

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2019 年 10 月 24 日 (24.10.2019)



(10) 国际公布号
WO 2019/200675 A1

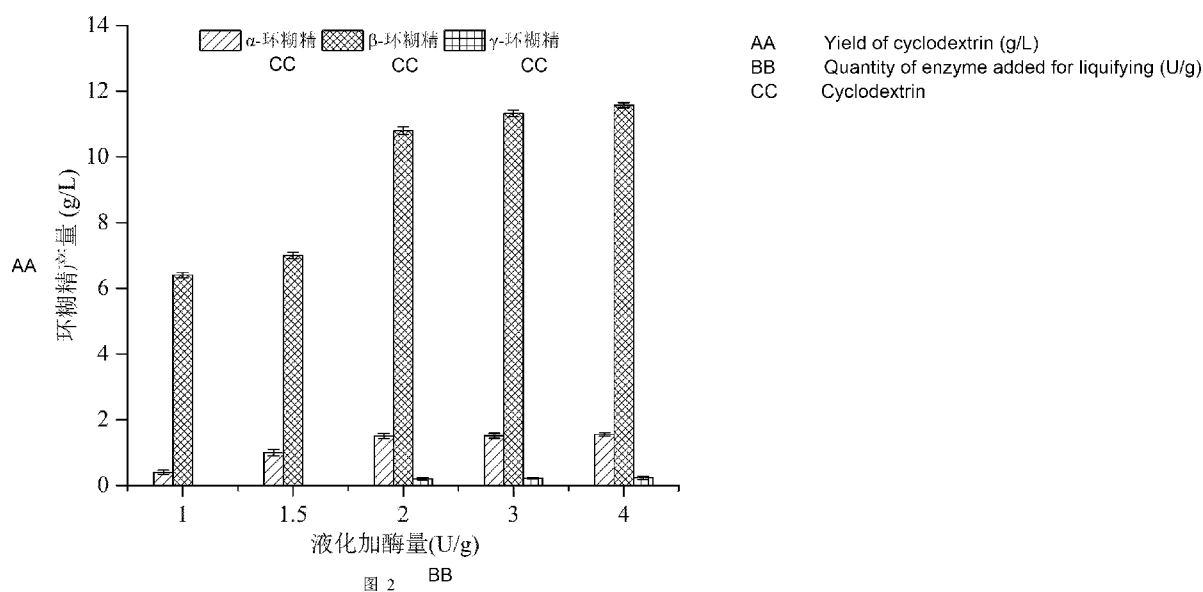
- (51) 国际专利分类号:
B01J 13/00 (2006.01) *A23P 10/00* (2016.01)
A23K 10/00 (2016.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2018/089940
- (22) 国际申请日: 2018 年 6 月 5 日 (05.06.2018)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201810347106.7 2018年4月18日 (18.04.2018) CN
- (71) 申请人: 江南大学(JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/
CN]; 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号
张勇, Jiangsu 214122 (CN)。
- (72) 发明人: 李才明(LI, Caiming); 中国江苏省无锡市
蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

李兆丰(LI, Zhaofeng); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 陈双娣(CHEN, Shuangdi); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 顾正彪(GU, Zhengbiao); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 冯焱(FENG, Yan); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 李泽西(LI, Zexi); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 程力(CHENG, Li); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 洪雁(HONG, Yan); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

(74) 代理人: 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司(HARBIN SHINEIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国黑龙江省

(54) Title: METHOD FOR CLATHRATING TRIBUTYRIN BY MEANS OF ENZYMATIC METHOD

(54) 发明名称: 一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法



(57) Abstract: The present invention relates to the technical field of grease microencapsulation, and disclosed is a method for clathrating tributyrin by means of an enzymatic method. According to the present invention, synthesis of cyclodextrin by an enzymatic method is combined with clathration of tributyrin by cyclodextrin. The method comprises preparing cyclodextrin by means of an enzymatic method using a CGT enzyme; during the preparation process, tributyrin is added; after the reaction, Tween is added; homogenizing and spray-drying are performed. The effect of the finally obtained tributyrin powder is much better than the single clathration effect of cyclodextrin. The present invention has a simple process and low costs, and is convenient to operate; the reaction process is non-toxic harmless and pollution-free; no toxic reagent is remained; the clathration effect is obvious; and the better utilization of the nutritive

哈尔滨市松北区科技一街99号18栋E501
张勇, Heilongjiang 150028 (CN)。

- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

additive, tributyrin, in practical production is facilitated.

(57) 摘要: 本发明公开了一种酶法包合三丁酸甘油酯的方法, 属于油脂微胶囊化技术领域。本发明将酶法合成环糊精和环糊精包合三丁酸甘油酯相结合, 包括CGT酶法制备环糊精, 制备过程中加入三丁酸甘油酯, 反应后添加吐温, 均质, 喷雾干燥。最终得到的三丁酸甘油酯粉末效果远好于单一环糊精包合效果。本发明工艺简单、成本低廉、操作方便, 反应过程无毒害无污染, 无有毒试剂残留, 包合效果显著, 有利于三丁酸甘油酯这一营养性添加剂在实际生产中更好地得到利用。

一种酶法包合三丁酸甘油酯的方法

技术领域

本发明涉及一种酶法包合三丁酸甘油酯的方法，属于油脂微胶囊化技术领域。

背景技术

三丁酸甘油酯(甘油三丁酸酯, $C_{15}H_{26}O_6$)，是由三分子丁酸和一分子甘油酯化而成。其中，丁酸作为短链脂肪酸的一种，以其绿色环保、使用安全、提高动物生产性能、维持肠道结构完整性等功能，被认为是抗生素类饲料添加剂的潜在替代品，但在实际应用过程中存在许多问题，如易游离性、易挥发性、臭味特殊、半衰期较短。而三丁酸甘油酯作为丁酸的前体物，半衰期长，使用方便，安全无毒副作用，既解决了丁酸为液态易挥发难以添加的特点，又改善了直接使用丁酸气味难闻的缺点，同时也具有促进畜禽肠道健康发育，提高机体免疫力，促进营养物质消化吸收等功能，在调节新陈代谢及维护动物机体健康等方面发挥着重要的作用，因此，成为目前较好的营养性添加剂产品。

环糊精是由环糊精葡萄糖基转移酶(CGT 酶)通过其特征环化反应作用于淀粉、糖原和麦芽低聚糖等葡聚糖聚合物而得到的环状低聚糖。它们由 6 个及 6 个以上 D-吡喃葡萄糖经 α -1,4-糖苷键连接而成的。常见的环糊精是以 6、7 和 8 个葡萄糖单元连接形成的 α -、 β -和 γ -环糊精，这三种环糊精也是目前工业上应用最多的环糊精。环糊精由于略呈锥状的中空圆筒形，具有外部亲水、内部疏水的特性，使其能与许多疏水性客体分子形成包合物，从而能改变客体分子的理化性质，如溶解度、挥发性和化学性能等。同时， α -、 β -和 γ -环糊精耐酸、耐热、耐碱，无吸湿性，没有固定的熔点，热稳定性较好。

三丁酸甘油酯虽比丁酸及其盐类具有更好的潜在应用价值，但也存在一定的异味、流动性差问题，利用环糊精其特殊的内腔这一特点来包合三丁酸甘油酯，能有效地改善其分散性和流动性、掩蔽异味以及延长保存期。若直接采用环糊精产品作为壁材对三丁酸甘油酯进行包合，存在成本高、含油率低、溶解性差等缺点，而结合环糊精生产过程还未见报道。

发明内容

本发明提供了一种酶法包合三丁酸甘油酯的方法，即将酶法合成环糊精和环糊精包合三丁酸甘油酯的过程相结合，包括 CGT 酶酶法制备环糊精，制备过程中加入三丁酸甘油酯，反应后添加乳化剂，均质，喷雾干燥，从而降低成本。

本发明采用的技术方案在于以 15%~30%的淀粉乳或麦芽糊精溶液为原料进行酶法合成环糊精，进而包合三丁酸甘油酯，即芯材为三丁酸甘油酯，壁材为酶作用于底物后得到的环

糊精、糊精及结束后加入的乳化剂（例如吐温）等的混合物。

本发明中所用的原料可为玉米淀粉、蜡质玉米淀粉、马铃薯淀粉、大米淀粉、木薯淀粉和小麦淀粉中的一种或几种，或是上述淀粉来源的 DE 值为 5~25 之间的麦芽糊精。

本发明的一种实施方式中，所述方法按顺序进行液化，环化反应，混合乳化，剪切，均质和喷雾干燥六个步骤：

(1) 在淀粉乳或麦芽糊精溶液中加入 2~4 U/(g 淀粉或麦芽糊精湿基) CGT 酶在 80~90°C 下液化 30~60 min；

(2) 冷却至 37~45°C 后，加入 2~4 U/(g 淀粉或麦芽糊精湿基) CGT 酶环化反应 8~12 h，反应结束后加入三丁酸甘油酯，所述三丁酸甘油酯与淀粉或麦芽糊精的质量比为(0.30~0.75): 1；

(3) 在上述的溶液中加入乳化剂，混合均匀；所述乳化剂可以是吐温、阿拉伯胶、黄原胶等中的一种或几种，乳化剂添加量与淀粉或麦芽糊精的质量比为 (0.3~0.5): 1；

(4) 高速剪切机 8000~20000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min；

(5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液，均质压力为 30~40 MPa，均质次数为 2~3 次；

(6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯，喷雾干燥条件为：进风温度 180~185°C，出风温度 85~95°C，进料流量为 20~22 mL/min。

本发明的有益效果：

(1) 本发明通过将酶法合成环糊精和环糊精包合三丁酸甘油酯相结合，以酶作用于底物后得到的环糊精、糊精及结束后加入的乳化剂作为壁材，来包合三丁酸甘油酯，工艺简单，省却了环糊精分离纯化步骤，大大降低了生产成本。

(2) 利用 CGT 酶作用于淀粉时，除了生成环糊精外，还生成一些低聚糖、糊精等物质，低聚糖、糊精等物质在微胶囊可与其他壁材成分复合使用，而不必进行分离纯化，能使成本大大降低。

(3) 本发明制备的三丁酸甘油酯粉末包埋效果好，可以较好地改善三丁酸甘油酯的溶解性和分散性，延长贮存期，保证了产品的质量。

附图说明

图 1 不同底物制备的乳化液纳米粒径分布图(A: 玉米淀粉；B: 马铃薯淀粉；C: 麦芽糊精)。

图 2 液化加酶量对环糊精产量的影响。

图3 不同均质压力下制备的乳化液纳米粒径分布图(A: 20~30 MPa; B: 30~40 MPa; C: 40~50 MPa)。

图4 未添加乳化剂和添加乳化剂的乳液和粉末油脂溶解后的状态图(A: 乳液; B: 粉末油脂溶解后的溶液)。

具体实施方式

乳化液或粉末产品中 α -环糊精、 β -环糊精、 γ -环糊精含量的测定按如下方法进行:

(1) 取一定量的乳化液或粉末产品, 用 10mM 磷酸缓冲液(pH 6.5)稀一定倍数, 混匀, 待用。

(2) α -环糊精含量的测定采用甲基橙法: 取稀释一定倍数后的待测溶液, 加入 1.0 M 的盐酸溶液 1.0 mL, 再加入 1.0 mL 由 10 mM 磷酸缓冲液配制的 0.1 mM 甲基橙溶液, 在室温下显色 20 min, 在 505 nm 下测定吸光度。以缓冲液作为空白。

(3) β -环糊精含量的测定采用酚酞法: 取稀释一定倍数后的待测溶液, 加入 3.5 mL 30 mM NaOH, 再加入 0.5 mL 由 5 mM Na_2CO_3 溶液配制的 0.02% (w/v) 酚酞溶液, 在室温下显色 20 min, 在 550 nm 下测定吸光度。以缓冲液作为空白。

(4) γ -环糊精含量的测定采用溴甲酚绿法: 取稀释一定倍数后的待测溶液, 加入 1.0 M 的盐酸溶液 50 μL , 随后加入 0.2 M、pH 4.2 的柠檬酸缓冲液 2 mL 和 5 mM BCG 溶液 100 μL , 在室温下显色 20 min, 在 615 nm 下测定吸光度。以缓冲液作为空白。

乳化液或粉末产品中三丁酸甘油酯含量的测定采用 HPLC 法:

选择色谱柱为 C18 柱, 柱温 30°C, 流动相为乙腈-水(60: 40), 流速 1.0 mL/min, 吸收波长为 225 nm。

实施例 1 环糊精包合三丁酸甘油酯和酶法包合三丁酸甘油酯的比较

直接以环糊精包合三丁酸甘油酯的过程如下:

三丁酸甘油酯预先用乙醇混合(三丁酸甘油酯与乙醇质量比 1: 1), 4% β -环糊精加热溶解后冷却至 50°C 后, 将三丁酸甘油酯的乙醇溶液缓慢加入至上述溶液中, 其中, 三丁酸甘油酯添加量与 β -环糊精质量比为 (0.1~0.5): 1。充分振荡混匀, 在 50°C 下超声 30 min。反应结束后, 进行冷冻干燥, 得到干燥, 密封保存。

酶法包合三丁酸甘油酯的制备过程如下进行:

(1) 以质量浓度 20% 的玉米淀粉溶液为底物, 加入 CGT 酶于 90°C 下液化 60 min, 其中 CGT 酶的添加量为 2 U/(g 淀粉湿基);

(2) 冷却至 45°C, 加入 2 U/(g 淀粉) CGT 酶进行环化反应 12 h, 结束后往体系中添加三丁

酸甘油酯，三丁酸甘油酯与淀粉原料比为 (0.3~0.5): 1 (质量比);

(3) 在上述溶液中加入吐温-20 乳化剂混合均匀，乳化剂与淀粉比为 0.2: 1(质量比);

(4) 高速剪切机 8000~2000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min;

(5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液，均质压力为 30~40 MPa，均质次数为 2~3 次。

(6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯，喷雾干燥条件为：进风温度 180~185°C，出风温度 85~95°C，进料流量为 20~22 mL/min。

对直接采用环糊精产品对三丁酸甘油酯进行包合和将酶法包合三丁酸甘油酯制得的粉末油脂进行观察结果见表 1：采用不同三丁酸甘油酯、 β -环糊精添加比得到的环糊精包合三丁酸甘油酯的 3 个产品中，添加量为 0.3: 1 及以上时，粉末油脂有油腻感，并且味道较重，而且将产品于室温下溶解在水中，均出现明显的分层现象；而酶法包合三丁酸甘油酯制得的粉末油脂均一稳定，味道明显减轻，溶解后放置一段时间后未出现分层现象。因此，酶法包合三丁酸甘油酯具有溶解度高、掩盖气味好的优势。

表 1 环糊精包合三丁酸甘油酯和酶法包合三丁酸甘油酯比较结果

产品比较	环糊精包合三丁酸甘油酯			酶法包合三丁酸甘油酯	
	0.1: 1	0.3: 1	0.5: 1	0.3: 1	0.5: 1
含油率 (质量分数)	8.8%	21.9%	32.9%	15%	21%
粉末状态	均一稳定	稍微油腻	油腻	均一稳定	均一稳定
粉末气味	轻	较重	较重	轻	轻
溶解后状态 ¹	分层	分层	分层	不分层	不分层

¹粉末与水以 0.05: 1 比例混合均匀，放置 5 天后观察其状态。

实施例 2 以不同底物制备三丁酸甘油酯包埋物

三丁酸甘油酯粉末油脂的制备过程按如下进行：

(1) 分别以质量浓度 20%的玉米淀粉、马铃薯淀粉或麦芽糊精(DE=10)为底物，加入 2 U/(g 淀粉或麦芽糊湿基)CGT 酶于 90°C 下液化 60 min;

(2) 冷却至 45°C，加入 2 U/(g 淀粉或麦芽糊湿基)CGT 酶进行环化反应 12 h，结束后往体系中添加三丁酸甘油酯，三丁酸甘油酯与淀粉或麦芽糊精原料比为 0.30: 1(质量比);

(3) 在上述溶液中加入吐温-20 乳化剂混合均匀，乳化剂与淀粉或麦芽糊精比为 0.2: 1(质量比)

(4) 高速剪切机 8000~2000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min;

(5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液, 均质压力为 30~40 MPa, 均质次数为 2~3 次。(6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯, 喷雾干燥条件为: 进风温度 180~185°C, 出风温度 85~95°C, 进料流量为 20~22 mL/min。

分别以玉米淀粉、马铃薯淀粉或麦芽糊精为底物时, 所得的乳化液的纳米粒径结果见图 1。三种乳化液的粒径主要分布在 70~1000 nm 之间, 具有较好的均一性。同时, 3 种乳化液放置 15 天后仍不分层, 均一稳定。喷雾干燥后制得的粉末分散性好, 味道减轻, 放置 15 天后无渗油现象。

实施例 3 液化加酶量对粉末三丁酸甘油酯制备过程中乳液的影响

三丁酸甘油酯粉末油脂的制备过程按如下进行:

(1) 以 20%的玉米淀粉为底物, 加入 CGT 酶于 90°C 下液化 60 min, 其中液化加酶量分别为 1、1.5、2、3、4 U/(g 淀粉湿基);

(2) 冷却至 45°C, 加入 2 U/(g 淀粉)CGT 酶进行环化反应 12 h, 结束后往体系中添加三丁酸甘油酯, 三丁酸甘油酯与淀粉原料比为 0.30: 1(质量比);

(3) 在上述溶液中加入吐温-20 乳化剂混合均匀, 乳化剂与淀粉比为 0.2: 1(质量比);

(4) 高速剪切机 8000~2000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min;

(5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液, 均质压力为 30~40 MPa, 均质次数为 2~3 次。

(6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯, 喷雾干燥条件为: 进风温度 180~185°C, 出风温度 85~95°C, 进料流量为 20~22 mL/min。

不同液化加酶量得到的溶液中三种环糊精的产量结果见图 2。CGT 酶在液化过程中添加量较低(1 和 1.5 U/g)时, 主产物 β -环糊精明显较低, γ -环糊精未测出; 而添加量为 2、3 和 4 U/g 时, 主产物 β -环糊精产量分别达到 10.8、11.2 和 11.6 g/L。同时, 在液化并随后环化过程中发现加酶量 ≤ 1.5 U/g, 体系粘度较高, 这可能造成环化过程中因搅拌不充分, 环糊精产量较低。另外, 体系粘度较高不利于后续的乳化混合、剪切和均质等操作。而加酶量为 2、3 和 4 U/g 时, 制得的溶液粘度合适, 易搅拌, 可以进行后续的乳化混合、剪切和均质等操作, 喷雾干燥制得的粉末分散性好, 味道减轻, 放置 15 天后无渗油现象。

实施例 4 均质压力对粉末三丁酸甘油酯制备过程中乳液的影响

三丁酸甘油酯粉末油脂的制备过程按如下进行:

(1) 以 20%的玉米淀粉为底物, 加入 CGT 酶于 90°C 下液化 60 min, 其中液化加酶量为 2 U/(g 淀粉湿基);

- (2) 冷却至 45°C, 加入 2 U/(g 淀粉)CGT 酶进行环化反应 12 h, 结束后往体系中添加三丁酸甘油酯, 三丁酸甘油酯与淀粉原料比为 0.30: 1(质量比);
- (3) 在上述溶液中加入吐温-20 乳化剂混合均匀, 乳化剂与淀粉比为 0.2: 1(质量比);
- (4) 高速剪切机 8000~2000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min;
- (5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液, 均质压力分为 20~30、30~40 和 40~50MPa, 均质次数为 2~3 次;
- (6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯, 喷雾干燥条件为: 进风温度 180~185°C, 出风温度 85~95°C, 进料流量为 20~22 mL/min。

不同均质压力下得到的乳化液的纳米粒径分布见图 3, 均质压力越大, 乳液的主要分布粒径越小。在低的均质压力(20~30 MPa)下, 粒径分布较不均匀, 主要集中在 1000 nm 处, 而在 30 MPa 压力以上, 均质后的乳液均呈正态分布。40~50 MPa 虽使乳液的粒径更小, 但提升幅度不大, 且对均质机设备要求较高。因此, 选取均质压力为 30~40 MPa 较为合适。

实施例 5 是否添加乳化剂对粉末三丁酸甘油酯制备的影响

三丁酸甘油酯粉末油脂的制备过程按如下进行:

- (1) 以 20%的玉米淀粉为底物, 加入 CGT 酶于 90°C 下液化 60 min, 其中液化加酶量为 2 U/(g 淀粉湿基);
- (2) 冷却至 45°C, 加入 2 U/(g 淀粉)CGT 酶进行环化反应 12 h, 结束后往体系中添加三丁酸甘油酯, 三丁酸甘油酯与淀粉原料比为 0.30: 1(质量比);
- (3) 在上述溶液中加入吐温-20 乳化剂混合均匀, 乳化剂与淀粉比为 0.2: 1(质量比), 以不添加乳化剂为参照;
- (4) 高速剪切机 8000~2000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min;
- (5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液, 均质压力为 30~40 MPa, 均质次数为 2~3 次;
- (6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯, 喷雾干燥条件为: 进风温度 180~185°C, 出风温度 85~95°C, 进料流量为 20~22 mL/min。

将未添加乳化剂和添加乳化剂条件下得到的乳液及粉末油脂溶解后的溶液放置 24 h 后进行状态对比, 结果见图 4, 能明显看到, 不添加乳化剂时, 乳状液和粉末油脂溶解后的溶液放置一段时间后出现分层的现象; 而添加乳化剂制得的乳状液和粉末油脂均均一稳定且不分层。

实施例 6 三丁酸甘油酯添加量对粉末三丁酸甘油酯制备的影响

三丁酸甘油酯粉末油脂的制备过程按如下进行：

- (1) 以 20% 的玉米淀粉为底物，加入 CGT 酶于 90°C 下液化 60 min，其中液化加酶量为 2 U/(g 淀粉湿基)；
- (2) 冷却至 45°C，加入 2 U/(g 淀粉)CGT 酶进行环化反应 12 h，结束后往体系中添加三丁酸甘油酯，三丁酸甘油酯与淀粉原料比为 0.30：1、0.50：1、0.75：1、1：1(质量比)；
- (3) 在上述溶液中加入吐温-20 乳化剂混合均匀，乳化剂与淀粉比为 0.2：1(质量比)，以不添加乳化剂为参照；
- (4) 高速剪切机 8000~2000 rpm 下高速剪切上述溶液 2~5 min；
- (5) 将(4)得到的乳化液均质得到均一稳定的乳化液，均质压力为 30~40 MPa，均质次数为 2~3 次；
- (6) 将(5)得到的乳化液喷雾干燥得到粉末三丁酸甘油酯，喷雾干燥条件为：进风温度 180~185°C，出风温度 85~95°C，进料流量为 20~22 mL/min。

不同添加量下制得的粉末油脂测得的含油率及状态结果见表 2。三丁酸甘油酯与淀粉比为 (0.30~0.75)：1 时，制得的乳化液稳定且粉末油脂状态及溶解性均良好，且随着三丁酸甘油酯添加量的增加，含油率越来越高。但三丁酸甘油酯与淀粉比为 1：1 时，乳化液有分层的现象，且粉末稍有油腻；含油率稍有提高，但提高幅度不大。主要原因可能是三丁酸甘油酯添加量过多，会导致体系包埋效果不好，未包埋的部分在喷雾干燥过程中更不稳定，受热易分解。

表 2 不同油脂添加量制得粉末油脂的含油率及状态

油脂添加量 (甘油酯：淀粉)	0.30：1	0.50：1	0.75：1	1：1
含油率	15%	20%	32.8%	35.2%
乳液稳定性	不分层	不分层	不分层	稍有分层
粉末状态	均一、稳定	均一、稳定	均一、稳定	均一、稍微油腻
溶解性	好	好	好	好

虽然本发明已以较佳实施例公开如上，但其并非用以限定本发明，任何熟悉此技术的人，在不脱离本发明的精神和范围内，都可做各种的改动与修饰，因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

1、一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，以质量浓度 15%~30%的淀粉乳或麦芽糊精溶液为原料，加酶进行液化、环化反应，并在环化反应结束后，添加三丁酸甘油酯、乳化剂，进而包含三丁酸甘油酯。

2、根据权利要求 1 所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，所述淀粉为玉米淀粉、蜡质玉米淀粉、马铃薯淀粉、大米淀粉、木薯淀粉和小麦淀粉中的一种或几种，所述麦芽糊精是上述淀粉来源的 DE 值为 5~25 之间的麦芽糊精。

3、根据权利要求 1 所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，所述方法的步骤顺序为液化反应、环化反应、混合乳化、剪切、均质和喷雾干燥。

4、根据权利要求 1~3 任一所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，所述酶为环糊精葡萄糖基转移酶。

5、根据权利要求 1~4 任一所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，所述的三丁酸甘油酯与淀粉或麦芽糊精的质量比为 (0.30~0.75): 1。

6、根据权利要求 1~5 任一所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，液化时，环糊精葡萄糖基转移酶添加量为 2~4 U/g 淀粉或麦芽糊精湿基，液化温度为 80~90°C，液化反应时间为 30~60 min。

7、根据权利要求 1~6 任一所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，环化时，环糊精葡萄糖基转移酶添加量为 2~4 U/g 淀粉或麦芽糊精湿基，环化温度为 45°C，环化反应时间为 8~12 h。

8、根据权利要求 1~7 任一所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，所述乳化剂为吐温、阿拉伯胶、黄原胶等中的一种或几种，乳化剂与淀粉或麦芽糊精的质量比为 (0.3~0.5): 1。

9、根据权利要求 3~8 任一所述的一种酶法包含三丁酸甘油酯的方法，其特征在于，剪切速度为 8000~20000 rpm，剪切时间为 2~5 min；均质压力为 30~40 MPa，均质次数为 2~3 次；喷雾干燥条件为：进风温度 180~185°C，出风温度 85~95°C，进料流量为 20~22 mL/min。

10、根据权利要求 1~9 任一所述方法制备得到的包合物，其特征在于，芯材为三丁酸甘油酯，壁材为酶作用于底物后得到的环糊精、糊精与乳化剂混合物。

11、权利要求 10 所述包合物在制备饲料用抗生素添加剂的替代物中的应用。

12、含有权利要求 10 所述包合物的饲料用抗生素添加剂替代物。

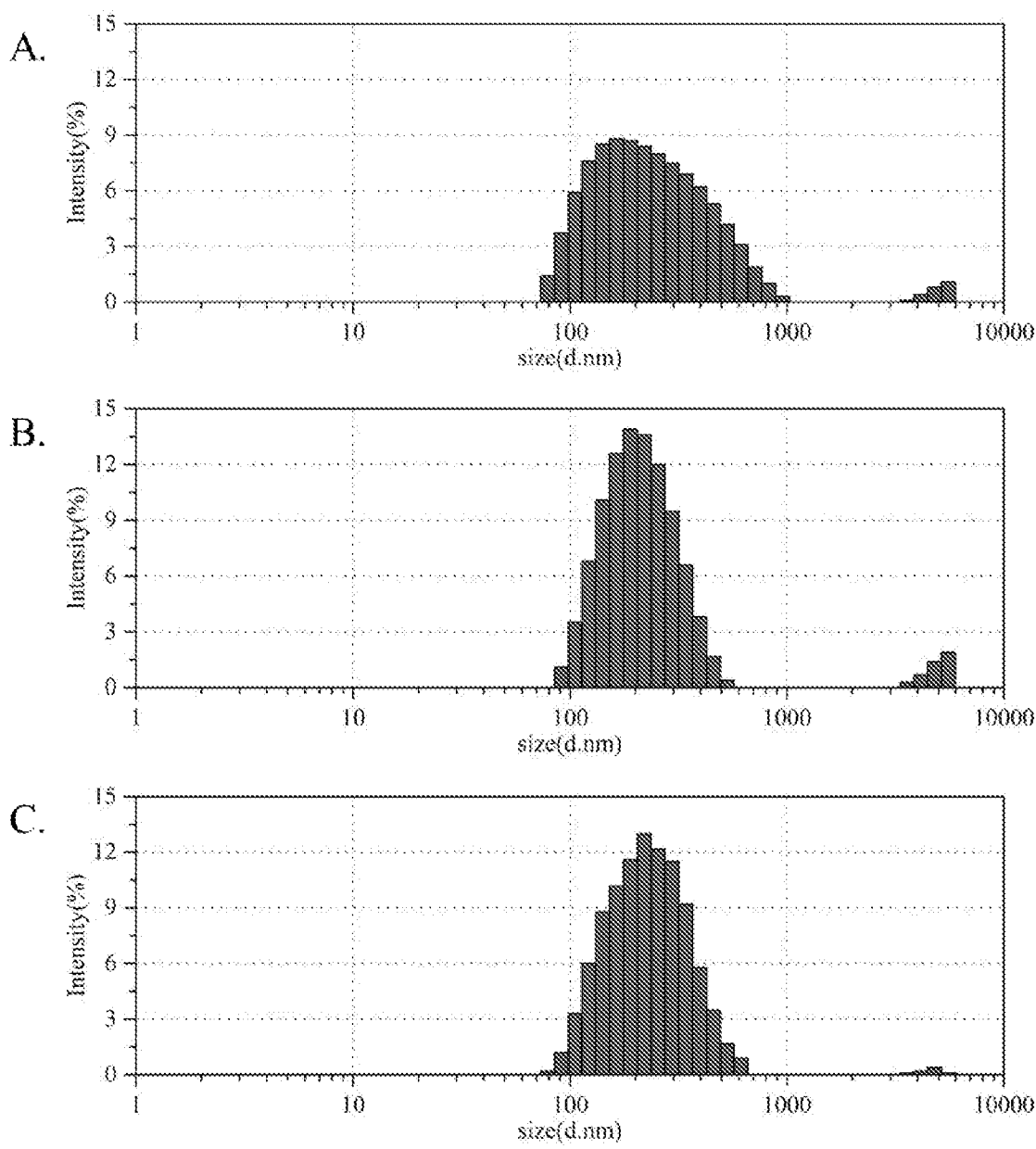


图 1

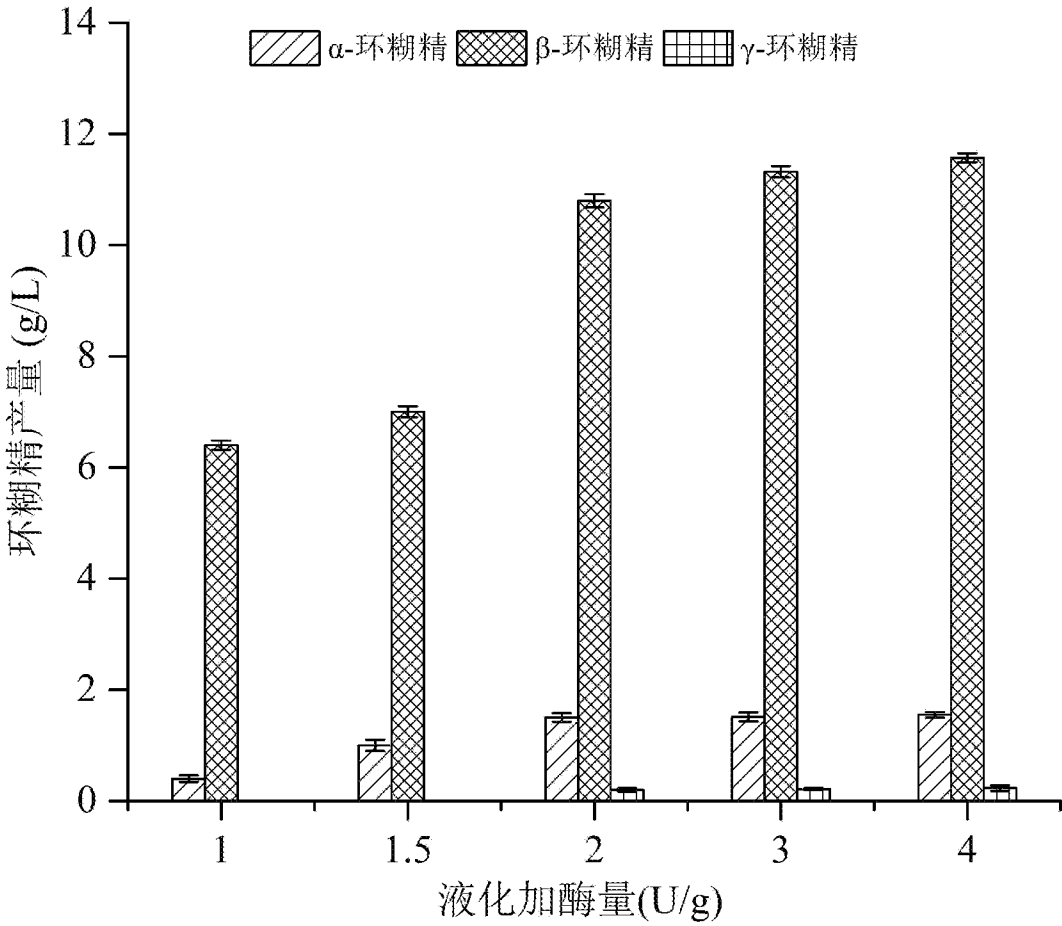


图 2

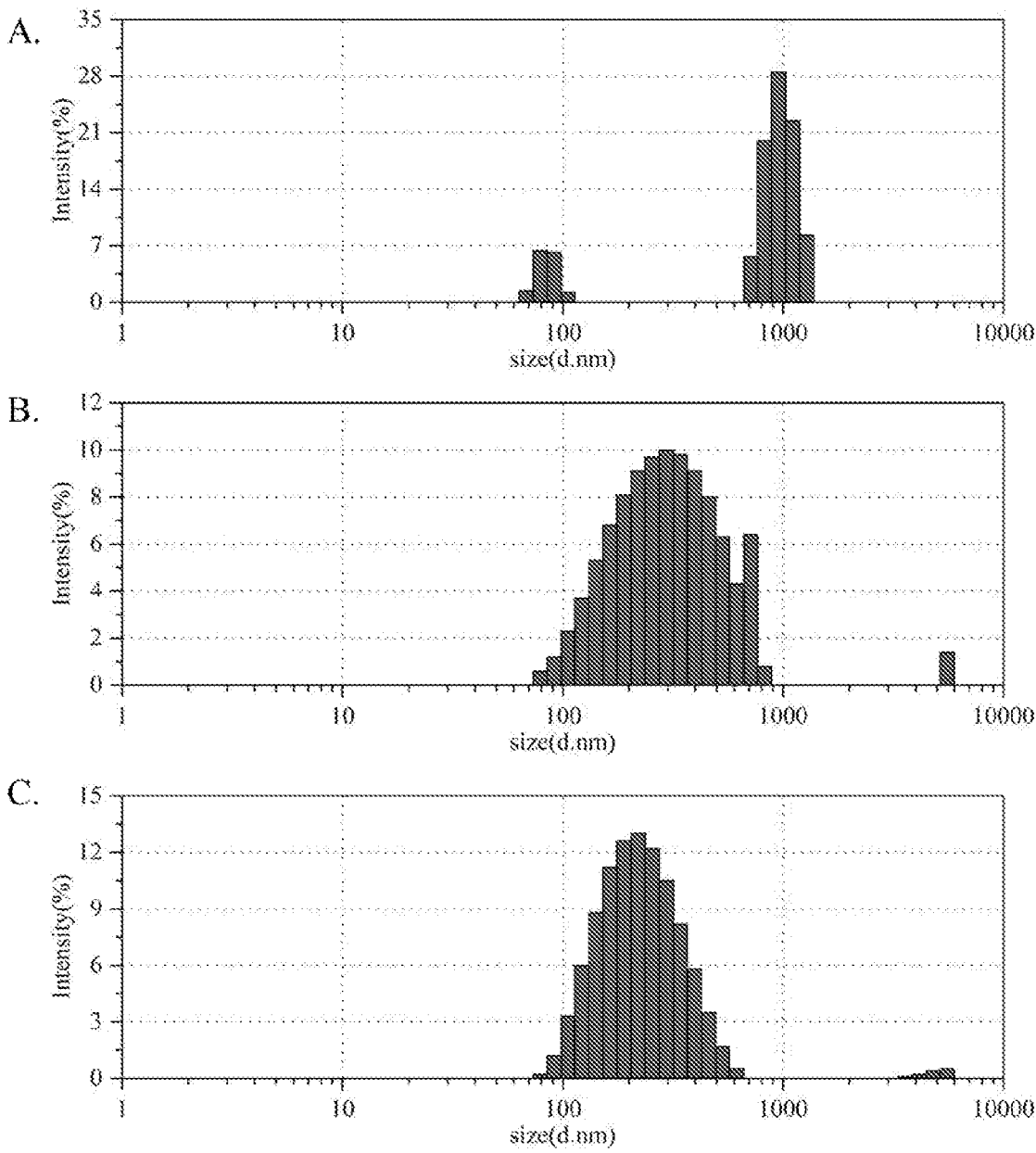


图 3

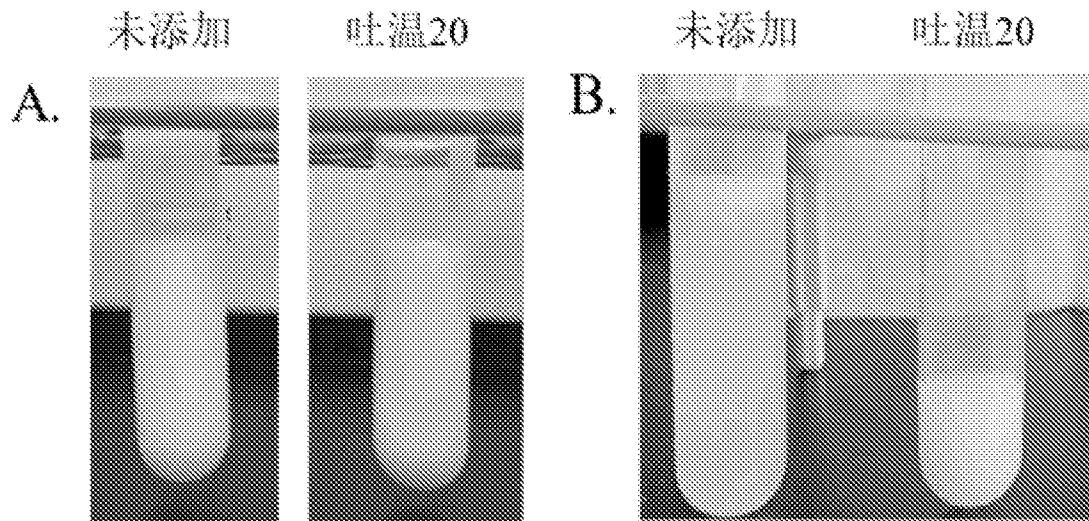


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/089940

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

B01J 13/00(2006.01)i; A23K 10/00(2016.01)i; A23P 10/00(2016.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B01J; A23K; A23P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CPRSABS; DWPI; SIPOABS; CJFD; CNKI: 三丁酸甘油酯, 甘油三丁酸酯, 环糊精, 环糊精葡萄糖基转移酶, 微胶囊, glyceryl tributrylate, cyclodextrin, CGTase, cyclodextrin glucanotransferase

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 2574431 Y (WANG, SHEN) 24 September 2003 (2003-09-24) description, page 2, penultimate paragraph to page 3, paragraph 2, and claims 1-3	1-12
Y	CN 101319243 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 10 December 2008 (2008-12-10) description, page 1, paragraph 2 to page 2, last paragraph, and claims 1-3	1-12
Y	CN 106480133 A (YELLOW SEA FISHERIES RESEARCH INSTITUTE, CHINESE ACADEMY OF FISHERY SCIENCES) 08 March 2017 (2017-03-08) description, paragraph [0003]	1-12
Y	CN 103243140 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 14 August 2013 (2013-08-14) claim 1	1-12
Y	CN 101301030 A (SINGAO (XIAMEN) AGRIBUSINESS DEVELOPMENT CO., LTD.) 12 November 2008 (2008-11-12) description, page 2, paragraph 8, and claims 4-6 and 10	1-12
A	CN 105746905 A (HUNAN JINGTIAN TECHNOLOGY INDUSTRY CO., LTD.) 13 July 2016 (2016-07-13) entire document	1-12
A	CN 104106734 A (ZHEJIANG UNIVERSITY) 22 October 2014 (2014-10-22) entire document	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 July 2018

Date of mailing of the international search report

14 August 2018

Name and mailing address of the ISA/CN

State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/089940**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 104509701 A (CAO, SHENGYAN ET AL.) 15 April 2015 (2015-04-15) entire document	1-12
A	张桂枝等 (ZHANG, Guizhi et al.). "环糊精包合物在药物制剂中的应用 (Application of Cyclodextrin in Medicament Production)" 郑州牧业工程高等专科学校学报 (<i>Modern Animal Husbandry</i>), Vol. 27, No. (02), pages 29-30 and 46	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/089940

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	2574431	Y	24 September 2003	None			
CN	101319243	A	10 December 2008	CN	101319243	B	05 January 2011
CN	106480133	A	08 March 2017	None			
CN	103243140	A	14 August 2013	CN	103243140	B	25 June 2014
CN	101301030	A	12 November 2008	None			
CN	105746905	A	13 July 2016	None			
CN	104106734	A	22 October 2014	None			
CN	104509701	A	15 April 2015	CN	104509701	B	11 July 2017

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/089940

A. 主题的分类 B01J 13/00(2006.01)i; A23K 10/00(2016.01)i; A23P 10/00(2016.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																										
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) B01J; A23K; A23P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS; CPRSABS; DWPI; SIPOABS; CJFD; CNKI: 三丁酸甘油酯, 甘油三丁酸酯, 环糊精, 环糊精葡萄糖基转移酶, 微胶囊, glyceryl tributyrates, cyclodextrin, CGTase, cyclodextrin glucanotransferase																										
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>CN 2574431 Y (王申) 2003年 9月 24日 (2003 - 09 - 24) 说明书第2页倒数第2段至第3页第2段, 权利要求1-3</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101319243 A (江南大学) 2008年 12月 10日 (2008 - 12 - 10) 说明书第1页第2段至第2页最后1段, 权利要求1-3</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 106480133 A (中国水产科学研究院黄海水产研究所) 2017年 3月 8日 (2017 - 03 - 08) 说明书第[0003]段</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 103243140 A (江南大学) 2013年 8月 14日 (2013 - 08 - 14) 权利要求1</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101301030 A (新奥厦门农牧发展有限公司) 2008年 11月 12日 (2008 - 11 - 12) 说明书第2页第8段, 权利要求4-6、10</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 105746905 A (湖南晶天科技实业有限公司) 2016年 7月 13日 (2016 - 07 - 13) 全文</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104106734 A (浙江大学) 2014年 10月 22日 (2014 - 10 - 22) 全文</td> <td>1-12</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 2574431 Y (王申) 2003年 9月 24日 (2003 - 09 - 24) 说明书第2页倒数第2段至第3页第2段, 权利要求1-3	1-12	Y	CN 101319243 A (江南大学) 2008年 12月 10日 (2008 - 12 - 10) 说明书第1页第2段至第2页最后1段, 权利要求1-3	1-12	Y	CN 106480133 A (中国水产科学研究院黄海水产研究所) 2017年 3月 8日 (2017 - 03 - 08) 说明书第[0003]段	1-12	Y	CN 103243140 A (江南大学) 2013年 8月 14日 (2013 - 08 - 14) 权利要求1	1-12	Y	CN 101301030 A (新奥厦门农牧发展有限公司) 2008年 11月 12日 (2008 - 11 - 12) 说明书第2页第8段, 权利要求4-6、10	1-12	A	CN 105746905 A (湖南晶天科技实业有限公司) 2016年 7月 13日 (2016 - 07 - 13) 全文	1-12	A	CN 104106734 A (浙江大学) 2014年 10月 22日 (2014 - 10 - 22) 全文	1-12
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																								
Y	CN 2574431 Y (王申) 2003年 9月 24日 (2003 - 09 - 24) 说明书第2页倒数第2段至第3页第2段, 权利要求1-3	1-12																								
Y	CN 101319243 A (江南大学) 2008年 12月 10日 (2008 - 12 - 10) 说明书第1页第2段至第2页最后1段, 权利要求1-3	1-12																								
Y	CN 106480133 A (中国水产科学研究院黄海水产研究所) 2017年 3月 8日 (2017 - 03 - 08) 说明书第[0003]段	1-12																								
Y	CN 103243140 A (江南大学) 2013年 8月 14日 (2013 - 08 - 14) 权利要求1	1-12																								
Y	CN 101301030 A (新奥厦门农牧发展有限公司) 2008年 11月 12日 (2008 - 11 - 12) 说明书第2页第8段, 权利要求4-6、10	1-12																								
A	CN 105746905 A (湖南晶天科技实业有限公司) 2016年 7月 13日 (2016 - 07 - 13) 全文	1-12																								
A	CN 104106734 A (浙江大学) 2014年 10月 22日 (2014 - 10 - 22) 全文	1-12																								
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																										
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																										
国际检索实际完成的日期 2018年 7月 24日		国际检索报告邮寄日期 2018年 8月 14日																								
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 康恩待 电话号码 62084338																								

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 104509701 A (曹胜炎等) 2015年 4月 15日 (2015 - 04 - 15) 全文	1-12
A	张桂枝等. “环糊精包合物在药物制剂中的应用” 郑州牧业工程高等专科学校学报, 第27卷, 第02期, 第 29-30, 46页	1-12

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/089940

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	2574431	Y	2003年 9月 24日	无	
CN	101319243	A	2008年 12月 10日	CN 101319243	B 2011年 1月 5日
CN	106480133	A	2017年 3月 8日	无	
CN	103243140	A	2013年 8月 14日	CN 103243140	B 2014年 6月 25日
CN	101301030	A	2008年 11月 12日	无	
CN	105746905	A	2016年 7月 13日	无	
CN	104106734	A	2014年 10月 22日	无	
CN	104509701	A	2015年 4月 15日	CN 104509701	B 2017年 7月 11日