BCRC News

研發成果

ISSN1021-7932



食品工業發展研究所

103

生物資源保存及研究簡訊

中華民國 104 年 9 月發行

補助單位:經濟部技術處/執行單位:財團法人食品工業發展研究所

本期内容

研發成果 -1

- ◎生資中心專利成果產出及運 用模式之簡介
- ◎ 專利應用案例 -- 細胞冷凍 管封膜機
- ◎ 專利應用案例 -- 白藜蘆醇生 產與開發
- ◎ 專利應用案例 -- 多重機能性 發酵綠豆製品之開發
- ◎ 專利應用案例 -- 耐熱性及高 醋酸牛產菌之開發

生資中心專利成果產出及運用模式之簡介

牛資中心/管理師 呂文鈴

食品所生資中心於1982年 成立,原名「菌種保存及研究中 心」,後於2001年改名為「生 物資源保存及研究中心」,簡稱 生資中心。本中心自成立以來除 持續保有如國外生物資源中心屬 性,執行有關多樣性生物及遺傳 資源與資訊之收集、保存與提供 等核心業務外,有別於世界上其 他生物資源中心之定位, 本中心 不斷致力於生物資源研發應用以 及業界相關技術開發,透過爭取 一定比例政府研發經費補助,進 行生物資源產業化標的和關鍵技 術之研究與開發,歷年來累積不 少研發成果之智慧財產,其中部 分成果也已獲得多國專利保護。

本中心研發成果申請之專利 主要為執行政府相關科技專案計 書產出,再者因應業者需求,接 受委託研究工作等也會產出相關 專利成果。依據專利成果產出涉 及之貢獻度來源和技術成熟度, 本中心專利成果可歸納為以下幾 種類型:

1. 生資中心獨自研發成果申請專

本中心大部分專利為執行 政府相關科技專案計畫產出之成 果,依據政府各部會科學技術研 發成果歸屬及應用辦法等相關規 定,本中心執行前述專案計畫產 出之專利原則上已下授食品所進 行管理和應用,專利申請時專利 權人即為財團法人食品工業發展 研究所,專案計畫產出相關專利 主要著重於平台技術或機能性生 物材料之開發,後續則規劃透過 專利授權或讓與方式提供予業者 使用。

2. 生資中心和業者共同研發成果 申請專利

除上述自主研發計畫產出以 食品所為專利權人之專利以外, 本中心透過接受業者委託研究業 務,或者業者基於本中心技術移 轉或專利授權內容進一步研發產 出之後續研發成果,依照雙方對 於該後續研發成果具體貢獻事實 以及合約約定,則有機會產出專 利權人為該業者和食品所並列之 衍生專利。前述衍生專利可透過 專屬授權予該業者,或於該業者 同意下授權予其他業者等方式使 用。

3. 生資中心研發成果提出臨時專 利案申請,後續由承接者完成 正式專利案申請

本中心早期研發成果申請專 利時,多以當時獲得之階段性實 驗結果或初步驗證功效為訴求提 出各國專利案之申請。惟近年來

考量針對部分研發成果的進一步 開發或改良非本中心專長領域, 再者一研發成果對於未來潛在合 作對象或業者其技術開發或商業 策略上是否適當以專利方式進行 保護等議題,因此促使本中心開 始思考針對前沭熊樣之研發成果 以美國臨時案方式提出申請,同 時開始極力推廣尋求潛力業者承 接該美國臨時案成果, 由該承接 者之角度及需求來決定該研發成 果後續專利佈局策略或應改以營 業秘密等其他方式保護。一方面 可避免本中心過早將初步成果進 行專利申請以致保護範圍不大目 形成衍生專利之申請障礙,另一 方面也可更貼合該研發成果未來 產業上實施和應用之面相。

不論上述由生資中心獨自研發申請、與業者共同申請之專利或美國臨時專利案,本中心皆希望透過專利授權或專利讓與方式提供予合作對象或業者使用,前者專利授權方式又可簡單分為專屬授權和非專屬授權,後者專利讓與則是專利權賣斷。針對前述各種專利權使用態樣,以及該專利權產出計畫來源不同,本中心規劃有不同辦理程序。以經濟部

委辦計畫產出之專利權為例,相 關程序簡述如下。

1. 專屬授權

依據「經濟部科學技術研究 發展成果歸屬及運用辦法」規定, 本中心執行經濟部科技專案產出 之專利權若要以專屬授權方式運 用,應以供我國研究機構或企業 在我國管轄區域內製造或使用為 優先。業者如有意願就本中心專 利提出專屬授權之需求,須提供 「技術運用構想暨營運規劃書」 供本所進行授權條件評估,彼此 就授權條件達成初步共識後,提 送食品所內部進行審查,同時食 品所也將就該專利權對外進行專 屬授權公告,如無其他單位有意 承接,即可進行簽約完成授權。

2. 非專屬授權

業者如有意願就本中心專利提出非專屬授權之需求,可透過本中心研發同仁或食品所技術移轉聯絡窗口等管道提出需求內容,供本所進行授權條件評估,彼此就授權條件達成初步共識後,提送食品所內部進行審查。惟依據「經濟部科學技術研究發展成果歸屬及運用辦法」規定,業者如擬要求進行專利授權之區

域屬大陸地區、香港、澳門,或 屬經濟部公告有影響我國產業技 術競爭優勢之虞者,相關專利授 權事宜則要另報經濟部核准後, 才可進行簽約完成授權。

3. 專利讓與

依據「經濟部科學技術研究 發展成果歸屬及運用辦法」規定, 本中心執行經濟部科技專案產出 之專利權其運用方式除上述授權 外,尚包括專利權之讓與。本中 心針對公告後達三年以上,經食 品所評估不具有運用價值之專利 權會不定期發布讓與公告,相關 讓與也應送經濟部核准後始得進 行讓與。

生資中心一直以來以「探索 生物資源,創造產業價值」為願 景,本中心除具有生物材料保存 和提供等能力,也同時具備自主 研發之充沛能量,並與國內相關 食品和生技等業者維持緊密的合 作關係,此也是本中心與世界上 其他生物資源中心最大的差別。 本中心持續透過研發成果專利權 等智慧財產產出與運用等方式, 期達到與國內食品生技產業共創 未來榮景之目標。

目前生資中心擁有之專利組合如下:

專利組合代號	2	專 利 名 稱	獲證國別
A-01 中式食品			
A-01-01. 臭豆腐	092	用於製造生臭豆腐之菌群及滷水組合物及製造生臭豆腐之方法	大陸、香港、新加坡、 中華民國、美國
	115	一種偵測製備臭豆腐之臭滷水最佳發酵程度之方法	新加坡、中華民國
A-03 微生物保健配料			
	097	以 Rhizopus zygosporus 及 Actinomucor taiwanensis 生產幾丁 聚醣或幾丁質之方法	大陸、歐洲、中華民國、 美國、香港、日本
A-03-01. 幾丁質/幾丁	118	使用幾丁質物質以抑制細胞產生一氧化氮	中華民國、美國、日本
聚醣	125	Chitosans	美國、大陸、香港、歐 洲、日本、中華民國
	180	於水相中製備幾丁聚醣奈米顆粒之方法	大陸
	116	樟芝 (Antrodia camphorata) 分離株用以製造該分離株之培養物的方法以及藉由該方法所得之產物	中華民國、大陸、美國、 日本
A-03-06. 樟芝萃取物	139	用以製造具有藥理活性之樟芝培養物的方法、用以從樟芝培養物獲得一具有藥理活性之組成物的方法、由該等方法所獲 得之產物以及用以治療癌症或腫瘤疾病的藥學組成物	中華民國、大陸、美國、 日本香港

專 利 組 合 代 號		專 利 名 稱	 獲 證 國 別
A-03-07. 茄紅素	126	代謝控制的工程化	大陸、美國、歐洲、中
A-03-08. 醋酸	111	 耐熱性及高醋酸生產性醋酸桿菌	華民國、日本 中華民國、美國
A-03-09. 丁四醇	104	製造丁四醇之酵母菌菌種	中華民國、美國、大陸、 香港、歐洲、日本
A-03-10. 苯丙胺酸	128 074	生產丁四醇之莫尼里業拉屬 (Moniliella) 突變株 生產苯丙胺酸之菌株及其用於發酵製備苯丙胺酸之方法	中華民國、美國、大陸 中華民國
71 05 10. 平下加及时	079	改進苯丙胺酸產率之發酵方法 耐酸、耐膽汁及耐氧之雙歧桿菌菌株及其培養方法	中華民國、美國、日本中華民國、美國、日本
A-03-12. 腸道益菌	141	具有降低與同化膽固醇能力的新穎與耐酸與耐膽鹽乳桿菌 (Lactobicillus) 分離株	澳洲、大陸、紐西蘭、 中華民國、歐洲、香港、 日本、韓國、美國
	190	生產胞外多醣的方法以及一新穎的乳酸小球菌分離株	中華民國、日本
	138	紅麴菌突變株及其於製備具降血壓活性發酵產物之用途	中華民國、美國、日本、 大陸、香港
A-03-13. 紅麴萃取物 / 化合物	186	氮雜芬酮 (AZAPHILONE) 化合物於調節核荷爾蒙受體活性之用途	中華民國、美國
	205	新穎吡啶生物鹼、其製備方法及該等吡啶生物鹼之用途 新穎紫紅麴酮、其製備方法及紫紅麴酮之應用	中華民國、日本、大陸 中華民國、大陸
	231	具細胞毒性之化合物、組合物以及其製備方法與用途	中華民國
A-03-14. 麩胱甘肽、 γ- 麩胺醯半胱胺酸	143	用於高產麩胱甘肽與 γ- 麩胺醯半胱胺酸之麵包酵母菌株及 其應用方法	中華民國、美國、日本、 大陸
A-03-15. Monacolin K	152	膽固醇合成抑制劑 Monacolin K 生合成相關基因	中華民國、法國、韓國、 美國、德國
A-03-20. 胞外多醣	190	生產胞外多醣的方法以及一新穎的乳酸小球菌分離株	中華民國、日本
	194	生產微生物纖維素體的生物反應器及方法	中華民國、美國、日本、 大陸
A-03-21. 細菌纖維素	200	製造具有調控的孔隙大小的細菌纖維素的方法及其於創傷敷材的用途	中華民國
	223	內部包埋有膠球之細菌纖維素複合材及其製備方法 微生物纖維素生產裝置	中華民國、美國 中華民國、大陸
A-03-26. 白藜蘆醇	238	以微生物轉化生產白藜蘆醇 (resveratrol) 的方法	中華民國
A-04 酵素			
A-04-01. 轉穀氨醯胺酵	122	Transglutaminase gene of <i>Streptoverticillium ladakanum</i> and the transglutaminase encoded therefrom	中華民國、美國、大陸、香港
素	145	編碼轉穀氨醯胺酵素之 DNA 分子、轉穀氨醯胺酵素、含有 該序列之表現載體以及含有該表現載體之細胞	中華民國、美國
A-04-02. 植酸酶	086	植酸酶生產菌、植酸酶及植酸酶之生產方法	中華民國、美國
A-04-03. Isoamylase A-04-04. 脯胺酸寡胜肽	059	生澱粉吸附溶析法回收及純化澱粉枝切酵素 具有碎葉鬼傘脯胺酸寡胜肽酶活性之蛋白質、編碼該蛋白質	中華民國、美國
酶 网络多种	179	之核酸序列、生產該蛋白質之方法及其應用	中華民國、美國
A-04-05.β- 洋菜酶	184	分離自洋菜分解海洋單胞菌 (Thalassomonas agarivorans) 之 β-洋菜酶、其製備方法及其用途	中華民國、美國
A-04-06. 脂肪酶 A-06 飲料	213	新穎脂肪酶與伴護子	中華民國
A-06-01. 紅茶菇飲料	076	生產紅茶菇飲料之菌株及其用於發酵製備紅茶菇飲料之方法	中華民國、日本
A-06-05. 甜酒釀 B-06 降低食物嘌呤技術	093	含甜味之酒精性食品之製造方法	中華民國
B-06-01. 降低嘌呤	179	用於生產具有一被降低的嘌呤化合物含量的食品產品之方法	中華民國、美國、日本、 大陸
C-03 其他設備			
C-03-01. 發酵槽	129	深層式發酵裝置	中華民國、日本、大陸
C-03-02. 封管機	155	冷凍管封膜機	中華民國、美國、日本、 大陸、澳洲、韓國、英 國、新加坡
C-03-06. 培養設備	198	微生物培養設備	中華民國
C-03-07. 細菌纖維素生	194	生產微生物纖維素體的生物反應器及方法	中華民國、美國、日本、大陸
產設備 D.01 克克拉美	236	微生物纖維素生產裝置	中華民國、大陸
D-01 真菌培養			

專利組合代號	į	專 利 名 稱	獲證國別				
D-01-01. 培養方法	114	利用固態營養基質懸浮液培養絲狀真菌的方法	中華民國、美國、日本、大陸				
D-01-02. 培養設備	198	微生物培養設備	中華民國				
D-02 飼料		I MALL IV. II SCHAVIII					
D-02-01. 植酸酶	086	植酸酶生產菌、植酸酶及植酸酶之生產方法	中華民國、美國				
D-03 色素							
D-03-01. 黃色素	114	利用固態營養基質懸浮液培養絲狀真菌的方法	中華民國、大陸、美國、日本				
	124	紅麴菌突變株及其製備黃色素之用途	中華民國、美國、日本				
D-04 生物防治							
D-04-01. 抗線蟲	113	線蟲寄生真菌	中華民國、大陸、美國、日本、加拿大、歐洲、				
7 3.17 2.2.			韓國				
D-04-02. 抗真菌	167	抗真菌蛋白與其應用	中華民國、大陸、香港、美國、日本				
D-05 幹細胞							
D-05-01. 多功能體細胞	142	多功能體細胞	中華民國、大陸、美國、日本、歐洲、、韓國、 紐西蘭、澳洲、加拿大、新加坡				
D-05-02. 無血清、無基 質培養基	154	無基質、無血清、且化學組成一定之培養基,以及使用該培 養基於體外擴增造血幹細胞之方法	美國				
D-05-03. 培養切割器	204	細胞繼代培養切割器	中華民國				
D-06 生物工程			1 / 2 / 12 / 12				
D-06-01. 代謝控制	126	代謝控制工程	中華民國、大陸、香港、 日本、美國、歐洲				
D-06-02. 基因調控	149	啟動子與其應用	中華民國、大陸、美國、韓國				
2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	156	反轉錄轉座子以及其應用	中華民國、美國				
D-06-03. 環境工程	171	可降解聚酯的耐高溫馬杜拉放線菌株	中華民國、美國				
D-07 抗生素							
D-07-01 .GL-7-ACA	088	紅冬孢酵母屬之 D- 胺基酸氧化脢	中華民國、大陸、美國、 澳洲、紐西蘭、加拿大、 歐洲				
D-09 醫療 / 美容器材							
D-09-01. 創傷敷材	200	製造具有調控的孔隙大小的細菌纖維素的方法及其於創傷敷材的用途	中華民國				
	223	內部包埋有膠球之細菌纖維素複合材及其製備方法	中華民國、美國				
D-09-02. 指甲修護	239	指甲修護敷膜的容器盒和其套件	中華民國、日本、大陸				
, , , , , , , , , , , , , , , , , ,	240	指甲修護敷膜的容器盒	中華民國、日本、大陸				
D-10 化合物							
D-10-02. 治療代謝症候群用途化合物	212	新穎紫紅麴酮、其製備方法及紫紅麴酮之應用	中華民國、大陸				

專利應用案例 -- 細胞冷凍管封膜機

生資中心 / 研究員 許瓈文

專利名稱:

細胞冷凍管封膜機 (Machine for sealing a cryotube with a film) 專利證書號:

- 1. 中華民國新型專利 第 M271816 號
- 2. 中國大陸新型專利第 ZL200420116685.8 號
- 3. 韓國新型專利 第 396964 號
- 4. 美國發明專利 第 7,459,045B2
- 5. 英國發明專利 第 2421487 號

- 6. 日本新型專利 第 3109828 號
- 7. 澳洲發明專利 第 2005100479 號
- 8. 新加坡發明專利 第 123656 號

一、專利發明背景

細胞的培養技術發展至今, 已有超過一百年的歷史。細胞培 養技術的應用,除了可以減少實 驗動物的使用量之外,許多生命 科學領域以及相關的臨床醫學研 究,細胞培養都佔有相當重要的 地位。透過細胞實驗分析,除了

可以了解可能的作用機制之外, 也可以經由分子生物的層面,對 於臨床治療功能可以有更深入的 了解,並使實驗結果與研究目的 之間產生最適當的鏈結。細胞培 養技術也因此被譽為是過去 35 年 來,生物科技產業中最偉大的發 明技術之一。

為了獲取正確的分析結果, 首要條件就是使用穩定且品質良 好的細胞。然而細胞在體外經過 長時間的培養後,除了容易會有 污染與老化等問題之外,細胞的 遺傳訊息也有可能發生變異性。 所以,適當的細胞冷凍保存,是 確保細胞品質,並維持研究成果 的再現性和持續性,最重要的基 礎程序。

液態氮低溫保存(-196℃)是 目前最常使用也最有效的細胞長 期保存方式。但是由於冷凍管的 材質和塑型不同,造成冷凍管的 旋蓋和管身在進出液氮槽時因溫 度變化所產生的收縮比例不同, 使得旋蓋和管身之間產生縫隙, 因此液態氮很容易可以透過此縫 隙進入到冷凍管內,而冷凍管內 的細胞也可以經由此路徑跑到液 熊氦中, 導致細胞樣品發生微生 物污染, 甚或是細胞與細胞之間 的交互污染。此外,在解凍細胞 的過程中,冷凍管內如存有液態 氮,受熱後液態氮體積便會迅速 氣化膨脹,造成冷凍管爆炸的危 險。因此,標準的冷凍管儲存方 式是將其存放於液氮槽的氣相層 中(-150℃)。但礙於空間利用的 有效性和保存溫度的考量,研究 人員經常會將冷凍管直接浸入至 液相層中來進行保存,從而導致 上述的這些污染與風險等問題。 而這也是目前細胞治療產品直接 使用冷凍管包裝時,會被質疑產 品包裝的完整性與產品安全性的 考量點之一。

因此,我們設計開發出一款 冷凍管封膜機,結合簡單的機械 原理與熱塑模受熱密封,並且提 供封存的標準程序,確保生物樣 品能在最安全、穩定且有效的封 管標準程序下,提供完美的儲存 品質。

二、專利介紹

傳統的冷凍管封膜方式,是 剪一段超過冷凍管長度約2公分 之熱收縮熱塑模管(Cryoflex™, Nunc),將其套於冷凍管外圍之 後,使用瓦斯槍或小型噴槍以高 熱火焰手動方式,直接在熱收縮 熱塑模管的二端加熱,最後再以 鑷子夾緊熱收縮熱塑模管的二端 端口直至完全密封為止。以此傳 統的加熱封存方式,細胞的活性 和冷凍管的密封性,皆會因人為 操作的得宜與否而有所差異,品 質不一,且失敗率高;此外,超 出於冷凍管長度二端多餘的熱收 縮熱塑模管,將使操作人員無法 繼續使用現有的保存盒等裝置, 也因此大幅的降低液態氮保存桶 空間利用率。

本新型專利發明的主要目 的在於提供一種將冷凍管以熱收 縮熱塑模方式加以密封的機器, 日該機器具有一控制單元,可用 以自動完成加熱熱收縮熱塑模密 封冷凍管之工作。首先剪取一段 長度約1.5公分長之熱塑模管, 外套於冷凍管之旋蓋與管身交界 處,再將冷凍管置於冷凍管封膜 機之絕熱夾持座上,經馬達帶動 後以360度旋轉方式針對熱塑模 管進行均匀加熱,達到簡單快速 的冷凍管完整密封效果,保護冷 凍管包裝的完整性(圖1.及圖 2.)。藉由本發明創作之機器進行 冷凍管密封保存工作時,可省時 省力且品質一致的在冷凍管外圍 加上保護封膜,以避免液態氦滲 入冷凍管,確保細胞保存品質和 冷凍管解凍時之操作安全。

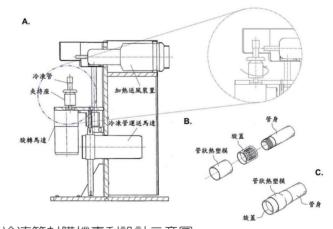


圖 1. (A) 冷凍管封膜機專利設計示意圖; 冷凍管和冷凍管熱塑模 (B) 組合前、(C) 組合後立體示意圖



圖 2. (左)第一代冷凍管封膜機原型機;(右)第二代冷凍管封膜機



圖 3. 冷凍管套膜及封管前後圖示

三、技術説明

本新型專利發明的主要目 的,在於提供一種將冷凍管以熱 收縮熱塑模方式加以密封的機 器,目該機器具有一控制單元, 可用以自動完成加熱熱收縮熱塑 模密封冷凍管之工作。該冷凍管 包含一管身,一旋蓋及一管狀熱 塑膜,其中該旋蓋係螺合於該管 身的一閉口端上,及該熱塑膜 係套合於該旋蓋與該管身的接合 處。冷凍管封膜機則包含:一用 於夾持冷凍管的夾持座; 一旋轉 機構,用於驅動該夾持座繞被夾 持於該夾持座內的該冷凍管的一 縱軸旋轉; 及一加熱機構, 用於 對被夾持於該夾持座的冷凍管的 熱塑膜加熱,使該熱塑膜收縮。

本發明創作之冷凍封膜機的 操作步驟如下:

- a) 將旋緊的及套合有熱塑膜 的冷凍管置於絕熱的夾持座內;
- b) 啟動運送馬達,並藉由齒條、連桿及平台,將旋轉馬達連同夾持座一同運送至加熱位置,並停留一設定時間;
- c) 啟動旋轉馬達,帶動夾持 座進行 360 度旋轉,使下列步驟 之被加熱的熱塑膜可均匀受熱收 縮;
- d) 啟動該加熱送風裝置,提 供約160℃的熱風,使冷凍管的

熱塑膜均匀受熱,使熱塑膜快速 收縮而束緊於冷凍管旋蓋與管身 的接合處上;

- e) 依設定之時間,停止該加 熱送風裝置與旋轉馬達,並再次 啟動運送馬達,將旋轉馬達連同 夾持座從加熱位置運送回到原工 作位置;
- f) 由操作人員從夾持座取出 被封膜的冷凍管,即完成冷凍管 封膜工作(圖3)。

本創作的效果除了可避免前 述述及防止液氮滲入冷凍管所造 成的問題外,對於冷凍管需浸於 水浴槽快速解凍時,亦提供防止 水浴槽水滲入冷凍管內所造成之 污染。

四、技術特點

1. 自動化簡易操作

此系統為自動控制裝置,可 自動完成加熱收縮熱塑模密封冷 凍管,確保冷凍管封存之有效性 與品質。

2. 完整密封

利用加熱熱收縮熱塑模方式 密封冷凍管保護封膜,維持冷凍 管包裝之完整性,並且減少污染 發生的機率。

3. 安全保存活細胞

冷凍管熱塑模加熱位置具有

固定範圍,不影響冷凍管細胞活性,維持細胞產品之穩定性及有效性。

4. 完全適用現有之冷凍管保存裝 置

冷凍管進行加熱封膜後,不影響原本冷凍管的體積,完全適於既有之冷凍管保存盒(Cryostorage Box)或冷凍管凍存條(Cryogenic Vial Canes)儲存系統。

五、技術移轉與合作

本專利技術移轉一家專門製 造高精密度生物科技實驗設備之 廠商。該公司目前有多項產品, 可提供給國內外研究單位、臨床 醫院和產業界使用, 且該公司之 產品生產製造,已獲得衛生福利 部及 SGS 國際認證機構認可為 GMP 醫療器材優良製造廠,其品 質系統亦誦過 ISO 13485:2003 國際醫療器材品質管理系統的認 證。食品工業發展研究所將此新 型專利技術移轉予該公司,目前 已有實體產品於市場上提供銷售 (圖4)。該產品之效能皆獲得使 用者之高度肯定,為生物銀行保 存細胞產品時,可保證產品完整 性,也是目前唯一可信賴使用的 保存方法。





圖 4. 第三代冷凍管封膜機 — 細胞超低溫保存瓶熱封□機 MODEL 516 (圖片轉載自技術移轉單位之官方和德公司網頁)

專利應用案例 -- 白藜蘆醇生產與開發

生資中心 / 研究員 黃學聰

專利名稱:

以微生物轉化生產白藜蘆醇 (resveratrol) 的方法

專利證書號:

中華民國發明專利第I486452 號

一、背景説明

隨著消費者追求健康生活的 意識升起、替代補充醫學的接受 度增加以及保健食品的科學驗証 結果,加速全球保健食品市場的 蓬勃發展,其中又以機能性食品 為全球保健食品市場中占有率最 高且成長最快的產品之一,根據 工研院統計分析預測,全球機能 性食品市場 2012 年至 2017 年複 合成長率達 5.3%, 到 2017 年將 成長到1,420億美元,可見機能 性食品已是未來發展趨勢。此外 食品所 ITIS 統計資料分析,2013 年台灣保健食品市場為1,095億 台幣,2014年市場成長率可達 7-8%,預估較前年增加76億元 台幣以上。然而目前國內保健食 品業者原料主要仰賴國外進口, 品質與價格均無法掌控,造成保 健產品生產具有相當風險性,此 外,國內業者對某些大宗保健原 料缺乏生產技術,對於保健產品 原料缺乏自主性,保健產品利 潤取決於原料端,原料價格掌控 於國外業者,因此造成國內保健 業者競爭力低。因此生資中心致 力於運用國內本土微生物資源優 勢,開發新穎性保健素材,建立 完整保健配料之生產技術,提供 國內保健業者完整的生產技術,

提高保健原料生產自主性,增加 國內業者競爭力。

白藜蘆醇化學名稱為 三 羥 基 二 苯 乙 烯 (3,5,4'trihydrozystibene), 分子式 C₁₄H₁₂O₃, 分子量 228.25, 具 有順式及反式 (cis- and trans-) 二種形式,植物體內主要以反 式存在,且具有較高生理活 性。白藜蘆醇最早於1940學 者 Takaoka 由 白 藜 蘆 (white hellebore; Veratrum grandiflorum O. Loes) 的根部分離出鑑定, 隨後 於 1963 由中國傳統中藥材 - 虎杖 (Polygonum cuspidatum 的根莖部) 中亦被分離出有白藜蘆醇成分。 白藜蘆醇除了於上述植物中被發 現,其亦存在一些特定的植物 中,如葡萄、藍莓等某些莓果類, 或是花生及石榴等,然而這些的 植物所含的白藜蘆醇含量差異很 大,同時,在某些植物中白藜蘆 醇會以醣苷 (piceid; polydatin) 的 形式存在體內,且白藜蘆醇為一 種植物抗菌素,因此栽培的條件 及其環境亦會影響植物中其含 量,例如真菌感染等。白藜蘆醇 為一種植物多酚,其具有抗老化 的功能,並且可以降低糖尿病、 肝病、心臟病、癌症及其他肥胖 相關疾病的罹患機率,其抗氧化、 抗發炎及血管舒張等功能亦是許 多研究者的研究標的,同時,白 藜蘆醇亦成為保健食品甚至於新 藥品的熱門選擇。目前白藜蘆醇 單價較高,國際市場的需求廣大, 未來市場前景良好。然而因其於 植物中含量稀少且萃取不易,且 許多植物白藜蘆醇與糖鍵結成糖 苷形式存在,然而白藜蘆醇糖苷 形式較無生物活性,使其應用上 受限制。

二、專利介紹

目前生產白藜蘆醇的方法, 有植物萃取法、化學合成法、 植物轉化法以及微生物基因工程 等,然而植物中白藜蘆醇主要經 由酪胺酸與苯丙氨酸途徑合成, 其中主要關鍵步驟為合成二苯乙 烯合成酶 (stilbene synthase), 目 前文獻所列以微生物基因工程生 產白藜蘆醇的方式,可分為酵母 菌與細菌部份:以細菌轉基因 生產方式較酵母菌高,可達171 mg/L。而利用植物細胞培養,在 胞內生產方式,以葡萄之細胞懸 浮培養胞內 stilbene 最高可達 840 mg/L,然而以生物培養方式生產 白藜蘆醇,目前仍以微生物轉化 方法產率及成本較具經濟效益。 在國內並無以微生物轉化生產白 藜蘆醇的相關技術,本技術應用 酵素工程,融合成份分離技術與 功效評估方法,提高保健性配料 的產業價值,以生物資源中心保 存微生物資源,篩選具有轉化酵 素之潛力菌株,進行不同植物基 質篩選,挑選出具有高含量之白 藜蘆醇醣苷之植物,經特定微生 物菌株轉化生成白藜蘆醇,同時 進行最適培養基探討,得到一最 適培養基組成,可提高菌株轉化 酵素產量。進一步進行轉化製程 放大,逐步至2,000公升級白藜 蘆醇醱酵製程,進行培養基探討, 建立最適化醱酵操作條件。後續 建立一套回收純化白藜蘆醇方 法,將白藜蘆醇純度提高至80% 以上,進一步開發白藜蘆醇機能 性產品之試製技術,試製具有產 業應用性白藜蘆醇產品,分別試



圖 1. 以微生物轉化生產白藜蘆醇的方法示意圖

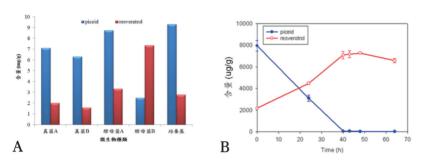


圖 2. A 篩選不同微生物轉化虎杖基質生成白藜蘆醇; B 以特定菌株轉化虎杖基質生成白藜蘆醇; B 以特定菌株轉化虎杖基質生成白藜蘆醇放大製程至 2 懶醱酵槽。

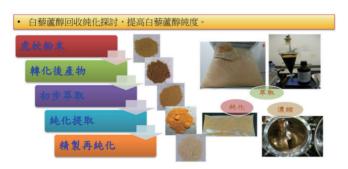


圖 3. 建立白藜蘆醇回收純化製程

製液態、面膜、粉體與錠片四種 產品如圖 1 所示。

三、技術特點:

1. 篩選高產量菌種技術

篩選微生物菌株,測試轉化 不同基質(虎杖、葡萄、花生、 石榴等),轉化生產白藜蘆醇。

2. 製程放大技術

進行醱酵槽培養轉化基質條 件測試,提高白藜蘆醇產量。

3. 回收純化製程技術

開發萃取回收白藜蘆醇技 術,提高白藜蘆醇純度及其應用 性。

4. 新穎性機能產品開發

建立白藜蘆醇機能性產品之 試製技術,開發具有產業應用性 白藜蘆醇產品(包含液態、粉劑、 面膜與錠片四種型態產品開發)。

四、技術説明

首先由生資中心微生物資源 庫進行初步篩選,初步篩選出包 含細菌、酵母菌及絲狀真菌,經 初步篩選後,篩選表現β-葡萄糖 苷酶較高的微生物菌株, 淮一步 再以虎杖、葡萄、石榴或花生等 基質及其萃取物分別進行酵素轉 化培養,再進行分析白藜蘆醇及 糖苷等之含量,討論其轉化效率 (如圖 2A)。再經由一連串篩選與 突變篩選,以最佳轉化菌株進行 後續實驗,以虎杖為基礎轉化基 質篩選最佳轉化培養基及醱酵槽 最佳操作條件探討,逐步由100 ml 搖瓶轉化試驗放大至 2 噸醱酵 槽操作,完成放大製程測試(如 圖 2B)。由特定菌株轉化虎杖基 質,進一步進行純化步驟建立, 初步先以溶劑進行初萃,後續進 行不同溶劑進行餾分,逐漸提高 純度,最後再以結晶進行精製, 得到高純度之白藜蘆醇粉末(如 圖 3 所示)。由於白藜蘆醇水溶 性較差(0.03 g/L),因此於產品應 用上有其限制,因此藉由配方技 術導入,不但可以增加水溶液中 白藜蘆醇含量,進一步更可藉由 配方技術增加白藜蘆醇產品的穩 定度及生物可利用率。

五、技術移轉與合作

本技術移轉一家專注於開發藥品及保健食品原物料產品與技術開發公司,該公司目前除了與學術研究機構建教合作,並積極投入台灣農產品功能性原料研發,持續加強產品技術升級,藉以提升服務與產品競爭力及附加價值。本技術移轉後,期望發展白藜蘆醇作為保健食品原物料,並與本所共同合作投入相關技術,開發以白藜蘆醇為原料之系列產品。

專利應用案例 --多重機能性發酵綠豆製品之開發

生資中心 / 研究員 陳慶源

專利名稱:

綠豆皮發酵組成物的形成方 法、其所形成之綠豆皮發酵組成 物與抗氧化與抗發炎組合物

專利證書號:

中華民國專利第 I380822 號

一、專利摘要

本發明提供一種綠豆皮發酵組成物的形成方法,包括:將綠豆皮與水混合以形成一混合物;將經活化之真菌加入該混合物中,其中該真菌包括根黴屬(Rhizopus)或麴菌屬(Aspergillus)真菌;以及對該混合物進行發酵以形成一發酵組成物。本發明也包括藉此方法形成之綠豆皮發酵組成物以及含此綠豆皮發酵組成物以及含此綠豆皮發酵組成物之抗氧化與抗發炎組合物。

二、專利發明背景

1. 高營養價值綠豆品,相關保健 食品稀少

綠豆(圖1)含許多膳食纖維外,綠豆浸漬後亦會溶出可溶性纖維素、種皮上的花青素及葉綠素,綠豆成份含有多樣人體所需的微量營養素,如磷脂、胡蘿蔔素、菸鹼酸與B族維生素等總酚化合物,許多文獻指出綠豆成份可能與抗發炎反應與抑制癌細胞生長有關,而也有醫療報導指出,多食綠豆有預防癌症及解毒的功能。在本專利發明之前,由上綠豆相關製品大多以綠豆仁、綠豆芽與綠豆湯為主,開發成綠豆保健食品則很少,綠

豆皮保健品更是鳳毛麟角。

2. 綠豆簧為解毒聖藥,古法製備 衛生堪虞

坊間綠豆經過自然發酵及繁複的中藥炮炙過程,所煉製成之綠豆簧產品,自古以來,即被稱為是一種 "解毒聖藥 ",其主要的功能為保肝解毒、減少疲勞感、退火降火氣、養顏美容等,但由於綠豆簧傳統的煉製過程耗費時日,且步驟過於繁複,而且目前綠豆篁仍不能以「食品」獲得核准販售,主要是因為其製造過程有泡尿製程,不符合現代的衛生標準。

3. 建構現代發酵技術,生產機能 性綠豆品

本專利發明結合現代化固體 發酵技術,以及高效能且安全的 發酵菌種,以天然食材-綠豆皮-作為基質,開發同時具有抗氧化、 抗發炎之機能性綠豆發酵製品, 大幅增加綠豆原有之活性成份。 提升了綠豆之附加價值,帶動優 良農產品與生技相關產業之發 展。

三、技術説明

本專利發明的目的,是開發 多重機能性的發酵綠豆製品,以 提供我國生技產業一項領先全球 的技術,更重要的是,製品必須 具有市場創新性和競爭力。其中 必須結合三項創新思維與關鍵技 術:1.綠豆原料的選擇及其前處 理方式;2.高效能且安全的發酵 菌種及其固體發酵技術;3.選擇 適當的產品功效訴求。

1. 創新綠豆皮為原料,完成最佳 前置作業

本專利發明排除傳統習慣以整顆綠豆為材料,而創新地挑選綠豆副產物-綠豆皮-作為發酵基質,並且調配出最佳的水混合比例範圍。結果,使用綠豆皮作為原料所獲得之發酵產物,比整顆綠豆之功效活性高出許多。

2. 特選麴菌轉化力強,建構最適 固體發酵

經過大量菌株的篩選程序, 創新的發現根徽屬(Rhizopus)和 麴菌屬(Aspergillus)等數種食用 性釀造菌株,除了能在綠豆皮上 生長良好外,若在最適的發酵調 控技術下,更可同時有效提升發 酵產物的抗氧化與抗發炎功效。 其中米根徽(Rhizopus oryzae)、醬 酒麴菌(Aspergillus sojae)、米麴 菌(Aspergillus oryzae var. oryzae) 等傳統常用的釀造菌種,其活性 的提升特別明顯(表1和表2), 對縮短後續商品化的時程,有絕 對的助益。

3. 建構合適功效平台,雙效訴求 領先國際

針對綠豆皮本身的活性,挑選出最具產業應用價值的功效進行研發,並建立合適的分析平台。結果,在最佳生產製程條件下,發酵產物的抗氧化功效(DPPH清除能力)與抗發炎功效(NO 抑制率),分別比綠豆皮本身(對照組)



圖 1. 綠豆原料

增加3和2倍以上,大大提升了產品的競爭優勢。

三、專利應用説明

1. 技術移轉生技公司,投資建構 廠房

本專利已技術移轉業界,包 括綠豆固體發酵生產技術,以及 其機能性綠豆發酵原料。經該公 司詳細評估分析,本專利的生產 製程、生產成本及功效特性,在 市場上具有獨特性與產品競爭優 勢。於是,決定投資設廠,建構 現代化的固體發酵生技工廠,相 繼推出多項新產品,成功打入市 場,成為該公司的主要產品。

2. 技術領先獨步全球,產業應用 價值無限

本專利創新發明,不但在技術上領先國際,最重要是,具有高度的產業應用價值。機能性綠豆發酵產品具有獨特性,與市面發酵產品有明顯差異化,使健康食品更多樣化,帶動相關產業之發展,深具創新應用價值。

表 1. 不同釀造菌株綠豆皮發酵產物之 DPPH 清除率與 NO 抑制率

BCRC 菌號	菌株名	DPPH 清除率 (%)	倍數	NO 抑制率 (%)	倍數
	對照組(發酵前)	17	1.0	2	1.0
32301	Rhizoupus oryzae	32	1.9	16	8.0
33070	Rhizoupus oryzae	40	2.4	20	10
33071	Rhizoupus oryzae	38	2.2	12	6.0
31750	Rhizopus microsporus var. oligosporus	21	1.2	15	7.5
31200	Aspergillus sojae	48	2.8	32	16.0
32286	Aspergillus oryzae var. oryzae	42	2.4	22	11.0
31342	Actinomucor elegans	32	1.9	26	13.0
32967	Actinomucor taiwanensis	22	1.3	15	7.5
32669	Actinomucor taiwanensis	33	1.9	23	11.5
16000	Lactic acid bacteria	20	1.2	18	9.0

表 2. Aspergillus 菌屬之綠豆皮發酵產物之 DPPH 清除率與 NO 抑制率

BCRC 菌號	菌	株	屬	名	DPPH 清除率 (%) (倍數)	NO 抑制率 (%) (倍數)
	對照組(發酵前)				17.0 <u>+</u> 1.7 (1.0)	22.6 <u>+</u> 3.2 (1.0)
31200	Aspergillus sojae	Aspergillus sojae		(1.0) 57.3 <u>+</u> 5.9 (3.4)	85.8 <u>+</u> 2.9 (3.8)	
32286	Aspergillus oryzae var. oryzae		68.3±7.5 (4.0)	47.5 <u>±</u> 2.9 (2.1)		

專利應用案例 -- 耐熱性及高醋酸生產菌之開發

生資中心/技師 陳漢根

專利名稱:

耐熱性及高醋酸生產性醋酸 桿菌

專利證書號:

1. 中華民國發明專利第 225890 號 2. 美國發明專利 第 6,096,528 號

一、背景説明

Acetobacter sp. I14-2 醋酸桿菌為食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心於民國 84 年

由腐爛的香蕉中分離而得,為台灣本土分離株,該菌株之生理生化特性如表 1 所示。而該菌株之最適醋酸生產條件為培養基含 2 g/L 醋酸、5% 酒精,培養溫度為 30℃,此條件下,該菌株之醋酸 (acetic acid)產量如圖 1 所示。該菌株具有耐酒精及耐醋酸的特性,培養在 8% 酒精的培養基仍保有 22% 剩餘醋酸生產活性,培養基含 10 g/L (1.0 %) 醋酸時也能生產醋酸。該菌株為耐熱性菌株,在 35℃及 37℃的醋酸生產活性分

別為 30℃的 97% 及 68%,如圖 2 所示。

二、醋酸菌代謝酒精產醋酸 之機制

醋酸菌為格蘭氏陰性細菌, 其形態為桿狀,絕對好氣性, 其代謝酒精產生醋酸之機制如 圖 3 及圖 4 所示,醋酸菌代謝酒 精的過程為醋酸菌運用自身酵 素系統中之乙醇去氫酶 (Alcohol dehydrogenase) 將 乙 醇 (酒 精) 進行脫氫代謝轉化成乙醛,再 利用乙醛去氫酶 (Acetaldehyde dehydrogenase) 繼續脫氫將乙醛 代謝轉化成乙醛(醋酸),其代 表菌種包括 Acetobacter aceti、 Acetobacter pasteurianus 等 (Gullo and Giudici, 2008)。

三、專利應用説明

由於目前食醋之工業化發酵 生產的溫度值大都控制在30℃左 右,然而許多國家夏天的平均溫 度超過30℃,故冷卻所消耗的能

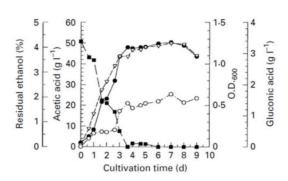


圖 1. *Acetobacter* sp. I14-2 醋酸桿菌代謝酒精 (Ethanol) 產醋酸 (Acetic acid) 及葡萄糖酸 (Gluconic acid) 情形,Ethanol (■); Acetic acid (●); Gluconic acid (○); O.D.₆₀₀ (▽)

註 1: 培養基含 2 g/L 醋酸、5%(v/v) 酒精,培養溫度為 30°C (呂等, 2005; Lu *et al.*, 2000; Lu *et al.*, 1999)

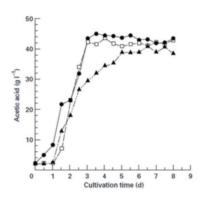


圖 2. *Acetobacter* sp. I14-2 醋酸桿菌於發酵溫度 30°C(●); 35°C(□); 37°C(▲)代謝酒精 (Ethanol) 生產醋酸 (Acetic acid) 情形 (呂等, 2005; Lu *et al.*, 2000; Lu *et al.*, 1999)

表 1. 醋酸桿菌 I14-2 生理生化特性 (Lu et al., 1999)

生理特性 (Phenotypic characteristics)							
1. 形態	桿狀 (Rod-shaped)	2. 格蘭氏染色 (Gram's stain)	Gram-negative				
3. 運動性 (Motility)	(-)	4. 厭氧生長 (Anaerobic groth)	(-)				
5. 觸酶 (Catalase)	(+)	6. 氧化酶 (Oxidase)	(-)				
7. 乳酸氧化性 (Lactate oxidation)	(+)	8. 醋酸氧化性 (Acetate oxidase)	(+)				

- 9. 碳源利用性 (Assimilation of carbon sources)
- (+): D-glucose, D-arabitol, D-fructose, D-galactose, methyl pyruvate, Acetic acid, formic acid, r-hydroxy butyric acid, D,L-lactic acid, bromo succinic acid, alanine, and glycerol.
- (-): L-arabinose, D-mannose, maltose, D-mannitol, L-fucose, dextrin, D-trehalose, N-acetyl-D-glucosamine, glycogen, adonitol, psidose, cellobiose, α-lactose, phenyllacetate, L-rhamnose, D-raffinose, turanose, D-gluconic acid, malate, caprate, citrate, succinic acid, adipate, and sucrose.

B gracome deta, marate, captate, citate, saccime deta, adipate, and sacrose.						
細胞壁脂肪酸組成 (Cellular fatty acid composition)						
1. C18:1	51.71%	6. C18:0	2.69%			
2. C19:0 cyclo	16.30%	7. C14:0	2.43%			
3. C16:0	12.47%	8. C16:0 3OH	1.87%			
4. C14:0 2OH	5.74%	9. C16:1 iso	1.26%			
5. C16:0 2OH	4.37%	10.C20:3	1.15%			
Quinone	$Q_9(Q_8)$	G+C content of DNA	51.7 mol%			
DNA homology	3% with Acetobacter aceti NCIMB 8621					
DNA homology	56% with Acetobacter pasteurianus NCIMB 12228					

(-), Negative; (+), Positive

醋酸菌
$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3COOH + H_2O$$
 酒精(乙醇) 醋酸(乙酸)

圖 3. 醋酸發酵 (Gullo and Giudici, 2008)

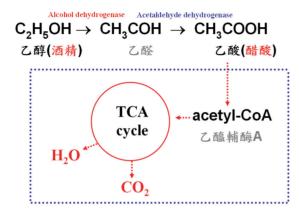


圖 4. 醋酸菌代謝酒精產醋酸之機制 (Gullo and Giudici, 2008)

源費用會很高,若菌株發酵生產 醋酸的溫度範圍較寬廣,則可大 大降低冷卻的成本。醋酸生產菌 Acetobacter sp. I14-2 是一耐熱性 菌株,該菌株在 35℃的醋酸生產 活性為 30℃的 97%,可適合用在 30℃~35℃生產食醋。而於較高 溫度值 37℃環境下,仍具有產酸 活力,唯醋酸生產活性為 30℃的 68%。

食品所之耐熱性及高醋酸生產性醋酸桿菌 Acetobacter sp. I14-2 榮獲美國發明專利及中華民國發明專利,証書號碼分別為 US 6096528 及 TW 225890。該醋酸桿菌之產醋酸的溫度範圍較寬廣,於 37℃仍具產醋酸活性,即

有別於一般生產醋酸的醋酸菌僅適用於 30℃左右生產,故具耐熱性。故若您的需求為需要在較高的氣溫環境 35~37℃下生產醋酸,則 Acetobacter sp. I14-2 將是您可參考選擇的菌株。目前技術移轉三家公司,分別應用在醋產品的開發,包括生產技術及菌種篩選,現已有相關產品於市面上流通。

四、結語

生資中心執行經濟部科技專 案計畫,研發改進食用醋的發酵 技術平台,篩選不同風味及產酸 能力的醋酸菌,並利用純菌接種 技術,精準控制生技參數,增加 發酵速度,達到高產量、高良率 的要求,並獲得中華民國發明專利一件(呂等,2005; Lu et al., 2000)。目前開發的釀造醋有米醋、高粱酒糟醋、小米醋、桑椹醋、草莓醋、龍眼醋等,即以穀類、水果等農產品進行釀造發酵成穀類醋、水果醋等,同時開發米醋浸泡水果、花、草等製作養生醋,或稀釋調配為醋飲料,提升農產品經濟價值,讓台灣的醋文化更添多元。

五、參考文獻

- 1. 呂淑芬、李福臨、陳漢根。 2005。 耐熱性及高醋酸生產性 醋酸桿菌。 中華民國發明專利 第 225890 號。
- 2. Gullo, M. and Giudici, P. 2008. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. International Journal of Food Microbiology 125:46–53.
- 3. Lu, S. F., Lee, F. L. and Chen, H. K. 2000. Thermotolerant and high acetic acid-producing *Acetorbacter* bacterium. United States Patent 6,096,528.
- 4. Lu, S. F., Lee, F. L. and Chen, H. K. 1999. A thermotolerant and high acetic acid-producing bacterium *Acetorbacter* sp. 114-2. Journal of Applied Microbiology 86:55–62.

生物資源保存及研究簡訊 第103期

發行者: 財團法人 食品工業發展研究所

發行人:廖啟成所長 主 編:陳倩琪

編 輯:王俐婷、吳柏宏、許瓈文、黃學聰

本著作權依補助契約歸屬財團法人食品工業發展研究所

地 址:新竹市食品路 331 號

電話:(03)5223191-6 傳真:(03)5224171-2 承印:國大打字行 電話:(03)5264220 ISSN:1021-7932 GPN:2009001214

中華郵政新竹誌字第0030號 交寄登記證登記為雜誌交寄

