

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580040617.5

[51] Int. Cl.

A23C 9/00 (2006.01)

C12N 9/00 (2006.01)

A23L 1/00 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

[43] 公开日 2007年10月31日

[11] 公开号 CN 101065018A

[22] 申请日 2005.10.21

[21] 申请号 200580040617.5

[30] 优先权

[32] 2004.10.22 [33] FR [31] 0411273

[86] 国际申请 PCT/EP2005/055440 2005.10.21

[87] 国际公布 WO2006/042861 法 2006.4.27

[85] 进入国家阶段日期 2007.5.28

[71] 申请人 达能日尔维公司

地址 法国巴黎

[72] 发明人 索菲·瓦兰 安妮·李·吉尤

巴亚·阿努采内

蒂埃里·圣·丹尼斯

[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

代理人 刘晓东 顾晋伟

权利要求书5页 说明书27页 附图5页

[54] 发明名称

通过包封保护生物活性食品成分

[57] 摘要

本发明涉及一种食品，其包含一种或多种活微生物和至少一种感兴趣的生物活性食品成分，其中通过将所述感兴趣的生物活性食品成分包封于油脂中加以保护，以此来减少上述活微生物对其的代谢。

1. 一种食品，其包含一种或多种活微生物和至少一种感兴趣的生物活性食品成分，其特征在于所述感兴趣的生物活性食品成分以物理方式通过包封于油脂中而被保护，由此减少所述活微生物对它们的代谢。

2. 根据权利要求1的食品，其特征在于在所述食品中感兴趣的生物活性食品成分的残留量，在其制备3周后，是其制备后即刻存在于食品中的感兴趣的生物活性食品成分的量的约50-100%。

3. 根据权利要求2的食品，其特征在于所述残留量是其制备后即刻存在于食品中的感兴趣生物活性食品成分的所述量的约80-100%。

4. 根据权利要求1至3任一项的食品，其特征在于所述感兴趣的生物活性食品成分选自：

- 蛋白质，
- 肽，
- 维生素，
- 微量营养素，
- 其类似物或衍生物，及
- 它们的组合。

5. 根据权利要求4的食品，其特征在于所述感兴趣的生物活性食品成分选自：

- 蛋白质，
- 肽，
- 其类似物或衍生物，及

- 它们的组合。

6. 根据权利要求 4 或 5 的食品, 其特征在于所述感兴趣的生物活性食品成分选自: α S1 [91-100]肽、C6- α S1 194-199 肽、C7- β 177-183 肽、C12- α S1 23-34 肽、酪蛋白磷酸肽、 α -酪啡肽、 α -酪蛋白外啡肽、酪激肽、 β -酪啡肽、酪蛋白巨肽和糖巨肽、酪新素、casoplatellins、片段 50-53、 β -乳吗啡样肽、lactoferroxin、肽 Val-Pro-Pro、Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln、Tyr-Lys-Val-Pro-Gln-Leu、Tyr-Pro、Ile-Pro-Pro、其片段、类似物、衍生物、包含其的蛋白质和/或肽、以及它们的组合。

7. 根据权利要求 1 至 6 任一项的食品, 其特征在于其具有减少的苦味。

8. 根据权利要求 1 至 7 任一项的食品, 其特征在于所述油脂选自动物油脂, 尤其是乳或鱼, 和植物油脂。

9. 根据权利要求 8 的食品, 其特征在于所述植物油脂选自棕榈油、菜籽油和从藻类中提取的油脂。

10. 根据权利要求 1 至 9 任一项的食品, 其特征在于所述活微生物具有完好或降低的代谢所述感兴趣生物活性食品成分的能力。

11. 根据权利要求 1 至 10 任一项的食品, 其特征在于所述活微生物为活细菌、优选为活的乳酸细菌。

12. 根据权利要求 11 的食品, 其特征在于所述活细菌选自:

- 链球菌属 (*Streptococcus spp.*), 优选嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*);

- 乳杆菌属 (*Lactobacillus spp.*);

- 乳球菌属 (*Lactococcus spp.*); 和

- 双歧杆菌属 (*Bifidobacterium spp.*).

13. 根据权利要求 12 的食品, 其特征在於所述食品至少包含活细菌嗜热链球菌和乳杆菌属。

14. 根据权利要求 12 或 13 的食品, 其特征在於所述活嗜热链球菌选自:

- 于 2002 年 1 月 24 日在 CNCM 以编号 I-2774 保藏的嗜热链球菌;

- 于 1995 年 10 月 24 日在 CNCM 以编号 I-1630 保藏的嗜热链球菌;

- 于 2004 年 5 月 10 日在 CNCM 以编号 I-3211 保藏的嗜热链球菌;

- 于 2004 年 9 月 16 日在 CNCM 以编号 I-3301 保藏的嗜热链球菌;

和

- 于 2004 年 9 月 16 日在 CNCM 以编号 I-3302 保藏的嗜热链球菌。

15. 根据权利要求 14 的食品, 其特征在於所述活细菌为于 2004 年 5 月 10 日以编号 I-3211 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌。

16. 根据权利要求 1 至 15 任一项的食品, 其特征在於其还包含至少一种诱饵食品成分。

17. 根据权利要求 1 至 16 任一项的食品, 其特征在於其是饮料, 优选水。

18. 根据权利要求 1 至 17 任一项的食品, 其特征在於其为发酵产品。

19. 根据权利要求 1 至 18 任一项的食品, 其特征在於其为乳制品或植物产品。

20. 将至少一种感兴趣的生物活性食品成分包封于油脂中的方法，至少包括：

a) 制备水/油脂混合物，维持在接近所述油脂熔点的温度，优选在所述熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 的范围内；和

b) 在搅拌下将感兴趣的生物活性食品成分逐渐加入步骤 a) 中获得的混合物中，整体维持在接近所述油脂熔点的温度，优选在所述熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 的范围内。

21. 根据权利要求 20 的方法，还包括添加一种或多种食品添加剂如乳化剂、增稠剂等，并在维持接近所述油脂熔点的温度下，优选在所述熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 的范围内，进行混合。

22. 制备权利要求 1 至 19 任一项的食品的方法，其特征在于在被加到旨在形成所述食品的混合物中之前，所述感兴趣的生物活性食品成分被包封。

23. 根据权利要求 22 的方法，其特征在于用根据权利要求 19 或 20 的方法包封所述感兴趣的生物活性食品成分。

24. 根据权利要求 22 或 23 的方法，其特征在于所述包封的感兴趣生物活性食品成分在搅拌下被加入所述混合物中。

25. 根据权利要求 22 至 24 任一项的方法，其特征在于：

- 所述食品经过发酵；和

- 在发酵前或发酵后，优选发酵后，将所述包封的感兴趣生物活性食品成分加入所述混合物中。

26. 根据权利要求 1 至 19 任一项的食品作为功能食品的用途。

27. 使用油脂包封旨在被掺入到包含一种或多种活微生物的食品中的至少一种感兴趣生物活性食品成分的用途。

通过包封保护生物活性食品成分

技术领域

本发明涉及包含一种或多种活微生物和至少一种感兴趣生物活性食品成分的食品，其中所述活微生物和所述感兴趣的生物活性食品成分以使所述微生物对所述感兴趣生物活性食品成分的代谢降低的方式使用。

背景技术

在过去数年中，食品成分、尤其是生物活性或功能性肽（即在消化道内局部或在进入循环系统后在机体内其它远处具有对消费者有益的活性）的市场正快速扩张。

生物活性肽被定义为在其来源蛋白质中无活性、但一旦由于酶促作用而释放出来即显示特殊性质的氨基酸序列。所述肽还被称为功能肽。除其它方面的作用外，所述生物活性肽还能够作用于消化系统、机体防御（例如抗微生物或免疫调节作用）、心血管系统（特别是抗凝血或抗高血压作用）和/或神经系统（例如镇静作用或阿片样镇痛作用）（参见下表1和表2）。

下表1列出了来源于人乳和牛乳的蛋白质水解释放出的主要功能肽。

表1

| 原蛋白质 | 功能肽* | 乳源** | | 描述的活性 |
|-------|----------------|------|---|-------------------|
| α-酪蛋白 | α-酪啡肽 | | C | 阿片活性 |
| | α-酪蛋白外啡肽 | | C | 阿片活性 |
| | 酪激肽 | | C | 抗高血压活性 |
| β-酪蛋白 | β-酪啡肽 | H | C | 阿片活性 |
| | 酪激肽 | H | C | 免疫调节 + 抗高血压活性 |
| | CPP | H | C | 对矿物质的作用 |
| κ-酪蛋白 | CMP=GMP | H | C | 胃肠道动力的调节和消化性激素的释放 |
| | 酪新素 | | C | 阿片拮抗剂 |
| | casoplatellins | | C | 抗凝血活性 |

| | | | | |
|----------------|----------------|---|---|---------------|
| α -乳清蛋白 | 片段 50-53 | H | C | 阿片活性 |
| β -乳球蛋白 | β -乳吗啡样肽 | | C | 阿片活性 + 抗高血压活性 |
| 乳铁蛋白 乳运铁蛋白 | lactoferroxin | H | C | 阿片拮抗剂 |

(*) 氨基酸序列并不完全一致

(**) H=人乳, C=牛乳

下表 2 总结了迄今为止在乳中发现的功能肽的主要生理活性。

表 2

| 活性 | 肽 | 体外 | 动物体内 | 人体内 | 参考文献 |
|---------------------|---|--------------------------|---|-------------------------|---------------------------|
| 对消化的影响 | 酪蛋白巨肽 (CMP) | 由大鼠肠细胞产生 CCK | | | Beucher 1994 |
| | | | 牛: 摄入 CMP (210 mg/kg) 后, 抑制胃分泌和降低血浆 CCK 浓度 | 人: 摄入 CMP (4g) 后, 减少酸分泌 | Yvon 1994 |
| | β -酪啡肽 | | 兔引入腔内后: 在回肠产生抗分泌作用 | | Ben Mansour 1988 |
| | | | 犬: 经胃施用后, 调节餐后高血糖; 由纳洛酮消除这种作用 | | Schusdziarra 1983 |
| | 天然 β -酪啡肽及其某些类似物 | 对兔回肠的几种作用 ▲ | | | Tomé 1987, 1988-Mahé 1989 |
| 非代谢 β -酪啡肽类似物 | 刺激肠吸收电解质 | | | Ben Mansour 1988 | |
| | 酪蛋白 | | 犬: 以胃管施用 10g 酪蛋白/300 ml 水: 抑制小肠动力, 可被纳洛酮消除, 而 10g 大豆蛋白无作用 | | Defilippi 1995 |
| 抗微生物作用 | Lactoferricin Casocidin I (α S1-酪蛋白) 165-203 | 抑制致病菌株的生长 | | | Tomita 1994 - Zucht 1995 |
| | α S ₁ B-酪蛋白片段 (1-23 N 端) =isracidin | 抑制致病菌株的生长 | 小鼠, 绵羊: 通过肌肉注射有效对抗金黄色葡萄球菌 | | Lahov 1996 |
| | 人 β -酪蛋白片段 | | 小鼠: 静脉注射对抗肺炎克雷伯氏菌的保护作用 | | Migliore-Samour 1989 |
| 免疫调节作用 | 牛 α -乳清蛋白和牛 κ -酪蛋白的片段 | Con-A 活化的人淋巴细胞 (PBL) 的增殖 | | | Kayser 1996 |
| | β -酪激肽 10 和合成 β -酪啡肽 7 | PBL 的根据浓度的增殖或抑制 | | | Kayser 1996 |
| | 人 β -酪蛋白 54-59 α -乳清蛋白 51-53 | 刺激由小鼠腹膜巨噬细胞对绵羊血红细胞的吞噬作用 | | | Parker 1984 |
| | 牛 β -酪蛋白酪蛋白 191-193 酪蛋白 63-68 | 刺激小鼠腹膜巨噬细胞 | 无体内保护作用 | | Migliore-Samour 1988 |
| | 牛 κ -酪蛋白酪蛋白巨肽 (106-169) | 抑制小鼠和兔中派伊尔氏结 B 淋巴细胞增殖 | | | Otani 1992, 1995 |

表 2 (续上)

| 活性 | 肽 | 体外 | 动物体内 | 人体内 | 参考文献 | |
|--------|---|-------------------------|---|----------------------------------|--|----------------|
| 抗凝血作用 | 牛酪蛋白糖肽 (bCGP) 人酪蛋白糖肽 (hCGP) | | | 在服用配方乳和乳汁的新生儿血浆中分离的 CGP | Chabance 1995 | |
| | 牛 κ -酪蛋白的肽 106-116 | 抑制血小板积聚 | | | Jollès 1986 | |
| | 人乳运铁蛋白四肽 (39-42) | 抑制血小板积聚 | | | Raha 1988 | |
| | | | 具有试验性动脉血栓的大鼠和豚鼠: 静脉注射后, 抗血栓活性 | | | Drouet 1990 |
| 抗高血压作用 | β -乳球蛋白和 α -乳清蛋白的酶水解物 | ACE 抑制 | | | Mullaly 1997 | |
| | 人 β -酪蛋白的合成片段 | ACE 抑制 | 接受血管紧张素 I 的大鼠: 静脉注射后动脉血压恢复初始值 | | Kohmura 1989 | |
| | 由瑞士乳杆菌和酿酒酵母菌发酵的乳肽 | | 高血压大鼠: 摄入 10 ml 发酵乳/kg 体重, 在大动脉中发现具有 ACE 抑制作用的肽 | | Masuda 1996 | |
| | 来自瑞士乳杆菌发酵乳的肽 | | 高血压大鼠: 摄入后, 动脉压降低 | | Yamamoto 1994 | |
| | 来自瑞士乳杆菌+酿酒酵母菌发酵乳的肽 Val-Pro-Pro (VPP)/II-Pro-Pro (IPP) | | 高血压大鼠: 摄入后, 动脉压降低 正常大鼠: 没有影响 | | | Nakamura 1995 |
| | | | | | 高血压人群 (36 名受试者): 每天摄入 95 ml 持续 8 周后, 动脉压降低 | Hata 1996 |
| 阿片样作用 | β -酪啡肽 | | 大鼠: 颈动脉内注射后, 在缺乏血脑屏障的区域 β -酪啡肽发生积聚 | | Ermisch 1983 | |
| | | | 新生小牛: 在它们第一次吃牛乳后, 在血液中有 β -酪啡肽 | | Umbach 1985 | |
| | | | 小型猪: 摄入牛酪蛋白后, 从十二指肠食糜中分离 β -酪啡肽 | | Meisel 1986 | |
| | | | 小狗: 摄入母乳后, 血液中存在 β -酪啡肽 | | Singh 1989 | |
| | | | | 人: 摄入牛乳后, 在小肠内容物中存在 β -酪啡肽 | | Svedberg 1985 |
| | | | | 但在成人血液中不存在 | Teschmacher 1986 | |
| | 合成人 β -酪蛋白肽 | 对分离的豚鼠回肠有阿片样作用, 可被纳洛酮消除 | | | | Yoshikawa 1986 |
| | 牛和人酪新素 (κ -酪蛋白) | 对分离的豚鼠回肠肌肉有阿片拮抗作用 | | | | Chiba 1989 |

所述肽一般通过植物蛋白质(例如大豆蛋白质)或动物蛋白质(例如酪蛋白或乳血清蛋白质)的水解来获得。所述水解通过酶促和/或发酵方法达成,通常伴随着活性组分的浓缩,一般需要该步骤以提供相关的“健康利益”。这些提供“健康利益”的肽的生产和使用在文献中有众多的背景(参见 Danone World Newsletter No.17, 1998 年 9 月)。

在可能包含此类成分的食品载体中,由于存在发酵剂和发酵产物(即由乳酸菌转化乳中存在底物而产生的分子),发酵的乳制品能够很好地提供健康利益。迄今为止,科学家们花费大量的精力研究发酵剂的性质。最近研究人员开始关注发酵产品,其中尤其是某些肽,因为它们大量的、特异性生物信使。因此,发酵的乳制品似乎特别适合作为生物活性肽水解物的载体,例如从乳品底物如酪蛋白或血清蛋白获得的生物活性肽水解物。

然而,出现了主要问题:用于生产鲜乳制品(酸乳、发酵乳制品、基于乳的发酵饮料等)的微生物、尤其是乳酸菌通常能够消耗肽以满足它们的营养需求,尤其是它们的氮需求。在本发明的框架内,所述问题被称为“肽代谢”。事实上,乳酸菌具有数种降解和/或转运系统,使其能够代谢肽,从而导致所述肽从介质中消失:

1. 蛋白质水解系统(细胞壁蛋白酶, PRT), 其可切割蛋白质和大肽, 促进其同化(“胞外代谢”),
2. 转运向细胞内部的系统, 其中一种系统对大小约 10 个氨基酸的寡肽有特异性, 另一种系统适于转运二肽和三肽(乳杆菌具有另外的三肽通透酶系统)(“转运向细胞内部的系统”), 和

3. 胞内酶系统，其能够将肽降解为氨基酸（包括约 15 种内肽酶和外肽酶）（“胞内代谢系统”）。

考虑到天然存在于乳中的肽含量与乳酸菌的需求相比一般太低，通常通过提供补充肽来加速它们的生长。所述肽然后在发酵期间被完全消耗。

最终，由于 (i) 乳酸菌的氮需求，其中肽组成了乳中的主要来源，(ii) 所述细菌高效消耗肽的能力，和 (iii) 直至使用期限 (UBD) 乳酸菌群在基于乳的发酵产品中的大量存活，因此很难甚至不可能在发酵乳制品中使用含有功能肽的成分，因为所述成分通常会在发酵期间或直至 UBD 的贮存期间被乳酸菌消耗。

此外，细菌对肽的“不合时宜”的代谢所导致的降解问题不仅不是特异性针对给定肽，而且也不是特异性针对特定发酵剂（或能够发酵的微生物，优选细菌）。

这个问题实际上普遍存在，不管使用哪种肽和微生物都会发生。

可以引用生物活性 α S1 [91-100]肽的情况作为一个实例（参见欧洲专利 EP 0714910； α S1 [91-100]肽是一种具有抗痉挛性质的肽，包含于乳蛋白质水解物中，具体由 Ingredia 上市销售：51-53, Avenue Fernand Lobbedez BP 946 62033 ARRAS Cedex, 法国，商品名 Lactium®）。因此，申请人发现在最终产品贮存期间存在于最终产品中的活乳酸菌群仍继续代谢生物活性肽，因此仅仅 10 天（对于 UBD 为 28 天的新鲜产品）后，大约 35-55% 的 α S1 [91-100]肽消失了，为保证对消费者的“健康”作用，这是一个完全不可接受的事实（数据未给出）。

既然生物活性肽的消耗是由发酵剂的代谢活性所导致，那么可以考虑通过破坏所有或部分的微生物来有效减少这种现象，例如采用适当的热处理（热处理（thermization）或巴氏消毒）。在此情况下，有可能保留 α S1 [91-100]肽（例如，加热至 75℃ 大约 1 分钟之后）。

然而，这种方案存在很多缺点：

- 发酵乳制品的热灭菌涉及在热处理前使用添加稳定剂（果胶、淀粉、角叉胶等），因而使工艺更复杂，并显著增加了配方的成本；
- 工业生产线更为复杂，并要求更为显著的专门投资；
- 产品不再受益于与含活发酵剂的产品（酸乳）相关的质量标识，实际上将丧失与乳酸发酵剂消费相关的益处；和
- 感官影响显著，通常是负面影响。

因此需要有既包含活微生物例如酸乳又包含一种或多种感兴趣的生物活性食品成分的食品，其中所述感兴趣的生物活性食品成分受到保护而免于所述活微生物所导致的代谢，同时又能保持食品的感官质量。

发明内容

通过本发明，申请人提供了一种满足现存需求的解决方案。

因此，本发明涉及包含一种或多种活微生物和至少一种感兴趣的生物活性食品成分的食品，其中所述活微生物和所述感兴趣的生物活性食品成分以减少所述活微生物对所述感兴趣生物活性食品成分的代谢的方式使用。

因此，申请人已经表明，如果使用所述成分与所述微生物的组合条件合适，则一种或多种感兴趣的生物活性食品成分能够被有效地保护而免于被该活微生物代谢。

此种合适的使用条件可涉及各种手段，包括：

- a) 使用能降低感兴趣生物活性食品成分代谢的活微生物；和/或
- b) 使用被有意用作活微生物“饲料”的诱饵食品成分；和/或
- c) 对所述生物活性食品成分进行物理保护，特别是对所述生物活性食品成分进行包封。

就此来说有必要指出的是，这些手段中的一种或多种甚至全部可以有益地组合于同一食品中。

因此，本发明的一个目的是包含一种或多种活微生物和至少一种感兴趣生物活性食品成分的食品，其中所述感兴趣的生物活性食品成分被以如下方式保护：

- 物理方式，所述感兴趣的生物活性食品成分优选被包封；和/或
- 通过包含于所述食品中的至少一种诱饵食品成分，

由此来减少所述活微生物对所述感兴趣生物活性食品成分的代谢。

更具体地，本发明的一个主题是包含一种或多种活微生物和至少一种感兴趣生物活性食品成分的食品，其特征在于通过将感兴趣的生物活性食品成分包封于油脂中加以保护，以此来减少上述活微生物对其的代谢。

正如在前面一般性描述中简单指出的，根据本发明，“代谢”是指物质被一种或多种活微生物所转化或降解，所述物质作为营养源被消耗，

最终结果是所述物质从介质中或多或少地完全消失。

根据本发明，当所述成分的代谢低于相同成分在未按照本发明内提供的至少一种手段进行保护时的代谢，则该成分的代谢被“减少”。

有利地，并且理想地，这种减少的代谢倾向于 0，或甚至达到 0，导致很少、几乎没有、或甚至没有所述成分的代谢。

根据本发明的一个具体实施方案，在其制备 3 周后，所述食品中感兴趣生物活性食品成分的残留量，大约是其制备后即刻存在于食品中的感兴趣生物活性食品成分含量的 50 - 100 %。

优选所述残留量为大约 80-100 %。

根据本发明，“所述食品中感兴趣的生物活性食品成分的残留量”是指：当将所述食品在适当贮存条件（例如，新鲜产品在约 4 到 10°C）下放置 3 周后，与感兴趣的生物活性食品成分的起始百分含量（即产品生产后即刻存在于其中的百分含量）相比较，在所述食品中存在的感兴趣生物活性食品成分的百分含量。

当实施本发明时，所述感兴趣的生物活性食品成分尤其选自：

- 蛋白质，
- 肽，
- 维生素，
- 微量营养素，
- 其类似物或衍生物，及
- 其组合。

所述感兴趣的生物活性食品成分优选选自：

- 蛋白质,
- 肽,
- 其类似物或衍生物, 及
- 其组合。

所述感兴趣的生物活性食品成分优选地选自： α S1 [91-100]肽（参见欧洲专利 EP 0714910）、C6- α S1 [194-199]肽（参见美国专利 US 6,514,941）、C7- β [177-183]肽（参见美国专利 US 6,514,941）、C12- α S1 [23-34]肽（参见美国专利 US 6,514,941）、酪蛋白磷酸肽（CPP）、 α -酪啡肽、 α -酪蛋白外啡肽（ α -casein exorphin）、酪激肽、 β -酪啡肽、酪蛋白巨肽（CMP），其也称为糖巨肽（GMP）或酪蛋白糖巨肽（CGMP）、酪新素（casoxin）、casoplatellins、片段 50-53、 β -乳吗啡样肽，lactoferroxin，Val-Pro-Pro 肽（参见欧洲专利 EP 0583074）、Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln 肽（参见欧洲专利申请 EP 0737690）、Tyr-Lys-Val-Pro-Gln-Leu 肽（参见欧洲专利申请 EP 0737690）、Tyr-Pro 肽（参见欧洲专利申请 EP 1302207 和欧洲专利 EP 0821968）、Ile-Pro-Pro 肽（参见 Nakamura *et al.*, 1995，和日本专利 JP 6197786）、其片段、类似物和衍生物、包含其的蛋白质和/或肽、及其组合（综述具体参见 Danone World Newsletter No. 17, 1998 年 9 月）。

更为优选地，所述感兴趣的生物活性食品成分选自： α S1 [91-100]肽、其片段、类似物和衍生物、包含其的蛋白质和/或肽、及其组合。

“类似物”是指原始化合物的任意修饰形式，在本发明情况下是指蛋白质或肽，所述修饰形式可以是天然或合成的，其中在原始化合物的结

构上添加或去除一个或多个原子，例如碳、氢或氧原子，或杂原子，例如氮、硫或卤素，以此来获得新的分子化合物。

根据本发明，“衍生物”是与参考化合物（蛋白质或肽）类似或具有共同结构基序的任何化合物。另外本定义还包括单独或与其它化合物一起通过一个或多个化学反应、作为前体或中间产物来合成参考化合物的化合物，以及通过一个或多个化学反应、由所述参考化合物单独与其它化合物一起反应而形成的化合物。

因此，上述“衍生物”定义覆盖的化合物包括蛋白质和/或肽的水解物，尤其是胰蛋白酶水解物、水解物组分以及水解物和/或水解物组分的混合物。

并且，上面提及的术语“类似物”和“肽或蛋白质衍生物”覆盖，例如，糖基化或磷酸化的肽或蛋白质或添加化学基团的肽或蛋白质。

在本发明的另一个实施方案中，所述感兴趣的生物活性食品成分尤其可以是糖或脂肪酸。

在本发明中，仅所述感兴趣的生物活性食品成分被包封；活微生物不被包封。

根据本发明，“包封”是指使用将活性成分保护于微粒类型载体中的方法，以允许这种活性成分的控制释放。在此种情况下，所述活性成分由一种或多种感兴趣的生物活性食品成分组成。

以非常有利的的方式，包封能弥补现有技术方案的缺点，其中它阻止所述活微生物对感兴趣生物活性食品成分的代谢。

此外，包封能够使感兴趣的生物活性食品成分可传递远至肠而不被

降解，并可不被破坏地穿过肠屏障，以便在那里发挥其作用。

而且，申请人指出物质的包封对于发酵食品，尤其是发酵乳制品是完全原创的。

最后需要强调的是：非常有趣的是，包封可获得在感官上更易于接受的最终产品，例如通过掩盖某些生物活性食品成分尤其是某些肽的或多或小的苦味。

这就是根据一个特别优选的实施方案，本发明涉及一种如前述苦味减少的食品的原因。

在本发明中，如果在成对测试[Directional Paired Method, Sensory Evaluation of Food, Harry T. Lawless, Holdegard Heymann (1990)]后认为苦味变小，则食品的苦味被“减少”。这种测试可以通过由不同人组成小组（10个或更多成员）来进行，这些人完全理解苦味的概念（通过品尝含苦味分子（例如咖啡因）的产品来理解这一概念，这些具有或大或小苦味的产品是根据不同浓度的所述分子所配制）。然后将根据本发明的产品进行盲法测试（小组成员不知道哪个产品最先提供），并与那些品尝非本发明产品的实验人员进行对比。明显地，提供给小组的两种产品的区别就是：一种是根据本发明生产的，另一种不是根据本发明生产的。两种产品提供给各个小组成员的顺序是随机的，首先接受根据本发明的产品的人数与首先接受另一种产品的人数是相等的。在测试的每次重复中，每个成员必须指出两种受试产品中哪一种是最苦的。

在本发明中，所述感兴趣的生物活性食品成分被包封于油脂中。

具体而言可通过将感兴趣的生物活性食品成分分散在油脂相中来进

行油脂包封，它们最终将包封在所述油脂相中（即禁锢、限制于非常小的油脂微粒中）。

需要注意的是：不与已知分散方法尤其是用于其它技术领域例如美容学中的已知分散方法不同，所述分散的使用并不要求任何随后的干燥步骤。

根据通常的认知，“油脂”或“油脂体”是指包含一种或多种脂质的任何物质。它可以是，例如油、脂肪、黄油等。这种油脂可以是天然的，因而在动物、植物以及它们的产品（即由它们的代谢衍生的产品）中以各种形式存在，也可以是合成的。

可用于本发明的油脂的一个选择原则是与其熔点有关。为获得如上所设想的分散，必须使用凝固油脂，即在室温下为固体。适当的油中特别可以提到棕榈油及其组分、椰子油及其组分、palmist 油及其组分、可可型植物黄油、人造黄油、氢化或部分氢化植物油、及其类似物。

凝固油脂的选择也应考虑其营养价值。因此优选例如已分级油脂，而不是氢化或部分氢化油脂。

如果期望更高效的分散，甚至溶解所述生物活性食品成分，优选在多重水/油/水乳液中进行包封。在此情况下，可能更适合使用在室温下为流体（油）的油脂（菜籽油、油酸菜籽油（oleic rapeseed）、大豆油、葵花油、油酸葵花油（oleic sunflower）、鱼油、藻类油等）。

在这一方面，申请人指出，通过凝固油脂的选择，可利用其熔化后的重结晶，来获得生物活性食品成分的捕获和物理保护。

合适的油脂尤其可选自动物油脂，尤其是乳或鱼油，和植物油脂。

需要指出的是从鱼中提取的油脂由于其多不饱和 ω -3 油脂酸的高含量而引起特别关注。

合适的植物油脂尤其可以选自棕榈油、菜籽油和/或从藻类中提取的油脂。

根据本发明的一个具体实施方案，所述活微生物具有完好或减少的代谢所述感兴趣生物活性食品成分的能力。

根据本发明，“代谢能力减少”是指在发酵期间感兴趣生物活性食品成分的代谢量（因此从培养基中消失）少于或等于该成分初始量（发酵前）的 40%。这在数学上可由下式表示：

$$Q_r \geq 0.6 Q_0 \quad (1)$$

其中 Q_r = 生物活性食品成分的残留量（发酵后存在于介质中）， Q_0 = 生物活性食品成分的初始量。

可通过高效液相色谱法（HPLC）串联质谱检测器（MS/MS）的方法测定生物活性食品成分的残留量。在下面的实施例中提供了实验方法的一个实例。

对于用作活微生物，优选细菌，更优选活乳酸菌。

更具体地，活细菌选自：

- 链球菌属 (*Streptococcus spp.*)，优选嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*)；
- 乳杆菌属 (*Lactobacillus spp.*)；
- 乳球菌属 (*Lactococcus spp.*)；和
- 双歧杆菌属 (*Bifidobacterium spp.*)。

优选地，活细菌选自：

- 嗜热链球菌，于2002年1月24日在CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (Pasteur Institute, 巴黎, 法国)) 保藏，编号为 I-2774；

- 嗜热链球菌，于1995年10月24日在CNCM保藏，编号为 I-1630；

- 嗜热链球菌，于2004年5月10日在CNCM保藏，编号为 I-3211；

- 嗜热链球菌，于2004年9月16日在CNCM保藏，编号为 I-3301；

和

- 嗜热链球菌，于2004年9月16日在CNCM保藏，编号为 I-3302。

更优选地，所述活细菌是2004年5月10日以编号 I-3211 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌。

优选地，所述食品至少包含活细菌嗜热链球菌和乳杆菌属。

优选地，所述活嗜热链球菌选自：于2002年1月24日以编号 I-2774 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌；于1995年10月24日以编号 I-1630 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌；于2004年5月10日以编号 I-3211 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌；于2004年9月16日以编号 I-3301 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌；和于2004年9月16日以编号 I-3302 在 CNCM 保藏的嗜热链球菌。

本发明食品中活微生物的含量可以变化，并且将由本领域普通技术人员根据他们对本领域的一般理解来选择。在实践中，追求的标准总体含量优选例如是大约 10^7 到 10^9 个细菌/克食品。

根据一个具体实施方案，根据本发明的食品还包含至少一种诱饵

食品成分。

根据本发明，“诱饵食品成分”是指这样的食品成分（优选肽或蛋白质，其类似物或衍生物及其组合），其能够作为活微生物的营养源（具体而言为氮源），并意图优先被所述微生物代谢，使得这些微生物偏离所述感兴趣的生物活性食品成分，这显然给予其优先保护。因此，所述诱饵成分是微生物的营养源，其可故意牺牲自身来尽可能地保护所述感兴趣的生物活性食品成分。就这一点来讲，诱饵食品成分作为感兴趣生物活性食品成分转运的竞争性抑制剂。

此处的“食品”是指意欲用于动物和/或人消费、优选人消费的产品。这种产品可以是任何类型的可消费形态。它可以是饮料，例如水、植物汁（水果和/或蔬菜和/或谷类等）、乳、饮用酸乳、及其混合物。它也可以是固体产品，或者或多或少潮湿的中间产品。

根据一个具体实施方案，根据本发明的食品为水。

优选地，本发明的食品为发酵产品。

更优选地，所述发酵产品为乳制品或植物产品。

根据本发明，除了乳外，“乳制品”还指来源于乳的产品，例如乳酪、冰淇淋、黄油、干酪和酸乳；二级产品，例如乳清和酪蛋白；以及包含乳或乳成分作为主要成分的任何制成食品(prepared food)。

除了别的以外，“植物产品”还指从植物基源所获得的产品，例如果汁和蔬菜汁，包括豆奶、燕麦汁和大米汁。

此外，上述“乳制品”和“植物产品”的每个定义均覆盖包含乳制品和植物产品混合物的任何产品，例如乳和果汁的混合物。

本发明的另一个主题是一种将至少一种感兴趣的生物活性食品成分包封于油脂中的方法。

在这一方面，在将生物活性食品成分加到已熔化的凝固油脂中来加速其结晶动力学时，重要的是在加入所述成分之前油脂应当完全熔化。因此，在搅拌下向自身允许搅拌的水相中逐渐加入成分，使之围绕所述成分缓慢、诱导结晶，并形成分布均匀的具有适当尺寸的油滴。为了将生物活性食品成分加到白色、优选发酵的主体（mass）中，优选制备糖浆状的中间水性介质。然后将该糖浆加到白色主体中。必须在特定条件下向水性介质中添加所述生物活性食品成分：

- (i) 在将生物活性食品成分和水性介质混合之前，应避免油脂发生总体重结晶，以确保逐渐均匀地添加；
- (ii) 水性介质的温度应接近包封油脂的熔点，以便在接触水性介质时避免其重结晶；和
- (iii) 为确保生物活性食品成分和糖浆的均匀混合，需要剧烈搅拌（例如采用 Ultraturax 型搅拌器）：这可产生具有粘稠奶油质地的白色“乳液”；且当温度保持在包封油脂熔点区时，该体系的低致密性（light consistency）容易泵送。

在生物活性食品成分的包封中使用例如乳化剂的食物添加剂，可获得更为均匀的油脂球“群”。如果不使用乳化剂，发现存在大量较大油脂颗粒（直径约 25 微米或更大），并且肽在产品中的分散相对较低。在另一方面，当使用乳化剂时，分散更高，油脂颗粒更小（最大直径约为 10 微米）。

根据本发明，包封方法至少包括：

a) 在温度保持在接近所述油脂熔点时制备水/油脂混合物，优选温度范围在所述油脂熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ ；

b) 在搅拌、优选轻轻搅拌下将感兴趣的生物活性食品成分逐渐加入步骤 a) 中获得的混合物中，维持整体温度在接近所述油脂熔点，并优选温度范围在所述油脂熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ ；和

c) 任选地，加入一种或多种食品添加剂，例如乳化剂、增稠剂等，并混合整体，优选剧烈混合，并维持整体温度在接近所述油脂熔点，优选温度范围在所述油脂熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 。

在上述步骤 a)、b) 和任选 c) 中应用的温度可在不同步骤之间发生轻微变化，但优选温度范围在油脂熔点 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 之间。在实践中，所有这些步骤中应用的温度优选基本相同。

如有必要，本领域普通技术人员可使用他们的一般知识并任选进行简单的常规实验来相对于所用油脂来适应性修改该方法。

然后，为制备根据本发明的食品，例如乳制品，将在温度保持在接近油脂熔点时所获得的混合物，以完全常规的方式掺入白色主体中，优选通过泵系统，并优选在该主体热处理和发酵步骤之后加入。

本发明的又一个目的是制备如上所述的食品的方法，其中将一种或多种感兴趣的生物活性食品成分包封，例如根据上述方法包封，并随后将其加到混合物中以便形成所述食品。

根据本发明的一个具体实施方案，在搅拌下将所述包封的生物活性食品成分添加到所述混合物中。

当食品被发酵时，可在发酵前或发酵后将所述包封的感兴趣生物活性食品成分添加到混合物中。

然而，优选在发酵后添加包封的生物活性食品成分，来对抗任何任选的热处理步骤，以尽可能地保持油脂微粒的完整性。

根据一个实施方案，根据本发明的制备方法为将所述活微生物和所述包封的感兴趣生物活性食品成分互相前后依次添加到混合物中来形成所述食品。

另外，也可将活微生物和包封的感兴趣生物活性食品成分同时添加到混合物中来形成所述食品。

微生物的培养条件取决于所述微生物，并为本领域普通技术人员所公知。作为实例，指出嗜热链球菌的最佳生长温度范围通常在大致 36°C 到 42°C 之间；所述保加利亚乳杆菌 (*L. delbrueckii* spp. *Bulgaricus*) (通常在酸乳中发现) 的温度范围在大致 42°C 到 46°C 之间。

作为一般规则，当达到期望 pH 值时，可通过快速冷却终止发酵，使之减缓微生物的代谢活性。

本发明的又一个目的是食品如上述作为功能食品的用途。

“功能食品”是指不依赖于其营养作用而有利地影响机体的一或多种目标功能的食品。因此，如果消费者摄入正常量的所述产品，所述功能食品能够导致改善健康和/或福利 (well-being) 和/或减少消费者发生疾病的风险。作为功能食品活性的实例，尤其可提到抗癌活性、免疫刺激活性、促进骨愈合活性、减轻压力活性、阿片样活性、抗高血压活性、提高钙生物利用度的活性和抗微生物活性 (Functional Food Science in

Europe, 1998)。

此类功能食品可用于人和/或动物。

本发明的再一个目的是使用油脂包封至少一种感兴趣的生物活性食品成分，并将其掺入包含一种或多种活微生物的食品中的用途。

附图说明

以下列图举例说明了本发明，但并不局限于此。

图 1: 示例在发酵期间 Lactium®中包含的生物活性 α S1 [91-100] 肽消失的 LC/MS 色谱图。调节 MS/MS 检测器使其仅检测 $m/z = 634.5$ Da 的离子信号（双电荷 α S1 [91-100] 肽的质量），其在片段化之后显示 $m/z = 991.5$ Da、771.5 Da 和 658.3 Da 的子离子（ α S1 [91-100] 肽的特征片段）。

图 2: 在通过由 I-2783（在 2002 年 1 月 24 日保藏于 CNCM）、I-2774（在 2002 年 1 月 24 日保藏于 CNCM）、I-2835（在 2002 年 4 月 4 日保藏于 CNCM）和 I-1968（在 1998 年 1 月 14 日保藏于 CNCM）菌株混合物组成的发酵剂发酵的乳品“混合物”发酵前和发酵后，用 LC-MS/MS 法鉴定和定量 Lactium®中的主要肽。发酵后，仅发现微量的所述肽，几乎可与基线混淆。问号（？）是指不能鉴定序列或不确定；然后仅报告肽的质量。

图 3: 在由 Hansen YC-380 乳酸发酵剂发酵至 pH 为 4.7 之前（1）和之后（2），包含 1.5 g/l DMV C12®水解物的乳“混合物”的对比肽图（LC-MS/MS 色谱图）。几乎所有的水解物肽，包括生物活性 C12 肽（ α S1 [23-24] 片段）均在由发酵剂菌株代谢后消失。

图 4: 10°C 贮存期间在最终产品中生物活性 α S1 [91-100] 肽残留量

变化的示意图，其中最终产品由 95% 的包含菌株 I-2783、I-2774、I-2835 和 I-1968 的发酵剂发酵的物质和 5% 的包含 α S1 [91-100] 肽的调味糖浆组成。试验由 4 个独立测试 E1、E2、E3 和 E4 组成。

图 5: 发酵产品中发酵后添加的生物活性 α S1 [91-100] 肽的残留量变化示意图，其中发酵后再将发酵产品在 75°C 热处理 1 分钟，然后贮存在 10°C 直至使用期限 (UBD)。

图 6: 包封的生物活性食品成分的含量随时间变化的示意图 (4°C 贮存)。

图 7: 在添加到发酵物质之后即刻 (1) 和在 10°C 贮存 14 天后 (2)，包含根据本发明以棕榈油乳液形式添加 1.5 g/L Lactium® 的乳混合物的对比肽图 (LC-MS/MS 色谱图)。

在阅读下列仅为示例说明而给出的实施例后，本发明的其它表征和优点将是显而易见的。

实施例

实施例 1: 不应用本发明，使用感兴趣的生物活性食品成分

1.1) 在 Lactium® 水解物中包含的生物活性 α S1 [91-100] 肽的实施例

在热处理消毒 (即 95°C, 8 分钟) 之前和因此在发酵之前，当制备乳品 “混合物” (使乳粉末化) 时添加所述活性成分时，使用经常以粉末形式提供的肽或蛋白质成分更简单。在此情况下，活性肽代谢的风险是很高的。例如在使用诸如包含生物活性肽 (例如 α S1-酪蛋白的 91-100 片段) 的 Lactium® (Ingredia, 法国) 功能产品时就是这种情况。

实验方案

如下制备培养基: 将脱脂乳粉水化至 120 g/l 的浓度, 补加 1.5 g/l 的 Lactium® (相当于约 30 mg/l 的生物活性 α S1 [91-100]肽), 然后在 95 °C 巴氏消毒 8 分钟。

按照 0.02 % 的比例添加乳酸发酵剂, 然后在选定发酵剂的最优温度 (37-42 °C) 下进行发酵直至达到 pH 为 4.70。

如下使用高效液相色谱 (HPLC) 串联质谱检测器 (MS/MS) 进行残留肽尤其是生物活性 α S1 [91-100]肽的分析:

- 将发酵后培养基在水、甲醇和三氟乙酸 (50/50/0.1 %) 的混合物中以大约 1:6 的比率进行稀释来制备样品。离心后, 上清液即构成发酵后培养基中肽含量的代表性样品。

- 将所述样品注入 Agilent 1100 HPLC 系统 (Agilent Technologies 法国, 1 rue Galvani, 91745 Massy Cedex, 法国), 该系统配备适于色谱柱温度 40 °C 和流速 0.25 ml/min 进行肽分析的 Waters Symetry® 色谱柱 (5 μ m, 2.1 \times 150 mm, WAT056975, Waters France, 5, rue Jacques Monod, 78280 Guyancourt)。按照常规方式, 采用在溶剂 A (水和 0.106 % 甲酸) 中增加溶剂 B (乙腈和 0.100 % 甲酸) 梯度的方法洗脱肽, 作为期望分辨率的函数, 分析时间在 40 分钟到 2 小时。

- 采用专门的 MS/MS 检测器进行检测, 例如用离子阱装置如 Esquire 3000+ (Bruker Daltonique, rue de l'Industrie, 67166 Wissembourg Cedex), 可设置为总肽含量分析 (MS-MS 模式) 或由其特征片段精确和特异性地定量肽。例如依据其质量 (质量为 634.5 Da 的双电荷离子) 分离 α S1[91-100]肽, 并根据片段化后其特征性子离子 (m/z

= 991.5 Da、771.5 Da 和 658.3 Da 的离子) 的强度进行定量。在更为精确的方式中, 由相同的双氘化合物成肽 (特征性片段 993.5 Da) 组成的内标使得可以考虑并排除基质中的潜在干扰物。

结果见图 1 所示。

在其使用的这一阶段 (由菌株 I-2783 (在 2002 年 1 月 24 日保藏于 CNCM)、I-2774 (在 2002 年 1 月 24 日保藏于 CNCM)、I-2835 (在 2002 年 4 月 4 日保藏于 CNCM) 和 I-1968 (在 1998 年 1 月 14 日保藏于 CNCM) 混合物组成的发酵剂、或诸如 YC-380 (Chr. Hansen SA, Le Moulin d'Aulnay, BP64, 91292 ARPAJON Cedex 法国) 的发酵剂发酵之前), 证明超过 95% 的生物活性 α S1 [91-100] 肽在发酵后被消耗掉。

这些结果表明根据上述实施例掺入生物活性肽并不适于获得补充肽和/或生物活性蛋白质的食品尤其是乳制品, 其中这些肽或蛋白质的补充量在观察消费者期望的作用期间足够稳定。

1.2) 其它感兴趣生物活性肽的实施例

结果见图 2 和 3 所示。

Lactium® 含有很多其它肽, 其中一些表现出潜在生物活性 (例如 α S1-酪蛋白片段 23-24, 也由 DMV International 作为 C12® 销售)。引起关注的是: 事实上, 几乎所有通过添加 Lactium® 而提供的肽在发酵期间被消耗掉。

不管它们的来源 (来源于不同的 α S1-、 α S2-、 κ -和 β -酪蛋白) 和大小 (从 2 到 3 个残基直至 12 个残基和更多), 在发酵期间消耗掉了所有的肽。

1.3) 联合使用其它发酵剂以及生物活性 α_{S1} [91-100]肽 (Lactium®)

为了验证这种现象并非特异性地针对上述 1.1) 段中所用的两种发酵剂, 采用相同的检验方法检验了主要工业发酵剂以及在所述发酵剂组合物中使用的各种纯菌株: 添加 1.5 g/l 量的 Lactium® 至从乳粉复溶的乳, 在标准条件 (发酵剂的最优温度在 37°C 到 42°C 之间, 在 pH 为 4.7 时终止发酵, 2 个重复样本) 下进行发酵。然后对发酵前和发酵后的样品中生物活性 α_{S1} [91-100]肽的含量进行分析。

在纯菌株中获得的结果提供于下表 3 中:

表 3

| 纯菌株 (嗜热链球菌) | 发酵后剩余 α_{S1} [91-100]肽的百分含量 |
|----------------------|------------------------------------|
| I-1630 (1995年10月24日) | 0.3 |
| I-1477 (1994年9月22日) | 0.3 |
| 纯菌株 (乳杆菌) | |
| I-1632 (1995年10月24日) | 0.2 |
| I-1519 (1994年12月30日) | 0.1 |
| I-1968 (1998年1月14日) | 1.6 |
| I-2809 (2002年2月19日) | 0.4 |

上表 3 反映了在包含 1.5 g/l Lactium® 的乳混合物发酵期间各种发酵剂和工业菌株对生物活性 α_{S1} [91-100]肽的消耗, 通过它们的 CNCM (Pasteur Institute, 巴黎, 法国) 编号和保藏日期识别纯菌株。

表 3 表明在标准乳混合物发酵期间所有的酶和受试菌株代谢从 94 % 到 100 % 的生物活性 α_{S1} [91-100]肽。因此, 在常规条件下不可能使用这种产品来生产包含这些肽或生物活性蛋白质的食品尤其是乳制品, 其中所述肽或蛋白质的量在消费者中产生作用的时间中足够稳定。

此外, 为了验证这种现象并非特异性地针对 Lactium®, 对几种发酵剂和含生物活性肽的其它成分的几种组合进行相同试验 (复溶的乳和

1.5 g/l 量的受试成分在标准条件下发酵，在 pH 为 4.7 时停止发酵，两个重复样本)。各种检验组合提供于下表 4 中。

表 4

| 酶/纯菌株 | Lactium® 中 的 α S1 [91-100] 肽 | Lactium® 中 的其它肽 | DMV C12® | DMV CPP® |
|--|--|--------------------|-------------|-------------|
| 4种菌株的混合物: I-2783 (2002年1月24日) I-2774 (2002年1月24日) I-2835 (2002年4月4日) I-1968 (1998年1月14日) | X | X | X | X |
| I-1630 (1995年10月24日) | X | | X | /X |
| Hansen YC-380 | X | X | X | X |

由 DMV International 生产的 C12®和 CPP®成分均为乳蛋白质水解物，它们分别包含靶向控制高血压和矿物质吸收的生物活性肽。

通过所有的试验，很明显所有受试发酵剂均具有显著的代谢肽的能力，而与其性质和大小无关。

1.4) 发酵后加入

另外一种上述研究方法的合理替代是在发酵后引入功能性成分(“延迟区分”法)，例如与用于发酵物调味的糖浆一起。根据这一研究方案使用相同量的 Lactium®所导致的结果提供于图 4 中。

如图 4 所示，即使在发酵后低温冷却(4℃)加入，但在贮存期间活性肽(以相当于 1.5 g Lactium®/kg 最终产品来提供)被快速降解，到使用期限(UBD)仅剩余初始含量的 30-40%。

因此，在最终产品中的活乳酸菌群在最终产品贮存期间继续代谢生物活性肽，使得在仅仅 10 天后(新鲜产品的 UBD 为 28 天)35-50%的 α S1 [91-100]肽消失，这一事实对于在消费者中获得期望作用是不可接受的。

1.5) 包含感兴趣生物活性食品成分的发酵乳制品的热处理

在此情况下，有可能确保 α S1 [91-100]肽的稳定性（图 5），但对最终产品的整体质量不利。事实上这种方案有很多缺点：

- 发酵乳制品的热处理涉及在热处理前使用添加稳定剂（果胶、淀粉、角叉胶等），因而使工艺更复杂，并显著增加了配方成本；
- 工业生产线更为复杂，并要求更为显著的专门投资；
- 产品不再受益于与含活发酵剂的产品（酸乳）相关的质量标识，实际上将丧失与乳酸发酵剂消费相关的益处；和
- 感官影响（通常是负面影响）显著。

实施例 2：使用感兴趣的生物活性食品成分同时应用本发明

2.1 步骤 1：生物活性食品成分的包封

所选包封油：棕榈油（熔点 = 37°C）。该类型油有很多供货商（例如 Cargill）。

将油在 50°C 熔化，获得没有晶体存在的液态油，然后在磁力搅拌下（温度维持 50°C）逐渐添加包含生物活性食品成分 α S1 [91-100] 的 Lactium®。

2.2 步骤 2：糖浆型水性介质的制备

以水和棕榈油/生物活性食品成分预混物来制备一种糖浆。在 Ultraturax 搅拌下（22000 rpm）将生物活性食品成分逐渐添加到水中（30°C），人为地将溶液中棕榈油含量固定在 30%。

所获得乳液在 30°C 到 35°C 之间可容易地泵送，但只要温度降低至低于 25°C 到 30°C（棕榈油逐渐重结晶），就会变得越来越硬。使用比例

为 0.5%/油脂的食品乳化剂（例如由 Danisco 提供的 Lactem®），可获得更少不均匀性的油脂颗粒群。

2.3 步骤 3：将乳剂添加到发酵的白色主体中

如图 6 和 7 所示，生物活性食品成分的含量随时间变化是稳定的，表明生物活性食品成分可通过根据本发明的包封被有效地保护。

因此，除了其稳定性显示于图 6 中的 α S1 [91-100]肽外，其它肽例如 α S1 [23-34]生物活性肽（存在于由 DMV International 提供的 C12 成分中）也可以被有效地保护（图 7）。感兴趣肽（图 7（1）中以箭头表示的）以外的其它肽的消失解释了总肽含量减少的一部分，并可能因此减少最终产品中的苦味。

参考文献

- Kayser et al., (1996) FEBS Letters 383, 18-20
- Hata Y. et al., (1996) Am. J. Clin. Nutr. 64, 767-71
- Nakamura Y. et al., (1995) J. Dairy Sci. 78, 1253-7
- Migliore-Samour D. et al., (1988) Experimentia 44, 188-93
- Defilippi C. et al., (1995) Nutr. 11, 751-4
- Tomé D. et al., (1987) Am. J. Physiol. 253, G737-44
- Tomé D. et al., (1988) Reprod. Nutri. Dévelop. 28, 909-18
- Ben Mansour A. et al., (1988) Pediatr. Res. 24, 751-5
- Mahé S. et al., (1989) Reprod. Nutri. Dévelop. 29, 725-32
- Schusdziarra V. et al., (1983) Diabetologia 24, 113-6
- Yvon M. et al., (1994) Reprod. Nutri. Dévelop. 34, 527-37
- Zucht H. D., et al., (1995) FEBS Letters 372, 185-8
- Tomita M. et al., (1994) Acta Paed. Jap. 36, 585-91
- Lahov E. et al., (1996) Food Chem. Toxic. 34, 131-145
- Migliore-Samour D. et al., (1989) Int. Dairy Res. 56, 357-62
- Jollès P. et al., (1986) Europ. J. Biochem. 158, 379-82
- Raha S. et al., (1988) Blood 772, 172-8
- Chabance B. et al., (1995) Brit. J. Nut. 73, 582-90
- Kohmura M. et al., (1989) Agric. Biol. Chem. 53, 2107-14
- Masuda O. et al., (1996) J. Nutr. 126, 3063-8
- Yamamoto N. et al., (1994) Biosci. Biotech. Biochem. 58, 776-8
- Ermisch A. et al., (1983) J. Neurochem. 41, 1229
- Umbach M. et al., (1985) Regul. Pept. 12, 223-30
- Singh M., et al., (1989) Pediatr. Res. 26, 34-8
- Svedberg J. et al., (1985) Peptides 6, 825-30
- Teschmacher H., et al., (1986) J. Dairy Res. 53, 135-8
- Yoshikawa M. et al., (1986) Agric. Biol. Chem. 50, 2419-21
- Chiba H. et al., (1989) J. Dairy Sci. 72, 363
- Beucher S. et al., (1994) J. Nutr. Biochem. 5, 578-84
- Parker F. et al., (1984) Eur. J. Biochem. 45, 677-82
- Otani H. et al., (1992) Milchwiss. 47, 512-5
- Otani H. et al., (1995) J. Dairy Res. 62, 339-48
- Drouet et al., (1990) Nouv. Rev. Fr. Dermatol. 32, 59-62
- Mullaly M. et al., (1997) Int. Dairy J. 7, 299-303
- Meisel H. et al., (1986) FEBS Letters 196, 223-7
- Danone World Newsletter N°17 (september 1998)
- Functional Food Science in Europe (1998) British Journal of Nutrition 80 (1): S1-S193
- Directional Paired Comparison Method, Sensory Evaluation of Food, Harry T. Lawless, Hildegard Heymann (1990)

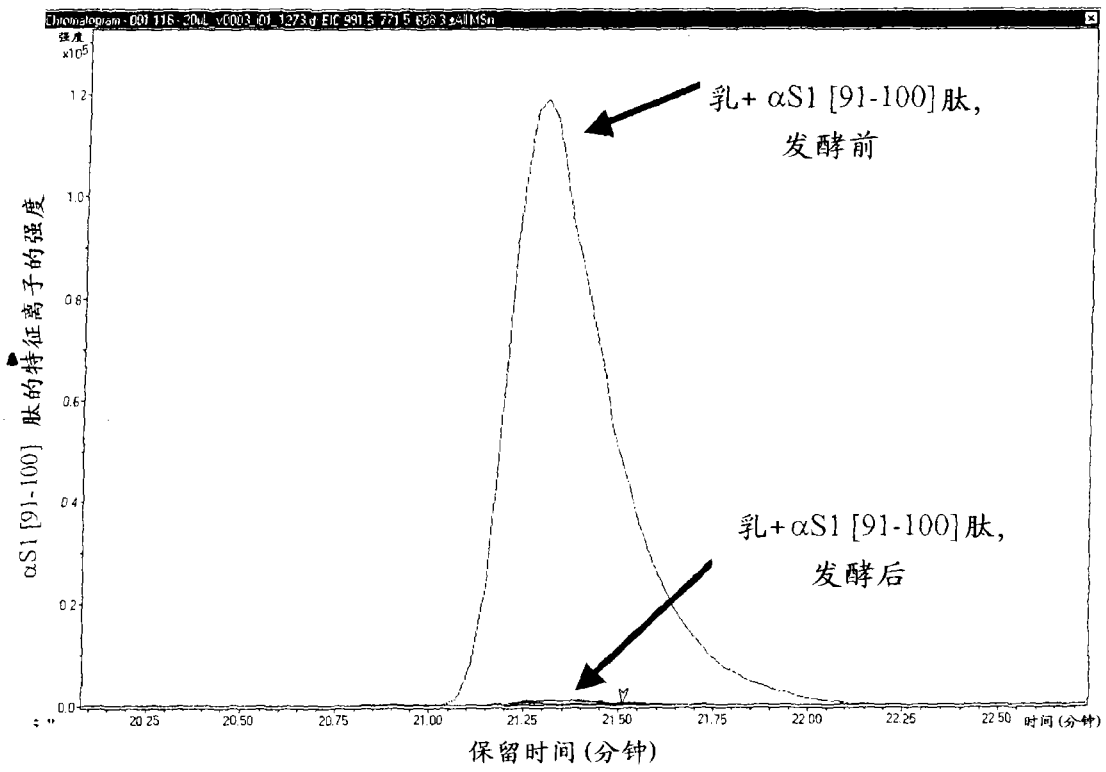


图1

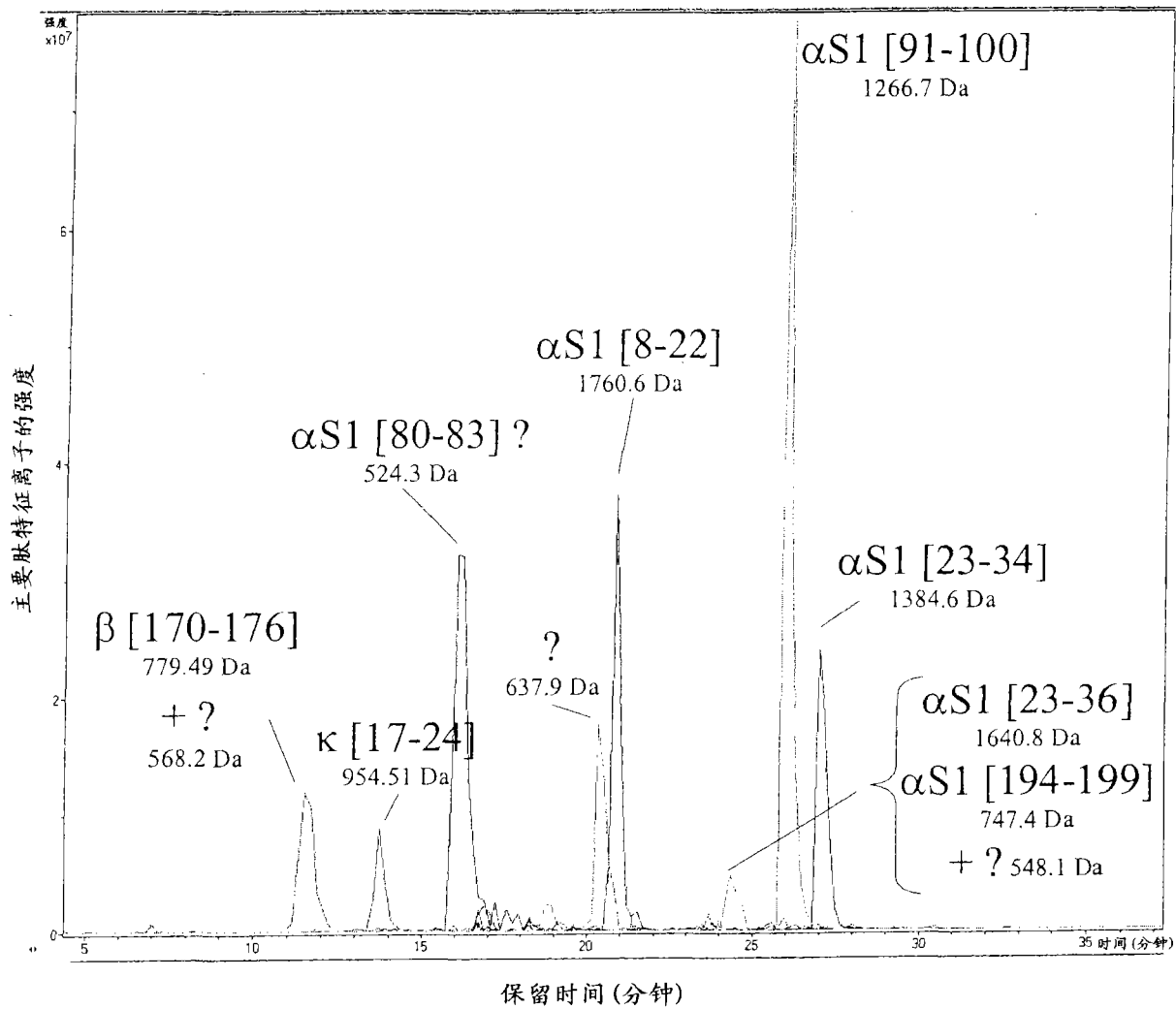


图2

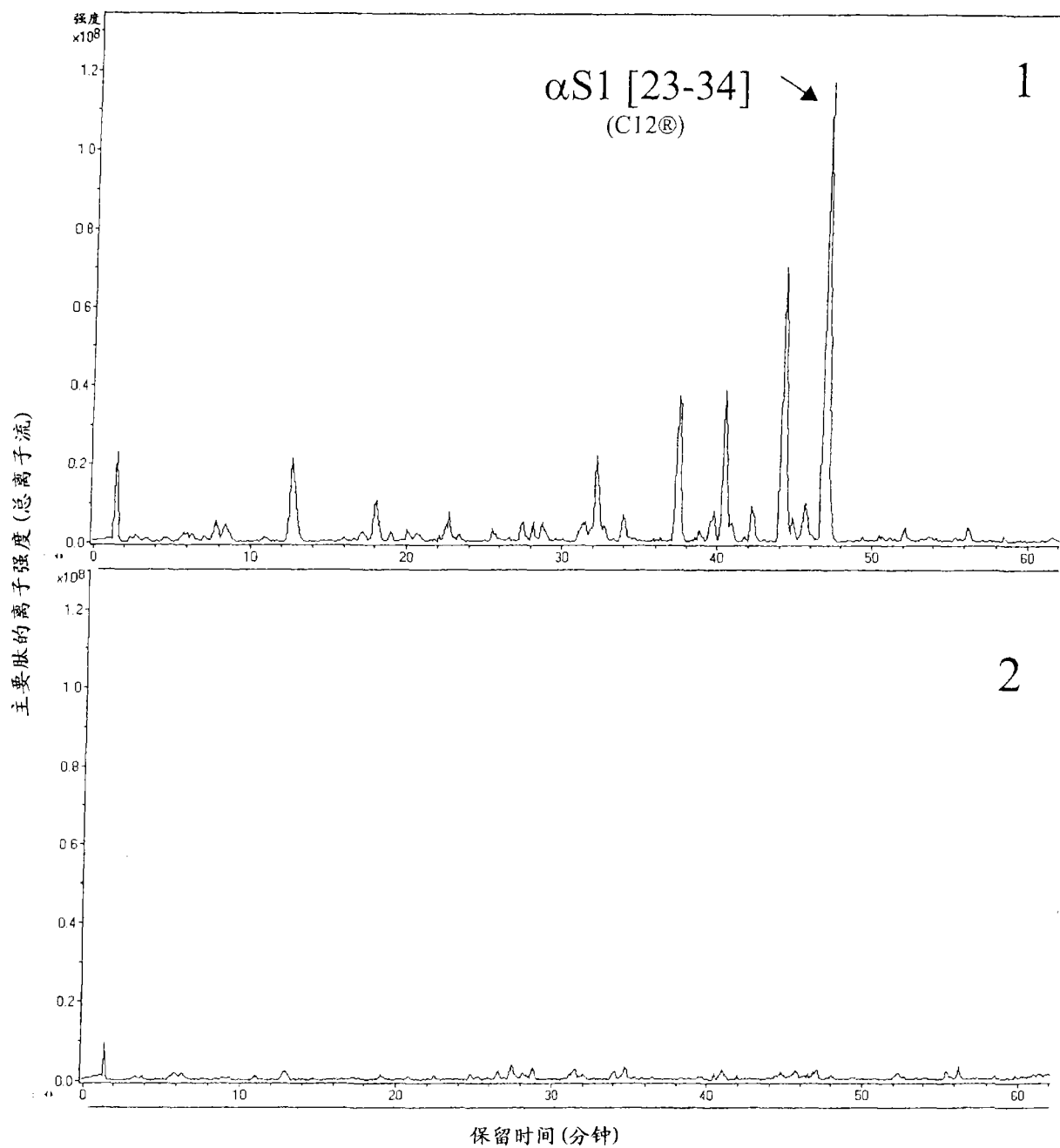


图 3

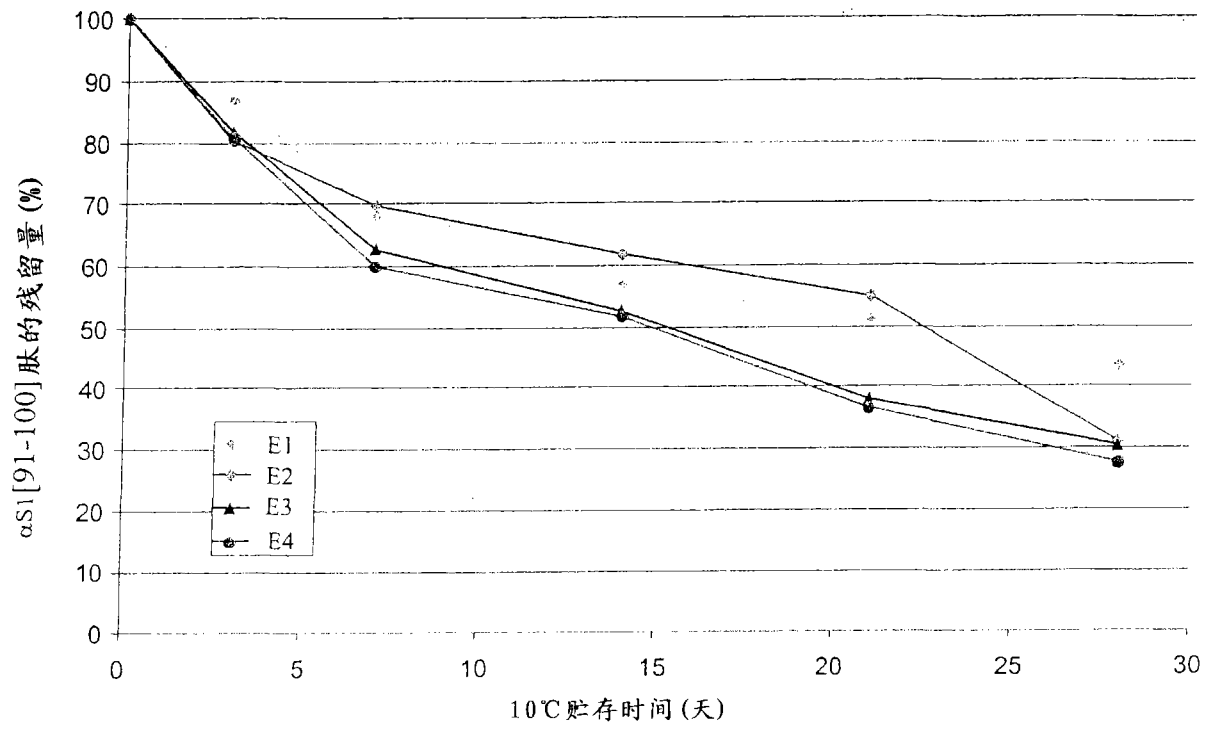


图4

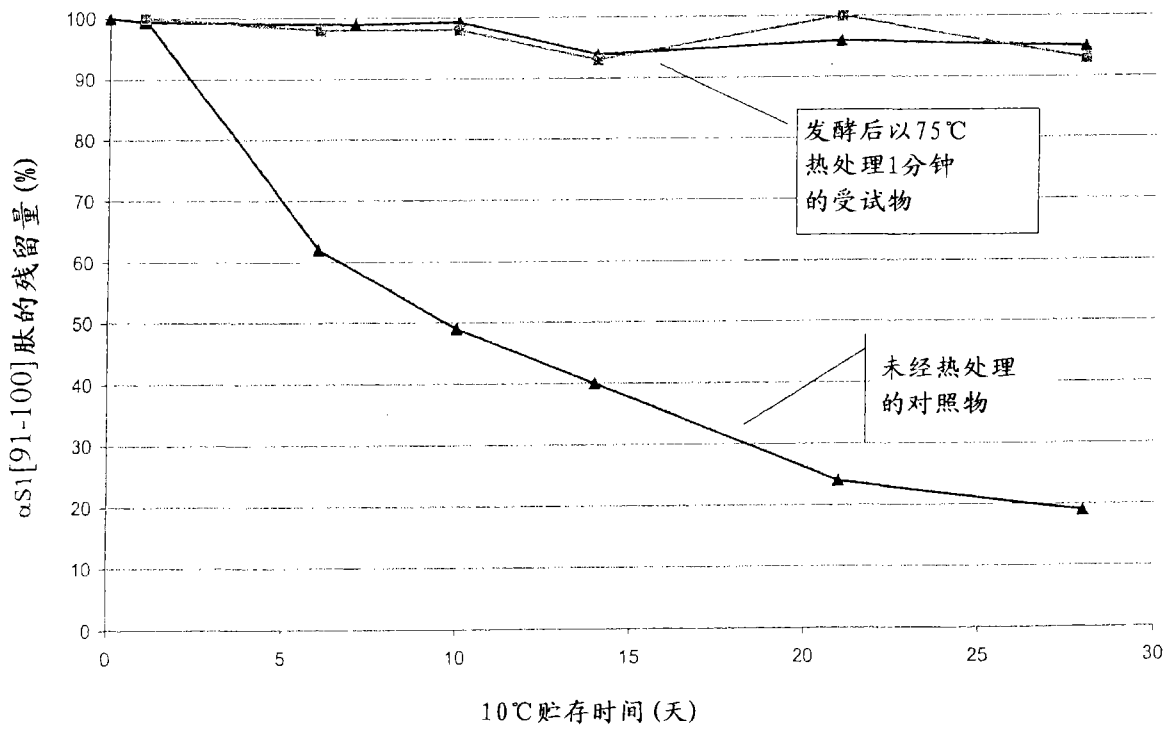


图5

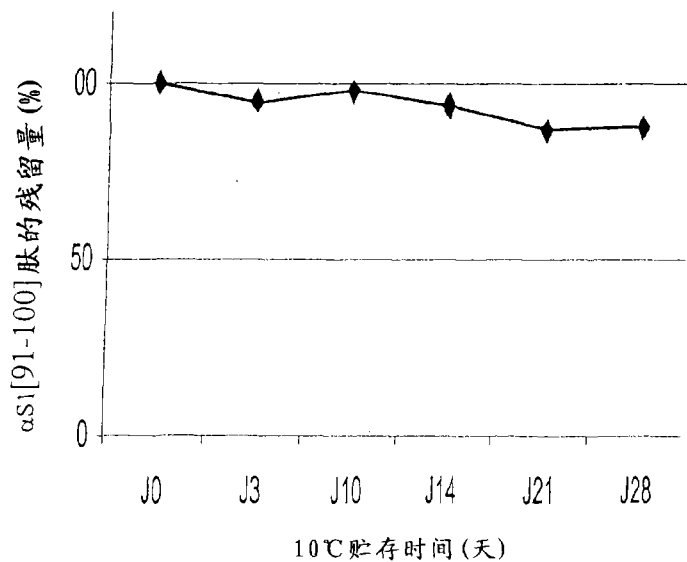


图6

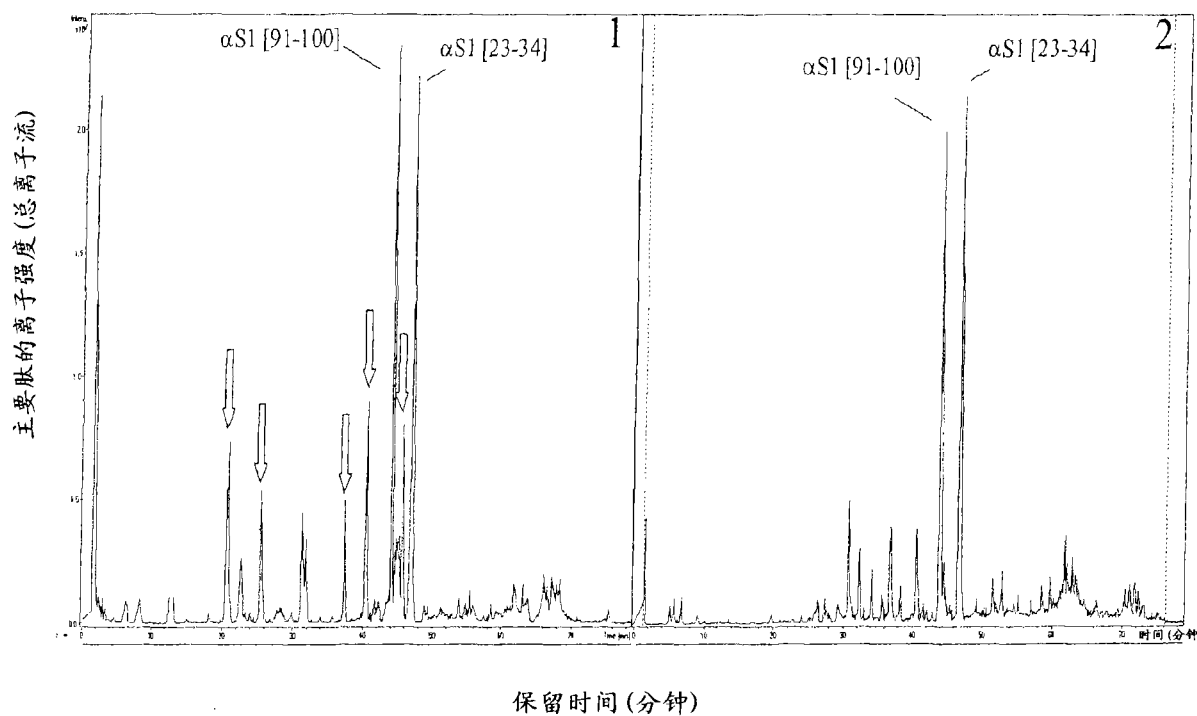


图7