂 (glycerophospholipids)，如磷脂醯膽鹼 (phosphatidylcholine)、磷脂醯絲胺酸 (phosphatidylserine)、磷脂醯乙醇胺 (phosphatidylethanolamine)、磷脂醯肌醇 (phosphatidylinositol)、磷脂醯甘油 (phosphatidylglycerol)、和心磷脂 (cardiolipin)；鞘磷脂 (sphingophospholipids)，如神經鞘磷脂 (sphingomyelin)；溶血磷脂 (lysophospholipids)，如溶血磷脂醯膽鹼 (lysophosphatidylserine)、溶血磷脂醯絲胺酸 (lysophosphatidylcholine)、溶血磷脂醯乙醇胺 (lysophosphatidylethanolamine)、溶血磷脂醯肌醇 (lysophosphatidylinositol)、與溶血磷脂醯甘油 (lysophosphatidylglycerol)；和如磷脂酸 (phosphatidic

acid)的溶血磷脂(lysophospholipids)。在這些磷脂中，特別以磷脂醯膽鹼、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯乙醇胺、磷脂醯肌醇、和磷脂酸為較佳。

本發明的磷脂係包括至少一種上面例舉的磷脂，且可包括兩種或更多種的磷脂。在不經純化的步驟純化而使用原料磷脂的情況下，可將加入不同種類的微量成分。一個此類微量成分的例子是，不同於衍生自脂質合成細胞的脂質成分(油或脂肪等等)。

只要是具 20 個或更個多碳原子與一個雙鍵的未飽和脂肪酸，對於本發明的磷脂所含之長鏈多元未飽和脂肪酸無特別限定。此類未飽和脂肪酸的具體例子包括：eicosadienoic 酸、eicosatrienoic 酸、如 dihom- γ -linolenic 酸與 mead 酸、eicosatetraenoic 酸，如花生四烯酸、eicosapentaenoic 酸、docosadienoic 酸、docosatrienoic 酸、docosatetraenoic 酸、docosapentaenoic 酸、docosaheptaenoic 酸、tetracosadienoic 酸、tetracosatrienoic 酸、tetracosatetraenoic 酸、tetracosapentaenoic 酸和 tetracosahexaenoic 酸。在這些長鏈多元未飽和脂肪酸中，以花生四烯酸和/或 docosaheptaenoic 酸為較佳。長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的成分可只含一種長鏈多元未飽和脂肪酸，或含兩種或更多種長鏈多元未飽和脂肪酸。

在長鏈多元未飽和脂肪酸中，其 C-C 雙鍵($-C=C-$)中至少有一個在結構上可為共軛鍵。此共軛雙鍵可包括一羰基($C=O$)，或可由相鄰的 C-C 雙鍵形成。

相對於長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂中所含全部的脂肪酸，長鏈多元未飽和脂肪酸的比例無特別限定，但以 22 重量% 或以上為較佳，且以 37 重量% 或以上為更佳。當含花生四烯酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸時，相對於長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂中所含全部的脂肪酸，花生四烯酸所佔的比例無特別限定，但以 0.3 重量% 或以上為較佳，5 重量% 或以上為更佳，20 重量% 或以上為再更佳，且以 34 重量% 或以上為特別更佳。

當長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂為磷脂醯膽鹼時，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸所佔的比例以 15 重量% 或以上為較佳，以 40 重量% 或以上為更佳。當長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂為磷脂醯絲胺酸時，相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸所佔的比例以 5 重量% 或以上為較佳，以 20 重量% 或以上為更佳。正因如此，本發明的磷脂可提供堪為營養成分之優越產品。

請注意，無論使用何種製造方法，本發明的磷脂包括至少含磷脂醯膽鹼與磷脂醯絲胺酸之長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，以及至少含花生四烯酸之長鏈多元未飽和脂肪酸。於此類含磷脂醯膽鹼-磷脂醯絲胺酸，並帶有含花生四烯酸之長鏈多元未飽和脂肪酸的磷脂中，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸所佔的比例以 40 重量% 或以上為較佳，且相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸所佔的比例以 20 重量% 或以上為較佳。

再者，本發明的磷脂可包括含 dihom- γ -linolenic 酸作為長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂醯膽鹼，且可另外包括以含

dihomo- γ -linolenic 酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂醯絲胺酸。當此磷脂包括含 dihom- γ -linolenic 酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂醯膽鹼時，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，dihomo- γ -linolenic 酸佔 3 重量% 或以上的比例。當此磷脂另外再包括含 dihom- γ -linolenic 酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂醯絲胺酸，相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，dihomo- γ -linolenic 酸佔 1 重量% 或以上的比例。

磷脂醯膽鹼與磷脂醯絲胺酸在身體中表現不同的行為，而且具有獨特的生理功能。因此，加上含有花生四烯酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸，其於身體中的聯合效果使得本發明的磷脂更適合作為營養成分。再者，再加上含有花生四烯酸和 dihom- γ -linolenic 酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸，這些混合物的性質與功能使得本發明的磷脂再更適合作為營養成分。

花生四烯酸是多元未飽和脂肪酸的一種，其組成血液中或如肝臟的重要器官裡約 10% 的脂肪酸。更具體而言，於人的血液中，磷脂中所含脂肪酸的組成比例為 11% 花生四烯酸，1% eicosapentaenoic 酸，與 3% DHA。花生四烯酸為細胞膜的重要成分，且與調制細胞膜中的流動性有關。花生四烯酸對身體中代謝作用的各種功能已被發現。花生四烯酸也被發現是有作為前列腺素的一種重要的直接先驅物質的功用。

再者，近年來，花生四烯酸作為嬰兒營養品的作用已引起注意。花生四烯酸也是作為內生大麻鹼 (endogenous cannabinoid)，即 2-arachidonoyl monoglycerol，

anandamide)的一種脂肪酸成分的研究主題，其具有刺激神經組織的效果。一般來說，攝取富含亞麻油酸的食物會在體內經由轉換產生花生四烯酸。然而，對於嬰兒，老年人，與一般成人疾病的患者或潛在患者，與花生四烯酸的生物合成有關的酵素催化作用不足，而易於缺乏花生四烯酸。因此，需要直接攝取花生四烯酸。

如同花生四烯酸，dihomo- γ -linolenic 酸也是多元未飽和脂肪酸的一種，其組成血液中或如肝臟的重要器官裡的脂肪酸。於人體和其他有機體中，相對於全部的脂肪酸，dihomo- γ -linolenic 酸的組成比例大約為幾個百分比。再者，如同花生四烯酸，dihomo- γ -linolenic 酸也和調制細胞膜中的流動性有關。dihomo- γ -linolenic 酸對身體中代謝作用的各種功能已被發現。dihomo- γ -linolenic 酸也被發現是有作為前列腺素的一種重要的直接先驅物質的功用。更具體而言，已知前列腺素系列 1 乃從 dihom- γ -linolenic 酸製成。

特別一提，從 dihom- γ -linolenic 酸製成的前列腺素系列 1 的各種作用已成為研究的主題，包括，例如，抑制血小板匯集的作用，血管擴張作用，支氣管擴張作用，消炎作用。一般來說，dihomo- γ -linolenic 酸係轉換自亞麻油酸。然而，如同花生四烯酸，與 dihom- γ -linolenic 酸的生物合成有關的酵素催化活動強度不足時，易導致缺乏 dihom- γ -linolenic 酸。因此，直接攝取 dihom- γ -linolenic 酸有其益處。

如同上面所述，本發明的磷脂至少包括磷脂醯膽鹼和磷脂

鹽絲胺酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂成分，且另外包括至少某一定量的花生四烯酸成分於其磷脂鹽膽鹼和磷脂鹽絲胺酸的組成中。本發明的磷脂因此很適合用作為營養成分。

(II) 本發明的脂質混合物與其製造方法

只要脂質混合物含有本發明的磷脂，對本發明的脂質混合物之組成，狀態，或其他條件無特別限定。對一較佳的組成而言，在作為溶劑的液態脂質中至少溶有作為溶質的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，其中，該液態脂質含長鏈多元未飽和脂肪酸之成分(長鏈多元未飽和脂肪酸脂質)。也就是說，於液態的長鏈多元未飽和脂肪酸脂質中，溶有長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的磷脂溶液皆為本發明的脂質混合物的例子。

<含於磷脂溶液的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之吸收>

在高純度的形式下，磷脂以粉末狀態存在，而且一般來說是非常容易受潮並使品質退化的。(請參閱 Biochemistry Experiment Lecture 3, Science of Lipids, pp. 22-23, Tokyo Kagaku Dojin Co., Ltd. (1974))。因此，為了方便處理，通常將磷脂溶解於少量作為溶劑的液態脂質中(磷脂溶液)。至於作為溶劑的液態脂質，可以適當地使用三酸甘油酯。

由於將長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂製備成磷脂溶液，將可有效地防止長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的品質退化，以方便處理。然而，若是用作為食品，通常無法有效率地攝取長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。具體而言，如【先前技術】一節

中所述，在消化道中的磷脂是以溶血磷脂的形式被吸收，且在小腸內被重組成磷脂。此處，當以磷脂溶液的形式消化磷脂時，從溶血磷脂重組磷脂所產生的醯基將包括衍生自長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的長鏈多元未飽和脂肪酸，與衍生自液態脂質的脂肪酸。

一般用作為液態脂質的三酸甘油酯通常含長鏈多元未飽和脂肪酸成分，但一般情況下，長鏈多元未飽和脂肪酸的濃度低。例如，提供具醯基的脂肪酸也含不同於長鏈多元未飽和脂肪酸的脂肪酸(此後稱「非長鏈多元未飽和脂肪酸」)。

因此，當用作為溶劑的液態脂質只含少量的長鏈多元未飽和脂肪酸時，在從溶血磷脂的磷脂重組中，將使用到大量的非長鏈多元未飽和脂肪酸。其結果是，即使攝取了高品質的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂作為磷脂，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之實際吸收量被大大地減低了。

因此極佳的情況是，該液態脂質為長鏈多元未飽和脂肪酸脂質，如含大量長鏈多元未飽和脂肪酸成分之三酸甘油酯，因為這樣可使長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂被有效率地吸收。緣是，本發明可應用於提供一種脂質混合物，其中長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂係溶解於一液態的長鏈多元未飽和脂肪酸脂質。

<脂質混合物的組成成分>

對用作為該磷脂溶液之溶劑的液態長鏈多元未飽和脂肪酸脂質無特別限定。例如，可使用三酸甘油酯，甘油二酯，單

甘油酯，脂肪酸，和脂肪酸醇酯。再者，於〈本發明的磷脂〉一節中描述的各種長鏈多元未飽和脂肪酸可用作為該長鏈多元未飽和脂肪酸，其係含於長鏈多元未飽和脂肪酸脂質的一種成分。因為該脂肪酸可直接用作為長鏈多元未飽和脂肪酸脂質，故該液態長鏈多元未飽和脂肪酸本身可用作為長鏈多元未飽和脂肪酸脂質。

如後文將描述者，得自本發明的一種製造方法之抽離油或脂肪的步驟，該含三酸甘油酯的油或脂肪可用作為長鏈多元未飽和脂肪酸脂質。因為含有長鏈多元未飽和脂肪酸成分，該得自本發明的一種製造方法之抽離油或脂肪的步驟之油或脂肪，如三酸甘油酯，可適當地使用作為長鏈多元未飽和脂肪酸油或脂肪。

相對於長鏈多元未飽和脂肪酸脂質中全部的脂肪酸，長鏈多元未飽和脂肪酸的比例無特別限定，但以 11 重量%或以上為較佳，更佳者為百分之二十五或以上，再更佳者為百分之二十七或以上。當長鏈多元未飽和脂肪酸含花生四烯酸成分時，相對於長鏈多元未飽和脂肪酸脂質所含全部的脂肪酸，花生四烯酸的比例無特別限定，但以百分之九或以上為較佳，或以百分之二十或以上為更佳。上限無特別限定，但應儘可能地高。

當相對於全部的脂肪酸，長鏈多元未飽和脂肪酸的比例係在這些範圍中，則相對於整體的脂質混合物，全部脂肪酸中長鏈多元未飽和脂肪酸的含量將不會減少，或只稍微減少。換句話來說，在與長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂共存的液態脂質中，可增加長鏈多元未飽和脂肪酸的含量。以此方式，當在小

腸裡被吸收時，大量的長鏈多元未飽和脂肪酸將可於從溶血磷脂重組磷脂時，提供醯基。其果是，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的實際吸收量將不會減少，或只稍微減少。

長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂一般為粉末，且非常容易受潮和品質退化的。然而，以磷脂溶液的形式提供長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，將不需考量這些長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂非常容易受潮和品質退化的特質。再者，由於有此液態形式的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，整體的處理可作進一步改善。

作為用作溶質的磷脂，乃使用本發明的磷脂，亦即得自本發明的一種製造方法的磷脂。然而，在本發明中，亦可包括不同於磷脂的脂溶性物質以為溶質。

此類脂溶性物質的非限定性例子包括：固醇(sterols)，固醇酯，甘油脂，神經鞘脂質，蠟(waxes)，色素，類胡蘿蔔素(carotenoids)，與生育醇(tocopherols)。對於本發明的脂質混合物之預期的使用，將適當地選擇一種脂溶性物質。

可將各種添加物加入本發明的脂質混合物中。添加物的非限定性例子包括：維他命 E，非飽和型生育醇(tocotrienol)，芝麻素(sesamin)，芝麻明酚(sesaminol)，芝麻酚(sesamol)，蝦紅素(astaxanthin)，蝦紅素酯，固醇，與胡蘿蔔素(carotenes)。如上例舉的許多添加物已包括於脂溶性組成物中。然而，加入脂溶性組成物的添加物不必須為脂溶性的。作為一種營養成分，本發明的脂質混合物可用於食品等等。如是，本發明可使用所有可加入食品的添加物。

〈脂質混合物的製造方法〉

該脂質混合物的一種製造方法無特別限定。於本發明中，將得自本發明的磷脂的一種製造方法之磷脂，溶解於液態的長鏈多元未飽和脂肪酸脂質，且可隨意地，將其他成分加入，且使之溶解或散佈。換句話說，本發明的脂質混合物的一種製造方法至少包括萃取磷脂的步驟，且亦包括製備磷脂溶液的製備溶液的步驟，係將得自萃取磷脂的步驟之含磷脂的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，溶解於長鏈多元未飽和脂肪酸脂質。

進一步而言，本發明的脂質混合物中，可適當地使用得自抽離油或脂肪的步驟之油或脂肪，作為該長鏈多元未飽和脂肪酸脂質。緣是，本發明的脂質混合物的一種製造方法可包括一個抽離油或脂肪的步驟。

藉由控制該抽離如三酸甘油酯之油或脂肪的步驟程序，或在該萃取磷脂的步驟中萃取長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的的程序，可更容易地製造本發明的脂質混合物。具體而言，藉由抑制從脂質合成細胞去除（抽離）油或脂肪的程度，可改變保留在所產生的脫脂細胞中的脂質之組成。

去除的程度無特別限定，且萃取的條件係根據各種前提要件適當地選擇，如脂質混合物的組成，脂質合成細胞的種類，或用於從細胞去除油或脂肪的萃取方法。例如，當使用脂肪族的有機溶劑作為萃取劑時，在抽離油或脂肪的步驟中改變如有機溶劑的量，萃取程序的操作次數，與萃取溫度等條件。此方式中，如三酸甘油酯之液態的油或脂肪，可保留於從萃取磷脂的步驟所得之磷脂中。再者，既然保留的液態的油或脂肪是成

分為長鏈多元未飽和脂肪酸的一種長鏈多元未飽和脂肪酸脂質，故可輕易地得到脂質混合物。因此，於本發明，藉由在抽離油或脂肪的步驟中抑制油或脂肪的萃取量，可在萃取磷脂的步驟中，萃取磷脂溶液形式的脂質混合物。換句話說，在本發明的磷脂之一種製造方法中，藉由改變抽離油或脂肪的步驟之條件，可輕易地製造磷脂溶液形式的脂質混合物。

於本發明的脂質混合物中，該兩種主要成分，長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂與長鏈多元未飽和脂肪酸脂質，可以任何比例混合。緣是，只要該脂質混合物可達到為易於處理的改善之磷脂溶液所需的流動性，長鏈多元未飽和脂肪酸脂質的含量無特別限定。

進一步而言，為了調整該主要成分的濃度，本發明的脂質混合物可含不同於得自本發明的一種製造方法中的程序的脂質之脂質，也就是說，長鏈多元未飽和脂肪酸，或得自用作為原料的脂質合成細胞之油或脂肪。此類脂質中，可加入下列任一種：長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂、非長鏈多元未飽和脂肪酸、與長鏈多元未飽和脂肪酸脂質。

請注意，本發明的脂質混合物不僅限於用於易於處理的改善之磷脂溶液，且可使用任何其他成分。再者，將製備成磷脂溶液的脂質混合物溶解，一般是為了長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之易於處理的改善，故可直接將該脂質混合物作為磷脂使用。

(III) 本發明的用途

本發明的用途無特別限定。舉一個具代表性的例子，可將磷脂本發明的脂質混合物用作為供給長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的一種營養成分。使用此營養成分所服務的有機體無特別限定。人類是一個具代表性的例子。其它例子如畜養的動物和實驗動物。此營養成分可以任意的方式攝取，但以口服施用者為最佳。緣是，本發明包括含磷脂或脂質混合物的食用品。

只要含有磷脂或本發明的脂質混合物，本發明的食用品無特別限定。非限定性的例子如下：麵包、各種甜食(包括冷卻或冷凝的甜食)、已調理的食物、奶製品、麥片、豆腐、脫水豆腐、麵食、餐盒、調味料、如小麥麵粉或肉之農產品、保鮮的食品(罐頭食品、冷凍食品、曲頸瓶裝食品等等)、清涼飲料、牛奶飲料、豆奶、如濃湯的湯類、與所有其他的一般食品。用以將磷脂或脂質混合物加入這些一般食品的方法無特別限定，且根據使用的食品的類型，可適當地使用任何傳統的方法。

進一步而言，本發明的食品包括用於特定目的之功能性食品，如健康食品或營養品。具體的例子包括含各種添加劑的保健食品、與特別的健康食品。為了易於處理，本發明的磷脂以製備成磷脂溶液為較佳。然而，在有添加劑的情況，只要直接處理成適當的形式，可以直接使用該磷脂溶液(脂質混合物)。在此情況中，磷脂溶液的形式無特別限定。具體而言，本發明的脂質混合物(或食品)可為液態、粉末、或膠囊的形式(請參見後述之實施例6)。另外可行的是，本發明的脂質混合物可為丸粒或片劑的形式。於使用本發明的磷脂或脂質混合物時，所有如溶解於一般的含油或脂肪的食品，或可應用於一般的油或

脂肪之製成粉末的技術均可利用。

本發明的用途包括利用得自該製造方法的磷脂。緣是，當利用本發明的磷脂或脂質混合物作為添加其它成份的食品等時，利用該磷脂，可將該另外添加的成分變成可溶的脂質體的形式。在此情況中，可使用如含油之水類型之含脂質體的散佈液體，以作為本發明的一種成分。

如上所述，於本發明中，從得自微生物發酵的脂質合成細胞中，可有效率地且穩定地取得長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。傳統上，使用如牛腦的動物器官，作為

長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的主要來源。然而，由於狂牛症之疫病的傳播，已避免使用這些傳統的來源。本發明，相反地，藉由發酵技術以取得長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。就使用者的接受度而言，這是有利的，使本發明在使用磷脂或脂質混合物於一般食品或功能性食品時尤其適合。

本發明的應用領域不僅限於食品，且本發明也適用於醫藥的領域。也就是說，本發明的磷脂或脂質混合物亦可用於藥品。在此情況，本發明不限於一種特殊的應用，且根據意欲的用途，任何傳統的技術皆可使用。

[實施例]

以下將根據實施例更仔細地描述本發明。應注意的是，本發明完全不受限於以下的實施例。在製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 1 到 5 中，所使用的培養基將於以下"培養基的製備"一節中詳細描述。

[培養基的製備]

在製造脫水細胞與脫脂細胞的製造實施例 1 中，使用的種子培養基 A 的組成成分是 1% 酵母萃取物，2% 葡萄糖，其餘的成分為水。該培養基係調整到 pH 值為 6.3。同樣地，使用的種子培養基 B 的組成成分是 1% 酵母萃取物，2% 葡萄糖，0.1% 大豆油，其餘的成分為水。該培養基係調整到 pH 值為 6.3。對於主要的培養基 C，乃將培養基 C-b 加入培養基 C-a。此主要的培養基 C 係於 pH 值 6.1 下製備。製備培養基 C-a 乃將 336 公斤的大豆粉，16.8 公斤 of KH_2PO_4 ，2.8 公斤的 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，2.8 公斤的 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，與 56 公斤大豆油 加入水，並加以攪拌。加水將此溶液調整到最後體積為 4500 公升，然後在 121°C 下消毒 20 分鐘。製備培養基 C-b 乃將 112 公斤的含水葡萄糖加入水中，並攪拌之。另外加水將此溶液調整到最後體積為 1000 公升，隨後在 140°C 下消毒 40 秒。

在製造實施例 2 到 5 中，用以製造脫水細胞和脫脂細胞於的培養基 D 的組成成分為 1.8% 葡萄糖，1.5% 大豆粉，0.1% 大豆油，0.3% KH_2PO_4 ，0.1% Na_2SO_4 ，0.05% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，0.05% $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，其于的成分為水。此培養基 D 將調整到 pH 值為 6.3。

[製造脫水細胞與脫脂細胞的製造實施例 1]

使用 *Mortierella alpina* CBS754.68 為可生成含花生四烯酸之磷脂的細胞中的一種，以作為脂質生成細胞。將於 CBS754.68 保管的品種接芽於種子培養基 A。以 28°C 下 100 rpm 之震動開始種子的培養(第一步驟)，連續進行三天。然後

在體積 50 公升，並以氣曝方式攪拌的培養槽中製備 30 公升的培養基 B。將種子培養物(第一步驟)接芽於培養基 B。以 200 rpm 的頻率攪拌與在 28°C 施加於培養槽中的 150 kPa 壓力，開始種子的培養(第二步驟)，連續進行兩天。

接著，將此種子培養物(第二步驟)接芽於主要的培養基 C，其係於 10000 公升之培養槽中製備，且體積可達 5600 公升。主要的培養於 26°C 的溫度下開始，並使用 49 Nm³/hr 的氣曝體積與 200 kPa 的內部壓力。經過一段足夠長的時間後，將適當地進行培養餵食，其係加入足量的含水葡萄糖。培養餵食中，全部共 1454 公斤的含水葡萄糖分六次加入。因此主要的培養將持續進行 306 小時。

在主要的培養之後，將細胞培養基在 120°C 下消毒 20 分鐘，然後用連續式除水裝置從培養基收集濕細胞。利用流動層振動乾燥機將濕細胞脫水，以取得含水比例最高只達 1 重量%的脫水細胞。用氣動輸送機將脫水細胞輸送至裝填位置，與氮氣一同填裝入體積為 1 立方公尺的填裝袋，其係一鋁製的填裝袋，其開口將於填裝之後以熱封閉，然後儲存於溫度在 10°C 或更低的冰箱裏。

將三公升的己烷加進一公斤取自填裝袋的脫水細胞。在室溫下緩緩攪拌此混合物 15 小時後，以過濾方式將己烷層去除。從所得的脫水細胞中，用氣曝法將剩餘的己烷去除，以取得脫脂細胞 A-1。再將 3 公升的己烷加入脫脂細胞 A-1 中。於室溫下輕輕攪拌三小時後，與隨後如同前述的操作之後，將得到脫脂細胞 A-2。

於第二次使用己烷的萃取程序後，將 3 公升的己烷再加入脫脂細胞 A-2 中。於室溫下輕輕攪拌三小時後，與隨後如同前述的操作之後，將得到脫脂細胞 A-3。再一次，將 3 公升的己烷加入脫脂細胞 A-3 中。於室溫下輕輕攪拌三小時後，與隨後如同前述的操作之後，將得到脫脂細胞 A-4。

在四次用己烷的萃取程序中，在所有收集到的己烷層中的萃取出脂質幾乎全是三酸甘油酯。在這些層裡未發現磷脂。
[製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 2]

於體積 10 公升的氣曝式振動培養槽中，製備五公升主要的培養基 D，然後消毒。使用 *Mortierella polycephala* IFO 6335，係一種可產生生成花生四烯酸之絲狀菌的絲狀菌類，將其接芽且於 26°C 下培養，同時施以氣曝體積為 1vvm 之氣曝，並以 300 rpm 之頻率攪拌。連續進行此培養 9 天。視葡萄糖的消耗而定，適當地加入 1% 的葡萄糖。以如同實施例 1 的方式消毒所培養的細胞，並於去除培養基後使之脫水，以得取脫水細胞。

在 40 公克的脫水細胞中，加入 120 毫升的己烷。在室溫下緩緩攪拌此混合物 3 小時後，以過濾方式去除己烷層。然後，再次將 120 毫升的己烷加入所得到的細胞中。在室溫下緩緩攪拌 15 小時後，以過濾方式去除己烷層。從萃取出己烷所得的脫水細胞中，以氣曝法將剩餘的己烷去除，從而取得脫脂細胞 B。

在用己烷萃取的程序中收集的己烷層裡，萃取出脂質幾乎完全是三酸甘油酯。在這些層中沒有發現磷脂。

[製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 3]

除了選用 *Mortierella elongata* SAM1860 (International Deposit No. FERMBP-3589 based on Budapest Treaty)，一種產生 dihom- γ -linolenic 酸 (dihom- γ -linolenic 酸)的絲狀菌，來接芽作為脂質生成細胞之外，執行如同製造實施例 3 中同樣的程序以取得脫脂細胞 C。

於用己烷萃取的步驟收集的己烷層中，萃取出的脂質幾乎全是三酸甘油酯。在這些層裡未發現磷脂。

[製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 4]

除了選用 *Mortierella alpina* SAM2086 (International Deposit No. FERMBP-15766 based on Budapest Treaty)，產生 mead 酸的絲狀菌，來接芽作為脂質生成細胞之外，執行如同製造實施例 2 中同樣的程序以取得脫脂細胞 D。

於用己烷萃取的步驟收集的己烷層中，萃取出的脂質幾乎全是三酸甘油酯。在這些層裡未發現磷脂。

[製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 5]

除了選用 *Echinosporangium transversalis* ATCC16960，產生花生四烯酸的絲狀菌，來接芽作為脂質生成細胞之外，執行如同製造實施例 2 中同樣的程序以取得脫脂細胞 E。

於用己烷萃取的步驟收集的己烷層中，萃取出的脂質幾乎全是三酸甘油酯。在這些層裡未發現磷脂。

[製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 6]

除了培養時間長為 6 天之外，執行如同製造實施例 2 中同樣的程序以取得脫水細胞 *Mortierella polycephala*

IF06335。此外，除了取脫水細胞為 20 公克且己烷體積為 60 毫升之外，執行如同製造實施例 2 中同樣的程序以取得脫脂細胞 F，*Mortierella polycephala* IF06335。

於用己烷萃取的步驟收集的己烷層中，萃取出的脂質幾乎全是三酸甘油酯。在這些層裡未發現磷脂。

[製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 7]

除了培養時間長為 6 天之外，執行如同製造實施例 5 中同樣的程序以取得脫水細胞 *Echinosporangium transversalis* ATCC16960。此外，除了取脫水細胞為 20 公克且己烷體積為 60 毫升之外，執行如同製造實施例 2 中同樣的程序以取得脫脂細胞 G，*Echinosporangium transversalis* ATCC16960。

於用己烷萃取的步驟收集的己烷層中，萃取出的脂質幾乎全是三酸甘油酯。在這些層裡未發現磷脂。

[實施例 1：從脫脂細胞 A-2 萃取含花生四烯酸之磷脂]

將作為萃取媒介的 25 毫升之各種有機溶劑加入一公克的脫脂細胞 A-2，其係於製造脫水細胞和脫脂細胞的製造實施例 1 中取得。在 60°C 下輕輕攪拌此混合物一小時。使用己烷，己烷和乙醇的混合溶劑(a 到 e)，乙醇，氯仿或甲醇的混合溶劑作為萃取媒介。這些萃取媒介的組成(混合的體積比)如表 1 所示。

[表 1]

萃取劑	組成比例(混合體積比)
己烷	己烷:乙醇 = 6:0
己烷與乙醇的混合溶劑(a)	己烷:乙醇 = 4:1

己烷與乙醇的混合溶劑(b)	己烷:乙醇 = 4:2
己烷與乙醇的混合溶劑(c)	己烷:乙醇 = 3:3
己烷與乙醇的混合溶劑(d)	己烷:乙醇 = 2:4
己烷與乙醇的混合溶劑(e)	己烷:乙醇 = 1:4
乙醇	己烷:乙醇 = 0:6
氯仿與甲醇的混合溶劑	氯仿:甲醇 = 2:1

每一個實例中，於有機溶劑層過濾、收集之後，隨即將有機溶劑去除，以取得原料磷脂部份。利用矽膠凝體進行層析，將所得的磷脂成分分離成三酸甘油酯和磷脂。使用混合比為 7:3 的己烷與乙醚的混合溶劑為沖洗溶劑。兩種成分均被清除後，利用甲醇溴化氫物的方法使該成分衍生成甲酯，以對脂肪酸定性與定量的分析。利用 pentadecanoic 酸做為內部參照。對脂肪酸定性與定量的分析結果呈現於表 2。

[表 2]

萃取劑	組成比例(混合體積比)
己烷	己烷:乙醇 = 6:0
己烷與乙醇的混合溶劑(a)	己烷:乙醇 = 4:1
己烷與乙醇的混合溶劑(b)	己烷:乙醇 = 4:2
己烷與乙醇的混合溶劑(c)	己烷:乙醇 = 3:3
己烷與乙醇的混合溶劑(d)	己烷:乙醇 = 2:4
己烷與乙醇的混合溶劑(e)	己烷:乙醇 = 1:4
乙醇	己烷:乙醇 = 0:6
氯仿與甲醇的混合溶劑	氯仿:甲醇 = 2:1

在只用己烷作為萃取媒介的實例裡，磷脂未被萃取出。相反地，在其他實例裡，則萃取出有顯著的量的磷脂。此外，不少於此磷脂中全部的脂肪酸之 40% 是長鏈多元未飽和脂肪酸，如花生四烯酸或 dihomo- γ -linolenic 酸。相反地，其中沒有

發現 Eicosapentaenoic 酸。

[實施例 2：從脫脂細胞 A-1 到 A-4 萃取含花生四烯酸之磷脂]

將一公升己烷與乙醇的混合溶劑(混合的體積比為 1:1)加入 200 公克 A-1 到 A-4 的脫脂細胞，其係得自製造脫水細胞與脫脂細胞的製造實施例 1。於 60°C 下輕輕攪拌此混合物 90 分鐘。經過濾去除溶劑層厚，重複同樣的操作兩次。然後將所有的有機溶劑層收集並去除，以取得原料脂質部份。利用矽膠凝體薄膜層析法，將所得的脂質部分分離成三酸甘油酯與磷脂，如同實施例 1，以對脂肪酸進行定性的與定量的分析。該定性的與定量分析的結果係如表 3。表 3 中的重量係指每一公克脫脂細胞的含量。

[表 3] (花生四烯酸=花生四烯酸)

脫脂細胞	分離的部分	萃取的脂肪酸之脂質(毫克)	各部分裡全部脂肪酸中的長鏈多元未飽和脂肪酸含量(%)			萃取的脂質中所含之長鏈多元未飽和脂肪酸(毫克)		
			花生四烯酸	diho mo- γ-1 inol enic 酸	全部	花生四烯酸	diho mo- γ-1 inol enic 酸	全部
A-1	磷脂	22.4	42.5	2.5	45.0	9.52	0.56	10.1
	三酸甘油酯	98.3	42.0	2.5	44.5	41.3	2.46	43.8
A-2	磷脂	23.0	42.5	2.6	45.1	9.78	0.60	10.4

	三酸甘油酯	46.2	42.0	2.5	44.5	19.4	1.16	20.6
A-3	磷脂	23.0	42.5	2.6	45.1	9.78	0.60	10.4
	三酸甘油酯	26.8	41.8	2.5	44.3	11.2	0.67	11.9
A-4	磷脂	22.8	42.4	2.6	45.0	9.67	0.59	10.3
	三酸甘油酯	19.7	40.9	2.5	43.4	8.06	0.49	8.55

將從脫脂細胞 A-2 所得的原料磷脂部份溶解於 4°C 的冷卻丙酮中，將不可溶的丙酮成分收集兩次，以取得純化的磷脂部份。此純化的磷脂部份不含中性脂質。此外，三酸甘油酯與 dihom- γ -linolenic 酸分別佔全部的脂肪酸之 43.4% 與 2.6%。

進一步利用矽膠凝體層析法，將該純化的磷脂部份分離成磷脂醯膽鹼，磷脂醯乙醇胺，磷脂醯絲胺酸，磷脂醯肌醇與甘油脂，然後對脂肪酸進行定性和定量的分析。使用混合比例為 100:75:7:4 之氯仿，甲醇，乙酸和水的混合溶劑為沖洗溶劑。所得的純化的磷脂之組成如表 4 所示。

[表 4]

分離的部份	在脂肪酸中的重量比 (%)	各部分裡全部脂肪酸中的長鏈多元未飽和脂肪酸含量(%)	
		花生四烯酸	dihomo- γ -linolenic 酸
磷脂醯膽鹼	58.9	53.7	3.1
磷脂醯乙醇胺	25.1	33.9	1.7
磷脂醯絲胺	3.1	23.5	1.4

酸			
磷脂醯肌醇	5.4	22.2	3.3
甘油脂	7.5	18.3	1.4

[實施例 3: 從脫脂細胞 B 到 E 萃取含多元未飽和脂肪酸之磷脂]

將 25 毫升的己烷與乙醇的混合溶劑(混合的體積比為 1:1)分別加入 5 公克的 B 到 E 脫脂細胞，其係得自製造脫水細胞與脫脂細胞的製造實施例 2 到 5。在 60°C 下輕輕攪拌此混合物 90 分鐘。在有機溶劑層濾除之後，重複同樣的操作兩次。然後將所有的有機溶劑層收集並去除，以取得原料磷脂部份。如同實施例 1，利用矽膠凝體進行層析，將所得的磷脂分離成三酸甘油酯和磷脂，以進行對脂肪酸的定性與定量分析。定性與定量的分析結果呈現於表 5。表 5 中的重量係指每 1 公克脫脂細胞中的含量。

[表 5]

脫脂細胞	分離的部份	萃取出 的脂肪酸 脂質 (毫克)	各部分裡全部脂肪酸中的長鏈多元未飽和脂肪酸含量(%)				萃取出 的脂質 中含長 鏈多元 未飽和 脂肪酸 (毫克)
			花生 四烯 酸	dihomo- γ - linolenic 酸	Mead 酸	全部 鏈元 飽和 脂質 和 脂肪酸	
B	磷脂	20.0	20.2	2.3	0.0	22.5	4.50

	三酸甘油酯	50.2	9.6	1.9	0.0	11.5	5.77
C	磷脂	22.2	0.3	45.6	0.0	45.9	10.2
	三酸甘油酯	43.0	0.0	35.7	0.0	35.7	15.4
D	磷脂	22.3	0.0	0.0	31.1	31.1	6.94
	三酸甘油酯	42.0	0.0	0.0	25.8	25.8	10.8
E	磷脂	21.5	34.7	3.1	0.0	37.8	8.13
	三酸甘油酯	42.5	20.0	2.5	0.0	22.5	9.56

[實施例 4：純化長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之製造]

將 50 毫升的己烷與乙醇的混合溶劑(混合的體積比為 1:1)分別加入 10 公克的 F 到 G 脫脂細胞，其係得自製造脫水細胞與脫脂細胞的製造實施例 6 到 7。在 60°C 下輕輕攪拌此混合物 90 分鐘。在有機溶劑層濾除之後，進一步重複同樣的操作兩次。然後將所有的有機溶劑層收集並去除，以取得原料磷脂部份。如同實施例 1，利用矽膠凝體進行層析，將所得的磷脂分離成三酸甘油酯和磷脂，以進行對脂肪酸的定性與定量分析。定性與定量的分析結果呈現於表 5。表 5 中的重量係指每 1 公克脫脂細胞中的含量。於 4°C 下，將所得的原料磷脂部分溶解於冷卻的丙酮中，且將不溶的丙酮成分收集兩次，以取得純化脂質部分。該純化脂質部分不含中性磷脂。利用矽膠凝體進行層析，將該純化脂質部分分離成磷脂醯膽鹼，磷脂醯乙醇胺，磷脂醯絲胺酸，磷脂醯肌醇，和甘油酯，然後對脂肪酸進行定

性與定量分析。使用氯仿，甲醇，乙酸，和水的混合溶劑作為沖洗溶劑，其混合比例係為 100:75:7:4。

得自脫脂細胞 F 的純化磷脂之組成呈現於表 6，得自脫脂細胞 G 的純化磷脂之組成呈現於表 7。

[表 6]

分離的部份	在脂肪酸中的重量比 (%)	各部分裡全部脂肪酸中的長鏈多元未飽和脂肪酸含量(%)	
		花生四烯酸	dihomo- γ -linolenic 酸
磷脂醯膽鹼	56.2	30.0	3.1
磷脂醯乙醇胺	28.5	15.8	2.2
磷脂醯絲胺酸	10.2	15.6	1.1
磷脂醯肌醇	4.4	11.6	1.9
甘油酯	0.7	8.5	1.3

[表 7]

分離的部份	在脂肪酸中的重量比 (%)	各部分裡全部脂肪酸中的長鏈多元未飽和脂肪酸含量(%)	
		花生四烯酸	dihomo- γ -linolenic 酸
磷脂醯膽鹼	60.2	17.9	2.1
磷脂醯乙醇胺	23.1	10.0	1.7
磷脂醯絲胺酸	12.2	8.8	1.0
磷脂醯肌醇	3.2	9.5	0.9
甘油酯	1.3	8.5	1.1

[實施例 5:含長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂的封裝]

以 100:35 之比例製備凝膠(Nitta 凝膠 Inc.)和食品添加劑甘油 (Kao Corporation)，並將水加入其中。於 50°C 與 60°C 之間的溫度下將此溶液溶解，以製備出黏滯係數為 2,000 cp 的凝膠塗層。

其次，以 100:0.05 之重量比，將於實施例 2 中取自脫脂細胞 A-2 的原料磷脂部分與維他命 E 油(Eisai Co., Ltd.)混合，以製備產物 1。

亦以 50:50:50:0.05 之重量比，將於實施例 2 中取自脫脂細胞 A-2 的原料磷脂部分，與萃取自鮭魚蛋之純化脂質(全部脂肪酸中 DHA 的比例為 25%)，大豆油(SHOWASANGYO Co., Ltd.)和維他命 E 油(Eisai Co., Ltd.)混合，以製備產物 2。

使用產物 1 與產物 2，根據習知的方法進行封裝與脫水，以製造每一顆粒含 180 毫克產物的軟膠囊。任一種軟膠囊均適合口服攝取。

[實施例 6:製備具有含長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂的飲料]

利用混合-散佈儀器(the Mtechnique product, CLEARMIX)，在溫度為 60°C 的水中，將於實施例 2 中取自脫脂細胞 A-2 的原料磷脂部分攪拌 5 至 30 分鐘。結果是，取得了均勻地散佈於水中的散佈脂質體。含散佈脂質體的溶液中磷脂的濃度係為從 0.1% 到 20%，而且可自由地控制。

含散佈脂質體的溶液中脂質體的平均顆粒直徑係為從大約 50 nm 至大約 100 nm。各別以 1/100 的體積比，將含 10%磷

脂的具有散佈脂質體的溶液加進柳橙汁，蘇打水，咖啡，牛奶，大豆奶，和濃湯中，以製備(生產)本發明中作為食用品的飲料。這些飲料係適合口服攝取。

由上述之本發明明顯可見，同樣的方式可以許多作法加以變化。如此的變化不應視為背離本發明的精神和範圍，且如熟悉此項技術者所易見，所有此類修改係被預期包括於以下的申請專利範圍對應的範疇中。

產業利用性

於本發明的磷脂的一種製造方法中，磷脂乃萃取自脫脂細胞，其係從脂質合成細胞抽離主要成分為三酸甘油酯的油或脂肪所得，以有效率地製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。該脂質合成細胞可以大規模製造來培養，故可有效率地使用作為供給來源。

傳統上，只從有限的來源獲取少量的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，也因此使長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂的供給與品質不穩定。然而，由於本發明，可以穩定地供應大量的，且高品質的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。因為如狂牛症之各種疫病的傳播，使用如牛腦之動物器官實際上已經不可行。因此，如本發明所為，保障可安全使用的長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之穩定供應來源是很有意義的。

脫脂細胞係為從細胞抽離如三酸甘油酯的油或脂肪之步驟中的副產品。傳統上，脫脂細胞將被視為廢料棄置，或者頂多是當作動物飼料使用，如同一般微生物發酵的殘渣。與此相

反地，本發明將脫脂細胞用作為長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之實用的供應來源。因此，除了有效率地利用「廢棄的」脫脂細胞之外，本發明亦使長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂得以相對的低成本來製造。

若以用液態的長鏈多元未飽和脂肪酸脂質作為溶劑的溶液(脂質混合物)來供應，將易於處理本發明的磷脂。另一種可行方式是，可將該磷脂直接用於食品中，以達長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂之有效率的攝取。當該液態的長鏈多元未飽和脂肪酸脂質為如三酸甘油酯之油或脂肪，特別是得自該抽離油或脂肪的步驟者，將可有效率地獲取高品質的脂質混合物。

因此，本發明使長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂可既有效率又穩定地被製造，因此可以低成本供應長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂，同時保障穩定的供給和品質。如上所述，本發明以發酵技術有效率且穩定地製造長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂。因此本發明不只可應用於涉及功能性食品之工業，亦可應用於涉及一般的食品，與甚至是藥品的工業。

【圖式簡單說明】

無

【主要元件符號說明】

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫；惟已有申請案號者請填寫)

※ 申請案號：100144365

※ 申請日期：94.7.1

原申請案號：094106111

※IPC 分類：

A23J 7/00 (2006.01)

A23L 1/00 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

C07F 9/24 (2006.01)

C07C 69/58 (2006.01)

A61K 31/202 (2006.01)

含長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的製造方法及此類磷脂的用途
PRODUCING METHOD OF PHOSPHOLIPIDS INCLUDING LONG-CHAIN
POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AS CONSTITUENTS, AND USE OF
SUCH PHOSPHOLIPIDS

A23P 9/00 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明提供有效率且穩定地製造含長鏈多元未飽和脂肪酸之磷脂的一種方法。具體而言，本發明提供製造含有長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂的一種方法，其中，利用可產生含長鏈多元未飽和脂肪酸之脂質的脂質合成細胞為原料，此方法係包括從脫脂細胞萃取磷脂的一個萃取磷脂的步驟，該脫脂細胞乃自脂質合成細胞抽離含三酸甘油酯的油或脂肪而得。

三、英文發明摘要：

The present invention provides a method of efficiently and stably producing LCPUFA-PL. Specifically, the invention provides a method for producing phospholipids that contain LCPUFA as a constituent (LCPUFA-PL), wherein lipid producing cells producing lipids that contain long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) are used as a starting

material, the method including a PL extracting step of extracting phospholipids (PL) from defatted cells obtained by extracting triglyceride (TG)-containing oil or fat from the lipid producing cells.

七、申請專利範圍：

1. 一種含長鏈多元未飽和脂肪酸成分之磷脂(長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂)，其中，該長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂至少含磷脂醯膽鹼與磷脂醯絲胺酸，且該長鏈多元未飽和脂肪酸至少含花生四烯酸，且其中，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸的含有率為 40 重量%以上，相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，花生四烯酸的含有率為 20 重量%以上。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之磷脂，其中，該長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂含磷脂醯膽鹼，係至少含次亞麻油酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸成分，且其中，相對於全部磷脂醯膽鹼中所含全部的脂肪酸成分，該次亞麻油酸的含有率為 3 重量%以上。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述之磷脂，其中，該長鏈多元未飽和脂肪酸-磷脂含磷脂醯絲胺酸，係至少含次亞麻油酸為其長鏈多元未飽和脂肪酸成分，且其中，相對於全部磷脂醯絲胺酸中所含全部的脂肪酸成分，該次亞麻油酸的含有率為 1 重量%以上。

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（無）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。