

(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
2016 年 11 月 10 日 (10.11.2016)



WIPO | PCT



(10) 国际公布号
WO 2016/176988 A1

(51) 国际专利分类号:
A23D 9/04 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2015/096270

(22) 国际申请日: 2015 年 12 月 3 日 (03.12.2015)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201510228236.5 2015 年 5 月 6 日 (06.05.2015) 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 号王兴
国, Jiangsu 214122 (CN)。

(72) 发明人: 邹孝强 (ZHOU, Xiaoqiang); 中国江苏省无
锡市蠡湖大道 1800 号王兴国, Jiangsu 214122 (CN)。
王兴国 (WANG, Xingguo); 中国江苏省无锡市蠡湖
大道 1800 号, Jiangsu 214122 (CN)。金育哲 (JIN,
Qingzhe); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号王兴
国, Jiangsu 214122 (CN)。黄健花 (HUANG, Jian-
hua); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号王兴国,
Jiangsu 214122 (CN)。刘睿杰 (LIU, Ruijie); 中国江
苏省无锡市蠡湖大道 1800 号王兴国, Jiangsu 214122
(CN)。常明 (CHANG, Ming); 中国江苏省无锡市
蠡湖大道 1800 号王兴国, Jiangsu 214122 (CN)。王
小三 (WANG, Xiaosan); 中国江苏省无锡市蠡湖大
道 1800 号王兴国, Jiangsu 214122 (CN)。潘秋琴
(PAN, Qiuqin); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号
王兴国, 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 PROP-
ERTY AGENCY CO., LED); 中国黑龙江省哈尔滨市
松北区科技一街 99 号 18 栋 E501 耿晓岳, Heilongji-
ang 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,
JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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))。

(54) Title: PREPARATION METHOD COMBINING ENZYMATIC ACID HYDROLYSIS AND PHYSICAL MIXING FOR
BREAST MILK FAT SUBSTITUTE

(54) 发明名称: 一种结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法

(57) Abstract: A preparation method combining enzymatic acid hydrolysis and physical mixing for a breast milk fat substitute. The method primarily comprises two steps, where step one being regulation of bulk fatty acid composition of catfish oil or an extract thereof by acid hydrolysis, and step two being regulation of trace fatty acid composition of the hydrolyzate by physical mixing. The raw material catfish oil and the extract thereof used in the method are available from a wide variety of sources and inexpensive, contain an increased content of sn-2 palmitic acid and a reduced overall content of palmitic acid. A small proportion of free fatty acids is used in the acid hydrolysis reaction. Emphasized simultaneously in the process are the bulk fatty acid composition and distribution thereof and trace fatty acid composition comprising medium-chain and long-chain polyunsaturated fatty acids. The product produced has a high degree of similarity to breast milk fat and has great market application prospects.

(57) 摘要: 一种结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法, 该方法主要包括两步, 第一步为通过酸解调节鲢鱼油或其分提物的大量脂肪酸组成, 第二步为通过物理混合调节酶解产物的微量脂肪酸组成。该方法所用原料鲢鱼油及其分提物来源广泛, 价格低廉, 自身含有较高的 sn-2 棕榈酸和较低的总棕榈酸含量, 酸解反应中所用游离脂肪酸比例小, 工艺中同时强调大量脂肪酸组成及分布以及包括中碳链及长碳链多不饱和脂肪酸的微量脂肪酸组成, 所得产品同人乳脂肪具有极高的相似度, 具有较大的市场应用前景。



WO 2016/176988 A1

一种结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法

技术领域

本发明涉及一种结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，属于油脂技术领域。

背景技术

脂肪在人乳中占 3-5%，是新生儿主要的能量来源(>50%)，其中，甘油三酯占 98%以上。人乳脂肪中含有大约 200 多种脂肪酸，包括中碳链脂肪酸，饱和脂肪酸，单不饱和脂肪酸，多不饱和脂肪酸，奇数碳链脂肪酸，支链脂肪酸，反式脂肪酸以及羟基脂肪酸等。在这些脂肪酸中，含量大于 1%的脂肪酸有油酸(25-35%)、棕榈酸(20-30%)、亚油酸(10-20%)、硬脂酸(5-9%)、肉豆蔻酸(4-9%)、月桂酸(3-7%)以及棕榈油酸(1-3%)。人乳脂肪中甘油三酯的脂肪酸分布比较独特，60%以上的棕榈酸分布在甘油三酯的 sn-2 位，其他的不饱和脂肪酸主要分布在 sn-1,3 位。由于这种特殊的脂肪酸分布，人乳脂肪虽然含有 200 多种脂肪酸，但是其 TAG 的种类却远远小于随机分布的 3^{200} 种。人乳脂肪中，TAG 含量最多的是 USU，如 OPO 和 OPL 等。这种结构的甘油三酯同婴幼儿对脂肪的消化、吸收和代谢有重要关系。婴幼儿摄取的脂肪大约有 10~30%被舌脂肪酶和胃脂肪酶(对甘油三酯 sn-3 位有选择性的脂肪酶)水解成为 sn-1,2-甘油二酯，大多数甘油三酯被胰脂肪酶(对甘油三酯 sn-1,3 有选择性的脂肪酶)在小肠中水解成为 sn-2 单甘酯。sn-2 单甘酯可以同胆盐结合以初始形式被吸收，并在小肠上皮细胞中再次酯化为甘油三酯，最后转化为乳糜微粒进入淋巴循环，为机体组织提供能量。在此过程中，60~70%的 sn-2 位脂肪酸保留在原来的位置。因此，饱和脂肪酸位于甘油三酯的 sn-2 位将有利于婴幼儿对其吸收，同时避免由于游离饱和脂肪酸同体内钙镁离子的结合生成皂造成能量及钙离子的损失。此外，有人研究了 OPO 和 POO 两种同分异构体对于婴儿淋巴乳糜微粒的影响，由 OPO 形成的乳糜微粒的平均粒径要大于由 OOP 形成的乳糜微粒的平均粒径。这说明 OPO 的运输效率比 OOP 更高。因此，越来越多的婴幼儿奶粉企业除了关注奶粉中脂肪的脂肪组成外，更加关注脂肪结构。

人乳脂肪中的中碳链脂肪酸主要有己酸，辛酸及月桂酸，长碳链多不饱和脂肪酸主要为二十二碳六烯酸(DHA, Docosahexaenoic Acid)，花生四烯酸(AA, Arachidonic Acid)等。中碳链脂肪酸主要分布在人乳脂肪的 sn-3 位置，十二指肠前脂酶对在这个位置的中碳链脂肪酸有较高活力。水解的中碳链脂肪酸可以被门静脉吸收，为婴幼儿提供即时能量，而 1,2 位甘油二酯通过增加甘油三酯的可溶性从而有利于其在十二指肠中的消化吸收。长碳链多不饱和脂

肪酸在人乳脂肪中含量较少，但是其对于婴幼儿的发育很重要，特别是 DHA 和 AA。DHA 和 AA 在人的视网膜和大脑高度集中，对人的视觉系统和中枢神经的发育具有重要作用。但是，对于一些婴儿来说，由于较低的脱氢酶活力，合成 DHA 和 AA 具有一定的困难。因此，基于中碳链脂肪酸以及长碳链多不饱和脂肪酸的特殊功能，在人乳替代脂中适当补充这些脂肪酸将有利于婴幼儿的健康发育。

目前文献报道的关于人乳替代脂的合成主要原料为棕榈硬脂和猪油。以棕榈硬脂为原料，所用的酸解脂肪酸用量大，同时后处理比较困难，造成较高的成本。猪油同人乳脂肪具有相似的脂肪酸组成及分布，但是由于猪油本身不适用于一些民族信仰的人，所以难以得到通用。因此，有必要找到一种在 sn-2 位有较高棕榈酸含量又具有较低总棕榈酸含量的油脂，并开发出制备脂肪组成和结构接近人乳的人乳替代脂的方法。

发明内容

本发明的目的是提供一种经济可行的以鲛鱼油为原料结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法。

为解决上述技术问题，本发明提供了如下技术方案：一种结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其包括：

(1) 将鲛鱼油在 50~60℃ 熔化，保持 30~60min，并以 1~5℃/min 的降温速率降温至 15~30℃，将鲛鱼油在此温度下保持 5~48h 后，采用过滤的方式除去液态油，得到在 sn-2 位富含棕榈酸的鲛鱼油固脂成分；

(2) 以 sn-1,3 位特异性脂肪酶为催化剂，以富含油酸的植物油来源的游离脂肪酸同富含亚油酸的植物油来源的游离脂肪酸作为制备人乳替代脂产品的酰基供体，酸解所述鲛鱼油固脂成分，除去脂肪酶和游离脂肪酸，得到中间产品；

(3) 根据中间产品同人乳脂肪在中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量上的差异，在油脂物理混合模型的指导下，通过添加油脂调节中间产品的中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量，从而进一步提高产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似性；

(4) 通过人乳替代脂评价模型评价最终产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似度。

在本发明的一种实施方式中，步骤 (2) 所述富含油酸的植物油来源的游离脂肪酸同富含亚油酸来源的普通植物油的游离脂肪酸作为制备人乳替代脂产品的酰基供体，其质量比为 1:1~4。

在本发明的一种实施方式中，步骤 (2) 所述富含油酸的植物油为茶叶籽油、橄榄油、菜

籽油等；所述富含亚油酸的植物油为玉米油、大豆油、葵花籽油等。

在本发明的一种实施方式中，步骤（2）所述催化剂为 Lipozyme RM IM 和/或 Lipozyme TL IM。

在本发明的一种实施方式中，步骤（2）所述酸解，其反应温度为 40℃~70℃。

在本发明的一种实施方式中，步骤（2）所述酸解为间歇反应，其鲛鱼油与游离脂肪酸的摩尔比为 1: 1~5，加酶量为 3%~15%，反应时间为 1h~5h，搅拌速率为 300 r/min ~800r/min。

在本发明的一种实施方式中，步骤（2）所述酸解为连续反应，其鲛鱼油与游离脂肪酸的摩尔比为 1: 1~6，底物停留时间在 0.5h~4h，反应温度为 40℃~70℃。

在本发明的一种实施方式中，步骤（2）所述的除去脂肪酶的方式为离心分离或者过滤，出去脂肪酸的方式为蒸馏，蒸馏方式为分子蒸馏或减压蒸馏。

在本发明的一种实施方式中，步骤（3）根据酶解产物同人乳脂肪在中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量上的差异，通过富含中碳链脂肪酸的棕榈仁油和椰子油、富含花生四烯酸的藻油及二十二碳六烯酸的微生物油脂调节中间产品的中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量，从而进一步提高终产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似性。

在本发明的一种实施方式中，所述油脂物理混合模型包括公式（1）~（5）：

$$\text{FA}\% = \frac{Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i}{1 + \sum_{i=2}^n X_i} \quad (1)$$

$$\text{sn-2 FA}\% = \frac{Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i}{1 + \sum_{i=2}^n X_i} \quad (2)$$

$$\text{sn-1,3 FA}\% = \frac{3 \times \left(Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i \right) - \left(Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i \right)}{2 \times \left(1 + \sum_{i=2}^n X_i \right)} \quad (3)$$

$$\% \text{sn-2 FA} = \frac{Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i}{3 \left(Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i \right)} \times 100 \quad (4)$$

其中，公式（1）表示混合产品的脂肪酸含量，公式（2）表示混合产品的 sn-2 脂肪酸含

量，公式（3）表示混合产品的 sn-1,3 脂肪酸含量，公式（4）表示混合产品中 sn-2 脂肪酸占总脂肪酸的相对含量，

式中， Y_1 和 Y_i 分别为中间产品和所选择油脂的各脂肪酸的含量， $Y_{1(sn-2)}$ 和 $Y_{i(sn-2)}$ 分别为中间产品和所选择油脂二位上各脂肪酸的含量， X_i 为所选择的油脂同中间产物的摩尔比；

根据以上公式（1）~（4）可得到中间产品添加油脂后的体系中甘油三酯的脂肪酸组成及分布，根据人乳脂的脂肪酸组成及分布的特点建立不等式，同时根据体系中油脂质量公式（5），采用 Matlab R2010a 得到满足人乳脂替代品条件下的最大油脂添加量；

$$M = X_1(M_1 + \sum_{i=2}^n X_i M_i) \quad (5)$$

M 为最终产品的质量； X_1 是中间产品的摩尔数； M_1 是中间产品的分子质， M_i 是所选择油脂的分子质量；

在本发明的一种实施方式中，步骤（4）所述通过人乳替代脂评价模型评价最终产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似度，评价模型为：

$$G_{FA/sn-2FA/PUFA} = 100 - \sum_{i=1}^n E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} \quad (6) ;$$

$$E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} = 100 \times \left(C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} \frac{D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}}{\sum_{i=1}^n D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}} \right) ; \quad (7)$$

$$C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} = \frac{|B_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} - A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}|}{A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}} ; \quad (8)$$

其中， G_{FA} 、 G_{sn-2FA} 、 G_{PUFA} 分别为人乳替代脂在脂肪酸组成、sn-2脂肪酸相对含量、多不饱和脂肪酸组成方面同人乳脂肪的相似度；

$E_{i(FA)}$ 、 $E_{i(sn-2FA)}$ 、 $E_{i(PUFA)}$ 是分别为人乳替代脂中脂肪酸组成、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成在人乳脂肪相应指标含量范围之外所被扣除的相似度；

$D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} / \sum_{i=1}^n D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 为人乳脂肪的脂肪酸、sn-2脂肪酸或多不饱和脂肪酸组成同其总含量的相对值；

$C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是浮动系数，其取决于人乳脂代品的总脂肪酸含量、sn-2脂肪酸相对含量或

多不饱和脂肪酸组成;

$B_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是人乳替代脂中的总脂肪酸含量、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸含量;

$A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是相应的人乳脂肪的总脂肪酸、sn-2 相对脂肪酸含量或多不饱和脂肪酸组成; 当 B 高于 A 时, A 选择上限; 当 B 小于 A 时, A 选择下限; 如果 B 在 A 的范围之内, C 为 0。

本发明以鲛鱼油或其分提物为原料, 根据其同人乳脂肪在脂肪酸组成及分布上的差异, 首次采用两步法即酶法酸解和模型指导下的油脂混合的方法制备得到人乳替代脂产品, 其中酶法酸解主要调节鲛鱼油或其分提物的大量脂肪酸组成, 油脂混合主要调节酶解产物的微量脂肪酸组成, 最终所得产品经过人乳替代脂评价模型评价, 不仅在大量脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪有较高的相似度, 同时在微量脂肪酸组成上也有较大程度提高。

具体实施方式

为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂, 下面结合具体实施方式对本发明的具体实施方式做详细的说明。

在下面的描述中阐述了很多具体细节以便于充分理解本发明, 但是本发明还可以采用其他不同于在此描述的其它方式来实施, 本领域技术人员可以在不违背本发明内涵的情况下做类似推广, 因此本发明不受下面公开的具体实施例的限制。

实施例 1

鲛鱼油及典型人乳脂肪的脂肪酸组成及分布如表 1 所示:

表 1. 鲛鱼油及人乳脂肪的脂肪酸组成及分布

FA 种类	鲛鱼油				人乳脂肪	
	Total FA	sn-2 FA	%sn-2 FA	sn-1,3 FA	Total FA	sn-2 FA
C8:0					0.24 ± 0.13	0.20 ± 0.08
C10:0					2.81 ± 0.93	1.55 ± 0.40
C12:0	0.3	0.4	47	0.3	9.84 ± 1.48	8.33 ± 2.73
C14:0	4.6	4.2	30.5	4.8	10.23 ± 1.39	14.47 ± 1.00
C16:0	32.8	49.3	50.2	24.6	22.84 ± 2.30	52.63 ± 3.36
C18:0	8.7	5.4	20.6	10.4	5.64 ± 0.57	1.31 ± 0.16
C18:1n-9	38.9	26.3	22.5	45.2	32.06 ± 4.55	9.25 ± 2.89
C18:2n-6	9.7	9.2	31.4	10.0	8.37 ± 0.74	5.63 ± 0.94
C18:3n-3	0.4	0.5	38.1	0.4	0.93 ± 0.17	0.35 ± 0.16
C20:0	0.6	0.4	24	0.7	0.17 ± 0.04	0.50 ± 0.14
C20:3n-6	0.3	0.3	26.2	0.3	0.32 ± 0.12	0.18 ± 0.06

C20:4n-6	0.2	0.1	20.5	0.3	0.36 ± 0.14	0.25 ± 0.14
C22:0	0.5	0.2	12.6	0.7	0.06 ± 0.03	0.15 ± 0.05
C22:5n-3	0.1	0.1	41.9	0.1	0.26 ± 0.06	0.34 ± 0.12
C22:6n-3	0.1	0.1	37.4	0.1	0.42 ± 0.18	0.66 ± 0.38

实施例 2:

在间歇反应器中，以鲛鱼油为原料，以 1,3 位特异性脂肪酶 Lipozyme RM IM 为催化剂，反应温度为 50 度，加酶量为 10 wt%，搅拌速率为 500 转/min，选择的来源于富含油酸的菜籽油及富含亚油酸的葵花籽油的游离脂肪酸质量比例为 1:3，鲛鱼油与游离脂肪酸的摩尔比为 1:3，搅拌速率为 600 转/min，反应后通过离心除去反应物中的脂肪酶，同时通过蒸馏除去游离脂肪酸，得到酶解产物。酶解所用不同比例混合脂肪酸的组成如表 2 所示，所得产物（中间产品）的脂肪酸组成及分布如表 3 所示。

表 2. 源于菜籽油、葵花籽油的脂肪酸及 1: 3 混合物的脂肪酸组成

FA 种类	RSO	SFO	1:3
C12:0	0.90	1.30	1.20
C14:0	1.00	1.70	1.53
C16:0	6.70	6.80	6.78
C18:0	2.70	5.20	4.58
C18:1	58.10	25.40	33.58
C18:2	22.50	59.00	49.88
C18:3	7.80	0.60	2.40

表 3. 1: 3 混合脂肪酸比例下酶解产物的大量脂肪酸组成及分布

	FA	sn-2 FA	%sn-2	sn-1,3
C12:0	0.6	0.4	22.2	0.7
C14:0	3.8	3.0	26.3	4.2
C16:0	23.8	48.1	67.4	11.7
C18:0	7.8	5.3	22.6	9.1
C18:1	40.5	33.1	27.2	44.2
C18:2	21.2	9.0	14.2	27.3
C18:3	0.5	0.3	20.0	0.6

根据人乳脂肪的中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸的组成，结合所得酶解产物的化学组成特征，选择富含中碳链脂肪酸的棕榈仁油，富含花生四烯酸的藻油及二十二碳六烯酸的微生物油脂添加至酶解产物中，添加比例根据人乳脂肪的化学组成，由油脂物理混合模型优化确定。油脂混合模型如下所示：

酶解产物添加油脂后，体系中混和甘三酯的脂肪酸组成及分布可由以下公式计算得到：

$$\text{FA}\% = \frac{Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i}{1 + \sum_{i=2}^n X_i} \quad (1)$$

$$\text{sn-2 FA}\% = \frac{Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i}{1 + \sum_{i=2}^n X_i} \quad (2)$$

$$\text{sn-1,3 FA}\% = \frac{3 \times \left(Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i \right) - \left(Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i \right)}{2 \times \left(1 + \sum_{i=2}^n X_i \right)} \quad (3)$$

$$\% \text{sn-2 FA} = \frac{Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i}{3 \left(Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i \right)} \times 100 \quad (4)$$

Y_1 和 Y_i 分别为中间产品和所选择油脂的各脂肪酸的含量； $Y_{1(\text{sn-2})}$ 和 $Y_{i(\text{sn-2})}$ 分别为中间产品和所选择油脂二位上各脂肪酸的含量； x_i 为所选择的油脂同中间产物的摩尔比。根据以上公式可得到添加油脂后的体系中甘油三酯的脂肪酸组成及分布。根据人乳脂的脂肪酸组成及分布的特点建立不等式，同时根据体系中油脂重量公式 (5)，采用 Matlab R2010a (MathWorks, Natick, Massachusetts) 得到满足人乳脂替代品条件下的最大油脂添加量。

$$M = X_1(M_1 + \sum_{i=2}^n X_i M_i) \quad (5)$$

M 为最终产品的重量； X_1 是中间产品的摩尔数； M_1 是中间产品的分子质， M_i 是所选择油脂的分子质量。

由油脂添加模型确定添加入酶解产物的棕榈仁油，藻油及微生物油脂的比例为：1：(0.046-0.1314)：(0.005-0.011)：(0.0076-0.014)；所得最终产品的脂肪酸组成及分布的范围如下表所示：

表 4. 最终产品的脂肪酸组成及分布范围

Fatty acid	total	sn-2
C8:0	0.2-0.5	
C10:0	0.2-0.5	0.0-0.1
C12:0	3.0-6.8	2.2-5.2

C14:0	4.3-5.1	3.6-4.5
C16:0	21.7-23.0	42.8-46.2
C18:0	7.0-7.5	4.8-5.2
C18:1n-9	36.6-39.1	31.7-33.4
C18:2n-6	16.9-18.3	8.6-9.7
C18:3n-3	0.5-0.6	0.3-0.7
C20:0	0.0-0.1	0.0-0.1
C20:3n-6	0.0-0.1	0.1-0.7
C20:4n-6	0.4-0.6	0.6-3.3
C22:0	0.0-0.1	0.0-0.1
C22:5n-3	0.0-0.1	0-0.1
C22:6n-3	0.2-0.4	0.2-0.5

将表4中的数据带入人乳替代脂的评价模型得到酶解产物的脂肪酸组成及分布得分，模型如下所示：

$$G_{FA/sn-2FA/PUFA} = 100 - \sum_{i=1}^n E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} ;$$

$$E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} = 100 \times \left(C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} \frac{D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}}{\sum_{i=1}^n D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}} \right) ;$$

$$C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} = \frac{|B_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} - A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}|}{A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}} ;$$

其中， $G_{FA/sn-2FA/PUFA}$ 分别为人乳替代脂在脂肪酸组成、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成方面同人乳脂肪的相似度；

$E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是分别为人乳替代脂中脂肪酸组成、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成在人乳脂肪相应指标含量范围之外所被扣除的相似度；

$D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} / \sum_{i=1}^n D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 为人乳脂肪的脂肪酸、sn-2脂肪酸或多不饱和脂肪酸组成同其总含量的相对值；

$C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是浮动系数，其取决于人乳脂代品的总脂肪酸含量、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成；

$B_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是人乳替代脂中的总脂肪酸含量、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸含

量;

$A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是相应的人乳脂肪的总脂肪酸、sn-2 相对脂肪酸含量或多不饱和脂肪酸组成; 当 B 高于 A 时, A 选择上限; 当 B 小于 A 时, A 选择下限; 如果 B 在 A 的范围之内, C 为 0。

表 5 模型评价得分范围

得分种类	鱼油	最终产品
G_{FA}	86.5	96.2-97.6
$G_{sn-2 FA}$	83.3	94.9-97.0
G_{PUFA}	45.8	55.7-61.5

表 5 中的数据表明所得产品在脂肪酸组成及 sn-2 脂肪酸组成同人乳脂肪具有较高的相似性, 同时, 最终产品在 PUFA 组成上同鱼油相比, 也有一定程度的提高。

实施例 3:

在填充床连续反应器中, 以鲶鱼油 30 度固脂分提物为原料, 以 1,3 位特异性脂肪酶 Lipozyme RM IM 为催化剂, 反应温度为 60 度, 停留时间为 1 h, 选择的来源于富含油酸的茶叶籽油及富含亚油酸的玉米油的游离脂肪酸比例为 1:2, 鲶鱼油固脂分提物与游离脂肪酸的摩尔比为 1:4, 反应后通过离心除去反应物中的脂肪酶, 同时通过蒸馏除去游离脂肪酸。鲶鱼油在 30 度下分提所得固脂脂肪酸组成及分布如表 6, 源于茶叶籽油及玉米油的游离脂肪酸、混合脂肪酸的组成如表 7 所示, 所得酶解产物 (中间产品) 的脂肪酸组成及分布如表 8 所示。

表6 鲶鱼油30度下分提固脂的脂肪酸组成及分布

FA 种类	分提固脂			
	FA	sn-2 FA	%sn-2 FA	sn-1,3 FA
C12:0	0.28	0.54	64.29	0.15
C14:0	4.67	4.27	30.48	4.87
C16:0	35.61	60.42	56.56	23.21
C16:1	0.45	0.56	41.48	0.40
C18:0	9.29	4.73	16.97	11.57
C18:1	37.31	18.78	16.78	46.58
C18:2	8.24	8.55	34.59	8.09
C18:3	0.40	0.36	30.00	0.42
C20:0	0.60	0.41	22.78	0.70
C20:1	1.26	0.32	8.47	1.73
C20:2	0.24	0.13	18.06	0.30
C20:3	0.32	0.22	22.92	0.37

C20:4	0.21	0.11	17.46	0.26
C22:0	0.34	0.14	13.73	0.44
C22:1	0.34	0.09	8.82	0.47
C22:2	0.09	0.07	25.93	0.10
C24:1	0.09	0.03	11.11	0.12
C22:4	0.06	0.06	33.33	0.06
C22:5	0.10	0.12	40.00	0.09
C22:6	0.08	0.09	37.50	0.08

表7 源于茶叶籽油、玉米油的脂肪酸及1: 2混合的混合脂肪酸的组成

FA 种类	茶叶籽油	玉米油	1:2
C16:0	14.72	12.2	13.04
C18:0	3.68	1.6	2.29
C18:1	58.31	26.51	37.11
C18:2	19.9	56.51	44.31
C18:3	0.97	0.32	0.54

表8 酶解产物的大量脂肪酸组成及分布

FA 种类	total	sn-2	%sn-2	sn-1,3
C12:0	0.11	0.2	60.6	0.1
C14:0	2.78	3.9	46.8	2.2
C16:0	27.5	58.5	70.9	12.0
C18:0	8.13	4.22	17.3	10.1
C18:1	38.6	19.1	16.5	48.4
C18:2	18.5	12.3	22.2	21.6
C18:3	0.43	0.3	23.3	0.5

由油脂添加模型确定添加入酶解产物的椰子油，藻油及微生物油脂的比例为：1：（0.1057-0.1415）：（0.0053-0.0111）：（0.008-0.0143）；所得最终产品（油脂混合产物）的脂肪酸组成及分布的范围如下表 9 所示：

表 9 最终产品的脂肪酸组成及分布范围

FA 种类	total	sn-2
C8:0	0.4-0.5	
C10:0	0.5-0.6	0.0-0.1
C12:0	5.4-6.8	4.2-5.3
C14:0	4.0-4.3	5.1-5.4
C16:0	24.7-25.4	51.4-53.5
C18:0	7.2-7.4	3.8-4.1
C18:1n-9	34.4-35.5	19.6-20.4
C18:2n-6	16.2-16.8	11.4-12.4
C18:3n-3	0.3-0.4	0.3-0.7

C20:0	0.0-0.1	0.0-0.1
C20:3n-6	0.0-0.1	0.1-0.7
C20:4n-6	0.4-0.6	0.6-3.3
C22:0	0.0-0.1	0.0-0.1
C22:5n-3	0.0-0.1	0.0-0.1
C22:6n-3	0.2-0.4	0.2-0.5

将表 9 中的数据带入人乳替代脂的评价模型得到酶解产物的脂肪酸组成及分布得分如下表 10 所示：

表 10 模型评价得分

得分种类	鱼油	最终产品
G _{FA}	86.5	97.2-97.8
G _{sn-2 FA}	83.3	96.7-97.2
G _{PUFA}	45.8	54.3-60.3

表 10 数据表明：所得产品在脂肪酸组成及 sn-2 脂肪酸组成同人乳脂肪具有较高的相似性，同时，最终产品在 PUFA 组成上同鱼油相比，也有一定程度的提高。

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

权 利 要 求 书

1. 一种结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，包括：

(1) 将鲛鱼油在 50~60℃ 熔化，保持 30~60min，并以 1~5℃/min 的降温速率降温至 15~30℃，将鲛鱼油在此温度下保持 5~48h 后，采用过滤的方式除去液态油，得到在 sn-2 位富含棕榈酸的鲛鱼油固脂成分；

(2) 以 sn-1,3 位特异性脂肪酶为催化剂，以富含油酸的植物油来源的游离脂肪酸同富含亚油酸的植物油来源的游离脂肪酸作为制备人乳替代脂的酰基供体，酸解所述鲛鱼油固脂成分，除去脂肪酶和游离脂肪酸，得到中间产品；

(3) 根据中间产品同人乳脂肪在中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量上的差异，在油脂物理混合模型的指导下，通过添加油脂调节中间产品的中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量，从而进一步提高产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似性；

(4) 通过人乳替代脂评价模型评价最终产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似度。

2. 根据权利要求 1 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述富含油酸的植物油来源的脂肪酸同富含亚油酸来源的普通植物油脂肪酸作为制备人乳替代脂的酰基供体，其质量比为 1:1~5。

3. 根据权利要求 1 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述催化剂为对甘油三酯的 1,位和 3 位具有选择性的脂肪酶。

4. 根据权利要求 1 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述酸解，其反应温度为 40℃~70℃。

5. 根据权利要求 1 或 4 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述酸解为间歇反应，其鲛鱼油与游离脂肪酸的摩尔比为 1: 1~5，加酶量为 3%~15%，反应时间为 1h~5h，搅拌速率为 300 r/min ~800r/min。

6. 根据权利要求 1 或 4 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述酸解为连续反应，其鲛鱼油与游离脂肪酸的摩尔比为 1: 1~6，底物停留时间在 0.5h~4h。

7. 根据权利要求 1 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述油脂混合是根据酶解产物同人乳脂肪在中碳链脂肪酸及长碳链多不饱和脂肪酸含量上的差异决定的，包括富含中碳链脂肪酸棕榈仁油和椰子油、富含花生四烯酸的藻油及二十二碳六烯酸的微生物油脂。

8. 根据权利要求 1 或 7 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法，其特征在于，所述通过油脂物理混合模型指导下的油脂混合，油脂物理混合模型如下所示：

$$\text{FA}\% = \frac{Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i}{1 + \sum_{i=2}^n X_i} \quad (1)$$

$$\text{sn-2 FA}\% = \frac{Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i}{1 + \sum_{i=2}^n X_i} \quad (2)$$

$$\text{sn-1,3 FA}\% = \frac{3 \times \left(Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i \right) - \left(Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i \right)}{2 \times \left(1 + \sum_{i=2}^n X_i \right)} \quad (3)$$

$$\% \text{sn-2 FA} = \frac{Y_{1(\text{sn-2})} + \sum_{i=2}^n Y_{i(\text{sn-2})} X_i}{3 \left(Y_1 + \sum_{i=2}^n Y_i X_i \right)} \times 100 \quad (4)$$

其中, Y_1 和 Y_i 分别为中间产品和所选择油脂的各脂肪酸的含量, $Y_{1(\text{sn-2})}$ 和 $Y_{i(\text{sn-2})}$ 分别为中间产品和所选择油脂二位上各脂肪酸的含量, X_i 为所选择的油脂同中间产物的摩尔比;

根据以上公式可得到添加油脂后的体系中甘油三酯的脂肪酸组成及分布, 根据人乳脂的脂肪酸组成及分布的特点建立不等式, 同时根据体系中油脂重量公式(5), 采用 Matlab R2010a 得到满足人乳脂替代品条件下的最大油脂添加量;

$$M = X_1(M_1 + \sum_{i=2}^n X_i M_i) \quad (5)$$

M 为最终产品的重量; X_1 是中间产品的摩尔数; M_1 是中间产品的分子质, M_i 是所选择油脂的分子质量;

9. 根据权利要求 1 或 7 所述的结合酶法酸解及物理混合的人乳替代脂的制备方法, 其特征在于, 所述通过人乳替代脂评价模型评价最终产品在脂肪酸组成及分布上同人乳脂肪的相似度, 评价模型为:

$$G_{\text{FA/sn-2FA/PUFA}} = 100 - \sum_{i=1}^n E_{i(\text{FA/sn-2FA/PUFA})} ;$$

$$E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} = 100 \times \left(C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} \frac{D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}}{\sum_{i=1}^n D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}} \right) ;$$

$$C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} = \frac{|B_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} - A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}|}{A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}} ;$$

其中， $G_{FA/sn-2FA/PUFA}$ 分别为人乳替代脂在脂肪酸组成、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成方面同人乳脂肪的相似度；

$E_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是分别为人乳替代脂中脂肪酸组成、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成在人乳脂肪相应指标含量范围之外所被扣除的相似度；

$D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)} / \sum_{i=1}^n D_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 为人乳脂肪的脂肪酸、sn-2脂肪酸或多不饱和脂肪酸组成同其总含量的相对值；

$C_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是浮动系数，其取决于人乳脂代品的总脂肪酸含量、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸组成；

$B_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是人乳替代脂中的总脂肪酸含量、sn-2脂肪酸相对含量或多不饱和脂肪酸含量；

$A_{i(FA/sn-2FA/PUFA)}$ 是相应的人乳脂肪的总脂肪酸、sn-2相对脂肪酸含量或多不饱和脂肪酸组成；当B高于A时，A选择上限；当B小于A时，A选择下限；如果B在A的范围之内，C为0。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/096270

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23D 9/04 (2006.01) 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)

A23D; A23C; A23L; C12P; C11C

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)

CNPAT, CNABS, CPRSABS, CNMED, DWPI, SIPOABS, JPABS, CNKI: sn-2 catfish oil human milk fat substitute lipozyme lipase
oleic linoleic palmitic acid filter model

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 104855542 A (UNIVERSITY JIANGNAN) 26 August 2015 (26.08.2015) claims 1-9	1-9
Y	CN 101940241 A (SHENZHEN JINGYI OIL & FAT TECHNOLOGY CO., LTD.) 12 January 2011 (12.01.2011) description, paragraphs [0019]-[0033], and embodiment 2	1-9
Y	CN 102845537 A (UNIVERSITY JIANGNAN) 02 January 2013 (02.01.2013) claims 1-5	1-9
Y	CN 104186701 A (UNIVERSITY JIANGNAN) 10 December 2014 (10.12.2014) claims 1-6	1-9
A	CN 102113574 A (SOUTHSEAS SPECIALTY FATS INDUSTRIAL SHANGHAI CO., LTD.) 06 July 2011 (06.07.2011) the whole document	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 03 February 2016	Date of mailing of the international search report 18 February 2016
---	--

Name and mailing address of the ISA 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 ZHAO, Xuewu Telephone No. (86-10) 62411155
---	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/096270

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104855542 A	26 August 2015	None	
CN 101940241 A	12 January 2011	CN 101940241 B	08 May 2013
		WO 2012006934 A1	19 January 2012
CN 102845537 A	02 January 2013	CN 102845537 B	07 May 2014
CN 104186701 A	10 December 2014	None	
CN 102113574 A	06 July 2011	CN 102113574 B	12 December 2012

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/096270

A. 主题的分类

A23D 9/04 (2006.01) 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)

A23D; A23C; A23L; C12P; C11C

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))

CNPAT, CNABS, CPRSABS, CNMED, DWPI, SIPOABS, JPABS, CNKI: 鲶鱼油 鱼油 鲶鱼 母乳 人乳 替代 代替 脂肪酶 脂肪酶 油酸 亚油酸 棕榈酸 过滤 模型 sn-2 catfish oil human milk fat substitute fat lipozyme lipase oleic linoleic palmitic acid filter

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
PX	CN 104855542 A (江南大学) 2015年 8月 26日 (2015 - 08 - 26) 权利要求1-9	1-9
Y	CN 101940241 A (深圳精益油脂技术有限公司) 2011年 1月 12日 (2011 - 01 - 12) 说明书第[0019]-[0033]段, 实施例2	1-9
Y	CN 102845537 A (江南大学) 2013年 1月 2日 (2013 - 01 - 02) 权利要求1-5	1-9
Y	CN 104186701 A (江南大学) 2014年 12月 10日 (2014 - 12 - 10) 权利要求1-6	1-9
A	CN 102113574 A (嘉里特种油脂上海有限公司) 2011年 7月 6日 (2011 - 07 - 06) 全文	1-9

☐ 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

2016年 2月 3日

国际检索报告邮寄日期

2016年 2月 18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

授权官员

赵学武

电话号码 (86-10) 62411155

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/096270

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	104855542	A	2015年 8月 26日	无			
CN	101940241	A	2011年 1月 12日	CN	101940241	B	2013年 5月 8日
				WO	2012006934	A1	2012年 1月 19日
CN	102845537	A	2013年 1月 2日	CN	102845537	B	2014年 5月 7日
CN	104186701	A	2014年 12月 10日	无			
CN	102113574	A	2011年 7月 6日	CN	102113574	B	2012年 12月 12日