



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103168860 A

(43) 申请公布日 2013. 06. 26

(21) 申请号 201310052680. 7

(22) 申请日 2008. 08. 29

(30) 优先权数据

60/969, 536 2007. 08. 31 US

(62) 分案原申请数据

200880113479. 2 2008. 08. 29

(71) 申请人 马太克生物科学公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 J·N·S·P·森纳那亚克

N·阿迈德 J·菲奇塔利

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 沈端

(51) Int. Cl.

A23D 9/007(2006. 01)

A23D 9/04(2006. 01)

权利要求书2页 说明书43页 附图2页

(54) 发明名称

含多不饱和脂肪酸的固体脂肪组合物及其制备与应用

(57) 摘要

本发明提供了一种固体脂肪组合物,其包含具有饱和脂肪的油和具有至少一种长链多不饱和脂肪酸的油。具体说,所述固体脂肪组合物具有高水平的长链多不饱和脂肪酸和低水平的乳化剂或不含乳化剂。在优选实施方式中,所述多不饱和油是未经冬化处理的微生物油。本发明还涉及制备这些组合物以及包含所述组合物的食品、营养品和药品的方法。

1. 一种制备固体脂肪组合物的方法,该方法包括:
 - a) 将包含饱和脂肪的油与包含至少一种 LC-PUFA 的油混合形成混合物 ;和
 - b) 使所述混合物固化形成固体脂肪组合物,其中,在制备所述固体脂肪组合物的过程中不外加乳化剂。
2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含饱和脂肪的油选自小组 :微生物硬脂精、未分馏棕榈油、棕榈油精、棕榈硬脂精、棕榈中段馏分、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈仁硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、棉籽硬脂精、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物、鱼油硬脂精以及它们的组合。
3. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油未经冬化处理。
4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油包含饱和脂肪。
5. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油包含约 5 重量 % -70 重量 % 至少一种选自下组的 LC-PUFA :二十二碳六烯酸、 ω -3 或 ω -6 二十二碳五烯酸、花生四烯酸和二十碳五烯酸。
6. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油在混合步骤之前未经加热处理。
7. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述固体脂肪组合物选自 :食品、营养品和药品。
8. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油与包含饱和脂肪的油的重量比约为 1:9 到约 9:1。
9. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述方法还包括对混合物进行除臭处理。
10. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述方法还包括使所述混合物发生酯交换。
11. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油来自选自下组的来源 :微生物来源、植物来源和动物来源。
12. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油来自微生物来源。
13. 一种固体脂肪组合物,其含有包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的混合物,所述混合物在室温下为固体,并且所述混合物不含外加乳化剂。
14. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含饱和脂肪的油选自下组 :微生物硬脂精、未分馏棕榈油、棕榈油精、棕榈硬脂精、棕榈中段馏分、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈仁硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、棉籽硬脂精、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物、鱼油硬脂精以及它们的组合。
15. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油未经冬化处理。
16. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油包含饱和脂肪。

17. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油包含约 5 重量 %-70 重量 % 至少一种选自下组的 LC-PUFA :二十二碳六烯酸、 ω -3 或 ω -6 二十二碳五烯酸、花生四烯酸和二十碳五烯酸。

18. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述固体脂肪组合物不含反式脂肪酸。

19. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油与包含饱和脂肪的油的重量比约为 1:9 到约 9:1。

20. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述固体脂肪组合物选自:食品、营养品和药品。

21. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油来自选自下组的来源:微生物来源、植物来源和动物来源。

22. 如权利要求 13 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含至少一种 LC-PUFA 的油来自微生物来源。

23. 一种制备固体脂肪组合物的方法,该方法包括:

- a) 将包含至少一种 LC-PUFA 的硬脂精与包含饱和脂肪的第二种油混合形成混合物;和
- b) 使所述混合物固化形成固体脂肪组合物。

24. 如权利要求 23 所述的方法,其特征在于,在制备所述固体脂肪组合物的过程中不外加乳化剂。

25. 如权利要求 23 所述的方法,其特征在于,所述硬脂精选自下组:微生物硬脂精、鱼油硬脂精、棕榈硬脂精、棕榈仁硬脂精、棉籽硬脂精、牛油树脂硬脂精以及它们的组合。

26. 如权利要求 23 所述的方法,其特征在于,所述包含饱和脂肪的第二种油选自下组:未分馏棕榈油、棕榈油精、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈中段馏分、椰子油、未分馏牛油树脂油、未分馏棉籽油、棉籽油精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物以及它们的组合。

27. 一种固体脂肪组合物,其含有包含至少一种 LC-PUFA 的硬脂精组合物和包含饱和脂肪的第二种油的混合物,其中所述组合物在室温下为固体。

28. 如权利要求 27 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述硬脂精选自下组:微生物硬脂精、鱼油硬脂精、棕榈硬脂精、棕榈仁硬脂精、棉籽硬脂精、牛油树脂硬脂精以及它们的组合。

29. 如权利要求 27 所述的固体脂肪组合物,其特征在于,所述包含饱和脂肪的第二种油选自下组:未分馏棕榈油、棕榈油精、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈中段馏分、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物以及它们的组合。

含多不饱和脂肪酸的固体脂肪组合物及其制备与应用

[0001] 本申请是国际申请 PCT/US2008/074790, 国际申请日 2008 年 8 月 29 日, 中国国家阶段申请号 200880113479.2, 名为“含多不饱和脂肪酸的固体脂肪组合物及其制备与应用”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 根据 35U. S. C. § 119 的规定, 本申请要求 2007 年 8 月 31 日提交的美国临时专利申请 60/969, 536 的优先权, 将其全部内容纳入本文作为参考。

技术领域

[0004] 本发明涉及含多不饱和脂肪酸的固体脂肪组合物及其制备与应用。本发明固体脂肪组合物可包含源自微生物的长链多不饱和脂肪酸。本发明还涉及用于制备这种产品以及含所述组合物的食品、营养品和药品的方法。

背景技术

[0005] 膳食脂质是全面健康生活所必需的重要营养物质。在任何食物中, 脂质都是最集中的能量来源。脂质的热值 (9 千卡 / 克) 是蛋白质和糖 (4 千卡 / 克) 的两倍。脂质不仅影响食物的口味、颜色、气味和质地, 而且在人们食用后产生饱足感。脂质也可用作脂溶性维生素的载体, 提供必需的脂肪酸。必需的脂肪酸是多不饱和脂肪酸 (PUFA), 其主链结构中具有两个或更多个双键。存在两组必需脂肪酸, 即 ω -3 脂肪酸和 ω -6 脂肪酸。 Ω -3PUFA 被认为是防止动脉硬化和冠心病的重要膳食化合物, 用于缓解炎症和延缓肿瘤细胞的生长。 Ω -6PUFA 不仅能够用作人体中的结构脂质, 而且是许多炎症因子如前列腺素和白三烯的前体。 ω -3 和 ω -6PUFA 的一种重要类型是长链 ω -3 和 ω -6PUFA。

[0006] 脂肪酸分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸, 后者进一步细分为单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。饱和脂肪酸的脂族链中仅包含碳-碳单键, 而所有其他的键均为氢原子饱和。不饱和脂肪酸的脂族链中包含碳-碳双键。如果不饱和脂肪酸的分子中包含一个碳-碳双键, 则称为单不饱和。PUFA 包含两个或更多个碳-碳双键。短链脂肪酸的长度约为 2-7 个碳原子, 中链脂肪酸的长度约为 8-19 个碳原子。另一方面, 长链脂肪酸具有 20-24 个或更多的碳。具有 20 个或更多碳的长链 PUFA (LC-PUFA) 是本发明尤其感兴趣的。

[0007] 根据脂肪酸碳链中第一双键的位置, LC-PUFA 可分成两个主要的类型, 称为 n-3 (或 ω -3) 和 n-6 (或 ω -6) 家族。 ω -3 或 n-3 标识表示在该 PUFA 家族中, 第一双键位于自分子的末端甲基起第三号位碳上。同样的原理适用于 ω -6 或 n-6 标识。感兴趣的 LC-PUFA 中, 亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸分别含有两个、三个、四个、五个和六个双键。二十二碳六烯酸 (“DHA”) 具有 22 个碳的链长和从末端甲基起的第 3 个碳开始的 6 个双键, 称为 “22:6n-3”。其他重要的 ω -3LC-PUFA 包括二十碳五烯酸 (“EPA”), 称为 “20:5n-3” 和 ω -3 二十二碳五烯酸 (“DPA n-3”), 称为 “22:5n-3”。重要的 ω -6LC-PUFA 包括花生四烯酸 (“ARA”), 称为 “20:4n-6” 和 ω -6 二十二碳五烯酸 (“DPA n-6”), 称为 “22:5n-6”。

[0008] ω -3 和 ω -6 型脂肪酸的母体化合物是亚油酸 (LA) 和 α -亚麻酸 (ALA)。LA 和 ALA 被认为是人体健康所必需的脂肪酸, 因为人不能合成它们而必须由膳食获得。在体内, 这些母体化合物通过一系列交替去饱和作用 (通过去除两个氢原子而插入一额外的双键) 和延长反应 (增加两个碳原子) 发生代谢。这需要一系列特殊的酶, 称为去饱和酶和延长酶 (elongase)。据认为, 代谢 ω -6 和 ω -3 脂肪酸的酶是相同的, 导致两个 PUFA 家族间竞争这些酶。链延长和去饱和反应仅仅在脂肪酸分子的羧基末端发生。因此, 所有代谢转化不会改变含 ω -3 和 ω -6 双键的分子的 ω 末端。因此, ω -3 和 ω -6 酸是两个独立脂肪酸家族, 因为在人体内它们不会相互转化。

[0009] 在过去 20 年间, 健康专家推荐饱和脂肪含量较低而多不饱和脂肪含量较高的膳食。虽然该建议被许多消费者采纳, 但心脏病、癌症、糖尿病和许多其他导致虚弱的疾病的发生率仍在稳步上升。科学家一致认为多不饱和脂肪的类型和来源同脂肪总量一样重要。最常见的多不饱和脂肪源自植物材料, 缺乏长链脂肪酸 (尤其是 ω -3LC-PUFA)。此外, 多不饱和脂肪氢化产生合成脂肪导致某些健康病症增多并加剧了一些必需脂肪酸的缺乏。事实上, 已证实许多医学病症可从补充 ω -3 得益。这些病症包括: 痤疮、过敏症、阿尔茨海默病、关节炎、动脉粥样硬化、乳腺囊肿、癌症、囊性纤维化病、糖尿病、湿疹、高血压、活动过度、肠道疾病、肾功能障碍、白血病和多发性硬化。注意, 世界卫生组织推荐婴儿配方应富含 ω -3 和 ω -6 脂肪酸。

[0010] 通常使用的多不饱和脂肪酸源自植物油, 包含显著量 ω -6 (即, 18:2n-6), 但 ω -3 极少或没有。虽然 ω -6 和 ω -3 脂肪酸都是良好健康所必需的, 但它们的推荐摄取比例约为 4:1。 ω -3 的主要来源是亚麻仁油、鱼油和藻类油。过去十年, 亚麻仁油和鱼油的生产快速发展。据认为, 这两种类型的油是 ω -3 多不饱和脂肪的优良膳食来源。亚麻仁油不含 EPA、DHA、DPA 或 ARA, 而是包含 α -亚麻酸 (18:3n-3), α -亚麻酸 (18:3n-3) 是体内制造 DPA n-3、EPA 和 DHA 的基本单元。然而, 有证据表明, 其代谢转化速率缓慢且不稳定, 尤其是对于健康受损者。鱼油中脂肪酸组成的类型和含量随鱼的具体种类及其饮食而差异显著。例如, 水产养殖鱼比野生鱼类的 ω -3 脂肪酸含量低。而且, 鱼油存在含有鱼中常见的环境污染物的风险。鉴于这些 ω -3 和 ω -6LC-PUFA (链长大于 20) 对健康的好处, 人们希望通过食物补充这些脂肪酸。

[0011] 已知液态油如鱼油和某些微生物油包含高含量的 LC-PUFA。然而, 由于其多不饱和性质, 这些油在室温下 (即 20. C) 不是固体, 而是油状或液体形式。然而, 在某些食品应用中, 液态油不合适, 可能需要使用固体形式的富含 PUFA 的油。为形成固体组合物, 已尝试了许多方法。通常用于固化不饱和油的方法包括这些油的部分或完全氢化, 从而获得半固态油。部分氢化方法导致形成“反式”-脂肪酸, 已知这种脂肪酸具有某些不良作用。因此, 采用氢化方法固化不饱和油的过程中, 不饱和油的有益性质受到非常不利的不良性质的削弱, 例如形成“反式”脂肪酸。

[0012] 其他方法包括将不饱和油与“硬”脂肪或饱和脂肪混合, 所得混合物为半固体油。美国专利申请 2007/0003686 (其内容被纳入本文作为参考) 公开了一种固体脂肪组合物, 其包含具有饱和脂肪的油和具有长链多不饱和脂肪酸的微生物油以及乳化剂。用于形成包含高水平的多不饱和脂肪的可铺展的半固体脂肪组合物的其他方法包括采用高水平的特定类型的乳化剂, 或其他增稠剂如脂肪醇。

发明内容

[0013] 在本发明之前,本领域并没有包含具有高水平 PUFA 的固体或半固体脂肪或食品而不需要外加乳化剂和/或其他类型的增稠剂的组合物。非常需要这种组合物以及这种组合物的制备方法。进一步希望提供一种制备所述组合物的低成本方法,所述方法包括采用无害材料、最少的加工步骤以及最少的原料库存。

[0014] 本发明提供了制备固体脂肪组合物的方法,该方法包括:a) 将包含饱和脂肪的油与包含至少一种 LC-PUFA 的油混合形成混合物;和 b) 使混合物固化形成固体脂肪组合物,在制备所述固体脂肪组合物的过程中没有加入外源性乳化剂。

[0015] 在本发明的一些实施方式中,包含饱和脂肪的油选自:微生物硬脂精、未分馏棕榈油、棕榈油精、棕榈硬脂精、棕榈中段馏分、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈仁硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、棉籽硬脂精、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物、鱼油硬脂精以及它们的组合。

[0016] 适用于本发明的包含至少一种 LC-PUFA 的油,优选是微生物油,未经冬化(winterization)处理。在本发明的一些实施方式中,油包含饱和脂肪。油可包括但不限于:约 5 重量 %-70 重量 % 的至少一种 LC-PUFA,所述 LC-PUFA 选自二十二碳六烯酸、 ω -3 或 ω -6 二十二碳五烯酸、花生四烯酸或二十碳五烯酸。

[0017] 在本发明的一些实施方式中,包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油混合之前未经加热。

[0018] 本发明方法制备的固体脂肪组合物可以是或者可以掺入但不限于食品、营养品和/或药品。在本发明的一些实施方式中,包含至少一种 LC-PUFA 的油与包含饱和脂肪的油的重量比为约 1:9 到约 9:1。

[0019] 本发明制备固体脂肪组合物的方法可进一步包括使包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的混合物脱臭的步骤。在本发明的一些实施方式中,制备固体脂肪组合物的方法进一步包括使所述混合物进行酯交换。

[0020] 本发明还提供了一种固体脂肪组合物,其含有包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的混合物,其中所述混合物在室温下为固体组合物,并且所述混合物不含外加乳化剂。

[0021] 在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物中包含饱和脂肪的油选自:微生物硬脂精、未分馏棕榈油、棕榈油精、棕榈硬脂精、棕榈中段馏分、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈仁硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、棉籽硬脂精、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物、鱼油硬脂精以及它们的组合。

[0022] 在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物中包含至少一种 LC-PUFA 的油未经冬化处理。油可包含饱和脂肪。在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物可具有包含约 5 重量 %-70 重量 % 的至少一种 LC-PUFA 的油,所述 LC-PUFA 选自二十二碳六烯酸、 ω -3 或 ω -6 二十二碳五烯酸、花生四烯酸或二十碳五烯酸。

[0023] 优选地,本发明固体脂肪组合物不含反式脂肪酸。在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物中包含至少一种 LC-PUFA 的油与包含饱和脂肪的油的重量比为约 1:9 到约 9:1。本发明固体脂肪组合物可以是但不限于食品、营养品或药品。

[0024] 本发明还提供了制备固体脂肪组合物的方法,该方法包括:a) 将包含至少一种 LC-PUFA 的硬脂精与包含饱和脂肪的第二种油混合形成混合物;和 b) 使混合物固化形成固体脂肪组合物。在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物的制备过程中无外加乳化剂。

[0025] 适用于本发明的硬脂精可包括但不限于:微生物硬脂精、鱼油硬脂精、棕榈硬脂精、棕榈仁硬脂精、棉籽硬脂精、牛油树脂硬脂精以及它们的组合。在本发明的一些实施方式中,包含饱和脂肪的第二种油选自:未分馏棕榈油、棕榈油精、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈中段馏分、椰子油、未分馏牛油树脂油、未分馏棉籽油、棉籽油精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物以及它们的组合。

[0026] 本发明还提供了一种固体脂肪组合物,其含有包含至少一种 LC-PUFA 的硬脂精组合物和包含饱和脂肪的第二种油的混合物,所述组合物在室温下为固体。在本发明的一些实施方式中,硬脂精选自:微生物硬脂精、鱼油硬脂精、棕榈硬脂精、棕榈仁硬脂精、棉籽硬脂精、牛油树脂硬脂精以及它们的组合。适用于本发明的包含饱和脂肪的第二种油可包括但不限于:未分馏棕榈油、棕榈油精、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈中段馏分、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物以及它们的组合。

[0027] 附图简要说明

[0028] 图 1 显示了用于制备适用于本发明的包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的各种可选的实施方式。

[0029] 图 2 显示了用于制备适用于本发明的经最少加工的 PUFA 油的各种可选的实施方式。

[0030] 图 3 显示了用于制备本发明包含 PUFA 的固体脂肪组合物的各种可选的实施方式。

具体实施方式

[0031] 如本发明所述,食品、营养品和药品组合物及其制备方法能提高营养物质,具体是 LC-PUFA,更具体是 ω -3 和 ω -6LC-PUFA 的摄取,为这些产品的消费者的健康带来益处。本发明提供了高品质的含 PUFA 的固体脂肪产品及其制备与应用。在本发明的一些实施方式中,含 PUFA 的固体脂肪产品包含经最少加工制备的含 PUFA 的高品质油产品,所述固体脂肪产品具有改良的功能、改良的稳定性,并且与许多应用,包括天然和 / 或有机市场部门相容。例如,包含 LC-PUFA 的本发明固体脂肪组合物可用于或用作营养品、食品和 / 或药品(医用和 / 或治疗用)。在本发明的一些实施方式中,用于制备本发明产品的油是源自微生物生物质的含 LC-PUFA 的微生物油。

[0032] 在本发明的一些实施方式中,包含至少一种 LC-PUFA 的油可以是经最少加工制备的微生物油,该油是含 PUFA 的高品质油产品,可用作制备本发明固体脂肪组合物的原料。用于制备这种经最少加工的微生物油的方法包括从微生物质提取包含至少一种 LC-PUFA 的含油馏分,以制备微生物油。培养包含能够在微生物油中回收的营养物质和 / 或 LC-PUFA 的微生物的微生物来源和方法是本领域已知的(工业微生物学与生物技术(Industrial Microbiology and Biotechnology),第 2 版,1999,美国微生物学会)。优选地,在发酵罐中用发酵培养基培养微生物。本发明的方法和组合物适用于产生 LC-PUFA 的任何工业微生物。

[0033] 微生物来源可包括诸如藻类、细菌、真菌（包括酵母）和 / 或原生生物等微生物。优选的微生物包括选自下组的微生物：金色藻（如假菌界 (Stramenopiles) 的微生物）、绿藻、硅藻、腰鞭毛虫（如甲藻纲的微生物、包括甲藻属 (Cryptothecodinium) 的成员，例如隐甲藻 (Cryptothecodinium cohnii)、酵母、毛霉属 (Mucor) 和被孢霉属 (Mortierella) 的真菌，包括但不限于高山被孢霉 (Mortierella alpina) 和被孢霉变种菌 (Mortierella sect. Schmuckeri)。假菌界微生物包括：微藻 (microalgae) 和类似藻的微生物，包括以下微生物：汉姆门 (Hamatores)，普罗特蒙门 (Proteromonads)，欧帕门 (Opalines)，德维尔派门 (Develpayella)，戴普罗弗门 (Diplophrys)，拉普利门 (Labrinthulids)，破囊壶菌门 (Thraustochytrids)，拜尔瑟门 (Biosecids)，水霉门 (Oomycetes)，海植戴尔门 (Hypochytridiomycetes)，康曼门 (Commation)，瑞可罗门 (Reticulosphaera)，普莱格门 (Pelagomonas)，普莱格可门 (Pelagococcus)，欧里可拉门 (Ollicola)，奥瑞可门 (Aureococcus)，小壳藻门 (Parnales)，硅藻门 (Diatoms)，黄藻门 (Xanthophytes)，褐藻门 (Phaeophytes)，黄绿藻门 (Eustigmatophytes)，绿鞭藻门 (Raphidophytes)，新纽门 (Synurids)，爱科斯汀门 (Axodines)（包括瑞佐克姆纲 (Rhizochromulinaales)，硅鞭藻纲 (Pedinellales)，硅鞭藻纲 (Dictyochales)），克里索达纲 (Chrysomeridales)，萨西诺达纲 (Sarcinochrysidales)，水树藻目 (Hydrurales)，螯居金藻目 (Hibberdiales) 和色金藻目 (Chromulinales)。破囊壶菌门 (Thraustochytrids) 包括：裂殖壶菌属 (Schizochytrium)（种包括黄金石斛 (aggregatum)、黎姆蔡瑟 (limnaceum)、芒格 (mangrovei)、迷你藻 (minutum)、欧托 (octosporum)），破囊壶菌属 (Thraustochytrium)（种包括阿迪门多 (arudimentale)，奥雷姆 (aureum)，碧席考拉 (benthicola)，格罗波 (gobosum)，凯尼 (kinnei)，摩迪 (motivum)，茂迪待 (multirudimentale)，派凯 (pachydermum)，普罗弗 (proliferum)，罗素 (roseum)，斯托特 (striatum)），吾肯氏壶菌属 (Ulkenia)（种包括埃摩拜迪 (amoeboida)，科格尼斯 (kerguelensis)，米钮塔 (minuta)，普罗弗达 (profunda)，雷迪安 (radiate)，塞仑 (sailens)，赛卡瑞那 (sarkariana)，斯佐凯 (schizochytrids)，维格斯 (visurgensis)，优克尼斯 (yorkensis)），破囊壶菌属 (Aplanochytrium)（种包括海罗迪 (haliotidis)，科格仑斯 (kerguelensis)，普罗弗达 (profunda)，斯托凯 (stocchinoi)，日本壶菌属 (Japonochytrium)（种包括麦尼 (marinum)，阿尔托尼氏壶菌属 (Althornia)（种包括克劳迪 (crouchii) 和埃氏壶菌属 (Elina)（种包括玛瑞萨 (marisalba)，欣诺瑞弗卡 (sinorifica)）。拉普利门 (Labrinthulids) 包括拉普利属 (Labyrinthula)（种包括埃格瑞尼 (algeriensis)，考诺赛斯 (coenocystis)，查托尼 (chattonii)，玛克赛斯 (macrocystis)，大西洋玛克赛斯 (macrocystisatlantica)，双重玛克赛斯 (macrocystis macrocystis)，玛瑞那 (marina)，迈纽塔 (minuta)，罗斯科弗尼 (roscoffensis)，凡卡诺维 (valkanovii)，维丽那 (vitellina)，太平洋维丽那 (vitellina pacifica)，双重维丽那 (vitellina vitellina)，佐普菲 (zopfi)，拉普利索属 (Labyrinthomyxa)（种包括玛瑞那 (marina)，拉普利诺属 (Labyrinthuloides)（种包括海罗迪 (haliotidis)，优克尼斯 (yorkensis)，戴普罗弗属 (Diplophrys)（种包括阿凯瑞 (archeri)，皮霍索属 (Pyrrhosorus*)（种包括玛瑞纽斯 (marinus)，索罗迪普罗属 (Sorodiplophrys*)（种包括斯特考瑞 (stercorea)，克莱米多属 (Chlamydomyxa*)（种包括拉普利诺 (labyrinthuloides)，蒙塔那 (montana)）。(*= 对于这些属的准确分类学

定位目前尚未达成一致)。虽然许多种类的微生物都是本发明原料的合适来源,但出于简短、方便和说明的考虑,本发明的详细描述将讨论培养能够产生包含 ω -3 和 / 或 ω -6 多不饱和脂肪酸的脂质的微生物,具体是能够产生 DHA、DPA ω -3、DPA ω -6、EPA 或 ARA 的微生物的方法。其他优选的微生物是藻类,例如破囊壶菌界 (Thraustochytriales) 的破囊壶菌门,包括破囊壶菌属 (Thraustochytrium) (包括吾肯氏壶菌属 (Ulkenia)) 和裂殖壶菌属 (Schizochytrium),包括破囊壶菌 (Thraustochytriales),在共同授予 Barclay 的美国专利 5,340,594 和 5,340,742 中有描述,其全部内容被纳入本文作为参考。更优选地,微生物选自下组:具有 ATCC 第 20888 号、ATCC 第 20889 号、ATCC 第 20890 号、ATCC 第 20891 号和 ATCC 第 20892 号鉴定特征的微生物。由于专家对于吾肯氏壶菌属是否是一种独立的破囊壶菌属存在分歧,在本发明中,破囊壶菌属包括吾肯氏壶菌属。还优选被孢霉变种菌 (Mortierella sect. schmuckeri) (例如,包括具有 ATCC74371 鉴定特征的微生物) 和高山被孢霉 (Mortierella alpine) (例如,包括具有 ATCC42430 鉴定特征的微生物)。还优选隐甲藻 (Crypthecodinium cohnii),包括具有 ATCC30021, 30334-30348, 30541-30543, 30555-30557, 30571, 30572, 30772-30775, 30812, 40750, 50050-50060 和 50297-50300 鉴定特征的微生物。也优选源自任一上述菌株的突变株以及它们的混合物。也优选油脂性微生物。如本文所用,“油脂性微生物”指能够累积超过 20% 菌体 (cell) 重量的脂质形式的微生物。产生 LC-PUFA 的遗传改造的微生物也适用于本发明。这些微生物包括经遗传修饰的天然产生 LC-PUFA 的微生物,以及经遗传改造能够产生 LC-PUFA 但天然并不产生 LC-PUFA 的微生物。

[0034] 合适的微生物可从各种来源获得,包括从自然环境收集。美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection) 已列出许多公开可得的上述微生物菌株。如本文所用,任何微生物或微生物的任何特定类型包括野生型、突变体或重组类型。这些生物体的培养条件是本领域已知的,这些微生物中至少有一些微生物的适当培养条件见述于例如美国专利 5,130,242,美国专利 5,407,957,美国专利 5,397,591,美国专利 5,492,938,美国专利 5,711,983,美国专利 5,882,703,美国专利 6,245,365 和美国专利 6,607,900,所有专利的全部内容被纳入本文作为参考。

[0035] 本发明中使用的微生物油可通过本领域已知的任何适当的方式从微生物来源获得。例如,可采用诸如氯仿、己烷、二氯甲烷、甲醇等溶剂进行萃取,或者通过超临界流体提取回收油。或者,可采用萃取技术提取油,例如美国专利 6,750,048 和 PCT 专利申请序列号 US01/01806 所述,这两份申请均在 2001 年 1 月 19 日以“无溶剂提取方法 (Solventless Extraction Process)”提交,其全部内容被纳入本文作为参考。其他提取和 / 或纯化技术参见:2001 年 4 月 12 日提交的题为“含油和极性脂质的天然原料的分馏方法 (Method for the Fractionation of Oil and Polar Lipid-Containing Native Raw Materials)”的 PCT 专利申请序列号 PCT/IB01/00841;2001 年 4 月 12 日提交的题为“采用水溶性有机溶剂进行含油和极性脂质的天然原料的分馏与离心方法 (Method for the Fractionation of Oil and Polar Lipid-Containing Native Raw Materials Using Water-Soluble Organic Solvent and Centrifugation)”的 PCT 专利申请序列号 PCT/IB01/00963;2001 年 5 月 14 日提交的题为“含有来自植物种子和微生物的十八碳四烯酸和 γ -亚麻酸的富含极性脂质的馏分的制备与应用 (Production and Use of a Polar Lipid-Rich Fraction Containing Stearidonic Acid and Gamma Linolenic Acid from Plant Seeds and

Microbes) ”的美国临时专利申请序列号 60/291,484 ;2001 年 5 月 14 日提交的题为“含有来自微生物、遗传改造的植物种子和海洋生物的 ω -3 和 / 或 ω -6 高度不饱和脂肪酸的极性脂质馏分的制备与应用 (Production and Use of a Polar-Lipid Fraction Containing Omega-3and/or Omega-6Highly Unsaturated Fatty Acids from Microbes,Genetically Modified Plant Seeds and Marine Organisms) ”的美国临时专利申请序列号 60/290,899 ;2000 年 2 月 17 日提交并于 2002 年 6 月 4 日授权的题为“从甘油三酯混合物中分离含有二十二碳六烯酸残留成分的甘油三酯的方法 (Process for Separating a Triglyceride Comprising a Docosahexaenoic Acid Residue from a Mixture ofTriglycerides) ”的美国专利 6,399,803 ;和 2001 年 1 月 11 日提交的题为“制备富含多不饱和脂肪酸酯的混合物的方法 (Process for Separating a Triglyceride Comprising a Docosahexaenoic Acid Residue from a Mixture ofTriglycerides) ”的 PCT 专利申请序列号 US01/01010 ;其全部内容被纳入本文作为参考。提取的油经减压蒸发得到浓缩的油料样品。回收脂质的生物质酶处理方法参见 :2002 年 5 月 3 日提交的题为“由生物质酶释放得到的高品质脂质及其制备方法 (HIGH-QUALITY LIPIDS AND METHODS FOR PRODUCING BY ENZYMATIC LIBERATION FROM BIOMASS) ”的美国临时专利申请 60/377,550 ;2003 年 5 月 5 日提交的题为“由生物质酶释放得到的高品质脂质及其制备方法 (HIGH-QUALITY LIPIDS AND METHODS FOR PRODUCING BY ENZYMATIC LIBERATION FROM BIOMAS S) ”的 PCT 专利申请序列号 PCT/US03/14177 ;2004 年 10 月 22 日提交的题为“由生物质酶释放得到的高品质脂质及其制备方法 (HIGH-QUALITY LIPIDS AND METHODS FOR PRODUCING BY LIBERATION FROM BIOMASS) ”的共同待批美国专利申请 10/971,723 ;题目均为“利用离心力从天然物质混合物提取非水溶性天然产物的方法 (Process for extracting native products which are not water-soluble from native substance mixtures by centrifugal force) ”的欧洲专利公开 0776356 和美国专利 5,928,696,所有文献的内容被纳入本文作为参考。

[0036] 在优选实施方式中,适用于本发明的微生物油是由上述方法制备得到的高品质微生物原油。这些油相对于(例如)鱼油具有显著的优点,鱼油产生的原油通常品质较差,因为从鱼生物质回收通常涉及烹饪和己烷提取,并且鱼油包含污染物、其他不良组分和 / 或不利的脂肪酸分布。

[0037] 包含至少一种 LC-PUFA 的油包含至少一种 LC-PUFA。本发明优选的 PUFA 包括 C20、C22、C24 ω -3 或 ω -6PUFA。优选地,PUFA 是长链 PUFA (LC-PUFA),包括 C20 或 C22 ω -3,或 C20 或 C22 ω -6PUFA。本发明 LC-PUFA 优选包含至少两个双键,更优选至少三个双键,甚至更优选至少四个双键。具有 4 个或更多不饱和碳-碳键的 PUFA 通常也称为高度不饱和的脂肪酸,或 HUFA。具体说,LC-PUFA 可包括:二十二碳六烯酸(至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 35 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%),二十二碳五烯酸 n-3(至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%),二十二碳五烯酸 n-6(至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%),花生四烯酸(至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%) 和 / 或二十碳五烯酸(至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30

重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%)。PUFA 可以是天然脂质中常见形式的任一种,包括但不限于三酰甘油,二酰甘油,单酰甘油,磷脂,游离脂肪酸,酯化脂肪酸,或这些脂肪酸的天然或合成的衍生物形式(例如,脂肪酸的钙盐,乙酯等)。在优选实施方式中,含微生物油的馏分包含馏分中至少约 70 重量%,至少约 80 重量%,至少约 90 重量%,或至少约 95 重量%的甘油三酯形式的 PUFA。本文所用术语 LC-PUFA 指包含一种 ω -3LC-PUFA(如 DHA)的油,包含一种 ω -6LC-PUFA(如 ARA 或 DPA n-6)的油,或包含两种或更多种 LC-PUFA(如 DHA、DPA n-6、ARA 和 EPA)的混合物的油。在优选实施方式中,产物包含 LC-PUFA 及至少一种其他营养物质。

[0038] 除了使用微生物物质提取包含 LC-PUFA 的油,基于植物的来源,例如含油种子也可用作提取或回收 LC-PUFA 的生物物质,包括例如任何高等植物,尤其是可用的植物,包括农作物,特别是用于榨油的植物。从植物生物物质提取的这些油可按照本文所述进行加工和处理,以制备油产品。这些植物可包括例如:低芥酸菜籽(canola)、大豆、油菜籽、亚麻子、玉米、红花、向日葵和烟草。其他优选的植物包括已知能够产生用作药剂、芳香剂、营养剂、功能食物成分或美容活性剂的化合物的植物,或者经遗传工程改造产生这些化合物/制剂的植物。产生 PUFA 的植物包括经遗传工程改造而表达产生 PUFA 的基因的那些植物,以及天然产生 PUFA 的那些植物。这些基因可包括为参与经典脂肪酸合成路径的蛋白质编码的基因,或者为参与 PUFA 聚酮化合物合酶(PKS)途径的蛋白质编码的基因。以下文献中描述了参与经典脂肪酸合成路径的基因和蛋白质,以及用这些基因转化的经遗传工程改造的生物体,例如植物:Napier 和 Sayanova,《营养学会学报》(Proceedings of the Nutrition Society)(2005),64:387-393;Robert 等,《功能植物生物学》(Functional Plant Biology)(2005)32:473-479;或美国专利申请公开 2004/0172682。以下文献详细描述了 PUFAPKS 路径、该路径中包含的基因和蛋白质以及用于表达和产生 PUFA 的用该基因转化的遗传工程改造的微生物和植物:美国专利 6,140,486;美国专利 6,566,583;美国专利申请公开 20020194641;美国专利 7,211,418;美国专利申请公开 20050100995A1;美国专利申请公开 20070089199;PCT 公开 W005/097982;和美国专利申请公开 20050014231;其各自的内容被纳入本文作为参考。

[0039] 这些植物,尤其是含油种子可通过常规方法处理以回收油,例如通过清洁、脱壳(dehulling)和研磨。然后,压榨种子以产生油或与溶剂接触(例如刨片后)以提取油。合适的溶剂可包括有机溶剂、与水混溶的溶剂和水。优选的溶剂是己烷。

[0040] 适用于本发明组合物和方法的另一种含 PUFA 的油的生物物质来源包括动物来源。动物来源的例子包括水生动物(例如,鱼、海洋哺乳动物和甲壳动物,例如磷虾和其他磷虾目浮游甲壳动物)和动物组织(例如,脑、肝、眼等)以及动物产物如卵或乳汁。从这些来源回收含 PUFA 的油的技术是本领域已知的。

[0041] 在本发明的一些实施方式中,用于制备固体脂肪组合物的油(如微生物油)经精制、漂白、脱臭、冬化、或冷滤等处理,或联用这些处理。在本发明的一些实施方式中,有用的含 PUFA 的油产品的其他特征在于,它们包含至少足以从视觉上影响含油馏分的饱和脂肪酸。许多含 PUFA 的油产品包含足量的饱和脂肪酸,其形式在室温下(即 20°C)足以从视觉上影响油,例如导致油变浑浊。一些这样的产品甚至因饱和脂肪酸的存在而变成糊状,例如因为它们包含足量甘油三酯形式的饱和脂肪酸。虽然在常规工艺中,这种油产品经冬化去

除饱和脂肪酸,但这种油产品可不经冬化用于本发明,如下文更详细所述。

[0042] 在本发明优选的实施方式中,本发明中使用的油具有尤其适用于产生包含 LC-PUFA 的固体或半固体组合物的脂质分布。更具体说,这种油中高度不饱和化合物(例如,4、5 或更高的不饱和度)相对集中,饱和化合物相对集中,且 / 或单、二和三 - 饱和的化合物的含量较低。这种组合物的特征在于,就饱和性而言,其化合物具有双模态分布,即大量饱和化合物和大量高度不饱和化合物,而中间不饱和度的化合物的含量较低。例如,这种油可包含大于约 20 重量 %、大于约 25 重量 %、大于约 30 重量 %、大于约 35 重量 %、大于约 40 重量 %、大于约 45 重量 % 或大于约 50 重量 % 的不饱和度为 4 或更高的高度不饱和化合物。在其它实施方式中,这种油可包含大于约 20 重量 %、大于约 25 重量 %、大于约 30 重量 %、大于约 35 重量 %、大于约 40 重量 %、大于约 45 重量 % 或大于约 50 重量 % 的不饱和度为 5 或更高的高度不饱和化合物。可选地或此外,这种油可包含大于约 30 重量 %、大于约 35 重量 %、大于约 40 重量 %、大于约 45 重量 % 或大于约 50 重量 % 的饱和化合物。可选地或此外,这种油可包含小于约 25 重量 %、小于约 20 重量 %、小于约 15 重量 %、小于约 10 重量 % 或小于约 5 重量 % 的单、二或三 - 饱和的化合物。

[0043] 制备包含至少一种 LC-PUFA 的经最少加工的含 PUFA 的高品质油产品可进一步包括处理根据本文所述制备的含提取油的馏分,例如美国专利公开 US-2007-003686-A1 中描述的含油馏分。这种进一步的处理可包括但不限于真空蒸发工艺,用以制备包含至少一种 LC-PUFA 的油产品。

[0044] 真空蒸发工艺可包括通过高度真空蒸发去溶剂和 / 或干燥,它是本领域公知的。该工艺包括将提取的油置于真空条件下,优选置于高温下(例如约 50°C -70°C)。例如,可将油置于大于约 100mmHg 的真空中,大于约 70mmHg 的真空中,大于约 50mm Hg 的真空中。例如,如本文所用,“大于约 100mm Hg 的真空”表示较强的真空,例如 90mmHg 或 80mmHg 的真空。在这些条件下,将馏出提取油中沸点低于油的任何溶剂、水或其他组分。

[0045] 除臭工艺是本领域公知的,包括将提取的油置于真空条件下,以去除可能存在的任何低分子量组分。通常,在高温、高度真空条件下,用蒸气喷射来去除这些组分。例如,通常将油置于大于去溶剂工艺所用的真空中。具体说,真空可以是大于约 50mm Hg 的真空,大于约 25mm Hg 的真空,大于约 12mm Hg 的真空,大于约 6mmHg 的真空,通常为约 12mmHg 到约 6mmHg,或约 6mm Hg 到约 1mm Hg。该工艺也可破坏可能存在的许多过氧化物键,减少或去除臭味,并有助于改善油的稳定性。此外,在这些条件下,提取油中沸点低于油的溶剂、水和 / 或其他组分将馏出。除臭通常在高温下进行,例如约 190. C 到约 220. C。

[0046] 在本发明的一些实施方式中,本发明中使用的含 PUFA 的油适用于人和非人动物的消费。就是说,油的感官特性使得该产品能够被人和非人动物所接受。具体说,油可包含低浓度的游离脂肪酸、磷、过氧化值、茴香胺值、皂和重金属。根据本文所述方法制备油,最大程度减少了为使其达到可接受的商业条件所需的下游加工步骤。可结合到适用于本发明的含 PUFA 的油的制备过程中的具体改进包括省去溶剂冬化步骤、省去苛性精制工序、省去冷滤工序,还有可能省去漂白工序。此外,高真空蒸发工序可代替除臭工序。上述工艺有利于通过保留足量饱和化合物以防止组合物在室温下(即约 20°C)呈液体来制备固体或半固体产品。上述工艺能够由原油,尤其是微生物原油制备食用油,回收率格外地高(95%-100%),并且与天然和 / 或有机市场部门相适应。

[0047] 在各种实施方式中,适用于本发明的油产品,例如未经溶剂冬化、苛性精制、冷滤和 / 或漂白中的一种或多种常规工艺步骤处理的油具有低浓度的游离脂肪酸。油中游离脂肪酸浓度的测量是本领域已知的。更具体地,适用于本发明的油中游离脂肪酸的含量小于约 0.5 重量 %, 小于约 0.1 重量 %, 小于约 0.05 重量 %。

[0048] 在各种实施方式中,适用于本发明的油产品,例如未经溶剂冬化、苛性精制、冷滤和漂白中的一种或多种常规工艺步骤处理的油具有低磷值。油的磷值的测量是本领域公知的。更具体地,适用于本发明的油的磷值小于约 10ppm, 小于约 5ppm, 约为 0ppm。

[0049] 在各种实施方式中,适用于本发明的油产品,例如未经溶剂冬化、苛性精制、冷滤和漂白中的一种或多种常规工艺步骤处理的油具有低过氧化值。油的过氧化值的测量是本领域公知的。更具体地,适用于本发明的油的过氧化值小于约 2meq/kg, , 小于约 1meq/kg, 约为 0meq/kg。

[0050] 在各种实施方式中,适用于本发明的油产品,例如未经溶剂冬化、苛性精制、冷滤和漂白中的一种或多种常规工艺步骤处理的油具有低茴香胺值。油的茴香胺值的测量是本领域公知的。更具体地,适用于本发明的油的茴香胺值小于约 5, 小于约 3, 小于约 2, 小于约 1, 小于约 0.5, 小于约 0.3, 小于约 0.1, 以及低于检测限。

[0051] 在各种实施方式中,适用于本发明的油产品,例如未经溶剂冬化、苛性精制、冷滤和漂白中的一种或多种常规工艺步骤处理的油具有低皂类浓度。油的皂类浓度的测量是本领域公知的。更具体地,适用于本发明的油的皂类含量小于约 5 重量 %, 小于约 2.5 重量 %, 约为 0 重量 %。

[0052] 在各种实施方式中,适用于本发明的油产品,例如未经溶剂冬化、苛性精制、冷滤和漂白中的一种或多种常规工艺步骤处理的油具有低重金属值。油的重金属值的测量是本领域公知的。更具体地,适用于本发明的油中 Fe 浓度小于约 1ppm、小于约 0.5ppm, 优选约为 0ppm ;Pb 浓度小于约 1ppm、小于约 0.2ppm, 优选约为 0ppm ;Hg 浓度小于约 0.1ppm、小于约 0.04ppm, 优选约为 0ppm ;Ni 浓度小于约 0.1ppm、小于约 0.01ppm, 优选约为 0ppm ;Cu 浓度小于约 1ppm、小于约 0.2ppm, 优选约为 0ppm。

[0053] 制备具有至少一种 LC-PUFA 的经最少加工的含 PUFA 的高品质油产品的方法可任选地包括在除臭步骤或高真空分馏步骤之前或之后漂白油的步骤,但更通常的做法是在除臭步骤之前进行。漂白油是本领域公知的,可以常规工艺实现。具体说,例如,可将用于去除残余皂和漂白粘土的二氧化硅吸附剂(例如 Trysil600 (格雷斯化学公司(Grace Chemicals)))加入油中,然后滤出。通常,在漂白粘土之前加入二氧化硅吸附剂。

[0054] 制备具有至少一种 LC-PUFA 的经最少加工的含 PUFA 的高品质油产品的方法可包括制备含 LC-PUFA 的液体油馏分和含 LC-PUFA 的固体脂肪产品的工艺。该工艺包括如本文所述的分馏高品质原油,优选微生物原油的步骤,形成油产品和相关的固体脂肪产品。这种原油产品可通过从生物质,在一些实施方式中,从微生物物质提取包含至少一种 LC-PUFA 和饱和脂肪酸的含油馏分进行制备。含油馏分经冬化、冷滤、真空蒸发和 / 或其他方式处理,产生包含至少一种 LC-PUFA 的液体油产品和包含至少一种 LC-PUFA 的固体产品。所述其他处理方式可包括从固体组合物过滤分离液体油馏分。

[0055] 通过固 / 液分离技术可回收包括吸附剂的固体馏分组分。通过加热吸附剂和固体脂肪材料以熔化固体脂肪材料,可从固体馏分分离任何吸附剂。然后,通过过滤,可从熔化

的固体分离吸附剂,然后通过冷却使熔化的固体重新固化。

[0056] 回收的固体馏分可包含高水平的 LC-PUFA。在优选实施方式中,固体馏分将包含至少约 20%,至少约 25%,至少约 30 重量 % 的 LC-PUFA,在一些实施方式中是 DHA。在本发明的一些实施方式中,固体馏分包含硬脂精。澄清油和固体各自可用作食品,或者用作食品添加剂。

[0057] 根据本发明制备的油产品可以是固体或半固体材料。如本文所用,术语“油”包括室温下为固体或半固体的那些材料,以及室温下为液体的材料。

[0058] 如本文所用,术语“半固体油”指在正常的室温下为半固体、流体和可倾倒的脂肪产品。

[0059] 如本文所用,术语“固体”或“塑性”脂肪产品指在约 25℃ 的典型储存温度下为固体、非流体或不可倾倒的脂肪产品。

[0060] 制备具有至少一种 LC-PUFA 的经最少加工的含 PUFA 的高品质油产品可任选地包括在除臭步骤或者高真空分馏步骤之后分馏油的步骤,形成油精馏分和硬脂精馏分。分馏形成油精和硬脂精馏分可应用于任何原油,或者经漂白或除臭的油,以制备澄清的油精馏分和硬的硬脂精馏分。由于其物理性质的差异,油精和硬脂精可用于不同的食品应用。在常规工艺中,硬脂精是油水混合物冬化和冷滤的副产物,经处理导致约 ~30% 的损失。因此,分馏可产生易卖的硬脂精馏分。这种类型的分馏的一个例子在下文实施例 4 中描述。

[0061] 本发明还提供了通过含 LC-PUFA 的油的冬化处理(即冷滤、油水混合物冬化等)回收含 LC-PUFA 的硬脂精的方法。在本发明的一些实施方式中,通过含 LC-PUFA 的油的冬化处理回收含 LC-PUFA 的硬脂精不需要分馏油。在本发明的一些实施方式中,含 LC-PUFA 的硬脂精是微生物硬脂精。如本文所用,“微生物硬脂精”包括通过微生物油的分馏或其他处理(例如油水混合物冬化和冷滤)回收的硬脂精。

[0062] 在本发明的一些实施方式中,含 LC-PUFA 的硬脂精包含约 15 重量 %-50 重量 % 的 LC-PUFA。例如,本发明含 LC-PUFA 的硬脂精可包含至少约 20 重量 %、至少约 25 重量 %、至少约 30 重量 % 或至少约 35 重量 % 的 LC-PUFA,具体是 DHA。这种含 LC-PUFA 的硬脂精适用于制备本发明固体脂肪组合物。

[0063] 参考图 1,该图呈现了制备合适的包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的各种可选的方法。可对原料如生物质或经喷雾干燥的生物质进行溶剂处理,以提取原油。这种原油可包括 LC-PUFA。可对原油进行高真空蒸发,去除原油中沸点比所需的油组分低的提取溶剂、水和其他组分。或者,可对原油进行任选的漂白步骤,例如去除类胡萝卜素。然后,在高温、高真空条件下用蒸气喷射油,对经任选处理的原油进行除臭。高真空蒸发或除臭处理后产生的最终的油产品可经过任选的分馏处理,形成油精馏分和硬脂精馏分。

[0064] 参考图 2,通过流程图展示了制备适用于本发明的经最少加工的 PUFA 油的各种可选方法。在其最基本的形式中,该方法包括用含生物质(在一些实施方式中是微生物)的巴氏消毒发酵液开始的步骤。预处理发酵液,通过裂解,例如通过酶处理或机械破碎,从菌体释放油。然后,对预处理的发酵液进行提取,以制备油。然后,该方法包括除臭步骤,如本文所述。在一可选的实施方式中,该方法还包括漂白步骤,即在除臭步骤之前对提取的油进行漂白。在又一可选的实施方式中,可以在漂白步骤之前和/或在漂白和除臭步骤之间对提取的油进行冬化步骤(即冷滤)。

[0065] 根据本文所述制备经最少加工的油的方法以及所得产品具有许多显著的优点。与制备含 PUFA 的油产品的常规方法相比,这些方法的成本较低,加工要求减少,产量增加,加工步骤的安全性提高,并且消除了废料/副产物流。而且,这些方法与天然和/或有机市场部门是一致的。

[0066] 如下文更详细所述,本发明的含 PUFA 的高品质固体脂肪产品可用于各种食品和应用。人类可直接消费固体脂肪产品,作为营养剂、饮食、医用产品或药品。此外,固体脂肪产品可与供人类消费以改善营养的任何已知的人用食品或液体组合。也可将固体脂肪产品作为饲料或者作为动物饲料的添加剂直接给予动物。这样,任何基于动物的食品被人体消费时可具有提高的品质。本发明固体脂肪产品的使用也可扩展至脂质体、药物载体、化妆品、宠物食品和水产饲料。

[0067] 在本发明的一些实施方式中,本文所述的油产品可组合形成掺混物。例如,来自隐甲藻 (*Crypthecodinium cohnii*) 的经最少加工的油可与来自高山被孢霉 (*Mortierella alpina*) 的物理精制油掺混,所得掺混物可用于制备本发明的固体脂肪组合物。作为另一个例子,采用本文所述的油可制备含 ARA 的油和含 DHA 的油的掺混物,其中 ARA 与 DHA 的比例可以变化。这种掺混物可包含比例约为 1:1 到约 2:1 的 ARA:DHA。更具体说,可制备 ARA:DHA 比例约为 1:1, 1.25:1, 1.5:1, 1.75:1 或 2:1 的掺混物。

[0068] 参考图 3,该图呈现了用于制备固体脂肪组合物的本发明的各种可选实施方式。在一个实施方式中,将半固体原油与粗品硬脂精组合形成混合物。然后对该混合物进行除臭,再形成固体脂肪产品。形成固体脂肪产品的方法可任选地包括精制步骤、漂白步骤和/或酯交换步骤。在另一实施方式中,对粗品硬脂精进行除臭,形成固体脂肪产品。单独从硬脂精形成固体脂肪产品的方法可任选地包括精制步骤和/或漂白步骤。

[0069] 在本发明的一些实施方式中,制备固体脂肪组合物的方法还包括使包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的混合物发生酯交换的步骤。这种酯交换反应也可以对硬脂精和包含饱和脂肪的油的混合物进行。进行这种酯交换的方法包括用化学催化剂或酶处理混合物。

[0070] 通常,可采用甲醇钠或乙醇钠或者碱金属作为催化剂进行酯交换化学反应。在一些实施方式中,酯交换过程中采用约 0.05 重量 %-1.5 重量 % 的甲醇钠或乙醇钠。在一些实施方式中,酯交换过程中采用约 0.1 重量 %-10 重量 % 的碱金属。在一些实施方式中,酯交换过程中采用约 0.05 重量 %-1.0 重量 % 的钠钾合金。在优选实施方式中,油混合物在 5-15mmHg 的真空、90-120℃ 的温度下干燥 0.5-2 小时,然后进行酯交换化学反应。在一些实施方式中,酯交换反应可以在约 60-105℃ 的温度下进行约 0.5-2 小时的时间。

[0071] 酶促酯交换可以用各种酶,包括脂肪酶进行。脂肪酶可以来源于植物或微生物,可以是 sn-1,3 特异性或非特异性的。在一些实施方式中,酶促酯交换可以在约 45-75℃ 的温度下进行约 0.5-24 小时。适用于酯交换的微生物脂肪酶包括来自米赫根毛霉 (*Rhizomucormiehei*)、南极念珠菌 (*Candida Antarctica*)、黑曲霉菌 (*Aspergillus niger*)、洋葱假单胞菌 (*Pseudomonas cepacia*)、萤光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*)、念珠地丝菌 (*Geotrichum candidum*)、德乐根霉 (*Rhizopus delemar*)、稻根霉菌 (*Rhizopus oryzae*) 和胎毛茶毒菌素 (*Thermomyces lanuginosus*) 的脂肪酶。

[0072] 本文所述含 PUFA 的高品质油产品可用作下文详细描述固体脂肪组合物的原

料。然而应理解,用于本发明固体脂肪组合物的原料并不限于使用本文所述的经最少加工的油产品。

[0073] 发明人意外地发现,在本发明固体脂肪组合物的优选实施方式中,包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油可混合并固化,形成固体脂肪组合物,而不需要加入乳化剂。如本文所用,术语“无外源性乳化剂”表示未加入乳化剂即可形成的本发明组合物或形成本发明组合物的方法。

[0074] 在本发明的一些实施方式中,富含 LC-PUFA 的油的未经冬化形式,包括未经冬化处理的含源自微生物的二十二碳六烯酸的油(DHA 油),可用作本发明固体脂肪组合物的原料。本发明人意外地发现,在本发明固体脂肪组合物优选的实施方式中,固体脂肪组合物是稳定的,无需使用乳化剂也可保持均质。因此,制备这种组合物的方法不再需要对油进行氢化,也不需要将这些油与乳化剂或诸如增稠剂等试剂混合。通常,精制油,即液体鱼油或微生物油,以初始原油形式制备,然后进行精制(去除磷脂和游离脂肪酸)和漂白(去除色素)步骤。然后,通常对油进行冬化,以去除饱和脂肪。然而,在本发明的一些实施方式中,在固体脂肪组合物的制备过程中,使用油作为原料之前不需要进行冬化。此外,如上所述,未经冬化处理的含油种子的油可用作微生物油的替代形式,如下所述。

[0075] 在本发明的一些实施方式中,制备固体脂肪组合物的方法包括将包含饱和脂肪的油与包含至少一种 LC-PUFA 的油混合形成混合物的步骤。然后,使该混合物固化,形成固体脂肪组合物。在本发明优选的实施方式中,混合物和所得组合物包含少于约 0.01 重量%、小于约 0.009 重量%、小于约 0.005 重量%或小于约 0.002 重量%的乳化剂。在本发明的一些实施方式中,在制备固体脂肪组合物的过程中不加入外源性乳化剂。

[0076] 由于不需要在制备本发明固体脂肪组合物的过程中加入乳化剂,所以降低了制备成本并简化了制备工艺。不受理论束缚,本发明人相信,不使用乳化剂,仅使用适当比例的包含至少一种 LC-PUFA 的油和包含饱和脂肪的油就能够配制稳定、均质的固体脂肪组合物。在一些实施方式中,包含至少一种 LC-PUFA 的油(如微生物油)与包含饱和脂肪的油(如硬脂精)的重量比约为 1:9 到约 9:1,约 1:6 到约 6:1,或约 1:3 到约 3:1。在本发明的一些实施方式中,包含至少一种 LC-PUFA 的油与包含饱和脂肪的油的重量比约为 1:1,约 3:1,或约 6:1。

[0077] 未经冬化处理的油中存在的饱和脂肪也赋予油更大的固体稠度(与冬化的液体油相比)。制备固体脂肪组合物的本发明方法还克服了未经冬化的油出现颗粒物(由于甘油三酯发生结晶)而导致这种未经冬化的油变成含颗粒的稠厚的液体油的倾向。室温下静置,未经冬化的油分离,形成其中包含固体的稠厚液体油形式的产品。本文所述方法制备了具有均质外观的光滑产品,室温下静置时稳定,不发生分离。所得产品具有起酥油的稠度。

[0078] 如本文所用,“固体脂肪组合物”表示室温下(即 25℃)为固体或半固体的组合物。脂肪和油的物理化学特性包括其粘度和熔点。优选地,本发明固体脂肪组合物的熔点至少约为 30℃,至少约 35℃,至少约 40℃,至少约 50℃。熔点取决于存在的不同化学实体的数量。与基于各种甘油三酯单独存在时的熔点所预测的相比,几种甘油三酯的混合物的熔点通常较低。混合物也将具有比单独组分更宽的熔程。甘油单酯和甘油二酯比相应脂肪酸组成的甘油三酯的熔点高。在优选实施方式中,固体脂肪组合物将保留足够的柔软度,以便能够铺展到食品上。优选地,在室温下,组合物粘稠,具有迟滞流动性质,和/或对表面的粘附

性大于用于制备该产品的原料。

[0079] 在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物的滴点约为 20-60℃。例如,本发明固体脂肪组合物的滴点至少约为 30℃,至少约 40℃,或至少约 50℃。在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物的冻凝点约为 20-40℃。例如,本发明固体脂肪组合物的冻凝点至少约为 20℃,至少约 25℃,或至少约 30℃。在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物的碘值约为 50-250。例如,本发明固体脂肪组合物的碘值至少约为 100,至少约 150,或至少约 200。在本发明的一些实施方式中,固体脂肪组合物的皂化值约为 150-275。例如,本发明固体脂肪组合物的皂化值约为 160-260,约 170-240,约 180-220,或约 185-215。在本发明的一些实施方式中,本发明固体脂肪组合物具有小于约 0.5ppm 的砷、小于约 0.04ppm 的铜、小于约 0.1ppm 的铁、小于约 0.2ppm 的铅和小于约 0.04ppm 的汞。在本发明的一些实施方式中,本发明固体脂肪组合物具有以下固体脂肪含量分布:10.0℃时约 10%-50%,约 12%-48%,或约 15%-45%;21.1℃时约 5%-35%,约 7%-30%,或约 10%-25%;26.7℃时约 2%-25%,约 4%-24%,或约 6%-20%;33.3℃时约 0-20%,约 2%-18%,或约 3%-16%;37.8℃约 0-15%,约 2%-14%,或约 0.5%-12%。

[0080] 本发明方法中用于制备固体脂肪组合物的油包括具有至少一种 LC-PUFA 的油。在一些实施方式中,具有至少一种 LC-PUFA 的油是微生物油。微生物来源以及用于回收微生物油的包括营养剂和 / 或 LC-PUFA 的微生物培养方法是本领域已知的,详细内容参见本发明对最少加工油的描述。这种微生物来源和方法适用于制备用作本发明固体脂肪组合物的原料的微生物油。的确,上述经最少加工的油是用于制备固体脂肪组合物的优选原料。然而,应理解,如下所述的许多其他微生物油原料也可用作本发明固体脂肪组合物的原料。在一个特别优选的实施方式中,微生物油是根据 2001 年 4 月 12 日提交并以 W001/76715 公开的题为“含油和极性脂肪的天然原料的分馏方法 (Method for the Fractionation of Oil and Polar Lipid-Containing Native Raw Materials)”的 PCT 专利申请序列号 PCT/IB01/00841 和 2001 年 4 月 12 日提交并以 W001/76385 公开的题为“采用水溶性有机溶剂和离心分馏含油和极性脂肪的天然原料的方法 (Method for the Fractionation of Oil and Polar Lipid-Containing Native Raw Materials Using Water-Soluble Organic Solvent and Centrifugation) 所述制备的油,其各自的内容被纳入本文作为参考。这两份 PCT 申请的内容揭示了微生物油回收方法,通常称为 Friolex 方法。

[0081] 适用于本发明的微生物包含至少一种 LC-PUFA。本发明优选的 PUFA 包括: C20、C22、或 C24 ω -3 或 ω -6PUFA。优选地, PUFA 是 LC-PUFA, 包括 C20 或 C22 ω -3, 或 C20 或 C22 ω -6PUFA。本发明 LC-PUFA 包含至少两个双键, 优选三个双键, 甚至更优选至少四个双键。具有 4 个或更多个不饱和碳-碳键的 PUFA 通常也称为高度不饱和脂肪酸, 或 HUFA。具体说, LC-PUFA 可包括二十二碳六烯酸 (至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 35 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%), 二十二碳五烯酸 n-3 (至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%), 二十二碳五烯酸 n-6 (至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%), 花生四烯酸 (至少占总脂肪酸的约 10 重量%、约 20 重量%、约 30 重量%、约 40 重量%、约 50 重量%、约 60 重量%、约 70 重量%或约 80 重量%) 和 / 或

二十碳五烯酸（至少占总脂肪酸的约 10 重量 %、约 20 重量 %、约 30 重量 %、约 40 重量 %、约 50 重量 %、约 60 重量 %、约 70 重量 % 或约 80 重量 %）。PUFA 可以是天然脂质中常见形式的任一种，包括但不限于三酰甘油，二酰甘油，单酰甘油，磷脂，游离脂肪酸，酯化脂肪酸，或这些脂肪酸的天然或合成衍生物形式（例如，脂肪酸的钙盐，乙酯等）。在优选实施方式中，微生物油包含油中至少约 70 重量 % 的甘油三酯形式的 PUFA，至少约 80 重量 %，至少约 90 重量 %，以及至少约 95 重量 %。如本文所用，术语 LC-PUFA 表示包含单一 ω -3LC-PUFA 如 DHA 的油，包含单一 ω -6LC-PUFA 如 ARA 或 DPA n-6 的油，或包含两种或更多种 LC-PUFA 如 DHA、DPA n-6、ARA 和 EPA 的混合物的油。在优选实施方式中，产品包含 LC-PUFA 以及至少一种其他营养剂。

[0082] 在本发明优选的实施方式中，本发明方法中用于制备固体脂肪组合物的包含至少一种 LC-PUFA 的油可包含约 5 重量 %–70 重量 % 的 LC-PUFA。例如，在一些实施方式中，油可包含至少约 5 重量 %、至少约 10 重量 %、至少约 15 重量 %、至少约 20 重量 % 的 LC-PUFA，至少约 25 重量 %、至少约 30 重量 %、至少约 35 重量 % 的 LC-PUFA，至少约 40 重量 %、至少约 45 重量 % 和至少约 50 重量 % 的 LC-PUFA。这样的实施方式也可具有小于约 30 重量 %、小于约 35 重量 %、小于约 40 重量 %、小于约 45 重量 %、小于约 50 重量 %、小于约 55 重量 %、小于约 60 重量 %、小于约 65 重量 % 和小于约 70 重量 % 的 LC-PUFA。

[0083] 本发明方法中用于制备固体脂肪组合物的油除包含至少一种 LC-PUFA 的油之外，还可任选地包含饱和脂肪。通常，饱和脂肪的熔点比 LC-PUFA 或 LC-PUFA 混合物高。这种饱和脂肪可外源性添加到油中。优选的外源添加的饱和脂肪包括“硬脂”例如部分氢化的植物油、完全氢化的油、部分氢化的猪油和非反式热带油。例如，可使用棕榈油和棕榈仁油及其馏分（棕榈和棕榈仁油精以及棕榈和棕榈仁硬脂精）。当组合物包含外源添加的脂肪时，LC-PUFA 油可进行或不进行冬化处理。外源添加的脂肪的优选用量可由本领域技术人员根据原料的固化程度和 / 或粘度以及所需的固化程度和 / 或粘度和 / 或组合物所需的铺展稠度进行确定。外源添加的脂肪的用量约为 20–60 重量 %，约 30–50 重量 %，约 35–45 重量 %。

[0084] 在优选实施方式中，包含至少一种 LC-PUFA 的油中饱和脂肪不是外源添加的，而是油中天然存在的。例如，包含 LC-PUFA 的微生物油可以是根据本领域已知任何方式提取的未经处理的油。在这些油中，微生物油中饱和脂肪的含量约为 20 重量 %–60 重量 %，约 30 重量 %–50 重量 %，约 35 重量 %–45 重量 %。

[0085] 在本发明优选的实施方式中，所用的包含至少一种 LC-PUFA 的油未经冬化处理（即未分馏），因而包含饱和脂肪。冬化处理是指在低温下去除许多油（包括植物油）中存在的沉积物（通常是高熔点固体饱和脂肪）的过程，最常见涉及通过过滤去除结晶材料，以免液体馏分在冷藏温度下变浑浊。该技术包括将油分离成两种或更多种具有不同熔点的馏分。分离的液体和固体馏分在物理和化学性质方面具有显著差异。合适的技术是本领域已知的，通常包括以下三个步骤：(i) 将液体油冷却至过饱和，导致晶核形成，(ii) 逐渐冷却，导致结晶渐进生长，和 (iii) 分离液相和结晶相。这些技术可包括例如常规冬化处理、去污剂分馏和溶剂冬化处理。常规冬化处理包括干燥分步结晶，其中冷却期间具有最高熔点的甘油三酯从净液体或熔化的脂肪中优先结晶。干燥分步结晶的原理是基于在受控条件下冷却油而不加入化学物质。通过机械方式分离液相和固相。去污剂分馏原理类似于在受控条

件下基于油的冷却而不加入溶剂的干燥分馏。然后,加入水性去污剂溶液后,通过离心分离液相和固相。使用溶剂(通常是丙酮)冬化处理促进甘油三酯结晶形成,因为与不使用溶剂相比,使用溶剂时低温下甘油三酯通常形成更稳定的结晶。在溶剂辅助的分馏中,可用极性或非极性溶剂来降低过滤期间体系的粘度。然后通过蒸馏去除所得馏分中的溶剂。因此,未经冬化处理的微生物油是未经冬化或分馏工艺的油。

[0086] 在其他优选的实施方式中,包含至少一种 LC-PUFA 的油未氢化或部分氢化。氢化是本领域已知的,包括在催化剂的存在下将氢气以化学方式添加到液体脂肪中的步骤。该工艺能够将脂肪分子中不饱和脂肪酸的至少一些双键转化为单键,从而提高脂肪的饱和度。氢化程度,即转化的双键总数,决定了氢化脂肪的物理和化学性质。部分氢化的油常常在其脂肪酸中保留了显著的不饱和度。氢化也可导致一些顺式双键转化为反式构型,其中一个或多个双键迁移至脂肪酸链中的新位置。当前的研究表明,反式脂肪酸可提高总胆固醇量,增加心脏病风险,其程度与饱和脂肪酸大致相同,因此是饮食中不希望存在的。本发明能够形成固体脂肪产品而不需要氢化或部分氢化步骤。

[0087] 本发明中使用的包含饱和脂肪的油可以是固体、半固体或液体形式。各种各样具有饱和脂肪的油可适当用于制备本发明的固体脂肪组合物。在一些实施方式中,包含饱和脂肪的油包括但不限于,微生物硬脂精、未分馏棕榈油、棕榈油精、棕榈硬脂精、棕榈中段馏分、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈仁硬脂精、未分馏棉籽油、棉籽油精、棉籽硬脂精、椰子油、未分馏牛油树脂油、牛油树脂硬脂精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物、鱼油硬脂精(如鲱鱼油硬脂精)以及它们的组合。在本发明优选的实施方式中,包含饱和脂肪的油未经氢化或部分氢化。

[0088] 本发明不要求在稳定的固定脂肪组合物的制备中使用乳化剂。然而,在某些实施方式中可任选地使用乳化剂。适用于本发明的乳化剂包括:甘油单酯,甘油二酯,甘油单酯/甘油二酯组合,卵磷脂,乳酰化的甘油单酯-甘油二酯,聚甘油酯,蔗糖脂肪酸酯,硬脂酰乳酸钠(sodium steroyl lactylate)、硬脂酰乳酸钙(calcium steroyl lactylate)以及它们的组合。在一些实施方式中,乳化剂是甘油单酯/甘油二酯组合。在一些实施方式中,混合物中存在的乳化剂含量约为 0.01 重量%-2.0 重量%,约 0.025 重量%-1.0 重量%,约 0.05 重量%-0.2 重量%。在本发明的优选实施方式中,乳化剂用量小于 0.01 重量%,小于 0.009 重量%,小于 0.005 重量%,或小于 0.002 重量%。在本发明尤其优选的实施方式中,在固体脂肪组合物的制备中不添加外源性乳化剂。

[0089] 据认为,乳化剂可使混合物中各组分之间保持稳定,从而维持均质组合物。缺乏稳定性可导致油分离或油相与水相分离。乳化剂除乳化作用外还可提供其他功能属性,包括充气、淀粉和蛋白质络合、水合、结晶改良、增溶和分散。然而,本发明人意外地发现,无需使用乳化剂即可制备稳定、均质的固体脂肪组合物,如本文所述。

[0090] 将包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油混合的物理步骤可以本领域已知的任何常规混合方式进行。可混合组合物以实现混合,例如获得均质的溶液。可加热包含饱和脂肪的油和/或包含至少一种 LC-PUFA 的油(例如,加热至至少约 40°C),使得组合物完全形成液体并且相互混溶。然而,本发明人发现,为形成均质的固体脂肪组合物,在混合之前加热油的步骤是不必要的。不希望受理论的束缚,本发明人相信,至少来自后续除臭步骤的热将有利于油混合物的均质化,以形成均一的固体脂肪产品,因而在混合之前加

热油是不必要的。因此,在优选实施方式中,混合之前不加热包含饱和脂肪的油和 / 或包含至少一种 LC-PUFA 的油。混合之前无需加热可有益地简化固体脂肪组合物的制备过程,并有助于能量和资源转化。

[0091] 本发明方法也包括固化包含饱和脂肪的油和包含至少一种 LC-PUFA 的油的混合物,以形成固体脂肪组合物。例如,在混合物高于室温的实施方式中,使混合物冷却至室温。或者,可将混合物主动冷却至室温,或者例如低于室温。例如,组合物可冷却至约 25-30℃,使其固化。冷却步骤期间,不论是主动还是被动冷却,可混合或搅动混合物。以这种方式,可控制冷却,从而实现均一冷却而不产生分层的组合物。优选地,可调节冷却条件,以使脂肪的晶体结构(即固体阶段分子本身取向方式)达到所需水平,得到所需的产品塑性、功能性和稳定性。通常,β-主晶(prime crystal)导致光滑、乳脂状稠度。与β-主晶相比,β-晶体通常较大、较粗糙且颗粒感较强,通常是不太希望有的。因此,在优选实施方式中,控制冷却过程以使混合物中的甘油三酯形成稳定的β-主晶,以产生具有光滑稠度的产品。实现这种优选的结晶形式的冷却方法包括以约 1-20℃ / 分钟,约 5-15℃ / 分钟,约 10℃ / 分钟的速率冷却混合物。优选地,固体脂肪组合物中至少约 50 重量%的脂肪和 / 或油,至少约 55 重量%,至少约 60 重量%,至少约 65 重量%,至少约 70 重量%,至少约 75 重量%,至少约 80 重量%,至少约 85 重量%,至少约 90 重量%,至少约 95 重量%,或约 100 重量%是β-主晶。

[0092] 在优选实施方式中,本发明固体脂肪组合物具有均一质地,因此具有均一的外观和稠度。这些实施方式的另一特征在于,组合物稳定,静置不会分离或丧失其均一质地,优选保持更长的时间。因此,静置时组合物不会产生非均一的外观或稠度。在优选实施方式中,本发明组合物可在室温下静置至少约 1 天,至少约 1 周,至少约 2 周,至少约 3 周,至少约 4 周而不分离或丧失其均一质地。

[0093] 本发明固体脂肪组合物是 LC-PUFA 的丰富来源。在一些实施方式中,固体脂肪组合物包含至少约 15 重量%,至少约 20 重量%,至少约 25 重量%,或至少约 30 重量%的至少一种 LC-PUFA,具体是二十二碳六烯酸。在本发明优选的实施方式中,固体脂肪组合物不含反式脂肪酸。

[0094] 本发明还提供了一种固体脂肪组合物,其含有包含至少一种 LC-PUFA 的硬脂精组合物和包含饱和脂肪的第二种油的混合物,所述组合物在室温下为固体。在本发明的一些实施方式中,制备这种固体脂肪组合物的方法包括:将包含至少一种 LC-PUFA 的硬脂精与包含饱和脂肪的第二种油混合,形成混合物,然后使混合物固化,形成固体脂肪组合物。合适的硬脂精包括但不限于:微生物硬脂精、鱼油硬脂精、棕榈硬脂精、棕榈仁硬脂精、棉籽硬脂精、牛油树脂硬脂精以及它们的组合。适用于本发明的包含饱和脂肪的第二种油包括但不限于:未分馏棕榈油、棕榈油精、未分馏棕榈仁油、棕榈仁油精、棕榈中段馏分、椰子油、未分馏牛油树脂油、未分馏棉籽油、棉籽油精、酯交换棕榈油掺混物、酯交换棉籽油掺混物以及它们的组合。本文所述乳化剂可任选地用于配制本发明的固体脂肪组合物。

[0095] 本发明组合物也可包含各种额外的功能成分。例如,本发明组合物可进一步包含微囊产品(microencapsulant),包括例如蛋白质、简单或复合糖,固体和颗粒物。优选的微囊产品包括:菌体颗粒物;阿拉伯胶;麦芽糊精;疏水改性淀粉;多糖,包括藻酸盐,羧甲基纤维素和瓜尔胶;疏水改性多糖如辛基取代的淀粉;蛋白质,包括乳清蛋白分离物、大豆

蛋白和酪蛋白酸钠；以及它们的组合。此外，本发明组合物还可包含表面活性剂，包括例如，阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、非离子表面活性剂、两性表面活性剂、不溶于水的乳化剂、细分颗粒和天然产生的材料。阴离子表面活性剂包括：羧酸、硫酸酯（sulfuric ester）、烷基磺酸、烷基芳族磺酸和混杂的阴离子亲水基团。阳离子表面活性剂包括胺盐、铵化合物、其他含氮碱类和非含氮碱类。非离子表面活性剂包括连接增溶基团的醚键、酯键、酰胺键、混杂的连接键和多重连接键。两性表面活性剂包括：氨基和羧基，氨基和硫酸酯，氨基和烷基磺酸，氨基和芳族磺酸，碱性和酸性基团混杂的组合。不溶于水的乳化剂包括离子性亲水基团和非离子性亲水基团。细分的颗粒包括任何细分非溶解的颗粒，包括粘土和碳。天然产生的材料包括：藻酸盐、纤维素衍生物、水溶性树胶、脂质和甾醇、磷脂、脂肪酸、醇、蛋白质、氨基酸和去污剂。本发明组合物也可包含亲水胶体。其他任选的成分包括增稠剂如多糖。增稠剂是用于提高组合物粘度的成分。在这种实施方式中，额外的功能成分是在混合步骤期间加入的。

[0096] 在一个实施方式中，固体脂肪组合物是起酥油。起酥油通常不含或包含极少外加的水或水性组分，并且包含高水平的脂肪。或者，固体脂肪组合物可以是人造奶油、涂抹酱（spread）、蛋黄酱或色拉味调料等产品。这种产品的制备可包括：将脂肪和 / 或油与其他成分如水和 / 或奶制品、合适的食用蛋白质、盐、调味剂和着色剂以及维生素 A 和 D 掺混。人造奶油通常包含至少 80% 的脂肪。蛋黄酱和色拉味调料是半固体脂肪食品，通常包含不少于 65% 的植物油和 30% 干燥全蛋或蛋黄。盐、糖、香料、调味品、醋、柠檬汁和其他成分完成这些产品。

[0097] 因此，本发明组合物可进一步包含其他成分。优选的其他成分包括：抗氧化剂，调味剂，味道促进剂，甜味剂，色素，维生素，矿物质，益生元（pre-biotic）化合物，益生菌（pro-biotic）化合物，治疗性成分，医疗成分，功能性食品成分，加工成分以及它们的组合。

[0098] 在一个尤其优选的实施方式中，其他成分是抗氧化剂。抗氧化剂是本领域已知的，可以在发酵制备微生物油或者脂质加工过程的任何时间点加入，或者在本发明方法实施期间加入。抗氧化剂有助于防止所得产品氧化变质。合适的抗氧化剂可由本领域技术人员进行选择。优选的抗氧化剂包括：抗坏血酸棕榈酸盐、生育酚、柠檬酸、抗坏血酸、叔丁基氢醌（TBHQ）、丁羟茴醚（BHA）、丁羟甲苯（BHT）、没食子酸丙酯（PG）、迷迭香提取物、卵磷脂、叶酸及其混合物和盐。抗氧化剂可以本领域常规用量加入产品中。

[0099] 包含脂质的组合物的氧化状态和稳定性可以本领域各种已知方式进行测量，许多这些技术的描述可由美国油品化学学会（American Oil Chemist's Society）以及其他来源获得。定量测定产品抗氧化稳定性的一种方法是在样品加热分解过程中测定从样品逸出的导电物质（挥发性分解产物）的量计算 Rancimat 值。在优选实施方式中，在 91.6℃ 的温度下，本发明组合物的 Rancimat 值至少约为 10 小时，至少约 15 小时，至少约 20 小时和至少约 25 小时。

[0100] 在优选实施方式中，本发明产品（包括含 PUFA 的高品质油产品和固体脂肪组合物）在适当条件下储存以尽可能减少氧化降解。实现这种储存条件的许多方法是本领域已知的并且适用于本发明，例如用惰性气体环境代替环境大气。降低或尽可能减少氧化降解的优选方法是在氮气（N₂）或氩气气氛或氮气和二氧化碳气体的混合气氛下储存产品。优选地，包装的产品在氮气下进行包装。在包含产品的容器中产生氮气气氛的方法是本领域

已知的。在其他优选的实施方式中,也可以在混合物冷却过程中向混合物中鼓送氮气以提供额外的抗氧化保护作用,从而提高产品的氧化稳定性和 / 或化学稳定性。

[0101] 在另一个优选的实施方式中,本发明产品可包含药学上可接受的赋形剂和 / 或外加的药物活性剂 (即治疗或医疗活性成分或其组合)。该实施方式尤其有利于水溶性低的药物活性剂。这种药品具有以下优点:同时提供治疗活性成分以及有益的营养剂如 LC-PUFA。药学上可接受的赋形剂的例子包括但不限于:水、磷酸盐缓冲盐水、林格溶液、右旋糖溶液、含血清溶液、汉克斯溶液、其他水性生理学平衡液、油、酯和二醇。本发明药物活性剂包括但不限于:他汀类、抗高血压药、抗糖尿病药、抗痴呆药、抗抑郁药、抗肥胖药、食欲抑制剂以及增强记忆和 / 或认知功能的药物。在另一个优选的实施方式中,本发明产品可包含食物成分如功能性食物成分、食品添加剂或其他成分。

[0102] 本发明产品可单独用作食品、营养品或药品,或者可掺入或加入食品、营养品或药品中。在第一种实施方式中,本发明产品是包含本发明油品和食物组分的产品。该产品可直接用作食品成分,例如饮料、沙司、乳制品 (如牛奶、酸奶酪、乳酪和冰淇淋) 和烘焙食物中的油和 / 或起酥油和 / 或涂抹酱和 / 或其他脂肪成分;或者可选地用作营养品,如营养补充剂 (以胶囊或片剂形式);肉品或其他产品被人消费的任何动物的饲料或饲料添加剂;任何陪伴动物,包括狗、猫和马的饲料或饲料添加剂;食品补充剂,包括婴儿食品和幼儿配方。术语“动物”表示属于动物界的任何生物体,包括但不限于可由其获得禽肉、肉类、海味、牛肉、猪肉或羊羔肉的任何动物。海味源自但不限于:鱼、虾和贝壳类动物。术语“产品”包括除了源自这些动物的肉品之外的任何产品,包括但不限于鸡蛋、牛奶或其他产品。饲养这些动物时,可将营养剂如 LC-PUFA 掺入这些动物的肉品、乳汁、蛋或其他产品中以提高这些营养物质的含量。此外,饲养这些动物时,营养剂如 LC-PUFA 可改善动物的总体健康状况。

[0103] 可以在各个制备阶段将本发明组合物加入诸如烘焙食品、维生素补充剂、饮食补充剂、粉末饮料等各种产品中。许多成品或半成品的粉末化食品可采用本发明组合物进行制备。

[0104] 可列出的包含本发明产品的部分食品包括:生面团;稀面糊;烘焙食品,包括例如蛋糕、芝士蛋糕、小圆面包、玉米饼、馅饼、纸托蛋糕、小甜饼、长条形面包、面包、小白面包、饼干、松饼、面粉糕饼、烤饼和烤面包片;液体食品,例如饮料、能量饮品、婴儿配方食品、液体膳食、果汁、多重维生素糖浆、膳食替代品、医用食品和糖浆;半固体食品,例如幼儿食品、酸奶酪、芝士、谷类、薄煎饼混合物;食品棒状物,包括能量棒;经过加工的肉;冰淇淋;冷冻甜品;冷冻酸乳酪;威化混合物;色拉酱;和替代鸡蛋混合物。还包括:烘焙食品,例如小甜饼、薄脆饼干、甜品、点心、馅饼、格兰诺拉麦片 / 点心棒和烤馅饼皮;盐腌点心如薯片、玉米片、墨西哥玉米片、挤压成形的点心、爆米花、椒盐脆饼、炸薯片和坚果;特制点心如调味液、干果点心、肉品点心、猪肉卷、健康食品棒和稻米 / 玉米蛋糕;和糖果点心如糖,以及小甜饼和蛋糕馅料。

[0105] 本发明的另一个产品实施方式是医用食品。医用食品包括基于认可的科学原理,根据由医学评估确立的独特营养需求,针对疾病或病症进行特定饮食控制,并在医师监督下外部食用或给予的制剂中的食品。

[0106] 虽然结合具体方法、产品和生物体描述了本发明,但这些描述旨在包括根据本文所述内容可获得并且有用的所有这种方法、产品和生物体,包括本领域技术人员已知的所

有替代形式、改进形式和优化形式。本文使用的脂肪酸和其他成分的来源以及含量或范围是指,包括所有组合和亚组合以及本文所述的具体实施方式。提供下面的实施例和测试结果是为了阐述目的而不是限制本发明的范围。

[0107] 实施例

[0108] 实施例 1 :高品质原油的制备

[0109] 在发酵罐中培养富含 DHA 油的裂殖壶菌属微生物以产生发酵液。收集发酵液并与 Alcalase[®] 2.4 (一种裂解的裂殖壶菌属菌体的蛋白酶)相接触。所得裂解菌体混合物是一种乳液,与 27% 异丙醇的水溶液相接触。搅拌混合该混合物,然后离心,以产生具有两相的基本非乳化产品。较重的相包含经消耗的发酵液组分,较轻的相包含含有一些异丙醇和水的富含 DHA 的油。较轻的相干燥后得到高品质的原油。

[0110] 实施例 2 :藻类油的最少加工处理

[0111] 本实施例阐述了本发明经最少加工处理的油的制备。

[0112] 大规模制备经最少加工处理的油。将 200 千克根据实施例 1 所述由含 DHA 的裂殖壶菌属微生物制得的高品质原油在氮气下加热至 65℃ -70℃。然后按约 0.2% (w/w) 的比例将 50% 柠檬酸溶液加入油中,氮气下混合 30-45 分钟。然后,将 0.2%-0.5% (w/w) 助滤剂加入油中,过滤以去除油中存在的任何杂质。然后以 180 千克 / 小时的进料速率,在 210℃ 下对油进行除臭处理。然后,在经除臭的油中补充生育酚、抗坏血酸棕榈酸盐和迷迭香提取物。每个工艺步骤中的油的特征在表 1 中给出。术语“PV”表示过氧化值;术语“FFA”表示游离脂肪酸;术语“p-AV”表示对茴香胺值。该过程的回收率大于 98%。

[0113] 表 1

工艺步骤	PV (meq/ kg)	FFA (%)	p-AV	磷(ppm)	DHA (%w/w)
原油	0.15	0.22	3.7	3.32	34.0
[0114] 柠檬酸处理	0.26	0.21	3.6	低于检测限	未分析
不含抗氧化剂进行除臭	0.28	0.13	4.9	低于检测限	未分析
含抗氧化剂进行除臭	0.0	0.15	4.0	低于检测限	33.2

[0115] 实施例 3a :物理精制

[0116] 本实施例阐述了本发明经最少加工处理的油的制备。

[0117] 将约 600 千克高品质原油 (根据实施例 1 所述制备;FFA<0.3%, 磷<10ppm, PV<2meq/kg) 在氮气和 / 或真空下加热至 50-55℃。按约 0.2% (w/w) 的比例加入 50% 柠檬酸,油在氮气和 / 或真空下于 50-55℃ 保持 15 分钟。加入 Trisyl600 (0.1%-3%w/w, 通常 0.25%), 氮气或真空下于 50-55℃ 的温度保持 15 分钟。加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (0.1%-4%w/w, 通常小于 0.5%), 将油加热至 90-95℃ 并在真空下 (>24”Hg) 保持 30 分钟。然后加入 C 盐 (0.1% - 0.5%w/w, 通常 0.2%), 油过滤通过 Sparkler 滤器。然后在 180-225 千克 / 小时的流速下于 210-225℃ 对油进行除臭。除臭后,加入抗氧化剂。该过程产生室温下呈半固体的油。

[0118] 该过程的油产率约为 92%-97%。用抗氧化剂进行的几次测试的品质数据在表 2 中示出。

[0119] 表 2

[0120]

测试编号	初始 FFA (%)	最终 FFA (%)	初始 PV (meq/kg)	最终 PV (meq/kg)	初始磷 (ppm)	最终磷 (ppm)
测试#1	<0.1	0.11	1.15	0	9.2	1.9
测试#2	<0.1	0.09	0.15	0	5.6	0
测试#3	0.28	0.19	0.25	<0.1	2.6	3.4
测试#4	0.23	0.21	0.26	0	3.3	0

[0121] 在加入抗氧化剂之前和之后测定除臭油的 FFA。加入抗氧化剂后,发现 FFA 显著提高(约 2 倍)。

[0122] 实施例 3b:物理精制(澄清油)

[0123] 本实施例阐述了本发明经最少加工处理的液体油和相关固体脂肪产品的制备。

[0124] 将约 1200 千克高品质原油(根据实施例 1 所述制备;FFA<0.3%,磷<12ppm, PV<2meq/kg)在氮气和/或真空下加热至 50-55℃。按约 0.2%(w/w)的比例加入 50 重量%柠檬酸,油在氮气和/或真空下于 50-55℃保持 15 分钟。然后,在氮气和/或真空下采用各种保持时间(0-12 小时)和搅拌速率(4-16rpm)将油从约 55℃冷却至约 35℃。此时,加入 C 盐(0.1%-0.5w/w,通常 0.2%),油过滤通过 Sparkler 滤器。对在氮气和/或真空下加热并且采用各种保持时间(0-12 小时)和搅拌速率(4-16rpm)从约 50℃冷却至约 30℃的油重复冷滤步骤。再次加入 C 盐(0.1%-0.5w/w,通常 0.2%),油过滤通过 Sparkler 滤器。然后,加入 Trisyl600(0.1%-3w/w,通常 0.25%),在氮气或真空下于 50-55℃的温度保持 15 分钟。加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土(0.1%-4w/w,通常 0.5%或更小),将油加热至 90-95℃并在真空下(>24" Hg)保持 30 分钟。加入 C 盐(0.1%-0.5w/w,通常 0.2%),油过滤通过 Sparkler 滤器。然后,在氮气和/或真空下采用各种保持时间(0-12 小时)和搅拌速率(4-16rpm)将油从约 40℃冷却至约 20℃。加入 C 盐(0.1%-0.5w/w,通常 0.2%),油过滤通过 Sparkler 滤器。然后在 180-225 千克/小时的流速下于 210-225℃对油进行除臭。除臭后,加入抗氧化剂,得到室温下澄清的油。该过程的油产率约为 55%-60%。用抗氧化剂进行的几次测试的品质数据在表 3 中示出。

[0125] 表 3

[0126]

测试编号	初始 FFA (%)	最终 FFA (%)	初始 PV (meq/kg)	最终 PV (meq/kg)	初始磷 (ppm)	最终磷 (ppm)
测试#1	0.21	0.1	0.32	0.5	<5	2.6
测试#2	0.19	0.17	<0.1	0.07	11	3.1
测试#3	0.12	0.17	0.53	0.07	3	6.5
测试#4	0.18	0.08	0.26	0	3.3	0.5

[0127] 可对滤器截留的材料进行例如加热和过滤处理,以从漂白粘土分离固体材料。加滤器截留的材料将使固体熔化。然后例如通过过滤从粘土分离熔化的固体,再通过冷却使其重新固化。回收的固体将包含约 20%-30%PUFA,其中大部分是 DHA。例如,澄清油和固

体可用作食品或食品添加剂。

[0128] 实施例 3c :物理精制 / 二氧化硅精制

[0129] 本实施例阐述了本发明经最少加工处理的油的制备。

[0130] 将约 100 千克高品质原油 (根据实施例 1 所述制备 ;FFA<0.8%, 磷 <10ppm, PV<2meq/kg) 在氮气下加热至 50-55℃。按约 0.2%(w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸, 油在氮气和 / 或真空下于 50-55℃保持 15 分钟。然后, 加入 0.5%-1.25%w/w 的二氧化硅 (Brightsorb F100), 将油在真空下加热至 85℃。保持 30 分钟之后, 加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (0.5%w/w), 将油加热至 90-95℃并在真空下 (>24" Hg) 保持 30 分钟。然后加入 C 盐 (0.1%-0.5%w/w, 通常 0.2%), 将油冷却至 60-65℃之后用布氏漏斗真空过滤。这些试验的产率为 95%-96%。这些试验的品质结果在表 4 中示出。最终的产品是半固体油。该产品也可进行除臭和 / 或漂白, 得到的仍将是半固体油。

[0131] 表 4

[0132]

测试编号	%二氧化硅	初 始 FFA(%)	最 终 FFA (%)	初 始 PV(me q/kg)	最 终 PV(meq/ kg)	初 始 AV	最 终 AV
测试#1	0.5%	0.64	0.43	1.51	1.40	6.1	n/a
测试#2	0.8%	0.64	0.34	1.51	1.33	6.1	n/a
测试#3	1.2%	0.64	0.17	1.51	1.33	6.1	6.3

[0133] 实施例 3d :改良的苛性碱精制

[0134] 本实施例阐述了本发明经最少加工处理的油的制备。

[0135] 将约 600 千克高品质原油 (根据实施例 1 所述制备 ;FFA 最高至 0.8%, 磷 <12ppm, PV<2meq/kg) 在氮气和 / 或真空下加热至 50-55℃。按约 0.2%(w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸, 油在氮气和 / 或真空下于 50-55℃保持 15 分钟。此时, 按 0.1%-0.5%w/w 的比例将 50% 苛性碱加入油中并在 60-65℃保持 15-30 分钟 (这比标准用量低大约 2-10 倍)。然后, 对油进行离心以去除油中的皂类。加入 Trisyl600 (0.1%-3%w/w, 通常 0.25%), 在氮气或真空下于 50-55℃的温度保持 15 分钟。加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (0.1%-4%w/w, 通常 0.5% 或更小), 将油加热至 90-95℃并在真空下 (>24" Hg) 保持 30 分钟。加入 C 盐 (0.1%-0.5%w/w, 通常 0.2%), 油过滤通过 Sparkler 滤器。然后在 180-225 千克 / 小时的流速下于 210-225℃对油进行除臭。除臭后, 加入抗氧化剂。该过程产生半固体液体。

[0136] 该过程的油产率约为 81%-91%。用抗氧化剂进行的几次测试的品质数据在表 5 中示出。

[0137] 表 5

[0138]

测试编号	初始 FFA (%)	最终 FFA (%)	初始 PV (meq/kg)	最终 PV (meq/kg)	初始 磷 (ppm)	最终 磷 (ppm)
测试#1	0.26	<0.1	1.37	0	11.6	4.0
测试#2	0.54	<0.1	1.84	0	9.8	4.5
测试#3	0.75	0.1	0.17	<0.1	8.0	5.0
测试#4	0.40	0.13	0	<0.1	7.0	0.6
测试#5	0.23	0.08	0.31	0	3.3	0.9

[0139] 实施例 3e :改良的苛性碱精制 / 无离心

[0140] 本实施例阐述了本发明经最少加工处理的油的制备。

[0141] 将约 100 千克高品质原油 (根据实施例 1 所述制备 ;FFA<0.3%, 磷<10ppm, PV<2meq/kg) 在氮气和 / 或真空下加热至 50-55℃。加入约 0.2%(w/w) 的 50 重量 % 柠檬酸, 油在氮气和 / 或真空下于 50-55℃保持 15 分钟。此时, 按 0.4%w/w 的比例将 50% 苛性碱溶液加入油中并在 60-65℃保持 15-30 分钟 (这比苛性碱溶液的标准用量低大约 2-10 倍)。然后, 加入 Trisyl600 (1.5%w/w), 在氮气或真空下于 50-55℃的温度保持 15 分钟。将 C 盐 (0.2%w/w) 加入油中, 用布氏漏斗真空过滤。将 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (1.0%w/w) 加入经过滤的油中, 将油加热至 90-95℃并在真空下 (>24" Hg) 保持 30 分钟。加入 C 盐 (0.2%w/w), 将油用布氏漏斗真空过滤。该试验的品质结果在表 6 中示出。最终的产品是半固体油。该产品也可进行除臭和 / 或漂白, 得到的仍将是半固体油。

[0142] 表 6

[0143]

测试编号	初始 FFA (%)	最终 FFA (%)	初始 PV (meq/kg)	最终 PV (meq/kg)	初始 AV	最终 AV
测试#1	0.64	0.14	1.51	1.21	6.1	5.6

[0144] 实施例 4 :藻类原油的干燥分馏

[0145] 本实施例阐述了根据本发明将包含裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的藻类原油干燥分馏形成油精和硬脂精馏分。

[0146] 对 350 千克原油进行本发明的干燥分馏处理, 以产生液体油精和固体硬脂精馏分。在容器中, 在搅拌的同时将藻类原油加热至 60-70℃, 以确保藻类原油内所有结晶相融化。然后在预冷却阶段将材料快速冷却至 20-30℃, 搅拌器速率提高至 40 转 / 分钟。为了在该阶段获得最高可能的传热系数, 采用冷却液, 在该实施例中是水。冷却液的温度不能显著低于成核温度。

[0147] 随后在搅拌的容器内进行成核阶段的操作, 通过将搅拌器速率降低至 30 转 / 分钟启动成核阶段。通过调节冷却液与油之间的温度差进一步冷却油, 从初始油温 20-30℃降至约 12-14℃的结晶温度。一旦达到结晶温度, 搅拌器速率降至 15 转 / 分钟。剩余的油达到所需的浊点之后, 立即将悬浮液转移至过滤单元, 从而终止结晶, 此时晶体间存在油精馏分。为监测油精馏分的浊点, 在结晶阶段进行悬浮液样品的测试过滤。

[0148] 将结晶悬浮液转移至过滤单元之后, 将液相压出滤布。对过滤室施加缓慢升高的压缩力, 所述压缩力通过用机械方法降低过滤室的体积来产生, 并缓慢升高。最终过滤压力达到 10 巴。过滤后, 对分离的馏分进行称重。油精产率是滤液重量。硬脂精产率是滤器中残留的晶体重量。测量的油精和硬脂精馏分的产率在表 7 中给出。进料、油精和硬脂精馏

分的组成在表 8 中给出。

[0149] 表 7

[0150]	参数	结果
	冷却曲线(h)	13
	浆液最终温度(°C)	14.2
	浆液固体脂肪含量(%)	7.3
	硬脂精的固体脂肪含量 (%)	39.6
	油精产率(%)	83.4
	硬脂精产率(%)	14.4

[0151] 表 8

[0152]

参数	进料	油精	硬脂精
含水量(ppm)	564-660	-	-
浊点(°C)	11.5-17.4	-4.8 to -5.5	-
碘值	235.8-265	2604-278.7	184.2-210.8
脂肪酸组成(% w/w):			
12:0	0.2-0.4	0.3-0.4	0.3-0.6
14:0	10.0-12.6	8.6-8.8	14.9-16.1
14:1	0.4-0.5	0.0-0.4	0.5-0.6
16:0	25.3-27.1	22.5-23.1	36.1-39.1
16:1	0.7-0.8	0.0	0.0
18:1n-9	0.3-1.9	0.3-0.5	0.0-0.4
22:1	0.9-1.0	1.0-1.1	0.7-0.8
20:5n-3	1.4-1.6	1.7-1.8	1.0-1.5
22:5n-6	14.6-17.1	18.0-18.3	11.9-12.9
22:6n-3	39.8-43.4	45.8-46.0	29.1-31.8
固体脂肪含量(%):			
0°C	8.7	0.0	36.3-44.1
10°C	7.5	-	34.8-41.2
15°C	6.8	-	33.2-38.5
20°C	6.1	-	30.5-35.9
25°C	5.4	-	28.9-34.0

[0153]

参数	进料	油精	硬脂精
30°C	3.1	-	26.3-31.1
35°C	2.4	-	21.0-25.4
40°C	0.8	-	12.9-17.2
45°C	0.0	-	4.5-5.2
50°C	0.0	-	1.5-2.0
55°C	0.0	-	0.0

[0154] 油精（液体）和硬脂精（固体或半固体）馏分可通过本文所述并且在上述实施例
中阐述的最少加工处理方法中的任一种，或者通过本领域已知的任何方法进一步加工，产

生脱臭的油。

[0155] 实施例 5:

[0156] 下面的实施例显示了由半固体原油和 DHA-硬脂精(1:1 质量比)形成固体脂肪产品的方法。

[0157] 将约 1 千克在冬化工艺中作为副产物由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的粗品 DHA-硬脂精真空过滤,以去除冬化工艺中引入的助滤剂。然后将约 400 克过滤的 DHA-硬脂精与 400 克含 DHA 的裂殖壶菌属微生物产生的半固体原油进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 50-55℃。按约 0.2%(w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸,油混合物在氮气下于 50-55℃保持 15 分钟。15 分钟后,将油混合物加热至 60-65℃。此时,按 0.45%(w/w) 的比例将苛性碱溶液(50% 苛性碱溶液和软水,重量比 1:3)加入油混合物中并在 60-65℃保持 15 分钟。在 60-65℃保持 15 分钟之后,将油混合物加热至 80℃,然后离心,以去除油混合物中的皂类。然后,加入 Trisyl600(0.25%w/w),在氮气或真空下于 50-55℃的温度保持 15 分钟。然后加入 Tonsil SupremeFF 漂白粘土(0.5%w/w),将油加热至 90-95℃并在真空下(>24" Hg)保持 30 分钟。然后加入 Celpure(0.1%w/w),在真空下过滤油。然后在 210℃对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样就得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40℃之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征如下:

[0158] 表 9. 实施例 5 的最终产品的物理和化学性质

	参数	结果
[0159]	化学分析: DHA (mg/g) PV (meq/kg) p-AV 反式脂肪酸 (%) 水分和挥发物(%) FFA (%) 不皂化物(%) Rancimat 值(h) 元素分析(mg/ kg): As Cu Fe Pb Hg	331.2 0.4 1.4 未检测到 0.01 0.05 1.0 15.5 < 0.5 < 0.04 0.1 < 0.2 < 0.04
	固体脂肪含量 (%): 10°C 21.1°C 26.7°C 33.3°C 37.8°C	14.6 11.0 9.2 6.0 2.3
	脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数): 12:0 14:0 16:0 16:1 18:0 18:1n-9 18:1n-7 18:2n-6 20:3n-6 20:4n-6 20:5n-3 22:5n-6 22:6n-3	0.3 12.1 29.5 0.4 0.8 1.4 0.2 0.3 0.4 1.7 1.0 13.8 36.2

[0160] 实施例 6:

[0161] 采用 0-15 级描述性感觉分析方法, 0 表示检测不到, 15 表示非常高的强度, 由 9 位训练有素的专家对实施例 5 制备的最终产品进行感觉评价。产品总体芳香强度低, 带有低强度绿色 / 近似大豆味 (green/beany-like) 和草药味。该产品的芳香性总体上具有中低强度, 主要是草药和低强度绿色 / 近似大豆味。也感觉到草药余味。在香气和芳香性中没有检测到鱼腥味或油漆味。总之, 香气和芳香性及强度均在可接受的范围内。结果在下表 10 中给出。

[0162] 表 10. 实施例 5 的最终产品的感觉评分

[0163]

属性	感觉评分
香气:	
总的影响	3
绿色/大豆味	1.5
坚果/烘烤/维生素	0
鱼腥味	0
油漆味	0
草药味	1.5
其他	0
芳香性:	
总的影响	4.5
绿色/大豆味	1.5
坚果/烘烤/维生素	0
鱼腥味	0
油漆味	0
草药味	3
其他	0
余味	草药

[0164] 实施例 7:

[0165] 下面的实施例显示了由半固体原油和粗品棕榈仁硬脂精(1:1 质量比)形成固体脂肪产品的方法。

[0166] 将约 125 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 125 克粗品棕榈仁硬脂精(PKS)进行组合。然后,将该油混合物在氮气下加热至 70℃。按约 0.1%(w/w)的比例加入 50 重量%柠檬酸,油在氮气下于 70℃保持 10 分钟。10 分钟后,按 0.6%(w/w)的比例将苛性碱溶液(50%苛性碱溶液和软水,重量比 1:3)加入油中并在 70℃保持 5 分钟。在 70℃保持 5 分钟之后,将油离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600(0.1%w/w),在氮气和/或真空下于 50-55℃的温度保持 10 分钟。然后,加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土(0.1%w/w),将油加热至 90℃并在真空下(>24"Hg)保持 15 分钟。然后加入 Celpure(0.1%w/w),真空下过滤油。然后在 210℃,用 3%的喷射蒸汽对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40℃之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 11 中给出。

[0167] 表 11. 实施例 7 的最终产品的物理和化学性质

[0168]	参数	结果
	DHA (mg/g)	173.1
	PV (meq/kg)	1.4
	p-AV	2.8
	FFA (%)	0.04
	酸值(mg KOH/g)	0.06
	皂化值	212.7
	碘值	116.7
	Wiley 熔点(°C)	35.2
	固体脂肪含量(%):	
	10°C	47.4
	21.1°C	29.4
	26.7°C	10.9
	33.3°C	0.1
	37.8°C	0.0
	脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
	10:0	1.2
	12:0	26.8
	14:0	17.2
	16:0	19.0
	16:1	0.2
	18:0	1.6
	18:1n-9	4.9
	18:2n-6	0.9
	20:4n-6	1.1
	20:5n-3	0.7
	22:5n-6	7.1
	22:6n-3	18.0

[0169] 实施例 8:

[0170] 下面的实施例显示了由半固体原油和粗品棕榈仁硬脂精(3:1 质量比)形成固体脂肪产品的方法。

[0171] 将约 500 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 166.6 克粗品棕榈仁硬脂精(PKS)进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 70°C。按约 0.1%(w/w)的比例加入 50 重量%柠檬酸,油在氮气下于 70°C 保持 10 分钟。10 分钟后,按 0.6%(w/w)的比例将苛性碱溶液(50% 苛性碱溶液和软水,重量比 1:3)加入油中并在 70°C 保持 5 分钟。在 70°C 保持 5 分钟之后,将油离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600(0.1%w/w),在氮气和/或真空下于 50-55°C 的温度保持 10 分钟。然后加入 Tonsil SupremeFF 漂白粘土(0.1%w/w),将油加热至 90°C 并在真空下(>24"Hg)保持 15 分钟。然后加入 Celpure(0.1%w/w),真空下过滤油。然后在 210°C,用 3% 的喷射蒸汽对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40°C 之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 12 中给出。

[0172] 表 12. 实施例 8 的最终产品的物理和化学性质

[0173]

参数	结果
化学分析:	
DHA (mg/g)	273.5
PV (meq/kg)	0.0
p-AV	3.3
FFA (%)	0.08
Rancimat 值(h)	21.0
反式脂肪酸 (%)	未检测到
酸值(mg KOH/g)	0.19
皂化值	199.6
碘值	191.4
Wiley 熔点(°C)	29.2
滴点(°C)	31.1
冻凝点(°C)	21.4
元素分析(mg/ kg):	
As	< 0.02
Cu	< 0.2
Fe	0.9
Pb	< 0.02
Hg	< 0.01
固体脂肪含量 (%):	
10°C	24.4
21.1°C	10.4
26.7°C	4.1
33.3°C	0.0
37.8°C	0.0
脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
10:0	0.7
12:0	13.9
14:0	13.8
15:1	0.3
16:0	22.0
16:1	0.4
18:0	1.1
18:1n-9	3.5
18:1n-7	0.2
18:2n-6	0.7
20:3n-6	0.3
20:4n-6	1.3
20:5n-3	0.8
22:5n-6	11.0
22:6n-3	28.7

[0174]

[0175] 实施例 9:

[0176] 下面的实施例显示了由半固体原油和粗品棕榈仁硬脂精(6:1 质量比)形成固体

脂肪产品的方法。

[0177] 将约 150 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 25 克粗品棕榈仁硬脂精 (PKS) 进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 70℃。按约 0.1% (w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸, 油在氮气下于 70℃ 保持 10 分钟。10 分钟后, 按 0.6% (w/w) 的比例将苛性碱溶液 (50% 苛性碱溶液和软水, 重量比 1:3) 加入油中并在 70℃ 保持 5 分钟。在 70℃ 保持 5 分钟之后, 将油离心以去除油中的皂类。然后, 加入 Trisyl600 (0.1%w/w), 在氮气和 / 或真空下于 50-55℃ 的温度保持 10 分钟。然后加入 Tonsil SupremeFF 漂白粘土 (0.1%w/w), 将油加热至 90℃ 并在真空下 (>24" Hg) 保持 15 分钟。然后加入 Celpure (0.1%w/w), 真空下过滤油。然后在 210℃, 用 3% 的喷射蒸汽对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后, 加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40℃ 之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 13 中给出。

[0178] 表 13: 实施例 9 的最终产品的物理和化学性质

参数	结果
化学分析:	
DHA (mg/g)	297.1
PV (meq/kg)	0.0
p-AV	2.4
FFA (%)	0.06
固体脂肪含量 (%):	
10°C	18.3
21.1°C	10.0
26.7°C	6.6
33.3°C	3.2
37.8°C	0.7
脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
10:0	0.4
12:0	8.1
14:0	13.4
15:1	0.3
16:0	25.1
16:1	0.3
18:0	1.0
18:1n-9	3.1
18:2n-6	0.6
20:3n-6	0.3
20:4n-6	1.7
20:5n-3	0.8
22:5n-6	12.3
22:6n-3	31.2

[0180] 实施例 10:

[0181] 下面的实施例显示了由半固体原油和粗品棕榈硬脂精 (1:1 质量比) 形成固体脂肪产品的方法。

[0182] 将约 250 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 250 克粗品棕榈硬脂精 (PS) 进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 70℃。按约 0.1%(w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸,油在氮气下于 70℃保持 10 分钟。10 分钟后,按 0.6%(w/w) 的比例将苛性碱溶液 (50% 苛性碱溶液和软水,重量比 1:3) 加入油中并在 70℃保持 5 分钟。70℃保持 5 分钟之后,将油离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600 (0.1%w/w),在氮气和 / 或真空下于 50-55℃的温度保持 10 分钟。然后加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (0.5%w/w),将油加热至 90℃并在真空下 (>24" Hg) 保持 15 分钟。然后加入 Celpure (0.1%w/w),真空下过滤油。然后在 210℃,用 3% 的喷射蒸汽对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40℃之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 14 中给出。

[0183] 表 14. 实施例 10 的最终产品的物理和化学性质

参数	结果
DHA (mg/g)	186.9
PV (meq/kg)	2.2
<i>p</i> -AV	1.5
FFA (%)	0.04
酸值(mg KOH/g)	0.06
皂化值	191.6
碘值	141.3
Wiley 熔点(℃)	53.0
<i>固体脂肪含量 (%)</i> :	
10℃	43.5
21.1℃	29.4
26.7℃	22.7
33.3℃	16.5
37.8℃	13.4
<i>脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数)</i> :	
12:0	0.3
14:0	6.3
16:0	40.6
16:1	0.2
18:0	3.2
18:1n-9	16.7
18:1n-7	0.3
18:2n-6	3.2
20:0	0.3
20:4n-6	1.1
20:5n-3	0.8
22:5n-6	7.4
22:6n-3	19.0

[0185] 实施例 11:

[0186] 下面的实施例显示了由半固体原油和粗品棕榈硬脂精 (6:1 质量比) 形成固体脂

肪产品的方法。

[0187] 将约 900 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 150 克粗品棕榈硬脂精 (PS) 进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 70℃。按约 0.1%(w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸,油在氮气下于 70℃保持 10 分钟。10 分钟后,按 0.6%(w/w) 的比例将苛性碱溶液 (50% 苛性碱溶液和软水,重量比 1:3) 加入油中并在 70℃保持 5 分钟。在 70℃保持 5 分钟之后,将油离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600 (0.1%w/w),在氮气和 / 或真空下于 50-55℃的温度保持 10 分钟。然后加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (0.5%w/w),将油加热至 90℃并在真空下 (>24" Hg) 保持 15 分钟。然后加入 Celpure (0.1%w/w),真空下过滤油。然后在 210℃,用 3% 的喷射蒸汽对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40℃之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 15 中给出。

[0188] 表 15. 实施例 11 的最终产品的物理和化学性质

[0189]

参数	结果
化学分析:	
DHA (mg/g)	299.9
PV (meq/kg)	0.0
p-AV	0.4
FFA (%)	0.07
Rancimat 值(h)	17.3
反式脂肪酸 (%)	未检测到
酸值(mg KOH/g)	0.2
皂化值	186.7
碘值	214.7
Wiley 熔点(℃)	35.4
滴点(℃)	41.6
冻凝点(℃)	27.3
元素分析(mg/ kg):	
As	< 0.02
Cu	< 0.2
Fe	< 0.5
Pb	< 0.02
Hg	< 0.01

[0190]

<i>固体脂肪含量(%):</i>	
10°C	16.3
21.1°C	11.7
26.7°C	8.8
33.3°C	6.4
37.8°C	4.1
<i>脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):</i>	
12:0	0.4
14:0	10.5
15:1	0.4
16:0	31.4
16:1	0.3
18:0	1.5
18:1n-9	6.4
18:1n-7	0.2
18:2n-6	1.4
20:3n-6	0.3
20:4n-6	1.6
20:5n-3	1.0
22:5n-6	11.8
22:6n-3	31.5

[0191] 实施例 12：

[0192] 下面的实施例显示了由半固体原油和酯交换棕榈油掺混物(1:1 质量比)形成固体脂肪产品的方法。

[0193] 将约 500 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 500 克得自奥尔胡斯卡尔斯沙姆美国有限公司(AarhusKarlshamn Inc. (新泽西州纽华克港 (PortNewark, N. J.)) 的酯交换棕榈油掺混物(Cisao81-36 ;源自棕榈油和棕榈仁油的酯交换产物)进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 70°C。按约 0.1%(w/w) 的比例加入 50 重量 % 柠檬酸,油在氮气下于 70°C 保持 10 分钟。10 分钟后,按 0.6%(w/w) 的比例将苛性碱溶液(50% 苛性碱溶液和软水,重量比 1:3)加入油中并在 70°C 保持 5 分钟。在 70°C 保持 5 分钟之后,将油离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600(0.1%w/w),在氮气和 / 或真空下于 50-55°C 的温度保持 10 分钟。然后加入 Tonsil SupremeFF 漂白粘土(0.5%w/w),将油加热至 90°C 并在真空下(>24" Hg)保持 15 分钟。然后加入 Celpure(0.1%w/w),真空下过滤油。然后在 210°C,用 3% 的喷射蒸汽对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40°C 之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 16 中给出。

[0194] 表 16. 实施例 12 的最终产品的物理和化学性质

[0195]

参数	结果
DHA (mg/g)	173.5
PV (meq/kg)	0.6
p-AV	4.2
FFA (%)	0.05
酸值(mg KOH/g)	0.08
皂化值	188.9
碘值	139.8
Wiley 熔点(°C)	45.7
固体脂肪含量(%):	
10°C	33.0
21.1°C	17.7
26.7°C	12.5
33.3°C	8.3
37.8°C	6.6
脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
12:0	0.3
14:0	6.0
15:1	0.4
16:0	38.2
16:1	0.2
18:0	2.7
18:1n-9	20.3
18:1n-7	0.4
18:2n-6	4.9
20:0	0.3
20:4n-6	1.0
20:5n-3	0.7
22:5n-6	6.8
22:6n-3	17.5

[0196] 实施例 13:

[0197] 下面的实施例显示了由半固体原油与 DHA-硬脂精(1:1 质量比)经酯交换形成固体脂肪产品的方法。

[0198] 将约 300 克在冬化工艺中作为副产物由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的粗品 DHA-硬脂精真空过滤,以去除冬化工艺中引入的助滤剂。将约 300 克由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 0.2%(w/w)Celpure 助滤剂混合并真空过滤以去除油中的水分。然后将约 225 克经过滤的 DHA-硬脂精与 225 克经过滤的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油进行组合。将油混合物在真空下加热至 90°C 并在完全真空下保持 30 分钟。30 分钟后,使油混合物冷却至 80°C。此时,按 1.5%(w/w,基于油)的比例将乙醇钠溶液(在变性乙醇中的 21 重量%的溶液;6.75 克)加入油中并在氮气下于 80°C 保持 30 分钟。然后,按 3%(w/w)的比例加入预热至 80°C 的水,混合 5 分钟。然后将油混合物离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600(0.5%w/w),在氮气下于 50-55°C 的温度保持 15 分钟。然后加入 Tonsil SupremeFF 漂白粘土(1.5%w/w),将油加热至 90°C 并在真空下(>24" Hg)保

持 15 分钟。然后加入 Celpure (0.1%w/w), 真空下过滤油。然后在 210°C 对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后, 加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-40°C 之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 17 中给出。

[0199] 表 17. 实施例 13 的最终产品的物理和化学性质

参数	结果
DHA (mg/g)	346.1
PV (meq/kg)	0.0
<i>p</i> -AV	0.7
FFA (%)	0.06
Rancimat 值(h)	17.0
反式脂肪酸 (%)	未检测到
元素分析(mg/ kg):	
As	< 0.02
Cu	< 0.2
Fe	< 0.5
Pb	< 0.02
Hg	< 0.01
固体脂肪含量 (%):	
10°C	12.1
21.1°C	9.9
26.7°C	7.4
33.3°C	3.9
37.8°C	1.3
脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
12:0	0.3
14:0	11.8
15:1	0.4
16:0	28.5
16:1	0.3
18:0	0.7
18:1n-9	0.5
18:1n-7	0.2
18:2n-6	0.2
20:0	0.2
20:3n-6	0.4
20:4n-6	1.7
20:5n-3	1.0
22:5n-6	14.2
22:6n-3	38.1

[0202] 实施例 14:

[0203] 下面的实施例显示了油掺混物经酯交换形成固体脂肪产品的过程。

[0204] 将约 180 克脱臭的半固体油和 24 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的液体油与 48 克脱臭的棕榈油和 48 克脱臭的棕榈硬脂精进行组合。将油混合物在真空下

加热至 90-110℃并在完全真空下保持 30-120 分钟。30-120 分钟后,使油混合物冷却至 80-100℃。此时,按 1.0%-1.5%(w/w) 的比例将乙醇钠溶液(在变性乙醇中的 21 重量 % 的溶液)加入油中并在氮气下于 80-100℃保持 30 分钟。然后,按 3%(w/w) 的比例加入预热至 80-100℃的水,混合 5-10 分钟。然后将油混合物离心以去除油中的皂类。然后,加入 Trisyl600(0.5%w/w),在氮气下于 50-55℃的温度保持 15 分钟。然后加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土(1.5%w/w),将油加热至 90℃并在真空下(>24" Hg)保持 15-30 分钟。然后加入 Celpure(0.1%w/w),真空下过滤油。然后在 210℃对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后,加入抗氧化剂。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35℃之后,将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 18 中给出。

[0205] 表 18. 实施例 14 的最终产品的物理和化学性质

参数	结果
DHA (mg/g)	217.0
PV (meq/kg)	1.0
<i>p</i> -AV	2.0
FFA (%)	0.1
反式脂肪酸 (%)	未检测到
熔点(℃)	36.0
固体脂肪含量 (%):	
10℃	20.0
21.1℃	11.7
26.7℃	8.3
33.3℃	4.4
37.8℃	2.4
脂肪酸分布 (占脂肪酸总量的百分数):	
12:0	0.5
14:0	8.8
16:0	34.6
16:1	0.3
18:0	2.3
18:1n-9	13.9
18:1n-7	0.3
18:2n-6	3.0
18:3n-6	0.1
18:3n-3	0.1
20:0	0.3
20:3n-6	0.2
20:4n-6	1.3
20:5n-3	0.8
22:5n-6	8.8
22:6n-3	23.7

[0207] 实施例 15:

[0208] 下面的实施例显示了由脱臭的半固体油与脱臭的棕榈硬脂精(4:1 质量比)经物理掺混形成固体脂肪产品的方法。

[0209] 将约 160 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 40 克脱臭的棕榈硬脂精进行组合。然后将该油混合物加热至 65℃, 搅拌 15 分钟。15 分钟后, 将油混合物冷却至 30-35℃。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35℃之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 19 中给出。

[0210] 表 19. 实施例 15 的最终产品的物理和化学性质

[0211]	参数	结果
	DHA (mg/g)	260.0
	PV (meq/kg)	0.3
	<i>p</i> -AV	4.3
	FFA (%)	0.08
	熔点(°C)	45.7
	固体脂肪含量 (%):	
	10°C	25.1
	21.1°C	19.2
	26.7°C	15.4
	33.3°C	11.1
	37.8°C	8.5

[0212] 实施例 16:

[0213] 下面的实施例显示了由脱臭的半固体油与脱臭的棕榈硬脂精 (5:1 质量比) 经物理掺混形成固体脂肪产品的方法。

[0214] 将约 250 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 50 克脱臭的棕榈硬脂精进行组合。然后将该油混合物加热至 65℃, 搅拌 15 分钟。15 分钟后, 将油混合物冷却至 30-35℃。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35℃之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 20 中给出。

[0215] 表 20. 实施例 16 的最终产品的物理和化学性质

[0216]	参数	结果
	DHA (mg/g)	286.3
	PV (meq/kg)	0.4
	<i>p</i> -AV	2.8
	FFA (%)	0.2
	酸值(mg KOH/g)	0.3
	Wiley 熔点(°C)	43.0
	碘值	210.8
	皂化值	181.9
	滴点(°C)	38.3
	冻凝点(°C)	33.0
	固体脂肪含量 (%):	

[0217]	10°C	19.1
	21.1°C	14.1
	26.7°C	11.0
	33.3°C	8.0
	37.8°C	5.6
	<i>脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):</i>	
	12:0	0.4
	14:0	9.3
	16:0	32.8
	16:1	0.4
	18:0	1.7
	18:1n-9	7.8
	18:1n-7	0.3
	18:2n-6	1.6
	20:0	0.2
	20:3n-6	0.3
	20:4n-6	1.7
	20:5n-3	1.2
	22:5n-6	11.4
	22:6n-3	29.5

[0218] 实施例 17：

[0219] 下面的实施例显示了由脱臭的半固体油与脱臭的棕榈仁硬脂精 (5:1 质量比) 经物理掺混形成固体脂肪产品的方法。

[0220] 将约 250 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 50 克除臭的棕榈仁硬脂精进行组合。然后将该油混合物加热至 60°C, 搅拌 15 分钟。15 分钟后, 将油混合物冷却至 30-35°C。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35°C 之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 21 中给出。

[0221] 表 21. 实施例 17 的最终产品的物理和化学性质

[0222]	参数	结果
	DHA (mg/g)	289.9
	PV (meq/kg)	0.0
	p-AV	2.5
	FFA (%)	0.1
	酸值(mg KOH/g)	0.3
	Wiley 熔点(°C)	35.0
	碘值	205.2
	皂化值	190.2

[0223]	滴点(°C)	33.3
	冻凝点(°C)	26.5
	固体脂肪含量(%):	
	10°C	21.8
	21.1°C	11.5
	26.7°C	6.4
	33.3°C	3.1
	37.8°C	0.5
	脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
	12:0	9.4
	14:0	13.7
	16:0	24.6
	16:1	0.3
	18:0	1.0
	18:1n-9	3.3
	18:2n-6	0.6
	20:3n-6	0.3
	20:4n-6	1.6
	20:5n-3	0.8
	22:5n-6	12.0
	22:6n-3	30.3

[0224] 实施例 18:

[0225] 下面的实施例显示了由脱臭的半固体油与脱臭的棕榈仁硬脂精(9:1 质量比)经物理掺混形成固体脂肪产品的方法。

[0226] 将约 900 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 100 克脱臭的棕榈仁硬脂精进行组合。然后将该油混合物加热至 60°C, 搅拌 15 分钟。15 分钟后, 将油混合物冷却至 30-35°C。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35°C 之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 22 中给出。

[0227] 表 22. 实施例 18 的最终产品的物理和化学性质

[0228]	参数	结果
	DHA (mg/g)	308.4
	PV (meq/kg)	0.9
	p-AV	3.7
	FFA (%)	0.07
	酸值(mg KOH/g)	0.06
	Wiley 熔点(°C)	35.8
	碘值	219.6

[0229]	皂化值	187.6
	固体脂肪含量 (%):	
	10°C	14.0
	21.1°C	7.7
	26.7°C	5.2
	33.3°C	2.5
	37.8°C	0.8
	脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
	12:0	5.9
	14:0	12.8
	16:0	25.6
	16:1	0.3
	18:0	0.9
	18:1n-9	2.7
	18:2n-6	0.5
	20:3n-6	0.4
	20:4n-6	1.9
	20:5n-3	1.4
	22:5n-6	12.8
	22:6n-3	32.9

[0230] 实施例 19:

[0231] 下面的实施例显示了由脱臭的半固体油与脱臭的 Cisao81-36 (酯交换的棕榈油掺混物) (9:1 质量比) 经物理掺混形成固体脂肪产品的方法。

[0232] 将约 900 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的半固体原油与 100 克脱臭的 Cisao81-36 进行组合。然后将该油混合物加热至 60°C, 搅拌 15 分钟。15 分钟后, 将油混合物冷却至 30-35°C。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35°C 之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 23 中给出。

[0233] 表 23. 实施例 19 的最终产品的物理和化学性质

[0234]	参数	结果
	DHA (mg/g)	311.2
	PV (meq/kg)	0.6
	p-AV	3.5
	FFA (%)	0.04
	酸值(mg KOH/g)	0.06
	Wiley 熔点(°C)	34.3

[0235]	碘值	219.5
	皂化值	187.5
	<i>固体脂肪含量 (%)</i> :	
	10°C	13.3
	21.1°C	9.2
	26.7°C	6.8
	33.3°C	4.1
	37.8°C	2.6
	<i>脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数)</i> :	
	12:0	0.4
	14:0	10.4
	16:0	29.4
	16:1	0.3
	18:0	1.2
	18:1n-9	5.9
	18:2n-6	1.2
	20:3n-6	0.4
	20:4n-6	1.9
	20:5n-3	1.4
	22:5n-6	12.8
	22:6n-3	32.8

[0236] 实施例 20：

[0237] 下面的实施例显示了经不同油的物理掺混形成固体脂肪产品的过程。

[0238] 将约 120 克脱臭的半固体油和 16 克脱臭的由裂殖壶菌属微生物产生的含 DHA 的液体油与 32 克脱臭的棕榈油和 32 克脱臭的棕榈硬脂精进行组合。然后将该油混合物加热至 70°C，搅拌 15 分钟。15 分钟后，将油混合物冷却至 30-35°C。这样得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35°C 之后，将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 24 中给出。

[0239] 表 24. 实施例 21 的最终产品的物理和化学性质

[0240]	参数	结果
	DHA (mg/g)	223.5
	PV (meq/kg)	2.2
	p-AV	0.0
	FFA (%)	0.07
	<i>固体脂肪含量 (%)</i> :	
	10°C	26.9
	21.1°C	16.7
	26.7°C	13.0

[0241]	33.3°C	9.1
	37.8°C	6.6
	脂肪酸分布(占脂肪酸总量的百分数):	
	12:0	0.5
	14:0	8.9
	15:1	0.3
	16:0	34.8
	16:1	0.3
	18:0	2.3
	18:1n-9	13.8
	18:2n-6	3.0
	20:0	0.3
	20:4n-6	1.3
	20:5n-3	0.0
	22:5n-6	8.8
	22:6n-3	23.5

[0242] 实施例 21:

[0243] 下面的实施例显示了由粗品鱼油和棕榈油 (1:3 质量比) 形成固体脂肪产品的实验室规模方法。

[0244] 将约 75 克粗品鲱鱼油与 225 克粗品棕榈油进行组合。然后将该油混合物在氮气下加热至 50-55°C。按约 0.2%(w/w) 的比例将 50 重量 % 柠檬酸加入油中, 油在氮气下于 50-55°C 保持 15 分钟。15 分钟后, 将油混合物加热至 65-70°C。此时, 按 5.0%(w/w, 基于油) 的比例将苛性碱溶液 (50% 苛性碱溶液和软水, 重量比 1:3) 加入油中并在 65-70°C 保持 15 分钟。65-70°C 保持 15 分钟之后, 将油混合物离心以去除油中的皂类。然后, 加入 Trisyl600 (0.1%w/w), 在氮气下于 50-55°C 的温度保持 15 分钟。然后加入 Tonsil Supreme FF 漂白粘土 (1.0%w/w), 将油加热至 90°C 并在真空下 (>24" Hg) 保持 15 分钟。然后加入 Celpure (0.1%w/w), 真空下过滤油。然后在 210°C 对油进行除臭处理 30 分钟。除臭后, 加入抗氧化剂。得到室温下为固体的均质产物。冷却至 30-35°C 之后, 将所得结晶脂肪转移至容器中储存。最终产品的品质特征和物理性质在表 25 中给出。

[0245] 表 25. 实施例 21 的最终产品的物理和化学性质

[0246]

参数	结果
DHA (mg/g)	18.3
PV (meq/kg)	0.26
<i>p</i> -AV	3.3
FFA (%)	0.3
Wiley 熔点(°C)	32.8
碘值	84.5
皂化值	197.7
<i>固体脂肪含量 (%)</i> :	
10°C	33.6
21.1°C	9.9
26.7°C	5.1
33.3°C	2.0
37.8°C	0.9
<i>脂肪酸分布 (占脂肪酸总量的百分数):</i>	
12:0	0.5
14:0	3.1
16:0	35.0
16:1	2.9
18:0	4.4
18:1n-9	33.9
18:1n-7	1.2
18:2n-6	7.5
18:3n-6	0.1
18:3n-3	0.4
20:0	0.4
20:3n-6	0.0
20:4n-6	0.3
20:5n-3	3.7
22:5n-3	0.6
22:6n-3	1.8

[0247] 上述内容描述了本发明的原理、优选的实施方式和操作模式。本文使用的脂肪酸和其他成分的来源以及含量或范围旨在包括所有组合和亚组合以及本文所述的具体实施方式。然而,本发明旨在保护的¹范围不应解释为限于所描述的具体形式,这些具体形式应视作示例性而非限制性的。本领域技术人员可以作出各种变化和改变,只要不背离本发明的精神。因此,上述实现本发明的最佳模式应视作示例性的,而非限制本发明的范围和精神,本发明的范围和精神由所附权利要求书限定。

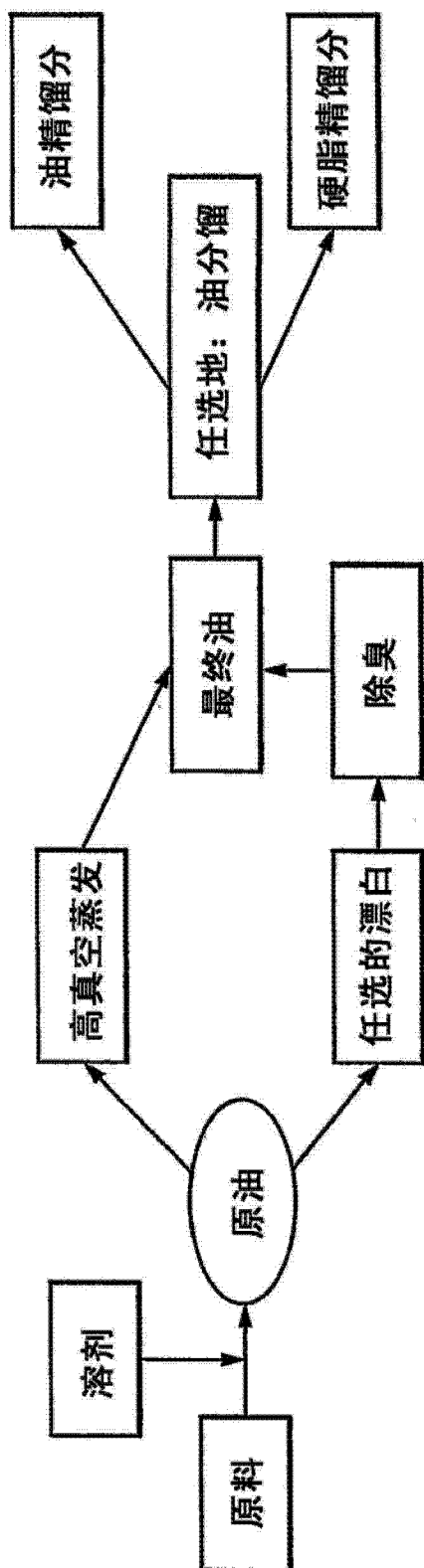


图 1

最少工艺加工的PUFA油

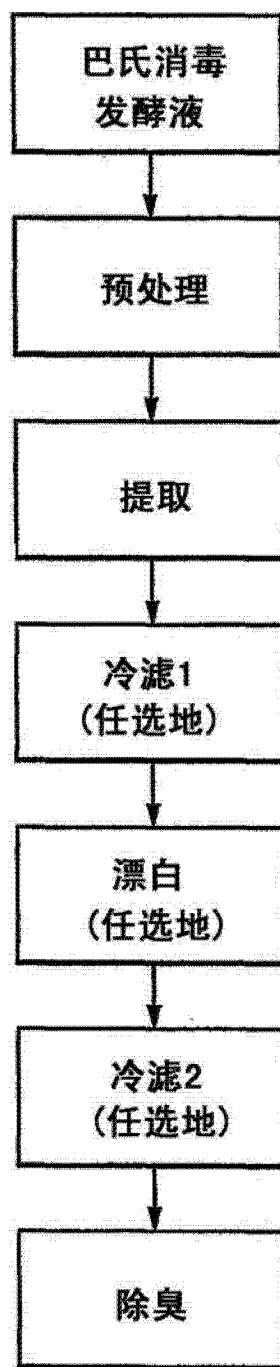


图 2

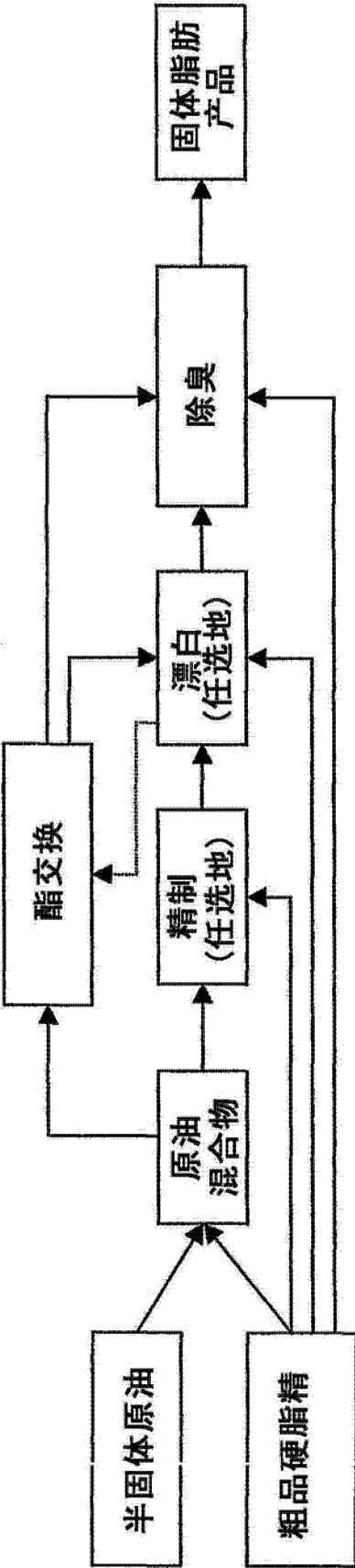


图 3