



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106923345 B

(45) 授权公告日 2021.02.26

(21) 申请号 201710163295.8 A23L 33/12 (2016.01)
(22) 申请日 2017.03.19 A23L 33/15 (2016.01)
(65) 同一申请的已公布的文献号 A23L 33/125 (2016.01)
申请公布号 CN 106923345 A A23L 33/17 (2016.01)
(43) 申请公布日 2017.07.07 审查员 刘自琴
(73) 专利权人 北京罗诺强施医药技术研发中心
有限公司
地址 101111 北京市大兴区经济技术开发
区科创六街88号亦庄生物医药园3号
楼908室
(72) 发明人 魏世峰 汪鹤龄
(51) Int. Cl.
A23L 33/135 (2016.01)
A23L 33/115 (2016.01)
A23L 33/16 (2016.01)

权利要求书1页 说明书23页

(54) 发明名称
稳定的益生菌组合物

(57) 摘要

本发明涉及稳定的益生菌组合物。具体地，本发明涉及一种益生菌组合物，其中包含：益生菌、磷脂、甘油酯、任选的碳水化合物、和任选的粘合剂，该益生菌组合物呈颗粒物或粉末的形式，并且其中的含水量小于4%。本发明益生菌组合物其每1g中包含 1×10^6 - 1×10^{14} cfu的益生菌。还涉及该益生菌组合物的制备方法以及包含该益生菌组合物的营养组合物。本发明益生菌组合物具有优异的性质例如具有优异的稳定性。

1. 一种益生菌组合物,其中每1g中包含: 1×10^6 ~ 1×10^{14} cfu益生菌、5~20mg磷脂、5~20mg甘油酯、0.5~2mg谷维素、0.1~0.5mg甘氨酸锌、5~20mg粘合剂和加至平衡量的碳水化合物,该益生菌组合物呈颗粒物或粉末的形式,并且其中的含水量小于4%。
2. 根据权利要求1的益生菌组合物,其每1g中包含 1×10^9 ~ 1×10^{11} cfu的益生菌。
3. 根据权利要求1的益生菌组合物,其每1g中包含7.5~12.5mg的磷脂。
4. 根据权利要求1的益生菌组合物,其每1g中包含7.5~12.5mg的甘油酯。
5. 根据权利要求1的益生菌组合物,其中碳水化合物选自多糖、二糖和单糖。
6. 根据权利要求1的益生菌组合物,其每1g中包含0.75~1.25mg的谷维素。
7. 根据权利要求1的益生菌组合物,其每1g中包含0.1~0.25mg的甘氨酸锌。
8. 根据权利要求1的益生菌组合物,其中所述益生菌包含存活的微生物细胞。
9. 根据权利要求8的益生菌组合物,其中所述存活的微生物细胞包括鼠李糖乳酸菌。
10. 根据权利要求8的益生菌组合物,其中所述存活的微生物细胞包括长双歧杆菌BB536、长双歧杆菌婴儿亚种35624、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12或其任何组合。
11. 根据权利要求1的益生菌组合物,其中还包含果胶。
12. 根据权利要求1的益生菌组合物,所述磷脂包含卵磷脂。
13. 根据权利要求1的益生菌组合物,所述甘油酯包含甘油单酯、甘油二酯、甘油三酯或其任何组合。
14. 根据权利要求1的益生菌组合物,所述益生菌组合物被包封在胶囊中。
15. 根据权利要求14的益生菌组合物,所述胶囊还包含一定量的二十二碳六烯酸。
16. 根据权利要求1的益生菌组合物,所述益生菌组合物中还包含非存活的益生菌。
17. 根据权利要求16的益生菌组合物,所述非存活的益生菌选自:鼠李糖乳酸菌、长双歧杆菌BB536、长双歧杆菌婴儿亚种35624、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12或其任何组合。
18. 制备权利要求1-17任一项所述益生菌组合物的方法,其包括如下步骤:
 - (1) 使所述益生菌、谷维素、甘氨酸锌混合均匀,再加入磷脂、甘油酯混合均匀;
 - (2) 向混合物中添加加入粉末状的碳水化合物,混合均匀,再添加用水配制的粘合剂,混合,制成湿的颗粒物;
 - (3) 使所得湿颗粒物干燥以使水分降至4%以下,即得。
19. 一种营养组合物,其包括:
权利要求1-17任一项所述益生菌组合物;和
用于给使用者提供营养的蛋白质源。
20. 根据权利要求19的营养组合物,所述益生菌组合物占所述营养组合物总重量的0.1~20%。
21. 根据权利要求19的营养组合物,所述营养组合物是所述益生菌组合物与所述蛋白质源的预先配制物,或者所述营养组合物是所述益生菌组合物与所述蛋白质源的临时配制物。
22. 根据权利要求19的营养组合物,所述营养组合物为粉末的婴儿配方。
23. 根据权利要求19的营养组合物,所述营养组合物中还包含至少一种另外的脂质组分。
24. 根据权利要求19的营养组合物,所述营养组合物还包含非存活的益生菌。

稳定的益生菌组合物

技术领域

[0001] 本公开涉及用于个体摄取的生物材料的稳定化组合物。更具体而言,本公开涉及包含至少一种磷脂和至少一种甘油酯的稳定化的混合物,当益生菌包含在营养组合物中时,所述至少一种磷脂和至少一种甘油酯一起向益生菌生物体提供改进的稳定性。本公开还包括益生菌稳定化方法。

背景技术

[0002] 当前存在用于补充人和动物两者的营养的各种各样的组合物。可以提供这些补充物以改变、降低或提高个体的肠道内的微生物群,从而对消化产生期望的作用。理想地,补充可以基于改变人体的胃肠(GI)道内的特定细菌为个体(包括人)培养改进的微生物群。这种类型的补充可以通过使用益生菌进行,所述益生菌理解为存活的微生物,当以有效量给予时,其向宿主赋予健康或营养益处。较常见的类型的益生菌之一为乳酸菌,其能够将糖和其他碳水化合物转化成乳酸。这种转化降低宿主的肠道内的pH并向有害生物体提供较少生长和通过胃肠感染引起问题的机会。

[0003] 常见的技术挑战为以既针对益生菌的保持又针对个体的健康和愉快的合适方式将益生菌引入到宿主中。当前的技术包括采用包封和稳定化技术以用保护层或基质防护益生菌,从而可以将经保护的微生物送到个体的GI道内的适当位置。

[0004] 尽管存在涉及包含微生物以递送到动物的消化系统的包封和稳定化技术的发展,在保护益生菌在分配和储存期间的生存能力的包封或稳定化技术中几乎没有发展。在排除制冷的情形下,以及进一步在这种制剂可以暴露到各种环境(尤其是与热带气候相关的那些)的情况下,对有用的稳定化技术存在需要。另外,产物的固有水分具有挑战性,原因是益生菌一般对水(尤其是与高温的组合)具有敏感性。迄今为止,没有技术或技能被认为当加到营养配方中时在中等水分条件(即约0.2和更高且至多约0.4或更高的水活性)和在运输和储存期间的高温(即至少约30°C,且至多和高于40°C的温度)下向益生菌递送充分的保护。

[0005] 具体而言,益生菌可以向宿主提供各种各样的益处,例如保持健康的胃肠菌群,增强免疫力,防止腹泻、特应性皮炎和其他疾病等。因此,需要在各种地理位置(包括热带气候)中给予益生菌,在热带气候中益生菌的生存能力会受到损害。常规的包封和稳定化技术具有不适用于婴儿配方和/或被儿童使用的化学组成,或已知技术具有显著限制商业机会的差的稳定性特征。

[0006] 因此需要使用婴儿配方或儿童的营养的可接受成分的稳定化技术和稳定化的细菌混合物,所述稳定化的混合物允许改进稳定性性质,从而益生菌可以在各种各样的地理位置和气候中运输,同时保持有用的储存寿命。还需要保护用于营养组合物例如婴儿配方、补充物和儿童产品的益生菌(例如鼠李糖乳酸菌(*Lactobacillus rhamnosus*))的稳定化技术。实际上,包括与营养因素组合的改进的稳定性特征的组合,提供适用于产前、婴儿和儿童的营养的改进的稳定化的混合物。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种可使益生菌稳定贮存的益生菌组合物。本发明另一目的在于提供一种包含蛋白质源和益生菌组合物的营养组合物。已经出人意料的发现,本发明益生菌组合物或者包含该益生菌组合物的营养组合物呈现优异的生物学稳定性特别是可使益生菌稳定贮存的生物学稳定性。

[0008] 为此,本发明第一方面提供了一种益生菌组合物,其中包含:益生菌、磷脂、甘油酯、任选的碳水化合物、和任选的粘合剂,该益生菌组合物呈颗粒物或粉末的形式,并且其中的含水量小于4%。

[0009] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其每1g中包含 1×10^6 – 1×10^{14} cfu的益生菌,例如 1×10^9 – 1×10^{11} cfu的益生菌。向所述益生菌组合物中添加的益生菌可以是以其商业化来源的形式或者可以是经培养扩增过的形式,这些形式中允许含有生物学可接受的基质例如存在于酸乳中的益生菌形式。

[0010] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其每1g中包含5~20mg的磷脂,例如7.5~12.5mg的磷脂。

[0011] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其每1g中包含5~20mg的甘油酯,例如7.5~12.5mg的甘油酯。

[0012] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,在必要时,其中可以添加碳水化合物,这些碳水化合物在本发明中通常作为赋形剂和/或稀释剂的功能,特别是用于使本发明益生菌组合物呈现一定的体积/重量,例如在其它组分不足以使本发明益生菌组合物达到期望的体积和/或重量的情况下,通过添加适当量的碳水化合物可以实现此目的。通常而言,此类作为赋形剂和/或稀释剂的功能的碳水化合物不会对益生菌的生物学活性产生积极或消极的影响。因此,在阐述本发明益生菌组合物中的碳水化合物的添加量是,可以以平衡量的方式添加,例如以“加至配方总量”、“加至全量”、“加至平衡量”……等或者是类似的方式表述。

[0013] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,在必要时,其中可以添加粘合剂,这种粘合剂可以使本发明益生菌组合物中的各种物料形成比其原有尺寸更大的颗粒物或粉末。通常而言,所述益生菌组合物每1g中包含5~20mg的粘合剂,例如7.5~12.5mg的粘合剂。

[0014] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中还包含谷维素(Oryzanol,或Oryzanolum)。在一个实施方案中,所述益生菌组合物每1g中包含0.5~2mg的谷维素,例如0.75~1.25mg的谷维素。

[0015] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中还包含甘氨酸锌。在一个实施方案中,所述益生菌组合物每1g中包含0.1~0.5mg的甘氨酸锌,例如0.1~0.25mg的甘氨酸锌。已经出人意料的发现,当制备本发明益生菌组合物时,与所述益生菌一起同时添加适宜量的谷维素和甘氨酸锌二者,比之于不添加此二者或者仅添加其一,所得益生菌组合物中的益生菌的存活稳定性有显著的提高。

[0016] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述益生菌包含存活的微生物细胞。

[0017] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述存活的微生物细胞

包括鼠李糖乳酸菌 (*Lactobacillus rhamnosus*)。

[0018] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述存活的微生物细胞包括长双歧杆菌BB536 (*Bifidobacterium longum* BB536)、长双歧杆菌婴儿亚种35624 (*Bifidobacterium longum* subsp.*infantis* 35624)、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12 (*Bifidobacterium animalis* subsp.*lactis* BB-12)或其任何组合。

[0019] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述存活的微生物细胞包括鼠李糖乳酸菌 (*Lactobacillus rhamnosus*)。

[0020] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述存活的微生物细胞包括长双歧杆菌BB536 (*Bifidobacterium longum* BB536)、长双歧杆菌婴儿亚种35624 (*Bifidobacterium longum* subsp.*infantis* 35624)、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12 (*Bifidobacterium animalis* subsp.*lactis* BB-12)或其任何组合。

[0021] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中还包含果胶。

[0022] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述磷脂包括至少一种磷脂。在一个实施方案中,所述至少一种磷脂包含卵磷脂。

[0023] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述甘油酯包括至少一种甘油酯。在一个实施方案中,所述至少一种甘油酯包含甘油单酯、甘油二酯、甘油三酯或其任何组合。

[0024] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述益生菌组合物被封装在胶囊中。

[0025] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述胶囊还包含一定量的二十二碳六烯酸。

[0026] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述益生菌组合物中还包含非存活的益生菌。

[0027] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述非存活的益生菌可以为鼠李糖乳酸菌、长双歧杆菌BB536、长双歧杆菌婴儿亚种35624、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12或其任何组合。

[0028] 根据本发明第一方面任一实施方案的益生菌组合物,其中所述益生菌组合物中还包含至少一种另外的脂质组分,即区别于本发明磷脂和甘油酯的脂质组分。

[0029] 进一步的,本发明第二方面提供了制备本发明第一方面任一实施方案所述益生菌组合物的方法,其包括如下步骤:

[0030] (1) 使所述益生菌、谷维素、甘氨酸锌混合均匀,再加入磷脂、甘油酯混合均匀;

[0031] (2) 向混合物中添加加入粉末状的碳水化合物,混合均匀,再添加用水配制的粘合剂,混合,制成湿的颗粒物;

[0032] (3) 使所得湿颗粒物干燥以使水分降至4%以下,即得。

[0033] 在本发明第二方面任一实施方案中,所述使所得湿颗粒物干燥以使水分降至4%以下的干燥工艺可以是本领域公知的干燥工艺,优选是在低于45°C温度下的干燥工艺。例如在低于45°C温度下的流化床干燥工艺,例如在低于40°C温度下的流化床干燥工艺。例如在低于40°C温度下的冷冻、速冻、冷冻干燥、环境空气干燥、真空干燥、喷雾干燥、低温干燥及其任何组合。

[0034] 进一步的,本发明第三方面提供了一种营养组合物,其包括:

[0035] 本发明第一方面任一实施方案所述益生菌组合物;和

[0036] 用于给使用者提供营养的蛋白质源。

[0037] 根据本发明第三方面,所述益生菌组合物占所述营养组合物总重量的0.1~20%,例如0.5~10%,例如1~5%。当然根据不同使用者的具体情况,益生菌组合物在所述营养组合物中的比例还可以在更宽的范围内调整、改变。

[0038] 根据本发明第三方面,所述营养组合物可以是本发明第一方面所述益生菌组合物与所述蛋白质源的预先配制物,例如在制备得到本发明第一方面所述益生菌组合物后立即与所述蛋白质源混配制得所述营养组合物;所述营养组合物亦可以是本发明第一方面所述益生菌组合物与所述蛋白质源的临时配制物,例如在制备得到本发明第一方面所述益生菌组合物后将其单独包装,然后在使用它时或者在将来使用它们时,例如在3个月内或者1个月内或者1个星期内即将使用它们时,使这种益生菌组合物与所述蛋白质源混配制得所述营养组合物。

[0039] 相对于本发明第三方面的营养组合物而言,本发明第一方面的益生菌组合物作为使益生菌稳定化的一种物料(产品、成品或中间体),这种益生菌组合物在本发明中亦可称为含有益生菌的保护基质,其内含有益生菌以及使该益生菌稳定的保护性组分,例如本发明所述磷脂、甘油酯、谷维素、甘氨酸锌等。

[0040] 根据本发明第三方面,所述营养组合物为粉末的婴儿配方。

[0041] 根据本发明第三方面,所述营养组合物中还包含至少一种另外的脂质组分,即区别于本发明磷脂和甘油酯的脂质组分。

[0042] 根据本发明第三方面,所述营养组合物还包含非存活的益生菌。

[0043] 本发明任一方面或该任一方面的任一实施方案所具有的任何一技术特征同样适用其它任一实施方案或其它任一方面的任一实施方案,只要它们不会相互矛盾,当然在相互之间适用时,必要的话可对相应特征作适当修饰。下面对本发明的各个方面和特点作进一步的描述。

[0044] 本发明所引述的所有文献,它们的全部内容通过引用并入本文,并且如果这些文献所表达的含义与本发明不一致时,以本发明的表述为准。此外,本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义,即便如此,本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释,提及的术语和短语如有与公知含义不一致的,以本发明所表述的含义为准。

[0045] 在一些实施方案中,本公开涉及包含蛋白质源和益生菌的营养组合物,其中所述益生菌在保护基质中稳定化,所述保护基质包含至少一种磷脂和至少一种甘油酯。

[0046] 在这些实施方案中,所述营养组合物包含存活的微生物细胞,例如存活的鼠李糖乳酸菌细胞。而且,所述基质可以包含水解蛋白质源、果胶、另外的脂质或其任何组合。所述营养组合物可以为粉末的配方,例如粉末的婴儿配方。而且,所述至少一种甘油酯可以包括甘油单酯、甘油二酯或其任何组合。

[0047] 在另一个实施方案中,本公开涉及保护用于粉末的营养组合物的存活的益生菌的方法,所述方法包括以下步骤:(i)提供存活的益生菌,(ii)通过将至少一种磷脂和至少一种甘油酯共混在一起制备用于益生菌的保护基质,和(iii)组合所述存活的益生菌、所述保

护基质和水以产生混合物；和 (iv) 将步骤 (iii) 的混合物干燥至约4%或更少的最终水分含量。这种方法可以包括另外的步骤：a) 将所述干燥混合物加到粉末的营养产品，或b) 将步骤 (iv) 的干燥混合物封装在胶囊中。在这样的一个实施方案中，所述存活的益生菌可以为鼠李糖乳酸菌 (其在本发明中亦可标记为LGG)、长双歧杆菌BB536 (其在本发明中亦可标记为BB536)、长双歧杆菌婴儿亚种35624 (其在本发明中亦可标记为35624)、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12 (其在本发明中亦可标记为BB-12) 或其任何组合。

[0048] 技术人员在考虑以下描述时变得显而易见的这些方面和其他方面可以通过提供用于生物材料例如益生菌的稳定化的磷脂和甘油酯以及谷维素和甘氨酸锌的混合物来实施，以提供提高的生物材料稳定性，产生生物材料的改进、长期的生存能力。在一个实施方案中，所述稳定化的混合物有利地延长益生菌的储存寿命。所述稳定化的混合物可以以各种各样的方法与益生菌组合，所述方法包括用于保存益生菌的冷冻干燥、空气干燥、真空干燥、喷雾干燥及其任何组合。

[0049] 应当理解以上概述和以下详述两者提供本公开的实施方案且旨在向其所要求保护的本公开的性质和特征提供理解的综述或框架。

[0050] 现在将详细提及本公开的实施方案，在下文描述其一个或多个实例。通过解释本公开的营养组合物提供各个实例且并不是限制。实际上，本领域技术人员显而易见的是在不偏离本公开的范围的情况下，可以对本公开的教导进行各种修改和改变。例如，作为一个实施方案的部分说明或描述的特征可以与另一个实施方案一起使用以产生又一个实施方案。

[0051] 因此，本公开旨在涵盖在随附权利要求及其等价物内进行的这些修改和改变。本公开的其他目的、特点和方面在以下详述中公开或由以下详述而显而易见。本领域普通技术人员应当理解本公开的讨论只是例示性实施方案的描述，且并不旨在限制本公开的更广泛的方面。

[0052] 本公开提供稳定化技术和稳定化混合物 (在文中还称为“稳定化混合物”或“保护基质”)，其可以用于改进生物材料 (在文中还称为“基材”) 的稳定性。在本公开的实施方案中，所述稳定化基材可以为益生菌，其中在摄取包含稳定化益生菌的营养组合物时，可以将与稳定化益生菌相关的各种健康益处赋予到个体。

[0053] 虽然认为益生菌具有营养益处，一般认为如果益生菌微生物在微生物仍存活时被受试者摄取的话，将使益生菌的有益作用最大化。因此，存活的益生菌需要经受住生产和配置到可消耗的营养组合物 (例如食物或饮料) 中的条件，以及在产品被摄取和引入到受试者的胃肠道之前经受住随后的运输和存储时间。许多常规的益生菌组合物采用极其高计数的存活细胞，且应当理解相当大数目的细胞最终在生产过程、运输和储存期间失去生存能力并死亡。

[0054] 通过实施本公开，将包含至少一种磷脂和/或至少一种甘油酯的脂质组分加到保护基质中。所述磷脂和/或甘油酯提高被基质保护的益生菌的稳定性。因此，婴儿和儿童相容的益生菌可以用包含至少一种磷脂和/或至少一种甘油酯的基质稳定化。在一些实施方案中，所述基质还包含至少一种另外的脂质，即是至少一种除了磷脂和甘油酯之外的脂质。由于益生菌呈现出改进的生存能力，所述稳定化益生菌可以用于多种环境。有利地，由于所述益生菌即使在延长的运输和储存时间之后也将保持生存能力 (这是由于稳定化的混合物

的改进稳定性),可以将被本公开的保护基质稳定化的益生菌加到营养组合物中且在经受潜在损害的温度波动的延长距离上运输。

[0055] 向益生菌提供稳定化的本发明的方法可以包括使用用于使生物材料稳定化的基质,其中所述基质包含磷脂、甘油酯、谷维素、甘氨酸锌和另外的组分,例如一种或多种另外的脂质、一种或多种碳水化合物和/或化合物粘合剂。

[0056] 虽然保护基质可以用于各种各样的物质,在一个实施方案中,其用于保护至少一种益生菌,例如鼠李糖乳酸菌。应当理解鼠李糖乳酸菌具有相对良好的生物稳定性,同时对入肠内粘膜细胞具有高的亲合力。在用作益生菌时,认为鼠李糖乳酸菌定植消化道并平衡肠内的微生物群。

[0057] 所述保护基质提供益生菌的改进稳定性,这意味着较大百分比的益生菌细胞在加工、运输和储存条件之后存活。具体而言,当与其他已知的稳定化技术相比时,改进了存活的益生菌的储存寿命。

[0058] 本公开的保护基质可以用于形成稳定化益生菌产品的多种方法。这些方法包括冷冻、速冻、冷冻干燥、环境空气干燥、真空干燥、喷雾干燥、低温干燥及其任何组合。所得的稳定化益生菌,不管是单独的或整合到营养组合物中,在宽范围的温度和条件中具有有效的生存能力,同时呈现改进的储存寿命。而且,可以将所述稳定化益生菌加到各种各样的产前、婴儿和儿童的营养产品中以改进其肠道微生物群,同时向婴儿或儿童提供营养。

[0059] 因此,在一个实施方案中,本公开涉及用于使营养组合物中的生物材料稳定化的方法。另一个实施方案为用于益生菌的保护基质。又一个实施方案为提高益生菌的储存寿命的方法,所述方法包括用包含磷脂、甘油酯、谷维素、甘氨酸锌或其任何组合的稳定化的混合物使益生菌稳定化。

[0060] 本公开提供新颖的稳定化的混合物和向生物材料例如存活的微生物提供稳定性和保护的方法。本公开包括包含磷脂和甘油酯的稳定化的混合物,所述磷脂和甘油酯、谷维素、甘氨酸锌一起提供保护基质,导致相对于未经保护的益生菌提高了储存寿命。

[0061] 在本发明中,术语“保护基质”、“稳定化基质”和“稳定化的混合物”可在本发明的整个公开内容中互换使用。

[0062] 文中所用的“有效量”一般定义为在所给予到的受试者内提供可观察到的结果的试剂的量。

[0063] “营养组合物”表示满足受试者的营养素需求的至少一部分的物质或制剂。术语“营养剂”、“营养配方”、“肠内营养剂”和“营养补充剂”在本发明的整个公开内容中用作营养组合物的非限制性实施例。而且,“营养组合物”可以指液体、粉末、凝胶、膏剂、固体、浓缩物、悬浮液或肠内配方、口腔配方、婴儿配方、儿科受试者配方、儿童配方、成长乳和/或成人配方的即用型形式。

[0064] 术语“肠内”表示可通过胃肠或消化道递送或在胃肠或消化道内递送。“肠内给予”包括到消化道中的口腔喂养、胃内喂养、经幽门给予或任何其他给予。“给予”比“肠内给予”更加广泛且包括胃肠外给予或由此将物质摄取到受试者的身体中的任何其他的给予途径。

[0065] “儿科受试者”表示年龄小于13岁的人。在一些实施方案中,儿科受试者是指小于8岁的人类受试者。在其他实施方案中,儿科受试者是指年龄为1-6岁的人类受试者。在又一

个实施方案中,儿科受试者是指年龄为6-12岁的人类受试者。

[0066] “婴儿”表示年龄从出生至不超过1岁的范围的人类受试者且包括0-12个月矫正年龄的婴儿。短语“矫正年龄”表示婴儿的实足年龄减去婴儿早产的时间量。因此,如果怀胎已达足月,矫正年龄为婴儿的年龄。术语婴儿包括低出生重量的婴儿、非常低出生重量的婴儿和早产婴儿。“早产婴儿”为在少于约37周妊娠之后出生的婴儿。文中所用的“足月婴儿”表示在至少约37周妊娠之后出生的婴儿。

[0067] “儿童”表示年龄为12个月-约12岁范围的受试者。在一些实施方案中,儿童为年龄为1-12岁的受试者。在其他实施方案中,术语“儿童”指1-约6岁或约7-约12岁的受试者。在其他实施方案中,术语“儿童”指年龄为12个月-约12岁的任何范围。

[0068] “儿童的营养产品”是指满足儿童的营养素需求的至少一部分的组合物。成长乳(GUM)为儿童的营养产品的例子。

[0069] 文中所用的“水解蛋白质”表示蛋白质水解产物。在本公开内,水解蛋白质和蛋白质水解物可互换地用于描述蛋白质水解产物;充分水解的蛋白质用于描述其中至少70%、更优选至少约90%的水解蛋白质具有少于2000道尔顿的分子量的蛋白质水解产物。

[0070] 术语“水解度”是指至肽键被水解方法破坏的程度。

[0071] 术语“不含蛋白质”表示包含不可测量的量的蛋白质,如通过标准蛋白质检测方法例如十二烷基(月桂基)硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)或分子排阻色谱测量。在一些实施方案中,所述营养组合物基本上不含蛋白质,其中“基本上不含”在下文限定。

[0072] “婴儿配方”表示满足婴儿的营养素需求的至少一部分的组合物。

[0073] 术语“成长乳”是指宽类别的营养组合物,其旨在用作多样化膳食的一部分以便支持年龄为约1-约6岁的儿童的正常生长和发育。

[0074] “基于乳的”表示包含从哺乳动物的乳腺汲取或提取的至少一种组分。在一些实施方案中,基于乳的营养组合物包含衍生自驯养的有蹄动物、反刍动物或其他哺乳动物或其任何组合的乳的组分。而且,在一些实施方案中,基于乳的表示包含牛酪蛋白、乳清、乳糖或其任何组合。而且,“基于乳的营养组合物”可以指包含本领域已知的任何乳衍生的或基于乳的产品的任何组合物。

[0075] “营养完全”表示可以用作营养唯一来源的组合物,其将供应基本上所有的所需要的日常量的维生素、矿物质和/或痕量元素以及蛋白质、碳水化合物和脂质。实际上,“营养完全”描述营养组合物,其提供支持受试者的正常生长和发育所需要的足够量的碳水化合物、脂质、必需脂肪酸、蛋白质、必需氨基酸、条件必需氨基酸、维生素、矿物质和能量。

[0076] 对于早产婴儿“营养完全”的组合物将通过定义定性和定量地提供早产婴儿生长所需要的足够量的所有碳水化合物、脂质、必需脂肪酸、蛋白质、必需氨基酸、条件必需氨基酸、维生素、矿物质和能量。对足月婴儿“营养完全”的组合物将通过定义定性和定量地提供足月婴儿生长所需要的足够量的所有碳水化合物、脂质、必需脂肪酸、蛋白质、必需氨基酸、条件必需氨基酸、维生素、矿物质和能量。对儿童“营养完全”的组合物将通过定义定性和定量地提供儿童生长所需要的足够量的所有碳水化合物、脂质、必需脂肪酸、蛋白质、必需氨基酸、条件必需氨基酸、维生素、矿物质和能量。

[0077] 当应用到营养素时,术语“必需”是指无法通过身体以足以正常生长和保持健康的量合成且因此必需通过膳食供应的任何营养素。当应用到营养素时,术语“条件必需”表示

在身体无法获得足够量的前体化合物以进行内生合成的条件下,营养素必须由膳食供应。

[0078] 术语“益生菌”表示对宿主的健康发挥有益作用的具有低的或没有致病性的微生物。“存活的益生菌”表示对宿主的健康发挥有益作用的存活或活性的微生物。

[0079] 术语“失活益生菌”或“失活LGG”表示其中所提及的益生菌或鼠李糖乳酸菌GG (LGG) 生物体的代谢活性或繁殖能力降低或损害的益生菌。在一个实施方案中,益生菌可以为存活的或非存活的。文中所用的术语“存活的”是指存活的微生物。术语“非存活的”或“非存活的益生菌”表示非存活的益生菌微生物、其细胞组分和/或其代谢物。这种非存活的益生菌可以被热杀死或以其他方式失活,但它们保留有利影响宿主的健康的能力。本公开中有用的益生菌可以为天然存在的、合成的或通过生物体的基因操作开发的,不管这种源现在是已知的或之后开发的。

[0080] “益生元 (prebiotic)”表示通过选择性刺激个体的生长和/或活性有利影响宿主的不可消化的食物成分或可以改进宿主的健康在消化道中的有限量的细菌。

[0081] “植物营养素”表示在植物中天然存在的化学化合物。植物营养素可以包含在任何植物衍生的物质或提取物中。术语“植物营养素”涵盖多种由植物产生的宽类别化合物,例如,多酚类 (polyphenolic) 化合物、花青素、原花色素和黄烷-3-醇 (即儿茶素、表儿茶素), 且可以例如衍生自水果、籽或茶提取物。而且,术语植物营养素包括所有的类胡萝卜素、植物固醇、硫醇和其他植物衍生的化合物。

[0082] “ β -葡聚糖”表示所有的 β -葡聚糖,包括特定类型的 β -葡聚糖,例如 β -1,3-葡聚糖或 β -1,3;1,6-葡聚糖。而且, β -1,3;1,6-葡聚糖为一类 β -1,3-葡聚糖。因此,术语“ β -1,3-葡聚糖”包括 β -1,3;1,6-葡聚糖。

[0083] “果胶”表示包含可以在植物的细胞壁中发现的半乳糖醛酸的任何天然存在的寡糖或多糖。而且,果胶可以包含具有由D-吡喃半乳糖醛基形成的多种链长度的分子。具有变化的物理和化学性质的不同种类和级别的果胶在本领域中已知。实际上,果胶的结构可以在植物之间、在组织之间且甚至在单细胞壁之间显著变化。一般地,果胶由带负电荷的酸性糖 (半乳糖醛酸) 组成且一些酸性基团为甲基酯基团的形式。果胶的酯化程度为连接到用甲醇酯化的吡喃半乳糖基糖醛酸单元的羧基基团的百分比的量度。

[0084] 具有小于50%的酯化程度 (即将小于50%的羧基基团甲基化以形成甲基酯基团) 的果胶分为低酯、低甲氧基或低甲基化 (“LM”) 的果胶,而具有50%或大于50%的酯化程度 (即将超过50%的羧基基团甲基化) 的那些分为高酯、高甲氧基或高甲基化 (“HM”) 的果胶。很低 (“VL”) 的果胶,一个低甲基化的果胶的子集,具有小于约15%的酯化程度。而且,在一些实施方案中,果胶分子具有与其本身和/或与二价阳离子例如钙通过静电相互作用来相互作用的能力以形成高分子量网络和凝胶。酯化程度影响这些分子间相互作用的程度。

[0085] “脂质”是指可以包括游离脂肪酸和/或其中脂肪酸被酯化成以下物质的羟基基团的分子的疏水分子,所述物质为: (i) 糖,例如单糖或二糖, (ii) 醇,其中所述醇可以包含例如长的或中等的碳链长度 (10-20单元),或 (iii) 甘油。这些酯化的脂肪酸或游离脂肪酸可以为直链的、饱和或不饱和的。而且,在一些实施方案中,脂质组分包含甘油酯、磷脂、鞘氨醇衍生的分子 (例如神经节苷脂、脑苷脂和神经鞘磷脂) 或其任何组合。且在某些实施方案中,脂质组分还包含疏水性质的分子,例如类固醇、类胡萝卜素和/或脂肪可溶的维生素。

[0086] “甘油酯”表示衍生自甘油或糖主链的任何分子,其中用脂肪酸将羟基基团中的一

个或多个酯化。在一些实施方案中,甘油酯组分包含甘油单酯、甘油二酯、单糖酯、二糖酯或其组合。

[0087] “磷脂”表示衍生自磷脂酸的任何分子,其中将来自甘油主链的一个或两个碳酯化成脂肪酸,且将封端的碳之一酯化成磷酸酯基团。在某些实施方案中,磷酸酯基团为还被酯化成另一种功能分子例如胆碱、丝氨酸或肌醇的磷酸二酯。在一些实施方案中,磷脂组分包含甘油磷脂和/或磷酸基甘油。而且,磷脂组分可以包含溶血磷脂,其中来自甘油主链的碳之一保持为未酯化的羟基基团。且在一些实施方案中,磷脂组分包含卵磷脂,其可以例如从大豆或从蛋黄提取且可以包含磷脂酰基-胆碱、磷脂酰基-肌醇和磷脂酰基丝氨酸的组合。在一些实施方案中,磷脂可以包含大豆卵磷脂、蛋卵磷脂、乳脂衍生的磷脂或其组合。

[0088] 除非另有指定,否则文中所用的所有百分比、份数和比率为以包含稳定化益生菌的全部营养组合物的重量计。

[0089] 规定为“每天”给予的所有量可以在24小时周期的过程中给予的一个单位剂量、单份递送或两个或更多个剂量或份给予。

[0090] 本公开的营养组合物可以基本上不含文中所述的任何任选或选择的成分,前提是剩余的营养组合物仍包含文中所述的所有需要的成分或特点。在该上下文中,且除非另有指定,否则术语“基本上不含”表示所选择的组合物可以包含小于功能量的任选成分,通常小于0.1%重量,且还包含0%重量的这种任选或选择的成分。

[0091] 本公开对单数特征或限制的所有提及应当包括相应的复数特征或限制,且反之亦然,除非另有指定或通过所提及的上下文作出明确相反说明。

[0092] 文中所用的方法或方法步骤的所有组合可以以任何顺序进行,除非另有指定或通过提及组合的上下文作出明确相反说明。

[0093] 本公开的方法和组合物(包括其组分)可以包含、由或基本上由文中所述的实施方案的必需要素和限制以及文中所述的或另外在营养组合物中有用的任何另外或任选成分、组分或限制组成。

[0094] 文中所用的术语“约”应当视为指规定为任何范围的端点的两个数字。对范围的任何提及应当认为是对该范围内的任何子集提供支持。

[0095] 在本公开的实施中,至少一种磷脂、至少一种甘油酯、谷维素、甘氨酸锌用作使生物材料稳定化的保护基质的组分。

[0096] 本公开的保护基质中的磷脂和/或甘油酯的使用为益生菌(包括鼠李糖乳酸菌)提供优异保护作用,其超过本领域先前已知的保护作用。

[0097] 保护基质的脂质组分可以包含,但不限于动物源,例如乳脂、黄油、黄油脂肪、乳磷脂、蛋黄脂质、蛋黄磷脂;海产源,例如鱼油、海产油、单细胞油;蔬菜和植物油,例如玉米油、油菜籽油、向日葵油、大豆油、大豆磷脂、棕榈液油、椰子油、高油酸向日葵油、月见草油、菜籽油、橄榄油、亚麻仁(亚麻籽)油、棉花籽油、高油酸红花油、棕榈硬脂酸甘油酯、棕榈仁油、麦胚芽油;中链甘油三酯油和乳液以及脂肪酸的酯;及其任何组合。

[0098] 在本发明中,所述益生菌组合物亦可称为包含益生菌的“保护基质”或者亦可称为“稳定化的混合物”或者亦可称为“稳定化益生菌”或者其它类似术语。在一个实施方案中,所述“稳定化的混合物”包含以干基计算约0.5-约50克脂质组分/100克混合物。在某些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约2.5-约30克脂质组分/100克混合物。

[0099] 稳定化的混合物可以包含磷脂组分。在某些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约0.5-约2克磷脂组分/100克混合物。在一些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约0.75-约1.25克磷脂组分/100克混合物。

[0100] 同样,稳定化的混合物可以包含甘油酯组分。在一些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约0.5-约2克甘油酯组分/100克混合物。在某些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约0.75-约1.25克甘油酯组分/100克混合物。而且,甘油酯组分可以包含甘油单酯、甘油二酯或其任何组合。

[0101] 在某些实施方案中,基于干重量基准的稳定化的混合物的主要组分为一种或多种碳水化合物,其可以包括多糖、二糖和单糖。实际上,保护基质可以包括乳果糖、乳蔗糖、棉子糖、葡萄糖-寡糖、海藻糖、菊粉、聚右旋糖、半乳-寡糖、果-寡糖、异麦芽-寡糖、大豆寡糖、乳蔗糖、木-寡糖、壳-寡糖、甘露-寡糖、阿拉伯-寡糖、唾液酸-寡糖、岩藻-寡糖、龙胆-寡糖和/或其任何组合。在一些实施方案中,保护基质包括第一碳水化合物,其选自:具有约2-约6的右旋糖当量的蔗糖、麦芽糖、乳糖、海藻糖、麦芽三糖、麦芽糖糊精及其任何组合。在某些实施方案中,保护基质包括第二碳水化合物,其选自:具有大于约8的右旋糖当量的菊粉、聚右旋糖、半乳寡糖、果寡糖、淀粉、麦芽糖糊精及其任何组合。

[0102] 在一些实施方案中,稳定化的混合物可以包含以干基计算约50-约80克第一碳水化合物/100克混合物;以干基计算约60-约70克第一碳水化合物/100克混合物;或以干基计算约65-约70克第一碳水化合物/100克混合物。第一碳水化合物可以选自:具有约2-约6的右旋糖当量的蔗糖、麦芽糖、乳糖、海藻糖、麦芽三糖、麦芽糖糊精及其任何组合。

[0103] 稳定化的混合物可以还包含以干基计算约1-约10克第二碳水化合物/100克混合物;以干基计算约4-约6克第二碳水化合物/100克混合物;或以干基计算约5克第二碳水化合物/100克混合物。在一些实施方案中,第二碳水化合物选自:具有大于约8的右旋糖当量的菊粉、聚右旋糖、半乳寡糖、果寡糖、淀粉、麦芽糖糊精及其任何组合。

[0104] 稳定化的混合物的其他组分可以为化合物粘合剂(还称为凝胶试剂),其可以充当增稠剂并产生凝胶状的稠度。可以包含在本公开的保护基质中的化合物粘合剂包括藻酸盐例如藻酸钠、果胶、壳聚糖、羧基甲基纤维素及其混合物,等等。化合物粘合剂的加入提供粘稠度的形成,这提供有效基质的形成和适用于随后干燥的结构品质。

[0105] 在一些实施方案中,化合物粘合剂可以形成胶状材料并提高将胶状材料加到其中的混合物的粘度。另外,化合物粘合剂还可以使组分更易于混合在一起。例如,藻酸钠还可以具有乳化剂特征。

[0106] 在一些实施方案中,稳定化的混合物可以包含LM果胶、HM果胶、VL果胶或其任何混合物。所包含的果胶可以在水中溶解。

[0107] 文中所用的果胶通常具有8,000道尔顿或更大的峰值分子量。本公开的果胶具有8,000-约500,000的优选峰值分子量,更优选为约10,000-约200,000且最优选为约15,000-约100,000道尔顿。在一些实施方案中,本公开的果胶可以为水解果胶。在某些实施方案中,保护基质包含水解果胶,所述水解果胶的分子量小于完整或未改性的果胶的分子量。本公开的水解果胶可以通过本领域中已知的降低分子量的任何方式制备。所述方式的例子为化学水解、酶促水解和机械剪切。降低分子量的优选方式为在高温下通过碱性或中性水解。在一些实施方案中,保护基质包含部分水解果胶。在某些实施方案中,部分水解果胶具有小于

完整或未改性的果胶的分子量但超过3,300道尔顿的分子量。

[0108] 稳定化的混合物可以包含以干基计算约0.5-约5克化合物粘合剂(例如藻酸钠和/或果胶)/100克混合物。在某些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约1-约3克化合物粘合剂/100克混合物。且在一个实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约2克化合物粘合剂/100克混合物。

[0109] 而且,稳定化的混合物可以还包含至少一种淀粉、淀粉的源和/或淀粉组分。在一些实施方案中,稳定化的混合物可以例如包含天然或改性的淀粉,例如蜡质玉米淀粉、蜡质大米淀粉、蜡质马铃薯淀粉、蜡质木薯淀粉、玉米淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、木薯淀粉、小麦淀粉或其任何混合物。

[0110] 稳定化的混合物还可以包括另外的成分,其向益生菌或摄取稳定化益生菌的个体提供其他益处。这些成分可以包含矿物质、维生素、抗氧化剂、痕量元素、固醇、抗氧化剂、脂肪酸、功能分子及其任何组合。其他成分可以包括抗性淀粉、高直链淀粉、瓜尔胶和槐豆胶、琼脂、黄原胶、角叉胶、葡聚糖及其任何组合。

[0111] 在一些实施方案中,稳定化的混合物可以包含以干基计算约5-约90克益生菌和/或其他生物材料/100克混合物。在一些实施方案中,稳定化的混合物包含约50-约90克益生菌和/或其他生物材料/100克稳定化的混合物。在某些实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约9-约12克益生菌和/或其他生物材料/100克混合物。且在一个实施方案中,稳定化的混合物包含以干基计算约10.2-约11.4克益生菌和/或其他生物材料/100克混合物。在另一个实施方案中,益生菌例如LGG在保护基质中的浓度为约 1×10^6 -约 1×10^{14} cfu/克保护基质,更优选约 1×10^9 -约 1×10^{11} cfu/克保护基质。

[0112] 稳定化的混合物可以用于向益生菌生物体提供稳定性,所述益生菌生物体可以对个体的健康和福利发挥有益作用。合适的益生菌的例子包括但不限于酵母菌(例如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))、霉菌(例如曲霉(*Aspergillus*)、根霉(*Rhizopus*)、毛霉(*Mucor*))和细菌(例如乳杆菌)。合适的益生菌微生物的具体例子为:黑曲霉(*Aspergillus niger*)、米曲霉(*A. oryzae*)、凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)、迟缓芽孢杆菌(*B. lentus*)、地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)、肠膜芽孢杆菌(*B. mesentericus*)、短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、纳豆芽孢杆菌(*B. natto*)、青春双歧杆菌(*Bifidobacterium adolescentis*)、动物双歧杆菌(*B. animalis*)、短双歧杆菌(*B. breve*)、双歧双歧杆菌(*B. bifidum*)、婴儿双歧杆菌(*B. infantis*)、乳双歧杆菌(*B. lactis*)、长双歧杆菌(*B. longum*)、长双歧杆菌BB536(*B. longum* BB536)、长双歧杆菌AH1206(NCIMB:41382,其在本文中亦可记为AH1206)、短双歧杆菌AH1205(NCIMB:41387)、婴儿双歧杆菌35624(NCIMB:41003,其在本文中亦可记为35624)、长双歧杆菌AH1714(NCIMB 41676)、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12(DSM号10140)、假长双歧杆菌(*B. pseudolongum*)、嗜热双歧杆菌(*B. thermophilum*)、*Candida pintolepesii*、丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)、乳脂肠球菌(*Enterococcus cremoris*)、二丁酮肠球菌(*E. diacetylactis*)、粪肠球菌(*E. faecium*)、中间型肠球菌(*E. intermedius*)、乳酸肠球菌(*E. lactis*)、*E. mundii*、嗜热肠球菌(*E. thermophilus*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、消化乳杆菌(*L. alimentarius*)、食淀粉乳杆菌(*L. amylovorus*)、卷曲乳杆菌(*L. crispatus*)、短乳杆菌(*L. brevis*)、干酪乳杆菌(*L. casei*)、弯曲乳杆菌(*L. curvatus*)、纤维二糖乳杆菌

(*L. cellobiosus*)、德氏乳杆菌保加利亚亚种(*L. delbrueckii* ss. *bulgaricus*)、香肠乳杆菌(*L. farciminis*)、发酵乳杆菌(*L. fermentum*)、加氏乳杆菌(*L. gasseri*)、瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)、乳乳杆菌(*L. lactis*)、植物乳杆菌(*L. plantarum*)、约氏乳杆菌(*L. johnsonii*)、路氏乳杆菌(*L. reuteri*)、鼠李糖乳杆菌、鼠李糖乳杆菌GG(ATCC号53103,其在本文中亦可记为LGG)、清酒乳杆菌(*L. sakei*)和唾液乳杆菌(*L. salivarius*)及其任何组合。在一个实施方案中,稳定化益生菌可以为存活或非存活的。在本公开中有用的稳定化益生菌可以为天然存在的、合成的或通过生物体的基因操作开发的,不管这种新的源现在是已知的或之后开发的。

[0113] 在本公开的一个实施方案中,鼠李糖乳酸菌GG用作可以通过本公开的保护基质稳定化的益生菌。鼠李糖乳酸菌GG在授权给Sharwood等的美国专利申请4,839,281中描述,其通过引用以其整体结合到文中。特别地,Sharwood等将鼠李糖乳酸菌GG描述为一种物类,其中细菌对肠内的细胞具有显著的粘着力,同时能够在低pH下存活并产生大量的乳酸。

[0114] 所选择的益生菌在与本公开的稳定化的混合物组分组合之前优选浓缩至湿膏状的稠度。以干燥形式的益生菌起始也是一个备选方案。所选择的益生菌的浓度水平包括约3X-约20X的浓度,尽管可以包括较少或较大的浓度,这取决于具体的益生菌生物质和随后的加工步骤。

[0115] 一般地,稳定化益生菌的制备通常可以包括以下步骤:浓缩所选择的一种益生菌或多种益生菌;以需要量提供稳定化的混合物的组分;将所述稳定化的混合物组分与浓缩的益生菌混合;使所述稳定化益生菌干燥。任选地将所述稳定化益生菌包装或与其它组分组合例如组合成本发明第三方面的营养组合物或者称为营养产品,例如婴儿配方。

[0116] 在一些实施方案中,本公开涉及保护用于营养组合物的存活的益生菌的方法,所述方法可以包括以下步骤:提供存活的益生菌,通过共混以下组分制备用于益生菌的保护基质:磷脂、甘油酯以及其它需要的任何组合,随后组合所述存活的益生菌、所述保护基质和水以产生混合物且将所述混合物干燥至约4%或更少的最终水分含量,再进一步将干燥混合物加到包含蛋白质源的粉末中制成营养产品,或者将所述干燥混合物制成胶囊以供使用者临用时使用。

[0117] 在优化益生菌的稳定化时,在如文中所述且如配方A-D中所示的一些实施方案中,可以改变多种成分。在一些实施方案中,稳定化的混合物可以包含约10%-50% (w/w) 的脂质。在一些实施方案中,稳定化的混合物可以包含约5%-约25% (w/w) 的磷脂组分和约5%-约25% (w/w) 的甘油酯组分。在其他实施方案中,稳定化的混合物可以包含约5%-约25% (w/w) 的磷脂组分、约2.5-约12.5% (w/w) 的甘油酯组分和约2.5%-约12.5% (w/w) 的另外的/其他的脂质组分。在又一个实施方案中,稳定化的混合物的全部脂质可以包含约3%-约17% (w/w) 的磷脂组分、约3-约17% (w/w) 的甘油酯组分和约3%-约17% (w/w) 的另外的/其他的脂质组分。

[0118] 稳定化益生菌可以包装和市售或可以另外与各种各样的营养产品组合或用其他功能组分例如二十二碳六烯酸包封。这种营养产品可以包括婴儿配方和儿童产品两者,其用于其中需要将益生菌加到使改进的储存寿命和稳定性成为必要的营养产品的应用。

[0119] 配方A呈现根据本公开的稳定化益生菌混合物/保护基质的样品实施方案:益生菌(例如LGG、BB536、AH1206、BB-12或35624等):50-90克/100g(湿基),磷脂:5-25克/100g(湿

基),甘油酯:5-25克/100g(湿基)。

[0120] 配方B呈现根据本公开的稳定化益生菌混合物/保护基质的样品实施方案:益生菌(例如LGG、BB536、AH1206、BB-12或35624等):50-90克/100g(干基),全部脂质:10-50克/100g(干基),磷脂:5-25克/100g(干基),甘油酯:任选,其他脂质:5-25克/100g(干基)。

[0121] 配方C呈现根据本公开的稳定化益生菌混合物/保护基质的又一个例子实施方案:益生菌(例如LGG、BB536、AH1206、BB-12或35624等):50-90克/100g(干基),全部脂质:10-50克/100g(干基),磷脂:5-25克/100g(干基),甘油酯:2.5-12.5克/100g(干基),其他脂质:2.5-12.5克/100g(干基)。

[0122] 配方D亦提供根据本公开的稳定化益生菌混合物/保护基质的例子实施方案:益生菌(例如LGG、BB536、AH1206、BB-12或35624等):90-50克/100g(干基),全部脂质:10-50克/100g(干基),磷脂:3.33-16.7克/100g(干基),甘油酯:3.33-16.7克/100g(干基),其他脂质:3.33-16.7克/100g(干基)。

[0123] 进一步的,如上述配方A-D所示,所述保护基质即益生菌组合物呈干物质形式(呈颗粒物或粉末的形式),其中的含水量小于4%。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物其每1g中包含 1×10^6 - 1×10^{14} cfu的益生菌,例如 1×10^9 - 1×10^{11} cfu的益生菌。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物其每1g中包含5~20mg的磷脂,例如7.5~12.5mg的磷脂。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物其每1g中包含5~20mg的甘油酯,例如7.5~12.5mg的甘油酯。进一步的,在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物中还包含谷维素。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物其每1g中包含0.5~2mg的谷维素,例如0.75~1.25mg的谷维素。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物中还包含甘氨酸锌。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物其每1g中包含0.1~0.5mg的甘氨酸锌,例如0.1~0.25mg的甘氨酸锌。进一步的,在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物中还包含粘合剂。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物每1g中包含5~20mg的粘合剂,例如7.5~12.5mg的粘合剂。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物中还包含碳水化合物。在一个实施方案中,所述呈干物质形式的益生菌组合物每1g中包含碳水化合物是以平衡量的方式添加的。

[0124] 用于与稳定化益生菌组合的营养产品

[0125] 根据上文所述制备的稳定化益生菌可以与营养产品组合以形成新颖的营养组合物。

[0126] 例如,稳定化益生菌可以与营养产品例如婴儿配方或儿童的营养产品组合以形成稳定化营养组合物。在另一个实施方案中,稳定化益生菌可以与人乳增强剂组合,将所述人乳增强剂加到人乳以便增强人乳的营养价值。

[0127] 而且,本公开的稳定化益生菌可以与提供最少、部分或全部营养支持的营养产品组合。这种营养产品可以为营养补充物或膳食替代品。实际上,稳定化益生菌可以在被受试者摄取之前与食物或其他营养产品互相混合。

[0128] 用于与稳定化益生菌组合的营养产品可以但不需要为营养完全的。同样,稳定化益生菌与营养产品的组合可以产生营养完全的营养组合物。在一个实施方案中,本公开的营养组合物为营养完全的且包含合适类型和量的脂质、碳水化合物、蛋白质、维生素和矿物

质。

[0129] 由本公开形成的稳定化益生菌可以与以本领域中已知的任何形式(包括粉末、凝胶、悬浮液、膏剂、固体、液体、液体浓缩物或即用型产品)提供的营养产品组合。在一种组合中,营养产品为婴儿配方,尤其为适用作婴儿单一营养源的婴儿配方。

[0130] 描述用于与稳定化益生菌组合的营养产品可以肠内给予。

[0131] 包含稳定化益生菌的营养组合物

[0132] 此外,根据上文所述制备的稳定化/经保护的益生菌可以与营养产品组合以形成新颖的营养组合物。

[0133] 营养组合物可以包含本领域中已知或使用的任何另外的脂肪或脂质源,包括但不限于动物源,例如乳脂、黄油、黄油脂肪、蛋黄脂质;海产源,例如鱼油、海产油、单细胞油;蔬菜和植物油,例如玉米油、油菜籽油、向日葵油、大豆油、棕榈液油、椰子油、高油酸向日葵油、月见草油、菜籽油、橄榄油、亚麻仁(亚麻籽)油、棉花籽油、高油酸红花油、棕榈硬脂酸甘油酯、棕榈仁油、麦胚芽油;中链甘油三酯油和乳液以及脂肪酸的酯;及其任何组合。脂质或脂肪在营养组合物中的量通常在约1-约7g/100kcal中变化。

[0134] 而且,营养组合物可以包含牛奶蛋白质的源。牛奶蛋白质的源可以包括,但不限于,乳蛋白粉末、乳蛋白浓缩物、乳蛋白分离物、脱脂乳固体、脱脂乳、脱脂干乳、乳清蛋白质、乳清蛋白质分离物、乳清蛋白质浓缩物、甜乳清、酸乳清、酪蛋白、酸酪蛋白、酪蛋白酸盐(例如酪蛋白酸钠、酪蛋白酸钙钠、酪蛋白酸钙)及其任何组合。

[0135] 在某些实施方案中,营养组合物可以包含完整蛋白质。在其他实施方案中,作为完整蛋白质和水解度为约4%-10%的部分水解蛋白质两者的组合,提供营养组合物的蛋白质。由于营养产品的稳定剂和蛋白质两者只包含水解蛋白质,这些实施方案中的某些可以为极其低变应原的。在又一个实施方案中,营养组合物可以用含谷氨酰胺的肽补充。

[0136] 营养组合物的蛋白质源的乳清:酪蛋白比率可以类似于人母乳中发现的。在一个实施方案中,营养组合物的蛋白质源包含约40%-约80%的乳清蛋白质。在另一个实施方案中,蛋白质源可以包含约20%-约60%的酪蛋白。营养组合物中的蛋白质的量通常在约1-约7g/100kcal中变化。

[0137] 在其他实施方案中,营养组合物包含乳铁蛋白,其在人体肠道中保持其稳定性和活性以抵抗某些不合乎需要的细菌病原体。

[0138] 在一些实施方案中,文中所述的营养组合物还可以包含非人类的乳铁蛋白、通过基因修饰的生物体产生的非人类的乳铁蛋白和/或通过基因修饰的生物体产生的人乳铁蛋白。乳铁蛋白一般描述为具有两个近乎相同的叶(lobes)的结构80千道尔顿糖蛋白,两个叶包括铁结合位点。人们已经认识到乳铁蛋白具有杀菌和抗微生物活性。在至少一个实施方案中,乳铁蛋白为牛乳铁蛋白。

[0139] 意料不到地,文中所包括的乳铁蛋白的形式保持相关活性,即使暴露到低pH(即低于约7且甚至低至约4.6或更低)和/或高温(即高于约65°C,且高达约120°C)条件,所述条件预期会破坏或严重限制人乳铁蛋白或重组体人乳铁蛋白的稳定性或活性。在用于文中所述类型的营养组合物的某些加工方案(例如加热杀菌法)期间,可以预期这些低pH和/或高温条件。

[0140] 在一个实施方案中,乳铁蛋白以约5mg/100kcal-约16mg/100kcal的量存在于营养

组合物中。在另一个实施方案中,乳铁蛋白以约9mg/100kcal-约14mg/100kcal的量存在。在又一个实施方案中,营养组合物可以包含约2mg-约200mg乳铁蛋白/100kcal。且在某些实施方案中,营养组合物可以包含约90mg-约148mg乳铁蛋白/100kcal。

[0141] 营养组合物可以还包含TGF- β 。在一些实施方案中,TGF- β 的水平可以为约0.0150 (pg/ μ g) ppm-约0.1000 (pg/ μ g) ppm。在其他实施方案中,包含稳定化益生菌的最终组合物中的TGF- β 的水平为约0.0225 (pg/ μ g) ppm-约0.0750 (pg/ μ g) ppm。

[0142] 在营养组合物的一些实施方案中,TGF- β 的水平为约2500pg/mL-约10,000pg/mL,更优选约3000pg/mL-约8000pg/mL。在一个实施方案中,TGF- β 1:TGF- β 2的比率在约1:1-约1:20的范围中,或更具体而言,在约1:5-约1:15的范围中。

[0143] 在一些实施方案中,TGF- β 在营养组合物中的生物活性通过加入生物活性的乳清级分来增强。本领域中已知的任何生物活性的乳清级分可以在这些实施方案中使用,前提是获得所预期的结果。在一个实施方案中,这种生物活性的乳清级分可以为乳清蛋白质浓缩物。在一个具体的实施方案中,乳清蛋白质浓缩物可以为Salibra®800,得自Glanbia Nutritionals。

[0144] 营养组合物可以包含除了稳定化益生菌之外的一定量的益生菌。当稳定化益生菌与营养产品组合时,所得的营养组合物可以包含向受试者有效提供约 1×10^4 -约 1×10^{10} 菌落形成单位(cfu)/kg体重/天的总量的益生菌。在其他实施方案中,益生菌的量可以在约 1×10^6 -约 1×10^9 cfu/kg体重/天中变化。在甚至其他实施方案中,营养组合物可以包含有效提供约 1×10^6 cfu/kg体重/天的量的益生菌。

[0145] 在某些实施方案中,本公开的营养组合物包含约 1×10^6 cfu的益生菌和约 1×10^{10} cfu/100kcal的组合物。在一些实施方案中,益生菌的量可以在约 1×10^6 cfu-约 1×10^9 cfu/100kcal的组合物范围中。另外,营养组合物可以包含不稳定化益生菌,且最终组合物包含一些稳定化益生菌和一些不稳定化益生菌。

[0146] 营养组合物还可以包含至少一种益生元。文中所用的术语“益生元”是指对宿主发挥健康益处的不可消化的食物成分。这种健康益处可以包括,但不限于,选择性刺激一种或有限量的有益肠道细菌的生长和/或活性、刺激经摄取的益生菌(稳定化或不稳定化)微生物的生长和/或活性、选择性减少肠道病原体且有利影响肠道短链脂肪酸分布。这种益生元可以为天然存在的、合成的或通过生物体和/或植物的基因操作开发的,不管这种新的源现在是已知的或之后开发的。益生元可以包括寡糖、多糖和包含果糖、木糖、大豆、半乳糖、葡萄糖和甘露糖的其他益生元。更具体而言,在本公开中有用的益生元可以包括乳果糖、乳蔗糖、棉子糖、葡萄糖-寡糖、菊粉、聚右旋糖、聚右旋糖粉、半乳-寡糖、果-寡糖、异麦芽-寡糖、大豆寡糖、乳蔗糖、木-寡糖、壳-寡糖、甘露-寡糖、阿拉伯-寡糖、唾液酸-寡糖、岩藻-寡糖和龙胆-寡糖及其组合。

[0147] 在一些实施方案中,存在于营养组合物中的益生元的总量可以为约1.0g/L-约10.0g/L的组合物(液体形式)。在某些实施方案中,存在于营养组合物中的益生元的总量可以为约2.0g/L-约8.0g/L的组合物。

[0148] 营养组合物可以包含聚右旋糖(PDX)。如果聚右旋糖用作益生元,在一个实施方案中,聚右旋糖在营养组合物中的量可以在约1.0g/L-约4.0g/L范围内。如果聚右旋糖用作益生元,在包含稳定化益生菌的组合物中的一个实施方案中,聚右旋糖在营养产品中的量可以

在约0.1mg/100kcal-约0.5mg/100kcal范围内。在另一种组合中,聚右旋糖的量可以为约0.3mg/100kcal。在一个优选的实施方案中,至少20%的益生元应当包含聚右旋糖(PDX)。

[0149] 在某些实施方案中,营养组合物包含半乳-寡糖。半乳-寡糖在营养组合物中的量可以为约0.2mg/100kcal-约1.0mg/100kcal。在其他实施方案中,半乳-寡糖在营养组合物中的量可以为约0.1mg/100kcal-约0.5mg/100kcal。半乳-寡糖和聚右旋糖还可以以约0.6mg/100kcal的总量补充到营养组合物中。

[0150] 在一些实施方案中,营养组合物包含另外的碳水化合物源,即是,除了在本发明的整个公开中所述的其他碳水化合物之外提供的碳水化合物源。合适的另外的碳水化合物源可以为用于本领域中的任一种,例如乳糖、葡萄糖、果糖、玉米糖浆固体、麦芽糖糊精、蔗糖、淀粉、大米糖浆固体等。另外的碳水化合物在营养组合物中的量通常可以在约5g-约25g/100kcal中变化。在一些实施方案中,碳水化合物的量为约6g-约22g/100kcal。在其他实施方案中,碳水化合物的量为约12g-约14g/100kcal。

[0151] 营养组合物可以包含长链的多不饱和脂肪酸(LCPUFA)的源,所述长链的多不饱和脂肪酸包括二十二碳六烯酸(DHA)。其他合适的LCPUFA包括,但不限于, α -亚油酸、 γ -亚油酸、亚油酸、亚麻酸、二十碳五烯酸(EPA)和花生四烯酸(ARA)。

[0152] 在一些实施方案中,营养组合物可以用DHA和ARA两者补充,且ARA:DHA的重量比率可以为约1:3-约9:1。在某些实施方案中,ARA:DHA比率为约1:2-约4:1。

[0153] 长链的多不饱和脂肪酸在营养组合物中的量可以在约5mg/100kcal-约100mg/100kcal中、更优选在约10mg/100kcal-约50mg/100kcal中变化。

[0154] 而且,营养组合物可以使用本领域中已知的标准技术用包含DHA和ARA的油补充。例如,可以通过置换通常存在于营养组合物中的当量的全部脂肪共混物的剩余部分将包含DHA和ARA的油加到营养组合物。

[0155] 如果采用的话,DHA和ARA的源可以为本领域中已知的任何源,例如海产油、鱼油、单细胞油、蛋黄脂质和脑脂质。在一些组合中,DHA和ARA来源于单细胞Martek油、DHASCO®或其变体。DHA和ARA可以为天然形式,前提是LCPUFA源的剩余部分不对婴儿产生任何明显有害的作用。或者,DHA和ARA可以以精制形式使用。

[0156] 在营养组合物的一个实施方案中,DHA和ARA的源为单细胞油,如在美国专利号5,374,567、5,550,156和5,397,591中教导,其公开内容通过引用以其整体组合到文中。

[0157] 在某些实施方案中,营养组合物可以为提供生理化学和生理学益处的基于乳的营养组合物。如本领域中已知的,牛奶蛋白质包含两种主要组分:酸可溶的乳清蛋白质和酸不可溶的酪蛋白,后者表示牛奶的全部蛋白质含量的约80%。当进入胃的酸性环境时,酪蛋白沉淀和与矿物质复合,形成变化尺寸和坚实度的半固体凝乳。与较大较硬的凝乳相比,较软较小的凝乳更易于被身体消化。凝乳形成在营养组合物的开发中可能是重要考虑因素,所述营养组合物包括,但不限于婴儿配方、医疗食品和早产儿配方。因此,稳定化益生菌可以与包含比标准婴儿配方较软且较小的凝乳的组合物组合。

[0158] 还可以以足以供应受试者的日常营养需求的量将一种或多种维生素和/或矿物质加到营养组合物中。本领域普通技术人员应当理解维生素和矿物质需求将例如基于儿童的年龄而变化。例如,婴儿可以具有不同于年龄为1-13岁的儿童的维生素和矿物质需求。因此,该实施方案并不旨在将营养组合物限制到具体的年龄组,而是提供可接受的维生素和

矿物质组分的范围。

[0159] 营养组合物可以任选包括,但不限于,以下维生素或其衍生物中的一种或多种:维生素B1(硫胺、焦磷酸硫胺、TPP、三磷酸硫胺、TTP、盐酸硫胺、一硝酸硫胺)、维生素B2(乳黄素、黄素单核苷酸、FMN、黄素腺嘌呤二核苷酸、FAD、乳黄素、核黄素)、维生素B3(烟酸、尼克酸、尼克酰胺、烟酰胺、尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸、NAD、尼克酸单核苷酸、NicMN、吡啶-3-甲酸)、维生素B3-前体色氨酸、维生素B6(吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺、盐酸吡哆醇)、泛酸(泛酸盐、泛醇)、叶酸盐(叶酸、叶酸(folacin)、蝶酰谷氨酸)、维生素B12(钴胺素、甲基钴胺素、脱氧腺苷钴胺素、氰钴胺素、羟基钴胺素、腺苷钴胺素)、生物素、维生素C(抗坏血酸)、维生素A(视黄醇、乙酸视黄酯、棕榈酸视黄酯、与其它长链脂肪酸形成的视黄酯、视黄醛、视黄酸、视黄醇酯)、维生素D(骨化醇、胆骨化醇、维生素D3、1,25,-二羟基维生素D)、维生素E(α -生育酚、 α -生育酚乙酸酯、 α -生育酚琥珀酸酯、 α -生育酚烟酸酯、 α -生育酚)、维生素K(维生素K1、叶绿醌、萘醌、维生素K2、甲基萘醌-7、维生素K3、甲基萘醌-4、甲萘醌、甲基萘醌-8、甲基萘醌-8H、甲基萘醌-9、甲基萘醌-9H、甲基萘醌-10、甲基萘醌-11、甲基萘醌-12、甲基萘醌-13)、胆碱、肌醇、 β -胡萝卜素及其任何组合。

[0160] 而且,营养组合物可以任选包括,但不限于,以下矿物质或其衍生物中的一种或多种:硼、钙、乙酸钙、葡糖酸钙、氯化钙、乳酸钙、磷酸钙、硫酸钙、氯化物、铬、氯化铬、吡啶甲酸铬、铜、硫酸铜、葡糖酸铜、氟化物、铁、羰基铁、三价铁、富马酸亚铁、正磷酸铁、铁研制剂、多糖铁、碘化物、碘、镁、碳酸镁、氢氧化镁、氧化镁、硬脂酸镁、硫酸镁、锰、钼、磷、钾、磷酸钾、碘化钾、氯化钾、乙酸钾、硒、硫、钠、多库酯钠、氯化钠、硒酸钠、钼酸钠、锌、氧化锌、硫酸锌及其混合物。矿物质化合物的非限制性示例性衍生物包括任何矿物质化合物的盐、碱性盐、酯和螯合物。

[0161] 可按以下盐的形式将矿物质加到营养组合物中:例如磷酸钙、甘油磷酸钙、柠檬酸钠、氯化钾、磷酸钾、磷酸镁、硫酸亚铁、硫酸锌、硫酸铜、硫酸锰和亚硒酸钠。可加入本领域已知的其它维生素和矿物质。

[0162] 本公开的营养组合物可任选包括以下调味剂的一种或多种,包括但不限于调味提取物、挥发油、可可或巧克力调味料、花生酱调味料、饼干屑、香草或任何市售调味料。有用的调味剂的例子包括但不限于纯茴香提取物、仿制香蕉提取物、仿制樱桃提取物、巧克力提取物、纯柠檬提取物、纯橙提取物、纯薄荷提取物、蜂蜜、仿制菠萝提取物、仿制朗姆酒提取物、仿制草莓提取物或香草提取物;或挥发油,例如蜜蜂花油、月桂油、香柠檬油、雪松木油、樱桃油、肉桂油、丁子香油或薄荷油;花生酱、巧克力调味料、香草饼干屑、奶油糖果、太妃糖及其混合物。调味剂的量可根据所用的调味剂而大幅变化。可选择本领域已知的调味剂的类型和量。

[0163] 本公开的营养组合物可以任选地包含可以为最终产品的稳定性而加入的一种或多种乳化剂。合适的乳化剂的例子包括,但不限于,卵磷脂(例如,来自蛋或大豆)、 α 乳白蛋白和/或甘油单酯和甘油二酯,及其混合物。其它乳化剂对技术人员而言是显而易见的,且合适的乳化剂的选择将部分取决于制剂和最终产品。在一些实施方案中,本公开的营养组合物可以包含乳化剂,例如甘油单酯和/或甘油二酯的柠檬酸酯、甘油单酯和/或甘油二酯的二乙酰基酒石酸酯和/或辛烯基琥珀酸酐改性的淀粉。

[0164] 本公开的营养组合物可任选地包含一种或多种防腐剂,也可以将其加入以延长产

品的储存寿命。合适的防腐剂包括,但不限于,山梨酸钾、山梨酸钠、苯甲酸钾、苯甲酸钠、EDTA二钠钙及其混合物。

[0165] 本公开的营养组合物可任选地包括一种或多种稳定剂。用于实施本公开的营养组合物的合适稳定剂包括但不限于阿拉伯胶、茄替胶、刺梧桐胶、西黄蓍胶、琼脂、红藻胶、瓜尔胶、吉兰糖胶、刺槐豆胶、果胶、低甲氧基果胶、明胶、微晶纤维素、CMC(羧甲基纤维素钠)、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、DATEM(甘油单酯和甘油二酯的二乙酰基酒石酸酯)、葡聚糖、角叉胶及其混合物。

[0166] 本公开的营养组合物还可以包括至少一种另外的植物营养素,即是,除了文中所述的果胶、淀粉或其他植物营养素组分之外的另一种植物营养素组分。在人乳中鉴定的植物营养素或其衍生物、缀合形式或前体优选包含在营养组合物中。例如,在一些实施方案中,本公开的营养组合物可以以8盎司(236.6mL)份包含约80-约300mg花青素、约100-约600mg原花色素、约50-约500mg黄烷-3-醇或其任何组合或混合物。在其他实施方案中,营养组合物包含苹果提取物、葡萄籽提取物或其组合或混合物。而且,营养组合物的至少一种植物营养素可以衍生自水果、葡萄籽和/或苹果或茶提取物中的任一种或共混物。

[0167] 适用于营养组合物的另外的植物营养素的例子包括,但不限于,花青素、原花色素、黄烷-3-醇(即儿茶素、表儿茶素等)、黄烷酮、类黄酮、异类黄酮、类芪(stilbenoid)(即白藜芦醇等)、原花色素、花青素、白藜芦醇、栝精、姜黄色素和/或其任何混合物以及植物营养素的纯化形式或天然形式的任何可能组合。某些组分,尤其是营养组合物的基于植物的组分可以提供植物营养素的源。

[0168] 营养组合物的植物营养素组分还可以包含柚皮素、橙皮素、花青素、栝精、山奈酚、表儿茶素、表没食子儿茶素、表儿茶素-没食子酸酯、表没食子儿茶素-没食子酸酯或其任何组合。在某些实施方案中,营养组合物包含约50-约2000nmol/L的表儿茶素、约40-约2000nmol/L的表儿茶素没食子酸酯、约100-且约4000nmol/L的表没食子儿茶素没食子酸酯、约50-约2000nmol/L的柚皮素、约5-约500nmol/L的山奈酚、约40-约4000nmol/L的橙皮素、约25-约2000nmol/L的花青素、约25-约500nmol/L的栝精或其混合物。而且,营养组合物可以包含植物营养素或其母体化合物的代谢物,或其可以包含其他种类的食用植物营养素,例如芥子油苷(glucosinolate)或萝卜硫素。在某些实施方案中,营养组合物包含类胡萝卜素,例如叶黄素、玉米黄素、虾青素、番茄红素、 β -胡萝卜素、 α -胡萝卜素、 γ -胡萝卜素和/或 β -隐黄素。

[0169] 营养组合物还可包含异类黄酮和/或异黄酮。实例包括,但不限于,木黄酮(染料木苷)、大豆黄素(大豆苷)、黄豆黄素、鹰嘴豆素A、刺芒柄花素、香豆雌酚(coumestrol)、鸢尾素(irilone)、四羟基异黄酮(orobol)、假靛黄素(pseudobaptigenin)、类臭豆碱异黄酮A和B(anagyroid isoflavone A和B)、毛蕊异黄酮(calycosin)、黄豆黄素、鸢尾苷元(irigenin)、5-O-甲基木黄酮、红车轴草素(pratensein)、樱黄素(prunetin)、 ψ -鸢尾黄素、凹猪屎豆碱(retusin)、鸢尾黄素、鸢尾苷(iridin)、芒柄花苷(ononin)、葛根素、鸢尾黄酮苷(tectoridin)、大鱼藤异黄酮(derrubone)、羽扇豆异黄酮(luteone)、异戊烯基异黄酮(wighteone)、高山金莲花素(alpinumisoflavone)、吡喃异黄酮(barbigerone)、二-O-甲基高山金莲花素和4'-甲基-高山金莲花素。富含异类黄酮的植物源包括,但不限于,大豆、补骨脂、葛、羽扇豆、蚕豆、鹰嘴豆(chick pea)、紫花苜蓿、豆荚和花生。

[0170] 在一个实施方案中,本公开的营养组合物包含有效量的胆碱。有效量的胆碱为约20mg胆碱/8盎司(236.6mL)份-约100mg/8盎司(236.6mL)份。例如配制的每8盎司(236.6mL)份营养组合物中包括1克份的本发明益生菌组合物。例如配制的1L份营养组合物中包括2~8克份的本发明益生菌组合物。例如配制的1L份营养组合物中包括3~6克份的本发明益生菌组合物。

[0171] 所公开的营养组合物可以另外包含 β -葡聚糖的源。葡聚糖为多糖,特别是葡萄糖的聚合物,其为天然存在的且可以在细菌、酵母菌、真菌和植物的细胞壁中发现。 β -葡聚糖本身为葡萄糖聚合物的多样化子集,其由通过 β 型葡糖苷键连接在一起以形成复杂的碳水化合物的葡萄糖单体的链组成。

[0172] β -1,3-葡聚糖例如由酵母菌、蘑菇、细菌、海藻或谷类纯化的碳水化合物聚合物。 β -1,3-葡聚糖的化学结构取决于 β -1,3-葡聚糖的源。而且,各种物理化学参数,例如溶解度、主要结构、分子量和支化对 β -1,3-葡聚糖的生物活性有作用。

[0173] β -1,3-葡聚糖为具有或不具有 β -1,6-葡萄糖或1,4-葡萄糖支化侧链的天然存在的的多糖,其在各种各样植物、酵母菌、真菌和细菌的细胞壁中发现。

[0174] 衍生自面包酵母菌酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的 β -葡聚糖由D-葡萄糖分子链组成,所述D-葡萄糖分子链通过1和3位置的葡糖苷键连接,具有通过1和6位置的葡糖苷键连接的葡萄糖侧链。酵母菌衍生的 β -葡聚糖是不可溶的、纤维状、复杂的糖,其具有葡萄糖单元的直链通用结构,所述葡萄糖单元具有 β -1,3主链,其散布有在长度上一般为6-8个葡萄糖单元的 β -1,6侧链。更具体而言,衍生自面包酵母菌的 β -葡聚糖为聚(1,6)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1,3)- β -D-吡喃葡萄糖。

[0175] 而且, β -葡聚糖具有良好耐受性且在儿科受试者中不产生或引起过多的气体、腹胀、胃气胀或腹泻。将 β -葡聚糖加到儿科受试者的营养组合物(例如婴儿配方、成长乳或另一种儿童营养产品)将通过提高对入侵的病原体的抵抗性并因此保持或改进整体健康,改进受试者的免疫反应。

[0176] 本公开的营养组合物可以包含 β -葡聚糖。在一些实施方案中, β -葡聚糖为 β -1,3;1,6-葡聚糖。在一些实施方案中, β -1,3;1,6-葡聚糖衍生自面包酵母菌。营养组合物可以包含全葡聚糖颗粒 β -葡聚糖、粒状 β -葡聚糖、微粒 β -葡聚糖、PGG-葡聚糖(聚1,6- β -D-吡喃葡萄糖基-1,3- β -D-吡喃葡萄糖)或其任何混合物。在一些实施方案中,微粒 β -葡聚糖包含具有直径小于2 μ m的 β -葡聚糖颗粒。

[0177] 在一些实施方案中,组合物中所存在的 β -葡聚糖的量为营养组合物的约0.010-约0.080g/100g。在其他实施方案中,营养组合物包含约10-约30mg的 β -葡聚糖/g份。在另一个实施方案中,营养组合物包含约5-约30mg的 β -葡聚糖/8盎司(236.6mL)份。在其他实施方案中,营养组合物包含足以提供约15mg-约90mg β -葡聚糖/天的量的 β -葡聚糖。在一些实施方案中,营养组合物可以以多个剂量递送以达到整天递送到受试者的 β -葡聚糖的目标量。

[0178] 在一些实施方案中, β -葡聚糖在营养组合物中的量为约3mg-约17mg/100kcal。在另一个实施方案中, β -葡聚糖的量为约6mg-约17mg/100kcal。

[0179] 营养组合物可以直接排出到受试者的肠道中。在一些实施方案中,营养组合物直接排出到肠内。在一些实施方案中,组合物可以在医生的指导下配制成肠内消耗或给予,且可以预期用于针对性地饮食管理疾病或病症,例如腹腔疾病和/或食物过敏,由此基于所认

识到的科学原理通过医学评估建立不同的营养需求。

[0180] 本公开的营养组合物并不限于包含文中具体列出的营养素的组合物。出于满足营养需求的目的和/或为了优化受试者中的营养状态,任何营养素可以作为组合物的部分递送。

[0181] 本公开的营养组合物可以标准化成具体的热量含量,其可以作为即用型产品提供,或其可以以浓缩形式提供。

[0182] 在一些实施方案中,本公开的营养组合物是成长乳。成长乳为预期用于1岁以上年龄(通常1-3岁年龄、4-6岁年龄或1-6岁年龄)的儿童强化型基于乳的饮料。设计成长乳以期用作多样化膳食的补充,为儿童获得所有的必需维生素和矿物质、常量营养素加其它功能性膳食组分(例如具有声称的促进健康性质的非必需营养物)的持续的每日摄取量提供额外的保障。

[0183] 根据本公开的营养组合物的确切组成可以在市场之间变化,这取决于地方法规和目标人群的膳食摄入量信息。在一些实施方案中,根据本公开的营养组合物包含乳蛋白源,例如全脂乳或脱脂乳,加上实现所需感官性能所添加的糖和甜味剂,和添加的维生素和矿物质。脂肪组合物通常衍生自乳原材料。可设计总蛋白质的指标以与人乳、牛乳或下限值的相符。通常确定总的碳水化合物的指标以提供尽可能少的添加糖(例如蔗糖或果糖)以实现可接受的味道。通常,以符合地方性牛乳的营养基值的水平添加维生素A、钙和维生素D。此外,在一些实施方案中,可以提供膳食参考摄入量(DRI)的约20%或每份每日值(DV)的约20%的水平,添加维生素和矿物质。而且,根据已确定的预期人群的营养需求、原料基值和地区法规,营养素值在市场间可变化。

[0184] 在某些实施方案中,营养组合物是低变应原的。在又一个实施方案中,营养组合物为非基因修饰的产品。在一个实施方案中,营养制剂不含蔗糖。营养组合物还可以不含乳糖。在其他实施方案中,营养组合物不包含任何中链甘油三酯油。在一些实施方案中,在组合物中不存在角叉胶。在其他实施方案中,营养组合物不含所有胶。

[0185] 因此,通过实施本公开内容,制备具有迄今未认识的稳定性的稳定化益生菌。所述稳定化细菌混合物通过使用水解哺乳动物蛋白质而表现出极高的稳定性,所述水解哺乳动物蛋白质尤其是具有超过70%的肽的分子量小于2000道尔顿的水解哺乳动物蛋白质。所述稳定化益生菌独特地对中等湿度水平(例如水活性高达0.4)的营养应用有效,其中在湿热环境下提高的贮存期和稳定性是所需的。所述稳定化的益生菌可以单独包装,或与本文所述的营养组合物的任何实施方案组合。

[0186] 将下文各实施例1-10制备得到的组合物置于30℃温度贮藏1年,测定各组合物在0时和1年时每1g组合物中益生菌的数量,以某组合物1年时细菌数量除以该组合物0月时细菌数量再乘以100%所得百分数,作为该组合物在此30℃处置1年后的残余百分数。结果显示,实施例1-7所得全部组合物的残余百分数均在79~88%范围内,显示有较高的益生菌存活率,例如实施例1-5所得全部组合物的残余百分数均在81~85%范围内;令人遗憾的是,实施例8-10所得全部组合物的残余百分数均在43~59%范围内,例如实施例10所得全部组合物的残余百分数均在45~51%范围内,远远低于以类似方法制得的组合物。另外,针对实施例12所得营养组合物,亦照上述30℃温度贮藏1年的方式测定其中益生菌的残余百分数,结果显示这些营养组合物的残余百分数与其所用的益生菌组合物结果基本上相同(相差均

小于2个百分点),表明其它物质例如蛋白质源等物质与本发明益生菌组合物混合后不会影响其中益生菌的存活。

具体实施方式

[0187] 通过下面的实施例可以对本发明进行进一步的描述,然而,本发明的范围并不限于下述实施例。本领域的专业人员能够理解,在不背离本发明的精神和范围的前提下,可以对本发明进行各种变化和修饰。本发明对试验中所使用到的材料以及试验方法进行一般性和/或具体的描述。虽然为实现本发明目的所使用的许多材料和操作方法是本领域公知的,但是本发明仍然在此作尽可能详细描述。以下实施例进一步说明本发明,而不是限制本发明。在以下各试验中,制备本发明益生菌组合物时,以每1克重量的益生菌组合物列明处方,实际投料时至少是1000克的投料批量进行制备。

[0188] 实施例1:益生菌组合物(每1克益生菌组合物干物质配料)

[0189] 益生菌(LGG): 1×10^{10} cfu,

[0190] 磷脂(大豆卵磷脂):10mg,

[0191] 甘油酯(月桂酸甘油单酯):10mg,

[0192] 谷维素:1mg,

[0193] 甘氨酸锌:0.15mg,

[0194] 碳水化合物(乳糖):适量加至1g。

[0195] 制法:将益生菌(市售,半固体状态)与谷维素和甘氨酸锌混合均匀,加入磷脂和甘油酯混合均匀,再添加碳水化合物至处方全量,搅拌混合均匀,低于40℃热风流化床干燥至水分低于4%,得到颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0196] 实施例2:益生菌组合物(每1克益生菌组合物干物质配料)

[0197] 益生菌(BB536): 1×10^{11} cfu,

[0198] 磷脂(蛋黄卵磷脂):5mg,

[0199] 甘油酯(硬脂酸甘油单脂):20mg,

[0200] 谷维素:0.5mg,

[0201] 甘氨酸锌:0.5mg,

[0202] 碳水化合物(蔗糖):适量加至1g。

[0203] 制法:将益生菌(市售,半固体状态)与谷维素和甘氨酸锌混合均匀,加入磷脂和甘油酯混合均匀,再添加碳水化合物至处方全量,搅拌混合均匀,低于40℃热风流化床干燥至水分低于4%,得到颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0204] 实施例3:益生菌组合物(每1克益生菌组合物干物质配料)

[0205] 益生菌(AH1206): 1×10^9 cfu,

[0206] 磷脂(大豆卵磷脂):20mg,

[0207] 甘油酯(中链酸甘油二酯):5mg,

[0208] 谷维素:2mg,

[0209] 甘氨酸锌:0.1mg,

[0210] 碳水化合物(葡萄糖):适量加至1g。

[0211] 制法:将益生菌(市售,半固体状态)与谷维素和甘氨酸锌混合均匀,加入磷脂和甘

油酯混合均匀,再添加碳水化合物至处方全量,搅拌混合均匀,低于40℃热风流化床干燥至水分低于4%,得到颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0212] 实施例4:益生菌组合物 (每1克益生菌组合物干物质配料)

[0213] 益生菌 (BB-12) : 1×10^{10} cfu,

[0214] 磷脂 (蛋黄卵磷脂) : 7.5mg,

[0215] 甘油酯 (中链酸甘油三酯) : 12.5mg,

[0216] 谷维素: 0.75mg,

[0217] 甘氨酸锌: 0.25mg,

[0218] 碳水化合物 (麦芽糖糊精) : 适量加至1g。

[0219] 制法:将益生菌 (市售,半固体状态) 与谷维素和甘氨酸锌混合均匀,加入磷脂和甘油酯混合均匀,再添加碳水化合物至处方全量,搅拌混合均匀,低于40℃热风流化床干燥至水分低于4%,得到颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0220] 实施例5:益生菌组合物 (每1克益生菌组合物干物质配料)

[0221] 益生菌 (35624) : 1×10^{10} cfu,

[0222] 磷脂 (大豆卵磷脂) : 12.5mg,

[0223] 甘油酯 (月桂酸甘油单酯) : 7.5mg,

[0224] 谷维素: 1.25mg,

[0225] 甘氨酸锌: 0.1mg,

[0226] 碳水化合物 (果糖) : 适量加至1g。

[0227] 制法:将益生菌 (市售,半固体状态) 与谷维素和甘氨酸锌混合均匀,加入磷脂和甘油酯混合均匀,再添加碳水化合物至处方全量,搅拌混合均匀,低于40℃热风流化床干燥至水分低于4%,得到颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0228] 以上实施例1~5中,因益生菌原料中细菌浓度不同,其投料量不同,造成碳水化合物在最终所得益生菌组合物干物质的浓度在17~76%范围内。

[0229] 实施例6:益生菌组合物

[0230] 配料比例和制法分别参照实施例1-5,不同的仅是不加碳水化合物,分别得到5种颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0231] 实施例7:益生菌组合物

[0232] 配料比例和制法分别参照实施例1-5,不同的是在各处方中以每1克益生菌组合物干物质配料计还分别添加如下粘合剂 (用水配制成3%溶液,在加入其它物料后以喷雾的方式加入) :果胶10mg、藻酸钠7.5mg、壳聚糖20mg、羧甲基纤维素12.5mg、海藻酸5mg,分别得到5种颗粒物或粉末状的益生菌组合物。

[0233] 实施例8:益生菌组合物

[0234] 配料比例和制法分别参照实施例1-5,不同的仅是不加谷维素,得到5种组合物。

[0235] 实施例9:益生菌组合物

[0236] 配料比例和制法分别参照实施例1-5,不同的仅是不加甘氨酸锌,得到5种组合物。

[0237] 实施例10:益生菌组合物

[0238] 配料比例和制法分别参照实施例1-5,不同的仅是谷维素和甘氨酸锌均不添加,得到5种组合物。

[0239] 实施例11:营养组合物

[0240] 将实施例1-10所得益生菌组合物分别分装到空心胶囊,密封,分别所得呈胶囊形式的营养组合物。这些呈胶囊形式的营养组合物可以在使用者服用时添加到适宜的食品或饮料中,例如添加到果汁或者牛奶中。

[0241] 实施例12:营养组合物

[0242] 将实施例1-10所得益生菌组合物分别混合到市售的幼儿配方奶粉中(美素佳儿®),这种幼儿配方奶粉含有蛋白质源,还包括其它脂质以及其它营养成分例如氨基酸、维生素、矿物质等),分别得到呈配方奶粉形式的营养组合物,益生菌组合物占该营养组合物的0.1%(实施例1益生菌组合物)、0.5%(实施例1益生菌组合物)、1%(实施例1益生菌组合物)、5%(实施例1益生菌组合物)或10%(实施例1益生菌组合物)以及2%(实施例6-10益生菌组合物)。例如,这些呈配方奶粉形式的营养组合物中的益生菌数量可以根据实际情况例如使用者年龄段、人种等确定,例如所制得的呈配方奶粉形式的营养组合物每1克中包含的益生菌数量为 $1 \times 10^2 - 1 \times 10^{10}$ cfu。

[0243] 本说明书引用的所有参考文献,包括而限于所有的论文、出版物、专利、专利申请、简报、教科书、报告、底稿、小册子、书籍、互联网文章、杂志文章、期刊等,通过引用以其整体结合到本说明书中。本文的参考文献的讨论仅仅意在概括其作者所做出的断言,并非承认任何参考文献构成现有技术。申请人保留对所引用的参考文献的准确性和相关性提出异议的权利。

[0244] 虽然使用特定术语、装置和方法描述了本公开的实施方案,但是这类描述只用于说明目的。所用词汇是描述词汇而不是限制词汇。应当理解在不偏离随附权利要求书中阐述的本公开的精神和范围的情况下,本领域普通技术人员可进行变动和改变。另外,应当理解各种实施方案的方面可全部或部分互换。例如,虽然业已例示用于生产根据那些方法制备的市售无菌液体营养补充物的方法,还可以考虑其他使用。因此,随附权利要求书的精神和范围不应限于其中所含优选形式的描述。