

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6669646号
(P6669646)

(45) 発行日 令和2年3月18日 (2020.3.18)

(24) 登録日 令和2年3月2日 (2020.3.2)

(51) Int. Cl.	F I
A 2 3 L 5/00 (2016.01)	A 2 3 L 5/00 F
A 2 3 L 33/135 (2016.01)	A 2 3 L 33/135
A 2 3 C 9/13 (2006.01)	A 2 3 C 9/13

請求項の数 9 (全 30 頁)

(21) 出願番号	特願2016-508289 (P2016-508289)	(73) 特許権者	515288306
(86) (22) 出願日	平成26年4月19日 (2014.4.19)		デガマ スマート リミテッド
(65) 公表番号	特表2016-518830 (P2016-518830A)		英国領ケイマン諸島 グランド ケイマン
(43) 公表日	平成28年6月30日 (2016.6.30)		ウグランド ハウス ビー. オー. ボッ
(86) 国際出願番号	PCT/IL2014/050368		クス 309 メイプルズ コーポレート
(87) 国際公開番号	W02014/170904		サービシズ リミテッド内
(87) 国際公開日	平成26年10月23日 (2014.10.23)	(74) 代理人	100106002
審査請求日	平成29年1月20日 (2017.1.20)		弁理士 正林 真之
(31) 優先権主張番号	61/813, 663	(74) 代理人	100120891
(32) 優先日	平成25年4月19日 (2013.4.19)		弁理士 林 一好
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100165157
			弁理士 芝 哲央
前置審査		(74) 代理人	100126000
			弁理士 岩池 満

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 耐熱及び耐湿性プロバイオティクス細菌を含む顆粒を含む流動食

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

i) プロバイオティクス細菌と、前記細菌がその上に吸収又は被覆される基質とを含むコアと、

ii) 前記コアを被覆する、水及び湿気がコアに浸透するのを防止するためのヒドロキシプロピルデンプンを含む内層と、

iii) リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン又はそれらの組合せを含む、前記コア及び前記内層を被覆する少なくとも1つの外層と、を含み、

前記外層は、液体と接触すると、前記内層よりも高温で可溶になり、

前記内層と前記外層が可溶になる温度に少なくとも5 の差がある、

液体乳児用食品用安定化プロバイオティクス顆粒の形態の耐熱及び耐湿性プロバイオティクス細菌の調製用組成物。

【請求項 2】

前記液体乳児用調製乳は殺菌プロセスにかけられ、殺菌のために、280 °F (138) で8秒間加熱され、73 ~ 80 °F (23 ~ 27) に冷却される、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

前記外層が水性媒体に70 で少なくとも30秒後に溶解する、請求項1に記載の組成物。

10

20

【請求項 4】

前記外層が水性媒体に 70 で少なくとも 1 分後に溶解する、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記液体乳児用食品が、すぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳である、請求項 1 に記載の組成物を含む液体乳児用食品。

【請求項 6】

前記流動食が、熱水に分散される粉末乳児用調製乳である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記流動食が液体濃縮乳児用調製乳である、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 8】

i) プロバイオティクス細菌、及び少なくとも 1 種類の基質を含むコア顆粒を調製するステップと、

ii) ヒドロキシプロピルデンプンを含む少なくとも 1 つの内層で前記コア顆粒を被覆し、それによって封止されたコア顆粒を得るステップと、

iii) 前記封止されたコア顆粒を、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン又はそれらの組合せを含む少なくとも 1 つの外層で被覆するステップと、
を含み、

前記外層は、液体と接触すると、前記内層よりも高温で可溶になり、

20

前記内層と前記外層が可溶になる温度に少なくとも 5 の差がある、
請求項 1 に記載の液体乳児用食品用安定化プロバイオティクス顆粒の形態の耐熱及び耐湿性プロバイオティクス細菌の調製プロセス。

【請求項 9】

さらに、前記外層を、少なくとも 1 種類の水溶性ポリマーを含む外面被覆層で被覆するステップを含む、請求項 8 に記載のプロセス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、健康食品、特に、乳児用のプロバイオティクスを含む液状製品に関する。

30

【背景技術】

【0002】

プロバイオティクスは、天然腸管内菌叢を維持することによって、消化管中の有害微生物と競合することによって、有用な代謝過程を促進することによって、さらに、有毒物質に対する宿主生物体の耐性を強化することによって、宿主に有利に影響する生きた微生物栄養補助食品である。幾つかの生物体がプロバイオティクス食品に使用され、その例は、細菌属ラクトバチルス (Lactobacillus) 又はビフィドバクテリウム (Bifidobacterium)、すなわち、ラクトバチルス パラカゼイ (paracasei) St 11 (又は NCC 2461)、ラクトバチルス フォルティス (fortis)、ラクトバチルス ジョンソニイ (johnsonii) La 1 (=ラクトバチルス LC 1、ラクトバチルス ジョンソニイ NCC 533) 又はビフィドバクテリウム ラクチス (lactis) である。プロバイオティクス生物体は、有効であるために、製品寿命の間生存すべきであり、さらに、消化管から結腸まで全行程で生存すべきである。プロバイオティクス生物体は、通常、ヨーグルトなどの乳製品に混ぜられる。他の食料品タイプ、例えば、液体製品、特にその調製の少なくとも 1 段階で熱処理を受ける液体製品 (liquid-based product) において、有益な微生物を提供する必要性が感じられる。液体健康食品の調製における主問題は、含まれるプロバイオティクスの全部又は重要な一部を破壊し得る高温と水の併用である。

40

【0003】

特許文献 1 は、水溶性溶媒中のプロバイオティクスと糖ポリマーの懸濁液を水溶性のゲ

50

ル形成固体粒子に噴霧するステップを少なくとも含む、プロバイオティクスを含めて湿気に敏感な生きた微生物を含む製品を調製する方法を記述している。これらの手段によって、水溶性ゲル形成固体粒子で構成されるコアは、残留溶媒を吸収し、該コア上のプロバイオティクスを保護することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】米国特許出願公開第2005/0019417号A1公報

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

10

【0005】

本発明の少なくとも一部の実施形態によれば、十分な量の生存可能なプロバイオティクス微生物を保存する、その調製又は使用の少なくとも1段階において熱処理を受ける液状製品の処方、並びにその調製方法及び使用方法を提供する。

【0006】

乳児用流動食(liquid food product)は、使用前に熱水又は熱い水系液体に添加した後でも、十分な量の細菌が生存することを特徴とする。したがって、この乳児用食品は、品質保持期間の長い、熱安定化プロバイオティクス組成物を含む。

【0007】

流動食は、プロバイオティクス細菌、少なくとも1種類の基質及び場合によっては他の食品用成分を含むコア顆粒を含み、コア顆粒は、その後、デンプン系ポリマーで被覆される。少なくとも一部の実施形態によれば、デンプン系ポリマーは、天然デンプン、熱可塑性デンプン、加工デンプン、デンプン誘導体、部分アルファ化デンプン及びアルファ化デンプンからなる群から選択される一成分、及び/又はカラゲナン、グアーガム及び(ローカストビーンガムとしても知られる)イナゴマメガムの1種類以上、又はそれらの組合せを含む。

20

【0008】

場合によっては、加工デンプンは、酸処理デンプン(E1401)、アルカリ処理デンプン(E1402)、漂白デンプン(E1403)、酸化デンプン(E1404)、酵素処理したデンプン(E1405)、リン酸化デンプン(E1410)、グリセロール架橋デンプン(E1411)、トリメタリン酸ナトリウムでエステル化されたリン酸架橋デンプン(E1412)、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン(E1413)、アセチル化リン酸架橋デンプン(E1414)、無水酢酸でエステル化された酢酸デンプン(E1420)、酢酸ビニルでエステル化された酢酸デンプン(E1421)、アセチル化アジピン酸架橋デンプン(E1422)、アセチル化グリセロール架橋デンプン(E1423)、ヒドロキシプロピルデンプン(E1440)、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン(E1442)、ヒドロキシプロピル化エビ架橋デンプン(E1443)、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム(E1450)の1種類以上を含む。

30

【0009】

少なくとも一部の実施形態によれば、デンプン系ポリマーは、ヒドロキシプロピルデンプン、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン及びアセチル化リン酸架橋デンプンからなる群から選択される。

40

【0010】

少なくとも一部の実施形態によれば、コアは、内層と外層の2層で被覆される。場合によっては、好ましくは、外層は、内層よりも高温で可溶になり、より好ましくは、場合によっては水溶液、分散液、懸濁液などを含み得る液体と接触すると可溶になる。例えば、それだけに限定されないが、外層は、場合によっては、70 で可溶になり始めるが、内層は、場合によっては、50 で可溶になり始める。「可溶になり始める」とは、この温度が、層が急速に溶解し始める、又は可溶になり始めるしきい値であることを意味し、このしきい値を超える温度では明らかに、層がはるかに急速に溶解する。好ましくは、内層

50

と外層が可溶になる温度に少なくとも5、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、又は少なくとも30の差がある。さらに、場合によっては、好ましくは、外層は、より粘ちゅう性でもあり、同じ温度で内層より安定で強いゲルを形成する。したがって、外層の粘ちゅう性ゲルは、同じ温度、特により低温では、内層よりも溶解するのに時間がかかる。

【0011】

特定の1層が可溶になる各温度においては、溶解は、好ましくは、少なくとも30秒、1分、2分、3分、4分又は5分後に起こる。場合によっては、好ましくは、溶解速度は、各層で異なり、外側の層ほど速い。さらに、場合によっては、好ましくは、内層の溶解は、外層の溶解が完了しないと始まらない。完了とは、少なくとも固有のしきい値温度の水又は他の液体と接触して好ましくは初期に外層によって形成されたゲルも分散されることを意味する。

10

【0012】

場合によっては、より好ましくは、内層はヒドロキシプロピルデンプンを含む。さらに、場合によっては、より好ましくは、外層は、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン又はそれらの組合せを含む。

【0013】

場合によっては、最も好ましくは、流動食は、プロバイオティクス細菌、少なくとも1種類の基質及び場合によっては他の食品用成分を含むコア顆粒と、ヒドロキシプロピルデンプンを含む内層と、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン又はそれらの組合せを含む外層とを含む。

20

【0014】

幾つかの例証的实施形態によれば、内層及び外層が存在すると、熱及び/又は湿気への曝露からプロバイオティクス細菌を保護する。本発明の一部の実施形態によれば、追加の保護層を外層の上に追加して、本発明のコア顆粒を含む流動食を更に保護することができる。例えば、少なくとも1種類の水溶性ポリマーを追加の保護層として使用して、安定化プロバイオティクス顆粒を提供することができる。

【0015】

少なくとも一部の実施形態によれば、i) プロバイオティクス細菌、少なくとも1種類の基質及び場合によっては他の食品用成分を含むコア顆粒を調製するステップと、ii) 場合によっては、前記コア顆粒を少なくとも1つの内層で被覆し、それによって封止されたコア顆粒を得るステップと、iii) 前記場合によっては封止されたコア顆粒を、感熱性ゲル形成ポリマーを含む少なくとも1つの外層で被覆するステップと、iv) 場合によっては、感熱性ゲルを含む前記コア顆粒を、少なくとも1種類の水溶性ポリマーを含む外面被覆層で被覆するステップとを含み、それによって液体食品(liquid-based food product)に混合するための安定化プロバイオティクス顆粒を得、前記プロバイオティクス顆粒が耐熱及び耐湿性プロバイオティクス細菌を含む、液体健康食品のための、安定化プロバイオティクス顆粒の形態の耐熱及び耐湿性プロバイオティクス細菌の調製プロセスが提供される。安定化細菌は、液体食品の生産又は調製中に、湿潤環境でもより高温に耐えることができる。耐えるべき高温の一例は、プロバイオティクスジュース生産時の低温殺菌ステップ、又は離乳食を調製するとき、本発明の顆粒を含む乳児用粉末食品を熱水と混合することである。

30

40

【0016】

幾つかの例証的实施形態によれば、本発明の安定化プロバイオティクス顆粒は、高温、例えば、室温(約25)から約140まで耐えることができる。

【0017】

幾つかの例証的实施形態においては、安定化プロバイオティクス顆粒は、粉末乳児用調製乳(powdered infant formula)に添加することができ、室温から100の範囲であり得る温度に曝露することができる。

【0018】

50

別の例証的实施形態によれば、安定化プロバイオティクス顆粒は、例えば低温殺菌プロセスにかけることができるすぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳 (liquid infant formula) など、任意の他の液体乳児用製品 (liquid based infant product) に添加することができる。例えば、低温殺菌プロセスの温度範囲は、低温殺菌条件に依存し得る。例えば、液体乳児用調製乳は、低温殺菌するために、280°F (138) で8秒間加熱し、73~80°F (23~27) に冷却することができる。

【0019】

本発明は、加熱ステップを含む、活性プロバイオティクス細菌を含む液体食品の調製プロセスであって、i) 上述した安定化プロバイオティクス顆粒を調製するステップと、ii) 前記安定化プロバイオティクス顆粒を半製品に混合するステップと、iii) 前記プロバイオティクス顆粒/粒子と前記液体半製品 (liquid-based semi-final product) の混合物を所定の温度で所定期間加熱するステップと、iv) 前記混合物を冷却することによって前記安定化プロバイオティクス顆粒を含む前記液体半製品を完成させ、それによって活性プロバイオティクス細菌を含む前記液体食品を得るステップを含む、プロセスに関する。「半製品」という用語は、本発明による食品の調製における一段階を記述するものであり、前記食品は、まだすべての成分を含んでおらず、又はすべての調製ステップを経ておらず、消費の用意ができていない。本発明の好ましい一実施形態においては、加熱ステップを含む液体食品の調製プロセスは、i) 上述した安定化プロバイオティクス顆粒を調製するステップと、ii) 前記安定化プロバイオティクス顆粒/粒子を、乳児用粉末食品 (infant powder food product) を含む半製品に混合し、それによって安定化プロバイオティクス顆粒/粒子を含むプロバイオティクス乳児用粉末食品を得るステップと、iii) 混合物を所定の温度で所定期間維持しながら、前記プロバイオティクス乳児用粉末食品を消費しようとする直前に、前記プロバイオティクス乳児用粉末食品に冷水を添加し、加熱し、又は熱水を添加するステップとを含む。感熱性ゲル形成ポリマーで構成される前記外層は、前記加熱ステップ中にプロバイオティクスコアを包囲する固体ゲルを形成し、それによって熱及び湿気がプロバイオティクスに伝わるのを防止し、前記ゲルは、前記冷却後に溶解して、プロバイオティクス材料を所望の液体製品中に放出することができる。

【0020】

本発明は、熱可逆性ゲル形成ポリマーを含み、含水環境において耐熱性である、液体食品に混合するための安定化プロバイオティクス顆粒を提供する。本発明の安定化プロバイオティクス顆粒は、基質中の、又は基質と混合された、プロバイオティクス細菌のコア、前記コアを被覆する少なくとも1つの内層、及び熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む少なくとも1つの外層を含む。顆粒は、好ましくは、基質を含むプロバイオティクス細菌のコア、前記コアを被覆する少なくとも1つの内層、及び熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む少なくとも1つの外層、及び水溶性ポリマー又は浸食性ポリマーを含む少なくとも1つの外部層 (exterior layer) を含む。本発明の顆粒は、好ましくは、基質中のプロバイオティクス細菌のコア、熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む少なくとも1つの外層、及び水溶性ポリマー又は浸食性ポリマーを含む少なくとも1つの外部層を含む。

【0021】

基質は、細菌用補助剤、安定剤、充填剤、結合剤及びその混合物からなる群から選択される一成分を含むことができる。前記基質は、プレバイオティック糖類 (prebiotic saccharide) を含むことができ、前記内層は、水溶性又は浸食性ポリマーを含むことができ、前記外層は、感熱性ゾル-ゲル形成ポリマーを含むことができる。一実施形態においては、前記基質は、プレバイオティック糖類を含み、前記内層は、水溶性又は浸食性ポリマーを含み、前記外層は、感熱性ゾル-ゲル形成ポリマーを含み、前記外部層は、水溶性ポリマー又は浸食性ポリマーを含む。前記基質は、好ましくは、プレバイオティック糖類を含み、前記外層は、感熱性ゾル-ゲル形成ポリマーを含み、前記外部層は、水溶性ポリマー又は浸食性ポリマーを含む。本発明の顆粒は、好ましくは、加熱す

るとコア顆粒を包囲する固体ゲルを形成する感熱性ゲル形成ポリマーで構成される外層を有し、それによって熱及び湿気がプロバイオティクス細菌に伝わるのを防止し、前記ゲルは、冷却後溶解し、前記細菌を液体製品中に放出することができる。

【0022】

「液体食品」という用語を使用するときには、含水量の高い、又は水中分散用の、製品を意図する。したがって、本発明による液体食品は、液体、懸濁液、乳濁液又はペーストの形態の製品とすることができ、水、又は乳などの水系液体に分散するための粉末とすることができる。好ましい一実施形態においては、前記顆粒は、基質中のプロバイオティクス細菌のコア、場合によっては、前記コアを被覆する少なくとも1つの内層、熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む少なくとも1つの外層、及び場合によっては、水溶性ポリマーを含む少なくとも1つの最外層を含む。前記基質は、細菌用補助剤、安定剤、緩衝剤、キレート化剤、充填剤、結合剤及びその混合物からなる群から選択される一成分を含むことができる。前記顆粒は、本発明の一実施形態においては、コア中のプレバイオティック糖類、前記内層中の水溶性又は浸食性ポリマー、重要なことには、外層中の感熱性ゾル-ゲル形成ポリマー、及び前記最外層中の水溶性又は浸食性ポリマーを含む。

10

【0023】

本発明は、乳児用食品 (infant food products)、乳児用食品粉末化合物、ヨーグルト、酪農製品 (dairy products)、ネクター、果汁及びエネルギードリンク/飲料から選択される食品を提供する。この食品は、上述したように熱安定化されたプロバイオティクス細菌を含む健康食品である。

20

【0024】

乳児用食品という用語は、例えば、新生児、乳児、赤児及び/又はよちよち歩きの幼児によって消化されるための任意の柔らかい容易に消費される食品を指すことができ、強化母乳、任意の調製乳、並びに穀類、果実、野菜、肉などの任意の流動食及び/又は半固形食を含むことができる。

【0025】

本発明は、したがって、消費者の腸管微生物バランスに有利に作用する熱加工又は熱加工可能な健康食品に関し、前記耐熱性及び熱加工性は、プロバイオティクス細菌への熱及び湿気の伝達を制限し、熱ステップを含むプロセス中にその耐性を増大させる層でプロバイオティクスコアを被覆することによって確保される。

30

【0026】

本発明の上記及び他の特性及び効果は、以下の例によって、添付の図面を参照して、より容易に理解できるはずである。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】健康食品に含まれることになる本発明の一実施形態による複数層のカプセルの模式図である。カプセル化は、生産プロセス又は調製プロセスの加熱ステップ中にプロバイオティクス細菌に最大の耐熱性をもたらすように設計される。コアは、プロバイオティクス細菌及び吸収性基質を含む。コアに隣接する第1の層は、内部の第1の封止層である。前記内層に隣接する外層は、外側熱可逆性ゲル形成層である。あるいは、コアは、プロバイオティクス細菌及び吸収性基質を含む。コアに隣接する第1の層は、外側熱可逆性ゲル形成層である。前記外層に隣接する第2の層は外部層である。

40

【図2A】ポリプロピレンオキシド及びポリエチレンオキシドを含むABAトリブロックコポリマーを含むPluronicの構造である。図2Aは分子構造である。

【図2B】3ブロックポリマー鎖の略図である。

【図3A】温度の関数としての、ポリプロピレンオキシド及びポリエチレンオキシドのABAトリブロックコポリマーであるPluronicのゾル-ゲル転移を示す図である。ある曇点を有するポリマーブロックが存在すると、曇点より高い温度において疎水性状態に転化する性質、及び曇点温度より低い温度において親水性状態に転化する性質がポリマーに付与される。これは、温度の上昇に伴って強度が増加する（逆に、温度の低下に伴っ

50

て強度が減少する)疎水結合の熱力学的性質に起因する。図3Aは分子構造を示す。

【図3B】ゲル化プロセスの略図である。

【図4A】温度の関数としてのヒドロキシプロピルセルロース(HPC: hydroxyl propyl cellulose)などのセルロース誘導体のゾル-ゲル転移を示す図である。臨界温度を超える上昇は、鎖-水水素結合(chain-water hydrogen bonding)に勝る、疎水性効果及び水素結合を含めた鎖-鎖相互作用をもたらす。一方、臨界温度未満に温度が低下すると、水水素結合が鎖-鎖相互作用に勝り、ポリマーの溶解を可能にする。図4Aは分子構造を示す。

【図4B】分子相互作用の略図である。

【図5】70 で加熱し、冷却した後の水中の、実施例1に記載の本発明の一実施形態に従って作製されたマイクロカプセル封入ビフィドバクテリウム ラクチス(BL818)の粒径分布のグラフである。ヒドロキシプロピルセルロース(HPC LF)を感熱性ゾル-ゲルフィルムコーティングとして使用し、重量増加は70%であった。

10

【図6】70 で加熱し、冷却した後の水中の、本発明による安定化顆粒の形態のマイクロカプセル封入ビフィドバクテリウム ラクチス(BL818)の粒径分布のグラフである。ヒドロキシプロピルセルロース(HPC LF)を感熱性ゾル-ゲルフィルムコーティングとして使用し、重量増加は50%であった。

【図7】70 で加熱し、冷却した後の水中の、実施例2に記載の本発明の一実施形態に従って作製されたマイクロカプセル封入ビフィドバクテリウム ラクチス(BL818)の粒径分布のグラフである。ヒドロキシプロピルセルロース(HPC EF)を感熱性ゾル-ゲルフィルムコーティングとして使用し、重量増加は70%であった。

20

【図8】本明細書に記載の幾つかの例証的实施形態によるすぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳の生産プロセスのフローチャートである。

【図9】本明細書に記載の幾つかの例証的实施形態に従って、本発明のプロバイオティクスのマイクロカプセルを、すぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳に添加することができる段階のフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0028】

プロバイオティクス細菌は、驚くべきことに、熱ステップを含むプロセスに使用するために、ゾル-ゲル形成ポリマー被覆によって効率的に安定化できることが見いだされた。1つ以上の被覆層で被覆された顆粒状コア中に細菌を処方し、それによって高湿度において比較的高温で加熱した後でも生存可能なプロバイオティクス生物体を提供するプロバイオティクス組成物が得られた。この組成物は、さらに、貯蔵時に安定であり、経口投与後に、生存可能な細菌を消化管に投与することができる。本発明は、健康食品添加物として使用される顆粒状プロバイオティクスを提供する。本発明は、特に、耐熱性プロバイオティクスを含む、熱水(約70)に実質的に懸濁された乳児用食品粉末化合物、果汁、ネクター、ヨーグルト、乳製品、エネルギードリンクなどの液体食品の調製プロセスを対象とする。

30

【0029】

一部の実施形態によれば、調製乳は、3つの基本形、すなわち、すぐに使用できる状態、液体濃縮物及び粉末とすることができる。すぐに与えられる(又はすぐに使用できる状態)乳児用調製乳は、消費前に水の添加などの追加の組成上の変化を必要とせず消費することができる調製乳であり得る液体乳児用調製乳、又はMead Johnson & Company (Enfamil (登録商標)乳児用調製乳)若しくはRoss Laboratories (Similac (登録商標)乳児用調製乳)から商業的に入手可能なものなどの水(滅菌水)と粉末調製乳(powdered formula)を混合することによって作製される還元粉末乳児用調製乳である。すぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳は、混合も計量も不要であり、単に開封して飲ませるだけなので、最も便利であり得る。これは、病院がしばしば新生児に与える種類の調製乳である。これは、衛生的であり、特に、安全な水を利用できるかどうか不明なときに役立つ。すぐに使用できる状態

40

50

の液体乳児用調製乳は低温殺菌製品であり、開封すると、調製乳の寿命は短く、数時間以内に使用しなければならない（すぐに与えられる乳児用調製乳は、開封後 7 2 時間まで冷蔵することができ、その後は廃棄しなければならない）。

【 0 0 3 0 】

粉末乳児用調製乳とは対照的に、すぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳は、瓶に充填する前に低温殺菌しなければならない。市販のすぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳組成物は、低温殺菌を利用して製造される。低温殺菌は、乳を特定の温度に特定の時間加熱する必要がある。低温殺菌プロセスは、すべての病原体、及び腐敗の原因である微生物の大部分を死滅させる。プロバイオティクスを含む市販のすぐに使用できる状態の調製乳組成物は、低温殺菌前にプロバイオティクスを調製乳に添加することによって製造することができるが、低温殺菌プロセスは、プロバイオティクス微生物の多くを死滅させ、したがって乳児が、調製乳を消費したときに、十分な用量のプロバイオティクスを得ることができない。同様に、プロバイオティクスを含むすぐに使用できる状態の調製乳組成物は、低温殺菌後、調製乳をその容器に充填する直前にプロバイオティクスを調製乳に添加することによって製造することができる。後者の問題は、既に低温殺菌された液体調製乳に汚染物質が入る可能性があることである。これは、続いて、有害細菌による調製乳の汚染を引き起こす恐れがあり、品質保持期間が短縮する恐れもある。

10

【 0 0 3 1 】

品質保持期間を延長し、生存度を改善する方法は、改善された系統を探索すること、及び防腐剤（アスコルビン酸など）、成長因子などの種々の化合物を調製乳に添加することを含む。これらの制約の結果として、現在市販されているプロバイオティクスを含むすぐに使用できる状態の液体乳児用調製乳は、望ましい健康上の利点をもたらすのに必要な数のプロバイオティクス微生物を含まない恐れがある。さらに、かかる調製乳組成物は、比較的短時間で容易に腐敗し、販売及び消費されていないものを廃棄物として廃棄しなければならない。

20

【 0 0 3 2 】

本発明による技術を使用して、製造プロセス中と品質保持期間全体の両方で生存可能なままであるプロバイオティクスを含むすぐに使用できる状態の乳児用調製乳の品質保持期間を延長することができる。さらに、本明細書に記載の技術を使用して調製される製品は、汚染物質が取り除かれ、それでも健康に有益な推奨用量の生存可能なプロバイオティクスを含む。

30

【 0 0 3 3 】

一部の実施形態によれば、大部分の生産者の生産プロセスに基づいて、すぐに使用できる状態の液体調製乳の製造プロセスは、以下の通りである。

【 0 0 3 4 】

1. 大量のすぐに使用できる状態の乳児用調製乳の調製

このプロセス中、すぐに使用できる状態の乳児用液体調製乳 (i n f a n t l i q u i d f o r m u l a) のすべての成分を水に溶解又は分散させ、均質化する。プロセスのフローチャートを図 8 に示す。結果は、以下のように表 1 に要約した成分を含む 1 2 0 リットルバッチのすぐに使用できる状態の乳児用調製乳である。

40

【 0 0 3 5 】

【表 1】

成分	量(グラム)
液体乳清	6412. 04グラム
脂肪ブレンド	4193. 1
液体脱脂乳	2294. 81
ラクトース	2273. 39
クエン酸カリウム	93. 56
モノ及びジグリセリド	86. 80
リン酸カルシウム	50. 22
乾燥ビタミンプレミックス	45. 19
レシチン濃縮物	44. 33
カラゲナン	33. 91
塩化カルシウム	31. 80
塩化ナトリウム	16. 92
ヌクレオチドプレミックス	8. 35

10

20

アスコルビン酸	8. 11
硫酸鉄(II)	7. 30
クエン酸ナトリウム	5. 46
ビタミンA、D、E、K ₁ 濃縮物	3. 89
微量無機質プレミックス	3. 65
水、十分な量	120リットル

表1: すぐに使用できる液体乳児用調整乳を構成する成分及びその量

30

【 0 0 3 6 】

一部の実施形態によれば、最終調製品は、次の低温殺菌及び瓶詰プロセスの段階のために、蓋付きタンクに貯蔵することができる。

【 0 0 3 7 】

本発明のマイクロカプセル封入プロバイオティクス細菌は、図9に示したように、低温殺菌プロセス直前のこの段階で、上述したように調製したすぐに使用できる状態の乳児用調製乳のバッチの容器に添加することができる。

【 0 0 3 8 】

2. 低温殺菌プロセス

乳児用調製乳は、280 ° F (1 3 8) で8秒間加熱し、73 ~ 80 ° F (2 3 ~ 2 7) に冷却することができる。乳児用調製乳を滅菌3オンスガラス瓶に詰め、滅菌蓋をかぶせる。あるいは、液体乳児用調製乳を、低温殺菌前にまず瓶詰めし、次いで低温殺菌し、続いて蓋をすることができる。

40

【 0 0 3 9 】

本発明の技術を利用した低温殺菌プロセス中、保護及び安定性の優れた細菌を提供し、細菌の高い生存度を得る。細菌は、温度冷却後にマイクロカプセル封入層の完全溶解によってすべて放出される。これらの手段によって、生成した液体乳児用調製乳は、完全に低温殺菌され、それでも高レベルの生存可能なプロバイオティクスを含む。幾つかの例証の実施形態によれば、本発明の安定化顆粒は、液体濃縮物状態であろうと、粉末状態であろうと、すぐに使用できる状態であろうと、任意の乳児用調製乳に添加することができる。

50

【0040】

安定化顆粒を含む本発明の組成物は、本質的に乳児用調製乳の低温殺菌前又は後の任意の段階で添加することができる。

【0041】

幾つかの例証的实施形態によれば、本発明の組成物を低温殺菌前に乳児用調製乳に添加すると、調製乳中に存在し得る有害病原体を絶滅させることができるが、本発明の組成物の安定化顆粒内に含まれるプロバイオティクス細菌には害を与えない。

【0042】

粉末調製乳の場合には、本発明の組成物は、調製乳の製造の本質的に任意の段階で添加することができるが、調製乳の最終調製後、すなわち、授乳直前に、熱水（少なくとも60、好ましくは70以上）を粉末調製乳に添加する。使用直前の熱水の添加は、調製乳中に存在し得る有害病原体を絶滅させることができるが、本発明の組成物の安定化顆粒内に含まれるプロバイオティクス細菌には本質的に害を与えない。

【0043】

本発明は、i) プロバイオティクス細菌を含むコア（顆粒）を調製するステップと、ii) 場合によっては、コア（顆粒）への湿気の侵入を防止する水溶性ポリマーを含む少なくとも1つの内層で前記コア（顆粒）を被覆するステップと、iii) 熱及び湿気に耐えるための熱可逆性ゲル形成（ゾル - ゲル）ポリマーを含む少なくとも1つの外層で前記顆粒を被覆し、それによって安定化プロバイオティクス顆粒を得るステップと、iv) 場合によっては、水溶性ポリマーを含む少なくとも1つの最外層で前記コア（顆粒）を被覆するステップと、v) 前記安定化プロバイオティクス顆粒を液体食品プレ製品（liquid-based food pre-product）（半製品）と混合するステップと、vi) 所定の温度で所定時間熱処理することによって、前記安定化プロバイオティクス顆粒を含む前記液体食品プレ製品の調製を完了するステップとを含む、液体食品の調製プロセスを提供する。本発明の重要な一実施形態においては、前記安定化プロバイオティクス顆粒を（乳児用食品粉末化合物のような）粉末製品などの固体食品に添加する。粉末製品は、最終的に、使用前に熱水（最高70）に添加し、消費前に冷却しなくてはならない。本発明の重要な一実施形態においては、前記安定化プロバイオティクス顆粒は、プロバイオティクス細菌と基質を含むコアを有する。前記細菌は、基質に吸収され、又は基質と一緒に顆粒化される。前記コアは、さらに、別の栄養的に許容される賦形剤を含む。顆粒は、場合によっては、さらに、水溶性ポリマーの内層を有する。顆粒は、ゾル - ゲル転移（転移温度）を有する感熱性（熱可逆性）ゲル形成ポリマーの外層を有する。顆粒は、場合によっては、水溶性ポリマーの外部層を有する。本発明の別の重要な一実施形態においては、前記内層と前記外層の両方は、ゾル - ゲル転移を有するが分子量又は粘度が異なる感熱性ゲル形成ポリマーを含む。本発明の別の重要な一実施形態においては、前記内層と前記外部層の両方は、分子量若しくは粘度の類似した類似ポリマー、又は分子量若しくは粘度の異なる類似ポリマーを含む。本発明の別の重要な一実施形態においては、前記安定化プロバイオティクス顆粒は、プロバイオティクス細菌と基質を含むコアを有し、さらに、ゾル - ゲル転移を有する感熱性ゲル形成ポリマーの単一の層を有する。前記細菌は、顆粒化又は吸収され、前記顆粒は追加の賦形剤を含む。本発明の別の重要な一実施形態においては、前記安定化プロバイオティクス顆粒は、プロバイオティクス細菌と基質を含むコア、ゾル - ゲル転移を有する感熱性ゲル形成ポリマーの外層、水溶性ポリマーの外部層を有する。前記細菌は、吸収又は顆粒化され、前記顆粒はさらに別の許容される賦形剤を含む。本発明の別の一実施形態においては、前記安定化プロバイオティクス顆粒は、プロバイオティクス細菌と基質を含むコア、水溶性ポリマーの内層、並びに胃部の耐性をもたらす下層腸溶層及びゾル - ゲル転移を有する感熱性ゲル形成ポリマーの上層を含む2つの外層を有する。前記細菌は、吸収又は顆粒化され、前記顆粒はさらに別の許容される賦形剤を含む。

【0044】

幾つかの例証的实施形態によれば、前記内層と前記外層の両方は、ゾル - ゲル転移を有

10

20

30

40

50

するが分子量又は粘度が異なる感熱性ゲル形成ポリマーを含むことができる。これらの実施形態によれば、分子量及び／又は粘度の異なる感熱性ゲル形成ポリマーを選択すると、異なる温度及び／又は湿度レベルに耐性であり得るプロバイオティクス顆粒を製造することができる。

【0045】

好ましい一実施形態においては、本発明の好ましいプロセスは、プロバイオティクス細菌を顆粒化するステップ、湿気に耐えるための少なくとも1つの内層、製造（production）（生産（manufacturing））熱及び／又は湿気に耐えるための少なくとも1つの外層でそれを被覆するステップを含む。前記耐えること（resisting）は、所定の製造温度で所定の熱工程所要時間生じ、その後、前記第2の層は、高温曝露中に膨潤してゲルを形成し、それによって高温液体が前記プロバイオティクスを含むコアに侵入するのを防止して、プロバイオティクス細菌が加熱されないようにし、次いで外層又は外部層が冷却によって溶解するときにプロバイオティクス細菌が流動食中に放出されるようにすることができる。本発明によるプロセスは、好ましい一実施形態においては、i) 少なくとも1種類の安定剤、抗酸化剤、糖、充填剤、結合剤及び他の賦形剤を含むことができるプロバイオティクス細菌を含むコアを有し、さらに、ii) 水及び湿気がコアに浸透するのを防止する水溶性ポリマーを含む、コアを被覆する内層を有し、さらに、iii) 前記コア及び前記内層を被覆する外層も有する、安定化プロバイオティクス顆粒を調製するステップを含む。前記外層は、ゾル-ゲル転移温度を有する少なくとも1種類の熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む。別の好ましい一実施形態においては、本発明の好ましいプロセスは、プロバイオティクス細菌を顆粒化するステップ、製造（生産）熱及び湿気に耐えるための少なくとも1つの外層（第1の層）、並びに冷却時に前記外層（第1の層）の溶解を促進する少なくとも1つの最外層（第2の層）でそれを被覆するステップを含む。前記耐えることは、所定の製造温度で所定の熱工程所要時間生じ、その後、前記外層は、高温曝露中に膨潤してゲルを形成し、それによって高温液体が前記プロバイオティクスを含むコアに侵入するのを防止して、プロバイオティクス細菌が加熱されないようにし、次いで外層が冷却によって溶解するときにプロバイオティクス細菌が前記流動食中に放出されるようにすることができる。別の好ましい一実施形態においては、本発明の好ましいプロセスは、プロバイオティクス細菌を顆粒化するステップ、湿気に耐えるための少なくとも1つの内層（第1の層）、製造（生産）熱及び湿気に耐えるための少なくとも1つの外層（第2の層）、並びに冷却時に前記外層（第2の層）の溶解を促進する少なくとも1つの外部層（第3の層）でそれを被覆するステップを含む。前記耐えることは、所定の製造温度で所定の熱工程所要時間生じ、その後、前記外層は、高温曝露中に膨潤してゲルを形成し、それによって高温液体が前記プロバイオティクスを含むコアに侵入するのを防止して、プロバイオティクス細菌が加熱されないようにし、次いで外層が冷却によって溶解するときにプロバイオティクス細菌が前記流動食中に放出されるようにすることができる。

【0046】

本発明によるプロセスは、好ましい一実施形態においては、i) プロバイオティクス細菌を含み、少なくとも1種類の安定剤、抗酸化剤、糖、充填剤、結合剤及び他の賦形剤を含むことができるコアを有し、さらに、ii) 水及び湿気がコアに浸透するのを防止する水溶性ポリマーを含む、コアを被覆する内層を有し、さらに、iii) 前記コア及び前記内層を被覆する外層も有する、安定化プロバイオティクス顆粒を調製するステップを含む。前記外層は、ゾル-ゲル転移温度を有する少なくとも1種類の熱可逆性ゲル形成ポリマーを含み、前記内層は、前記外層と化学的に類似していても異なってもよい、ゾル-ゲル転移温度を有する少なくとも1種類の熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む。

【0047】

本発明は、i) プロバイオティクス細菌と、前記細菌がその上に吸収又は被覆される基質とを含むコア、ii) 場合によっては、前記コアを被覆する、水及び湿気がコアに浸透するのを防止するポリマーを含む内層、iii) ゾル-ゲル転移温度を有する感熱性ポリ

マーを含む、前記コア及び前記内層を被覆する少なくとも1つの外層、並びにiv) 場合によっては、冷却時に前記外層(第1の層)の溶解を促進するポリマーを含む外部層を含む安定化プロバイオティクス顆粒を提供する。前記コアは、好ましくは、さらに、前記細菌のための1種類以上の補助剤、例えば、プレバイオティックオリゴ糖を含む。

【0048】

本発明の好ましい一実施形態においては、前記プロバイオティクス細菌は、ラクトバチルス及びビフィドバクテリウムから選択される1つの属を含む。本発明による安定化プロバイオティクスコア顆粒又はコア混合(core mixing)は、少なくとも2つの層状相、例えば、コアと2つの被膜、又はコアと3つ以上の被膜を含む、被覆顆粒である。通常、被膜の1つは、主に、液体製品の調製中又は被覆プロセス中に最終多層プロバイオティクスを前記液体製品に懸濁させるときなど、外層被覆中又は後続段階中に水又は湿気のコアへの侵入防止に寄与する。別の外側被膜(outer coat)は、液体食品加工中の耐熱性に寄与する。別の外部被膜(exterior coat)は、冷却時に前記外側感熱性ゲル形成層の溶解促進に寄与する。通常、前記耐熱性及び水又は湿気のコアへの侵入に最大限に寄与するのはこれらの層のうち1層であるが、本発明の安定化プロバイオティクス顆粒は、細菌のプロセス安定性、並びに前記食品の貯蔵中及び腸への細菌の安全な送達中のその安定性に寄与するより多くの層を含むことができる。同様に、2つの内側被膜(inner coat)と外部被膜は、粘度又は分子量が同じ又は異なる同じポリマーとすることができる。同様に、1種類の感熱性ゲル形成ポリマーをコア粒子の被覆に使用することができ、それによって単一の被覆層によって水及び湿気のコアへの侵入から保護し、熱及び湿気に耐える。

【0049】

本発明は、i) プロバイオティクス細菌の懸濁液を基質及び細菌用補助剤と混合し、それによってコア混合物を得るステップ、ii) 前記コア混合物の粒子を内側水溶性ポリマーで被覆するステップ、iii) 前記被覆粒子を外側ポリマー層で被覆し、それによって2層で被覆された粒子を得るステップを含む、健康食品生産プロセスを対象とする。前記外側ポリマー層は、熱及び湿気の条件下で前記細菌に安定性を付与する。本発明は、i) プロバイオティクス細菌の懸濁液を基質及び細菌用補助剤と混合し、それによってコア混合物を得るステップ、ii) 場合によっては、前記コア混合物の粒子を内側水溶性ポリマーで被覆するステップ、iii) 前記被覆粒子を外側ポリマー層で被覆し、場合によっては、前記コア混合物の前記被覆粒子を外部水溶性ポリマーで被覆し、それによって3層で被覆された粒子を得るステップを含む、健康食品生産プロセスも対象とする。前記外側ポリマー層は、熱及び湿気の条件下で前記細菌に安定性を付与する。本発明は、i) 基質及び細菌用補助剤を含むプロバイオティクス細菌の顆粒化、それによってコア顆粒粒子を得るステップ、ii) 前記コア顆粒の粒子を内側水溶性ポリマーで被覆するステップ、iii) 前記被覆粒子を外側ポリマー層で被覆し、それによって2層で被覆された粒子を得るステップを含む、健康食品生産プロセスも対象とする。前記外側ポリマー層は、熱及び湿気の条件下で前記細菌に安定性を付与する。本発明は、i) 基質及び細菌用補助剤を含むプロバイオティクス細菌の顆粒化、それによってコア顆粒粒子を得るステップ、ii) 前記コア顆粒の粒子を外側ポリマー層で被覆するステップ、iii) 前記被覆粒子を外部水溶性ポリマーで被覆し、それによって2層で被覆された粒子を得るステップを含む、健康食品生産プロセスも対象とする。前記外側ポリマー層は、熱及び湿気の条件下で前記細菌に安定性を付与する。本発明は、i) 基質及び細菌用補助剤を含むプロバイオティクス細菌の顆粒化、それによってコア顆粒粒子を得るステップ、ii) 前記コア顆粒の粒子を内側水溶性ポリマーで被覆するステップ、iii) 前記被覆粒子を外側ポリマー層で被覆するステップ、iv) 前記被覆粒子を外部水溶性ポリマーで被覆し、それによって3層で被覆された粒子を得るステップを含む、健康食品生産プロセスも対象とする。前記外側ポリマー層は、熱及び湿気の条件下で前記細菌に安定性を付与する。

【0050】

好ましいプロバイオティクス食品生産プロセスにおいては、プロバイオティクス細菌の

水性懸濁液を少なくとも１種類の基質及び少なくとも１種類のオリゴ糖、並びに場合によっては、安定剤、充填剤、結合剤、抗酸化剤などの他の食品用添加剤と混合し、それによって湿性コア混合物を得る。前記湿性コア混合物の粒子を乾燥させ、それによってコア混合物を得る。前記コア混合物の粒子を、水又は湿気の前記コアへの侵入を防止又は抑制する内側被覆層ポリマーで被覆し、それによって水封止被覆粒子 (water sealed coated particles) を得る。前記水封止被覆粒子を熱可逆性ゲル形成ポリマーで被覆する。前記少なくとも１種類の基質は、ガラクトン、ガラクトース又はその混合物を含むことができ、前記少なくとも１種類のオリゴ糖は、ガラクトン、マルトデキストリン及びトレハロースを含むことができ、前記他の食品用添加剤は、安定剤、抗酸化剤、充填剤及び結合剤を含み、前記内側被覆層ポリマーは、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及び／又はポリビニル系ポリマーを含むことができ、前記熱可逆性ゲル形成ポリマーは、ヒドロキシプロピルセルロース及び／又はポリプロピレングリコールとポリエチレングリコールのコポリマー (Pluronic) を含むことができる。別の好ましいプロバイオティクス食品生産プロセスにおいては、プロバイオティクス細菌の水性懸濁液を、少なくとも１種類の基質及び少なくとも１種類のオリゴ糖、並びに場合によっては安定剤、充填剤、結合剤、抗酸化剤などの他の食品用添加剤と混合し、それによって湿性コア混合物を得る。前記湿性コア混合物の粒子を乾燥させ、それによってコア混合物を得る。前記コア混合物の粒子を、熱可逆性ゲル形成ポリマーを含む外側被覆層で被覆し、それによって感熱性ポリマー被覆コア混合物を得る。前記感熱性ポリマー被覆コア混合物の粒子を、冷却時に前記熱可逆性ゲル形成ポリマーの溶解を促進する外部水溶性ポリマーで被覆する。前記少なくとも１種類の基質は、ガラクトン、ガラクトース又はその混合物を含むことができ、前記少なくとも１種類のオリゴ糖は、ガラクトン、マルトデキストリン及びトレハロースを含むことができ、前記他の食品用添加剤は、安定剤、抗酸化剤、充填剤及び結合剤を含み、前記熱可逆性ゲル形成ポリマーは、ヒドロキシプロピルセルロース及び／又はポリプロピレングリコールとポリエチレングリコールのコポリマー (Pluronic) を含むことができ、前記最外被覆層ポリマーは、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及び／又はポリビニル系ポリマーを含むことができる。

【００５１】

本発明による別の好ましいマイクロカプセル封入プロバイオティクス細菌生産プロセスは、以下のステップを含む。

１．プロバイオティクス混合物と、少なくとも１種類の基質及び少なくとも１種類のオリゴ糖と、場合によっては安定剤、充填剤、結合剤、抗酸化剤などの他の食品用添加剤との混合物を乾燥させ、それによってコア混合物を得るステップ。

２．前記コア混合物を精製水中の結合剤溶液を用いて顆粒化し、それによってコア顆粒を得るステップ。

３．場合によっては、前記コア顆粒の粒子を、水又は湿気の前記コアへの侵入を防止又は抑制する内側被覆層ポリマーで被覆し、それによって水封止被覆粒子を得るステップ。

４．前記水封止被覆粒子を熱可逆性ゲル形成ポリマーで被覆するステップ。

５．場合によっては、前記熱可逆性ゲル形成ポリマーをその曇点又はその下限臨界共溶温度 (LCST: lower critical solution temperature) 未満に冷却時にその溶解を促進する外面被覆層ポリマーで前記コア顆粒の粒子を被覆するステップ。

【００５２】

本発明は、上記安定化プロバイオティクス顆粒を含むプロバイオティクス組成物を提供する。この顆粒は、高い耐熱性及び長期貯蔵安定性を示す。本発明による組成物は、好ましくは、健康食品、例えば、乳児用食品、乳児用食品粉末化合物、ヨーグルト、酪農製品、ネクター及び果汁からなる群から選択される食品である。前記食品は、製造プロセス又は調製プロセス中に、周囲温度より高い温度に曝露された。

【００５３】

一態様においては、本発明は、プロバイオティクス果汁、ネクター、ヨーグルト、乳製

10

20

30

40

50

品、エネルギードリンク／飲料、熱水（約70℃）に懸濁される乳児用食品粉末化合物などのプロバイオティクスを含む液体食品の調製プロセスを対象とする。プロバイオティクス材料を含む混合物は、調製され、次いで、例えば、Glatte又はターボジェット、Glatte又はInnojetコーター／造粒機、Huttlinコーター／造粒機、Granulexなどの流動層技術によって顆粒化される。生成した顆粒は、第1の層、好ましくは、更なる耐熱性プロバイオティクス組成物調製ステップにおいて起こり得る水又は湿気のコア顆粒への侵入に耐えるための水溶性ポリマー層によって、次いで所定の温度で所定期間熱に耐えるための感熱性ゲル形成ポリマーを含む第2の層によって、カプセル化される。あるいは、生成した顆粒は、所定の温度で所定期間熱に耐えるための感熱性ゲル形成ポリマーを含む外層（第1の層）によって、次いで第2の層（外部層）、好ましくは前記感熱性ゲル形成ポリマーをその曇点又はその下限臨界共溶温度（LCST）未満に冷却時にその溶解を促進する水溶性ポリマー層によって、カプセル化される。あるいは、生成した顆粒は、第1の層（内層）、好ましくは、更なる耐熱性プロバイオティクス組成物調製ステップにおいて起こり得る水又は湿気のコア顆粒への侵入に耐えるための水溶性ポリマー層によって、次いで所定の温度で所定期間熱に耐えるための感熱性ゲル形成ポリマーを含む第2の層（外層）によって、次いで第3の層（外部層）、好ましくは、前記感熱性ゲル形成ポリマーをその曇点又はその下限臨界共溶温度（LCST）未満に冷却時にその溶解を促進する水溶性ポリマー層によって、カプセル化される。次いで、上記ステップにより生成したマイクロカプセル封入プロバイオティクスは、その調製プロセス中に加熱ステップを経なければならぬ液体製品に導入される。あるいは、上記生成したマイクロカプセル封入プロバイオティクスは、さらに熱水（通常、最高70℃）に添加されるはずである乳児用食品粉末などの固体粉末混合物である食品に添加することができる。液体食品の調製プロセス中、上記得られたマイクロカプセル封入プロバイオティクスを熱に曝露する間、感熱性ゲル形成ポリマーで構成される外層は、プロバイオティクスコア顆粒を包囲して、熱及び湿気がプロバイオティクスに伝わるのを防止する固体ゲルを形成する。降温後、外側感熱性ゲル形成層が溶解し、プロバイオティクス材料を液体製品中に放出することができる。二重又は三重カプセル化顆粒は、有利には、乳児用食品粉末化合物などの固体粉末混合物食品に添加することができる。この場合、固体粉末を消費する前に、適切な懸濁液を調製するために、固体粉末を最高80℃、好ましくは70℃の熱水に添加しなければならない。さらに、本発明に従ってマイクロカプセル封入プロバイオティクスを熱水に曝露中、上述したように、感熱性ゲル形成ポリマーで構成される最外層は、プロバイオティクスコアを包囲し、熱がプロバイオティクスに伝わるのを防止する固体ゲルを形成する。懸濁液を冷却後、外側感熱性ゲル形成層を溶解させて、プロバイオティクス材料を乳児用懸濁液中に放出することができる。本発明は、したがって、ヨーグルト、酪農製品、ネクター、果汁などの人が使用する製品の調製中に必要とされる加熱ステップを生き延びるプロバイオティクスを含む液体食品を提供する。この液体食品は、a) プロバイオティクス材料を含む混合物でできたカプセル化顆粒、及びb) 本発明によるマイクロカプセル化顆粒が前もって添加された乳児用食品又は乳児用食品粉末化合物からなる。混合物は、乾燥され、コア顆粒に転化され、場合によっては内層（第1の層）、好ましくは、水及び湿気のコア顆粒への侵入に耐えるための水溶性ポリマー層によって、さらに、コア顆粒において転移熱及び湿気に所定の生産温度及び時間耐える少なくとも1種類の感熱性ゲル形成ポリマーを含む外層（第2の層）によって、さらに、場合によっては外部層（第3の層）、好ましくは、前記感熱性ゲル形成ポリマーをその曇点又はその下限臨界共溶温度（LCST）未満に冷却時にその溶解を促進する水溶性ポリマー層によって、カプセル化される。その後、第2の層は、冷却によって溶解して、プロバイオティクス材料を液体食品に放出することができる。消費前に、本発明による乳児用食品又は乳児用食品粉末化合物とマイクロカプセル化顆粒の混合物を熱水（好ましくは約70℃）に添加する。

【0054】

このように、食品を生産又は調製する間に高い生存率で加熱することができるプロバイオティクス細菌を調製するプロセスを提供する。本発明の一実施形態によれば、前記プロ

10

20

30

40

50

バイオティクス食品の製造における第1のステップは、乾燥プロバイオティクス細菌を含むコア又は顆粒を調製するステップである。次いで、これらの顆粒を、場合によっては第1の水溶性ポリマー層によってカプセル化する。第1の層は、水及び湿気の顆粒への侵入に耐えるのに役立つ。次いで、少なくとも1種類の感熱性ゲル形成ポリマーを含む第2の層を形成する。場合によっては、次いで、前記感熱性ゲル形成ポリマーをその曇点又はその下限臨界共溶温度(LCST)未満に冷却時にその溶解を促進する少なくとも1種類の水溶性ポリマー層を含む第3の層を形成する。次いで、カプセル化顆粒を、最終調製直前に液体食品に添加する。調製プロセスの最後に液体食品を冷却後、第2の層を溶解させて、プロバイオティクス材料をカプセル化顆粒から液体製品中に放出することができる。

【0055】

内側被覆層：本発明の好ましい実施形態の更なる特徴によれば、カプセル化プロバイオティクスは、さらに、内側コアと熱可逆性外側ゾル-ゲル被覆層の間に層をなす内側コーティング(inner coating)を含む。第1の被覆層に使用することができる材料の例は、水溶性又は浸食性ポリマー、例えば、ポビドン(ポリビニルピロリドン(PVP: polyvinyl pyrrolidone))、コポビドン(ビニルピロリドンと酢酸ビニルのコポリマー)、ポリビニルアルコール、Kollicoat IR(ポリビニルアルコール(PVA: polyvinyl alcohol)-ポリエチレングリコール(PEG: polyethylene glycol)グラフトコポリマー)とポリビニルアルコール(PVA)の混合物であるKollicoat Protect(BASF)、PVAに基づく混合物であるOpadry AMB(Colorcon)、天然ワックス、レシチン、キサンタンガム及びタルクを含むセルロース系ポリマーであるAquarius MG、低分子量ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)、ヒドロキシプロピルセルロース(HPMC E3又はE5)(Colorcon)などの低分子量ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC: hydroxypropyl methylcellulose)、メチルセルロース(MC: methyl cellulose)、低分子量カルボキシメチルセルロース(CMC: carboxy methyl cellulose)、低分子量カルボキシメチルエチルセルロース(CMEC: carboxy methyl ethyl cellulose)、低分子量ヒドロキシエチルセルロース(HEC: hydroxyethyl cellulose)、低分子量ヒドロキシメチルセルロース(HMC: hydroxymethyl cellulose)、低分子量ヒドロキシメチルヒドロキシエチルセルロース(HMHEC: hydroxymethyl hydroxyethyl cellulose)、低粘度のエチルセルロース、低分子量メチルエチルセルロース(MEC: methyl ethyl cellulose)、ゼラチン、加水分解ゼラチン、ポリエチレンオキシド、水溶性ゴム、水溶性多糖、アカシアゴム、デキストリン、デンプン、変性セルロース、水溶性ポリアクリラート、ポリアクリル酸、ポリヒドロキシエチルメタクリラート(PHEMA: polyhydroxyethylmethacrylate)、ポリメタクリラート、そのコポリマー及び/又はその混合物からなる群から選択することができる。

【0056】

より好ましくは、内側の第1の被覆層ポリマーは、ヒドロキシプロピルセルロース(HPMC E3又はE5)(Colorcon)などの低分子量ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、ポリビニルアルコール、Kollicoat IR(ポリビニルアルコール(PVA)-ポリエチレングリコール(PEG)グラフトコポリマー)とポリビニルアルコール(PVA)と二酸化ケイ素の混合物であるKollicoat Protect(BASF)、PVAに基づく混合物であるOpadry AMB(Colorcon)、及び天然ワックスを含むセルロース系ポリマーであるAquarius MGである。これらのポリマーは、水/湿気のコアへの侵入に対して優れた遮断性をもたらす。場合によっては、内側の第1の被覆層は、さらに、流動化剤、界面活性剤、充填剤、

10

20

30

40

50

可溶化剤及び緩衝剤の少なくとも１種類とすることができる賦形剤を含むことができる。

【００５７】

外側耐熱性被覆層：外側被覆層は、耐熱性をもたらす、水及び湿気のコアへの侵入も防止する。この被覆層は、熱可逆性（感熱性）ゾル-ゲル形成ポリマーを含む。熱可逆性ゾル-ゲル形成ポリマー又は感熱性ゾル-ゲル形成ポリマーは、水溶液と所定の状況で接触してゲルを形成するために有機溶媒、化学架橋反応又は外部操作装置（例えば、光重合）の使用を必要としない物理的転移のカテゴリに属し、したがって周囲の媒体に毒性を誘発する可能性が低い。感温性ポリマーは、環境温度の関数としてその溶解性を急激に変化させる。この性質を使用して、温度変化に応じてゾル-ゲル転移を起こすポリマーの水溶液が開発された。下限臨界共溶温度（LCST）においては、水分子とポリマーの相互作用力（水素結合）は、ポリマー-ポリマー及び水-水相互作用に比べて不利になり、相分離が起こり、ポリマーが脱水する。その結果、ポリマー水溶液は、周囲温度で低粘度を示すが、温度上昇の後に粘度が急激に増加して、半固体ゲルを形成する。かかるポリマーに基づく処方１つの主要な利点は、より高い温度で溶解せず、水性媒体中で膨潤して、内部のコアへの水の侵入を防止する安定なゲルを形成するその能力にある。膨潤した安定なゲルは、さらに、内側コアに対する高温の作用を防止する。幾つかのポリマーは、温度上昇によりその水溶解度が急激に変化する。下限臨界溶解性温度（lower critical solubility temperature）（LCST）で起こるゾル-ゲル転移は、熱発生が最小であり、副生物がないことを特徴とする。一部の実施形態によれば、副生物がないことは、望ましくない又は有害な副生物の存在による影響をより受けやすい新生児、小さい乳児及び小児全般の場合に特に重要である。「曇点」は、水溶性化合物が溶液から出始める温度であり、光の散乱又は「濁り」形成が生じる。ポリマー-ポリマー及びポリマー-溶媒相互作用（食品用途における溶媒は、通常、水である）は、狭い温度範囲で急激な再調整（re-adjustment）を示し、これは、伸長されたコイル状態と圧縮されたコイル状態の間の鎖転移（chain transition）に変換される。温度反応性ポリマー（Temperature-responsive polymers）は、その構造において繊細な疎水性-親水性バランスを示し、臨界溶解性温度（critical solubility temperature）（LCST）付近の小さい温度変化によって、ポリマー鎖と水性媒体の間の疎水性及び親水性相互作用の新たな調整に反応しながら、鎖が折りたたまれ、又は伸長する。

【００５８】

ポリマー鎖の会合の自由エネルギー（ G ）を考えると、

$$G = H - TS$$

（ここで、 H はエンタルピー項、 S はエントロピー項、 T は温度である。）臨界温度を超える上昇は、正のエンタルピー項（ H ）より大きい TS 値をもたらす、したがって負の G となり、ポリマーの会合を促進し、鎖-鎖相互作用（疎水性効果、水素結合）が鎖-水水素結合に勝ると結論することができる。一方、温度を臨界温度未満に下げると、水水素結合が鎖-鎖相互作用に勝り、したがってポリマーの溶解が起こり得る。ポリマーの巨視的反応は、鎖の物理的状態に依存する。巨大分子鎖が線状であり、可溶化されると、転移が起こるときのポリマー沈殿に起因して、溶液は単相から二相に変化する。ポリマー溶液は、周囲温度で易流動性液体であり、高温でゲル化する。熱ゲル化ポリマー量の低減が必要である場合、それをpH感受性可逆的ゲル化ポリマー（pH-sensitive reversibly gelling polymer）とブレンドできる場合もある。

【００５９】

他のブロックが可溶性である温度範囲にLCSTを有する１個のブロックを含むブロックコポリマーは、温度上昇に応じて自己組織化する。自己組織化構造の形態は、コポリマーの構造及びMWに依存し、無限MWのミセル又はネットワーク（ゲル）を適切な設計によって得ることができる。最近報告された別の手法は、ナノ粒子中に構築されたポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PNIPAM: poly（N-isopropyl a

crylamide))及びポリ(アクリル酸)(PAAc:poly(acrylic acid))の相互貫通網目構造に基づく。そのLCSTを超えてPNIPAMが崩壊すると、NPの結合をネットワーク中に誘発し、帯電PAAc鎖間の反発によって凝集を防止した。

【0060】

熱によって相転移を起こす感熱性ポリマーは、ポリ-N-置換アクリルアミド誘導体、例えば、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAM)、ポリ-N-アクリロイルピペリジン、ポリ-N-プロピルメタクリルアミド、ポリ-N-イソプロピルアクリルアミド、ポリ-N-ジエチルアクリルアミド、ポリ-N-イソプロピルメタクリルアミド、ポリ-N-シクロプロピルアクリルアミド、ポリ-N-アクリロイルピロリジン、ポリ-N,N-エチルメチルアクリルアミド、ポリ-N-シクロプロピルメタクリルアミド、ポリ-N-エチルアクリルアミド、ポリ-N-置換メタクリルアミド誘導体、N-置換アクリルアミド誘導体とN-置換メタクリルアミド誘導体を含むコポリマー、N-イソプロピルアクリルアミドとアクリル酸のコポリマー、ポリプロピレンオキシド、ポリビニルメチルエーテル、ポリビニルアルコールの部分アセチル化生成物、プロピレンオキシドと別のアルキレンオキシドを含むコポリマー、例えば、非イオン性、両親媒性ポリ(エチレングリコール)-b1-ポリ(プロピレングリコール)-b1-ポリ(エチレングリコール)(PEGPPG-PEG)ブロックコポリマー(Tetronics(登録商標)、ポロクサマー、Pluronic(登録商標)とも称される)、ポロクサマー-コ-PAAc、オリゴ(ポロクサマー)、メチルセルロース(MC)、ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)、メチルヒドロキシエチルセルロース(MHEC: methyl hydroxyethyl cellulose)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、ヒドロキシプロピルエチルセルロース(HPEC: hydroxypropylethyl cellulose)、ヒドロキシメチルプロピルセルロース(HMPC: hydroxymethylpropyl cellulose)、エチルヒドロキシエチルセルロース(EHEC: ethylhydroxyethyl cellulose)(Ethulose)、ヒドロキシエチルメチルセルロース(HEMC)、ヒドロキシメチルエチルセルロース(HMEC: hydroxymethylethyl cellulose)、プロピルヒドロキシエチルセルロース(PHEC: propylhydroxyethyl cellulose)、疎水性変性ヒドロキシエチルセルロース(NEXTON)、アミロース、アミロペクチン、ポリ(オルガノホスファゼン)、キシログルカンのような天然ポリマー、又はその混合物からなる群から選択される。

【0061】

上記ポリ-N-置換アクリルアミド誘導体は、ホモポリマー、又は上記ポリマーを構成するモノマーと「別のモノマー」を含むコポリマーとすることができる。かかる目的に使用される「別のモノマー」は、親水性モノマーでも疎水性モノマーでもよい。一般に、親水性モノマーとの共重合を実施すると、得られる曇点温度は上昇し得る。一方、疎水性モノマーとの共重合を実施すると、得られる曇点温度は低下し得る。したがって、共重合に使用するモノマーを選択することによって、所望の曇点(例えば、30より高い曇点)を有するポリマーを得ることができる。

【0062】

上記親水性モノマーの具体例としては、N-ビニルピロリドン、ビニルピリジン、アクリルアミド、メタクリルアミド、N-メチルアクリルアミド、ヒドロキシエチルメタクリラート、ヒドロキシエチルアクリラート、ヒドロキシメチルメタクリラート、ヒドロキシメチルアクリラート、酸性基を有するメタクリル酸及びアクリル酸、並びにこれらの酸の塩、ビニルスルホン酸、スチレンスルホン酸など、並びに塩基性基を有する誘導体、例えば、N,N-ジメチルアミノエチルメタクリラート、N,N-ジエチルアミノエチルメタクリラート、N,N-ジメチルアミノプロピルアクリルアミド、これらの誘導体の塩などが挙げられる。しかし、本発明に使用可能な親水性モノマーは、これらの具体例に限定されない。

【0063】

一方、上記疎水性モノマーの具体例としては、アクリラート誘導体及びメタクリラート誘導体、例えば、エチルアクリラート、メチルメタクリラート及びグリシジルメタクリラート；N-置換アルキメタクリルアミド(alkylmethacrylamide)誘導体、例えば、N-n-ブチルメタクリルアミド；塩化ビニル、アクリロニトリル、スチレン、酢酸ビニルなどが挙げられる。しかし、本発明に使用可能な疎水性モノマーは、これらの具体例に限定されない。

【0064】

感熱性を示すポリマーは、30種類を超える非イオン性両親媒性コポリマーからなるABA型トリブロックコポリマーの一群であるポリ(エチレンオキシド)-ポリ(プロピレンオキシド)-ポリ(エチレンオキシド)トリブロックコポリマー(PEO-PPO-PEO: poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide))(Pluronic(登録商標)又はPoloxamer(登録商標))である(図2)。これらのコポリマーの物理的状态(液体、ペースト、固体)は、そのMW及びブロック比によって支配される。Poloxamerは、忍容性が良好(無毒)な生体適合性ポリマーである。これらのブロックコポリマーは、15%(w/w)を超える濃度において体温でゲル化する。曇点を有するブロックの上記性質は、その強度が温度上昇と共に増加し、温度低下と共に減少するブロックの疎水結合に起因する。本発明においては、疎水結合が曇点ブロック間で形成され、ブロックと水分子の結合を置換し、それによってブロックが不溶性になる。親水性ブロックの存在は、曇点ブロックの疎水結合強度が過剰に増加するため、曇点温度より高い温度で沈殿せずに水含有ゲルを形成する能力をポリマーに付与する。ポリマー中の曇点ブロックと親水性ブロックの共存は、それを曇点温度未満の水溶性ゾル状態から曇点温度以上の温度における水不溶性ゲル状態に転化させる。この温度は、本質的に、ポリマーのゾル-ゲル転移温度に対応する(図3)。

【0065】

一方、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどで表されるエーテル化セルロースの場合には、そのゾル-ゲル転移温度は、約45℃以上と高い。ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)は、感熱性ポリマーの一例である。HPCは、繰り返しグルコース単位のヒドロキシル基の幾つかが、プロピレンオキシドを用いてヒドロキシプロピル化されて- $\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 基を形成しているセルロースのエーテルである。グルコース1単位当たりの置換ヒドロキシル基の平均数は、置換度(DS: degree of substitution)と称される。完全な置換は、DSが3である。付加したヒドロキシプロピル基はヒドロキシル基を含むので、これも、HPC調製中にエーテル化することができる。これが起こると、グルコース環1個当たりのヒドロキシプロピル基のモル数、すなわち置換モル(MS: moles of substitution)は、3より高くなり得る。ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)は、疎水基と親水基の組合せを有するので、同様に、45℃に下限臨界共溶温度(LCST)を有する。LCST未満の温度では、HPCは水に容易に可溶であり、LCSTを超えると、HPCは可溶性でない(図4)。

【0066】

外面被覆層: 本発明の実施形態のいずれかにおける更なる特徴によれば、カプセル化プロバイオティクスは、場合によっては、好ましくは、さらに、好ましくは前記感熱性ゲル形成ポリマーをその曇点又はその下限臨界共溶温度(LCST)未満に冷却時にその溶解を促進する水溶性ポリマー層である、最外(外部)被覆層を含む。最外被覆層に使用することができる材料の例は、水溶性又は浸食性ポリマー、例えば、ポビドン(ポリビニルピロリドン(PVP))、コポビドン(ビニルピロリドンと酢酸ビニルのコポリマー)、ポリビニルアルコール、Kollicoat IR(ポリビニルアルコール(PVA)-ポリエチレングリコール(PEG)グラフトコポリマー)とポリビニルアルコール(PVA)の混合物であるKollicoat Protect(BASF)、PVAに基づく混

10

20

30

40

50

合物である Opadry AMB (Colorcon)、天然ワックス、レシチン、キサンタンガム及びタルクを含むセルロース系ポリマーである Aquarius MG、低分子量ヒドロキシプロピルセルロース (HPC)、ヒドロキシプロピルセルロース (HPMC E3又はE5) (Colorcon)などの低分子量ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC)、メチルセルロース (MC)、低分子量カルボキシメチルセルロース (CMC)、低分子量カルボキシメチルエチルセルロース (CMEC)、低分子量ヒドロキシエチルセルロース (HEC)、低分子量ヒドロキシエチルメチルセルロース (HEMC)、低分子量ヒドロキシメチルセルロース (HMC)、低分子量ヒドロキシメチルヒドロキシエチルセルロース (HMEC)、低粘度のエチルセルロース、低分子量メチルエチルセルロース (MEC)、ゼラチン、加水分解ゼラチン、ポリエチレンオキシド、水溶性ゴム、水溶性多糖、アカシアゴム、デキストリン、デンプン、変性セルロース、水溶性ポリアクリレート、ポリアクリル酸、ポリヒドロキシエチルメタクリレート (PHEMA)、ポリメタクリレート、そのコポリマー及び/又はその混合物からなる群から選択される。

10

【0067】

基質：本発明の好ましい一実施形態によれば、前記顆粒コア中のプロバイオティクス細菌は、基質と混合される。前記基質は、好ましくは、プロバイオティクス細菌用補助剤でもあり得る少なくとも1種類の材料を含む。基質は、単糖、例えば、ケトトリオース (ジヒドロキシアセトン) 及びアルドトリオース (グリセルアルデヒド) を含めた三炭糖、ケトテトロース (エリトルコース)、アルドテトロース (エリトロース、トレオース)、ケトペンチオース (リブコース、キシロコース) などの四炭糖、アルドペンチオース (リボース、アラビノース、キシロース、リキソース)、デオキシ糖 (デオキシリボース)、ケトヘキソース (プシコース、フルクトース、ソルボース、タガトース) などの五炭糖、アルドヘキソース (アロース、アルトロース、グルコース、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロース)、デオキシ糖 (フコース、フクロース、ラムノース) などの六炭糖、(セドヘプツロース) などの七炭糖、八炭糖、及び九炭糖 (ノイラミン酸) を含むことができる。基質は、複数の糖類、例えば、1) 二糖類、例えば、スクロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、ツラノース、セロビオース、2) 三糖類、例えば、ラフィノース、メルチトース及びマルトトリオース、3) 四糖類、例えば、アカルボース及びスタキオース、4) 他のオリゴ糖、例えば、フルクトオリゴ糖 (FOS)、ガラクトオリゴ糖 (GOS) 及びマンナン - オリゴ糖 (MOS)、5) 多糖、例えば、グリコーゲン、デンプン (アミロース、アミロペクチン)、セルロース、デキストリン、デキストラン、ベータ - グルカン (ザイモサン、レンチナン、シゾフィラン) 及びマルトデキストリンを含めたグルコース系多糖 / グルカン、イヌリン、レバンベータ2~6を含めたフルクトース系多糖 / フルクトタン、マンノース系多糖 (マンナン)、ガラクトース系多糖 (ガラクトン)、及びキチンを含めたN - アセチルグルコサミン系多糖を含むことができる。アラビアゴム (アカシアゴム) などのゴムを含めた他の多糖を含むこともできる。

20

30

【0068】

本発明の好ましい実施形態によれば、コアは、さらに抗酸化剤を含む。好ましくは、抗酸化剤は、システイン塩酸塩、システイン塩基、4, 4 - (2, 3ジメチルテトラメチレンジピロカテコール)、トコフェロールの豊富な抽出物 (天然ビタミンE)、 α -トコフェロール (合成ビタミンE)、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、ブチルヒドロキシノン (butyl hydroxynon)、ブチルヒドロキシアニソール (BHA: butyl hydroxyanisole)、ブチルヒドロキソトルエン (BHT: butyl hydroxytoluene)、没食子酸プロピル、没食子酸オクチル、没食子酸ドデシル、第三級ブチルヒドロキノン (TBHQ: tertiary butyl hydroquinone)、フマル酸、リンゴ酸、アスコルビン酸 (ビタミンC)、アスコルビン酸ナトリウム、アスコルビン酸カルシウム、アスコルビン酸カリウム、アスコルビルパルミタート及びアスコルビルステアラートからなる群から選択される。コアに含まれるのは、クエン酸、乳酸ナトリウム、乳酸カリウム、乳酸カル

40

50

シウム、乳酸マグネシウム、アノクソマー、エリソルビン酸、エリソルビン酸ナトリウム、エリソルビン酸 (erythorbic acid)、ナトリウムエリソルビン (sodium erythorbic)、エトキシキン、グリシン、グアヤク脂、クエン酸ナトリウム (クエン酸一ナトリウム、クエン酸二ナトリウム、クエン酸三ナトリウム)、クエン酸カリウム (クエン酸一カリウム、クエン酸三カリウム)、レシチン、ポリホスファート、酒石酸、酒石酸ナトリウム (酒石酸一ナトリウム、酒石酸二ナトリウム)、酒石酸カリウム (酒石酸一カリウム、酒石酸二カリウム)、酒石酸カリウムナトリウム、リン酸、リン酸ナトリウム (リン酸一ナトリウム、リン酸二ナトリウム、リン酸三ナトリウム)、リン酸カリウム (リン酸一カリウム、リン酸二カリウム、リン酸三カリウム)、エチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム (カルシウム二ナトリウム EDTA: ethylene diamine tetra-acetate)、乳酸、トリヒドロキシブチロフェノン及びチオジプロピオン酸並びにその混合物とすることができる。好ましい実施形態によれば、抗酸化剤は、システイン塩基である。

【0069】

本発明の一部の実施形態によれば、コアは、さらに充填剤と結合剤の両方を含む。充填剤の例としては、例えば、微結晶セルロース、糖、例えば、ラクトース、グルコース、ガラクトース、フルクトース又はスクロース；リン酸二カルシウム；糖アルコール、例えば、ソルビトール、マンニトール (mannitol)、マンチトール (mantitol)、ラクチトール、キシリトール、イソマルト、エリトリトール及び水素化デンプン加水分解物；コーンスターチ；ジャガイモデンプン；カルボキシメチルセルロースナトリウム (sodium carboxymethylcellulose)、エチルセルロース及び酢酸セルロース、又はその混合物が挙げられる。より好ましくは、充填剤はラクトースである。結合剤の例としては、ポビドン (PVP: ポリビニルピロリドン)、コポビドン (ビニルピロリドンと酢酸ビニルのコポリマー)、ポリビニルアルコール、低分子量ヒドロキシプロピルセルロース (HPC)、低分子量ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC)、低分子量カルボキシメチルセルロース、低分子量ヒドロキシエチルセルロース、低分子量ヒドロキシメチルセルロース、ゼラチン、加水分解ゼラチン、ポリエチレンオキシド、アカシアゴム、デキストリン、デンプン、水溶性ポリアクリレート及びポリメタクリレート、低分子量エチルセルロース、又はその混合物が挙げられる。

【0070】

プロバイオティクス細菌の例としては、バチルス コアグランス (*Bacillus coagulans*) GB I - 30、6086、バチルス サブチリス (*subtilis*) var. natto、ビフィドバクテリウム LAFTI (登録商標) B94、ビフィドバクテリウム種 LAFTI B94、ビフィドバクテリウム ビフィダム (*bifidum*)、ビフィドバクテリウム ビフィダム ロゼール (*rosell*) - 71、ビフィドバクテリウム プレーベ (*breve*)、ビフィドバクテリウム プレーベ Rosell - 70、ビフィドバクテリウム インファンティス (*infantis*)、ビフィドバクテリウム ラクチス、ビフィドバクテリウム ロングム (*longum*)、ビフィドバクテリウム ロングム Rosell - 175、ビフィドバクテリウム アニマリス (*animalis*)、ビフィドバクテリウム アニマリス亜種ラクチス BB - 12、ビフィドバクテリウム アニマリス亜種ラクチス HN019、ビフィドバクテリウム インファンティス 35624、エシェリキア コリ (*Escherichia coli*) M - 17、エシェリキア コリ Nissle 1917、ラクトバチルス アシドフィルス (*acidophilus*)、ラクトバチルス アシドフィルス LAFTI (登録商標) L10、ラクトバチルス アシドフィルス LAFTI L10、ラクトバチルス カゼイ (*casei*) LAFTI (登録商標) L26、ラクトバチルス カゼイ LAFTI L26、ラクトバチルス プレビス (*brevis*)、ラクトバチルス ブルガリカス (*bulgaricus*)、ラクトバチルス カゼイ、ラクトバチルス ガセリ (*gasseri*)、ラクトバチルス パラカゼイ (*paracasei*)、ラクトバチルス プランタルム (*plantarum*)、ラクトバチルス ロイテリ (*reuteri*) ATTC 55730

(ラクトバチルス ロイテリSD2112)、ラクトバチルス ラムノサス(rhamnosus)、ラクトバチルス サリバリウス(salivarius)、ラクトバチルス デルブリュッキ(delbrueckii)、ラクトバチルス ファーメンタム(fermentum)、ラクトコッカス ラクチス(lactis)、ラクトコッカス ラクチス亜種、ラクトコッカス ラクチスRosell-1058、ラクトバチルス パラカゼイ(paracasei)St11(又はNCC2461)ラクトバチルス フォルティス(fortis)Nestle、ラクトバチルス ジョンソニイ(johnsonii)La1(=ラクトバチルスLC1、ラクトバチルス ジョンソニイNCC533)Nestle、ラクトバチルス ラムノサスRosell-11、ラクトバチルス アシドフィルスRosell-52、ストレプトコッカス サーモフィラス(thermophilus)、ジアセチラクチス(Diacetylactis)、又はサッカロミセスセレビシエ(Saccharomyces cerevisiae)のような他の微生物、及びその混合物が挙げられるが、それだけに限定されない。

【0071】

本明細書に記載のプロセスは、混合ステップと加熱ステップを分離せずに、種々の健康食品の生産を可能にする。例えば、それだけに限定されないが、加熱段階前でも、加熱段階中でも、又は加熱段階直後でも、液体に直接混合されるプロバイオティクス顆粒を含む液体製品の調製。本発明によるカプセル化プロバイオティクス細菌は、乳児用食品粉末化合物などの乳児用食品、及び/又はその生産若しくは生産後調製中に加熱ステップを経る液体製品に混ぜることができる。それだけに限定されないが、本発明によるカプセル化プロバイオティクス細菌は、その最終透明度及び外観が重要なマーケティング因子である製品、並びにホットドリンク、ネクター及び果汁、その取扱い及び/又は製造中に周囲温度(室温)より高い温度に曝露され得る他の飲料品に混ぜることができる。

【0072】

本発明の様々な実施形態を以下の実施例において更に記述し、説明する。

【実施例】

【0073】

実施例1

【表2】

材料

材料:	機能:
ビフィドバクテリウム ラクチス	プロバイオティクス細菌
マルトデキストリン	コア基質
トレハロース	コア基質
ヒドロキシプロピルデンブン	コア結合剤
ヒドロキシプロピルデンブン	第1のコーティング層薬剤
リン酸モノエステル化リン酸架橋デンブン	第2のコーティング層ポリマー

【0074】

方法

ヒドロキシプロピルデンブン(HPS:Hydroxypropyl starch)を水に90で20分間溶解させ、その後、ポリマーを溶解させた。次いで、HPS水溶液(5%w/w)を調製した。

【0075】

ビフィドバクテリウム ラクチス(BL818)(44.8g)、マルトデキストリン

(402.3g)及びトレハロース(51.1g)をHPS溶液を用いてInnojet Ventiliusコーター機械によって顆粒化した。次いで、生成した顆粒(518.9g)を上記HPS溶液を用いて(内層)HPSを含むサブコーティング層で被覆した。コアの重量に比した被覆顆粒重量の重量増加は10%(W/W)であった。次いで、生成した被覆顆粒を水/エタノール混合物中の5%(W/W)溶液を用いてリン酸モノエステル化リン酸架橋デンプンを含む外側コーティングで被覆した。コア+内層の重量に比した被覆顆粒重量の重量増加は30%(W/W)であった。

【0076】

実施例2

【表3】

材料

材料:	機能:
ビフィドバクテリウム ラクチス	プロバイオティクス細菌
マルトデキストリン	コア基質
トレハロース	コア基質
ヒドロキシプロピルデンプン	コア結合剤
ヒドロキシプロピルデンプン	第1のコーティング層薬剤
アセチル化リン酸架橋デンプン	第2のコーティング層ポリマー

【0077】

方法

アルファ化ヒドロキシプロピルデンプン(HPS)を室温で水に溶解させた。

【0078】

ビフィドバクテリウム ラクチス(BL818)(44.8g)、マルトデキストリン(402.3g)及びトレハロース(51.1g)をHPS溶液を用いてInnojet Ventiliusコーター機械によって顆粒化した。次いで、生成した顆粒(518.9g)を上記HPS溶液を用いて(内層)HPSを含むサブコーティング層で被覆した。コアの重量に比した被覆顆粒重量の重量増加は10%(W/W)であった。次いで、生成した被覆顆粒を5%(W/W)水溶液を用いてアセチル化リン酸架橋デンプンを含む外側コーティングで被覆した。コア+内層の重量に比した被覆顆粒重量の重量増加は30%(W/W)であった。

【0079】

実施例3

精製水中のNaCl溶液(0.9%)における耐熱性試験方法

目的

本発明によるマイクロカプセル封入細菌の生存率の評価。マイクロカプセル封入細菌粒子の試料を精製水中の予熱NaCl溶液(0.9%)に70℃で5分間分散させることによって試験を行った。

【0080】

方法の原理

1. マイクロカプセル封入プロバイオティクス粒子の試料を、70℃に予熱した水(NaCl溶液、0.9%)中に分散させる。

2. 5分後に水(NaCl溶液0.9%)を40℃未満に冷却する。

3. マイクロカプセル封入プロバイオティクス粒子を完全に溶解させる。

4. 計数試験を実施して、試料中の細菌含有量1グラム当たりのコロニー形成単位(CFU/g: colony forming units per gram)を求める。

5. 結果をブランク試料（マイクロカプセル化されていない細菌）と比較する。

6. マイクロカプセル封入細菌とマイクロカプセル化されていない細菌の両方を直接水（NaCl 溶液 0.9%）に室温で（予熱なし）溶解して対照試料を調製する。

【0081】

耐熱性試験方法手順

1. プロバイオティクス試料（本発明によるマイクロカプセル封入細菌粒子、又はマイクロカプセル化されていない細菌）10グラムを正確に秤量する。

2. 100ml の蒸留水（NaCl 溶液 0.9%）をガラスビーカーに入れ、サーモスタットを備える浴を用いて 70 に加熱する。

2. 温度を測定し、記録する。

10

3. 秤量した試料を水（NaCl 溶液 0.9%）に入れ、すぐに測定時間を開始する。

4. 正確に 5 分後、ガラスビーカーを浴から取り出し、40 に冷却する。

5. マイクロカプセル封入細菌粒子の試料を感熱性ゲル形成被覆層の重量増加に応じて約 0.25 ~ 4 時間振とう機を用いて完全に溶解させる。

6. 計数試験を実施し、CFU/g を計算する。

【0082】

対照試料用手順

1. プロバイオティクス試料（本発明によるマイクロカプセル封入細菌粒子、又はマイクロカプセル化されていない細菌）10グラムを正確に秤量する。

2. 秤量した試料を 100ml の水（NaCl 溶液 0.9%）に室温で分散させる。

20

3. マイクロカプセル封入細菌粒子の試料を感熱性ゲル形成被覆層の重量増加に応じて約 0.25 ~ 4 時間振とう機を用いて完全に溶解させる。

4. 計数試験を実施し、CFU/g を計算する。

【0083】

実施例 4

乳児用調合乳（INFANT MILK FORMULATION）懸濁液における耐熱性試験方法

目的

本発明によるマイクロカプセル封入細菌の生存率の評価。マイクロカプセル封入細菌粒子の試料を乳児用調合乳懸濁液に 70 で 5 分間分散させることによって試験を行った。

30

【0084】

方法の原理

1. マイクロカプセル封入プロバイオティクス粒子の試料を乳児用調合乳懸濁液に 70 で 5 分間粒子分散させる。

2. 5 分後、乳児用調合乳懸濁液を 40 未満に冷却する。

3. 乳児用調合乳懸濁液を振とうして、マイクロカプセル封入プロバイオティクス粒子を溶解させる。

4. 計数試験を実施して、試料中の細菌含有量 1 グラム当たりのコロニー形成単位（CFU/g）を求める。

【0085】

40

対照試料用手順

1. 水 210ml を 70 に加熱し、フラスコに注ぐ。

2. 試料と乳児用粉乳の混合粉末をフラスコ中に分散させる。

3. フラスコに栓をし、縦に回転させ、30 回上下に振とうする。

4. 乳を冷却し、乳温度が 37 になるまでフラスコを室温で放置する（徐冷）。推定時間 30 分。

5. 計数試験を実施し、CFU/g を計算する。

【0086】

試料と乳児用粉乳の混合粉末の調製

混合粉末 I . 試料 3.2 g 及び乳児用粉乳 28.8 g

50

混合粉末ⅠⅠ．試料 9 . 6 g 及び乳児用粉乳 22 . 4 g

混合粉末ⅠⅠⅠ．試料 16 g 及び乳児用粉乳 16 g

【0087】

実施例 5

方法 - マイクロカプセル化プロセス及び処方

まず、乾燥プロバイオティクス粉末、マルトデキストリンを、精製水中のヒドロキシプロピルメチルデンプン (HPS : hydroxypropylmethyl starch) 溶液 (試験 2、3 及び 5 ~ 8) 又はヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPC : hydroxypropylmethyl cellulose) 溶液 (試験 4) を用いて Innojet Ventilus コーター機械によって顆粒化した。次いで、下表に記載のように、生成した顆粒を精製水中の HPC (試験 4)、HPS、又は HPS とアセチル化リン酸架橋デンプン (ADSP : acetylated di-starch phosphate) の組合せの溶液で被覆した。次いで、生成したマイクロカプセルの耐熱性試験 (生存試験) を精製水中の粉末乳児用調製乳 (PIF : powdered infant formula) 分散液で試験した。

10

【0088】

【表 4】

試験	バッチ #	細菌	ポリマータイプ	細菌含有量 % (w/w)
1	BB純分のまま	ビフィドバクテリウム ブレーベ		100
2	13-0125- 0134, 16.05.13	ビフィドバクテリウム ブレーベ	内層としてヒドロキシプロピルデンブ (HPS) 8% 及び外層としてアセチル 化リン酸架橋デンブ (ADSP) 23% に基づく2層マイクロカプセル	6.18
3	13-0129- 0134__D	ビフィドバクテリウム ブレーベ	ヒドロキシプロピルデンブ (HPS) 3 7% に基づく1層マイクロカプセル	5.6
4	13-0130- 0134__B	ビフィドバクテリウム ブレーベ	ヒドロキシプロピルセルロース (HPC) 37% に基づく1層マイクロカプセル	5.6
5	13-0171- 0134__D2,	ビフィドバクテリウム ブレーベ	内層としてヒドロキシプロピルデンブ (HPS) 19% 及び外層としてアセチル 化リン酸架橋デンブ (ADSP) 19% に基づく2層マイクロカプセル	6.25
6	13-0185- 0134__C	ビフィドバクテリウム ブレーベ	ヒドロキシプロピルデンブ (HPS) 及 びアセチル化リン酸架橋デンブ (A DSP) (重量比1:1) 37% に基づく1 層マイクロカプセル	30.83
7	13-0359- 0134+__B	ビフィドバクテリウム ブレーベ	ヒドロキシプロピルデンブ (HPS) 及 びアセチル化リン酸架橋デンブ (A DSP) (重量比7:3) 9~26% に基づ く1層マイクロカプセル	36.1
8	13-0387- 0134+__B	ビフィドバクテリウム ブレーベ	ヒドロキシプロピルデンブ (HPS) 及 びアセチル化リン酸架橋デンブ (A DSP) (重量比7:3) 9~26% に基づ く1層マイクロカプセル	43.3

【0089】

粉末乳児用調製乳 (PIF) 分散液における生存試験方法

PIF 中の B. ブレーベの生存率試験方法は、国際連合の食糧農業機関 (FAO: Food and Agriculture Organization) と共同で世界保健機構 (WHO: World Health Organization) によって発行された新しい指針 (「世界保健機構 粉末乳児用調製乳の安全な調製、貯蔵及び取扱い 指針 2007 (World Health Organization. Safe Preparation, Storage and Handling of Powdered Infant Formula. Guidelines 2007) 」) から改作された。一般に、マイクロカプセル封入細菌粒子の試料と PIF の前もって調製された混合物を、プラスチックほ乳びん中である体積の精製予熱水に異なる温度で分散させて試験を実施した。次いで、ほ乳びんに蓋をし、一定かつ連続的に上下に異なる時間振とうした。次いで、PIF 分散液を室温で放置して 37 に冷却した。次いで、計数試験を分散液全量に対して実施して、PIF 分散液中の細菌の CFU を求めた。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 0 】

試験 1 ～ 6 の結果

B . プレーベそのまま（非マイクロカプセル化）と比較した異なるマイクロカプセル化処方の計数試験の結果を下表に示した。

【 0 0 9 1 】

【表 5】

試験	試験項目	温度 試験℃	CFU／細菌 3分	CFU／細菌 5分
2	13-0125-0134	40	6.3×10^9	3.1×10^9
		70	3.4×10^6	1.1×10^6
		85	3.4×10^6	4.7×10^5
		100	3.4×10^4	3.4×10^4
3	13-0129-134 D	40	4.5×10^9	6.0×10^9
		70	3.2×10^7	5.1×10^7
		85	2.1×10^7	6.4×10^7
		100	1.7×10^7	4.1×10^4
4	13-0130-134__B	40	2.5×10^{10}	2.5×10^{10}
		70	1.7×10^7	5.3×10^7
		85	$< 4.1 \times 10^4$	4.1×10^6
		100	2.3×10^6	8.2×10^4
5	13-0171-0134__D2	40	6.4×10^8	1.2×10^9
		70	1.1×10^7	1.8×10^7
		85	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^5$
		100	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^5$
6	13-0185-0134__C	40	3.4×10^9	7.8×10^9
		70	4.9×10^7	3.9×10^7
		85	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^5$
		100	$< 1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^5$
1	ビフィドバクテリウム プレーベ	40	$> 10^{10}$	$> 10^{10}$
		70	7.3×10^5	7.8×10^5
		85	$< 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^4$
		100	$< 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^4$

【 0 0 9 2 】

試験 7 及び 8 の結果

被覆層厚さの異なる両方の浴に対する 40 と 70 （ Aptami l 中 5 分間 ） の両方における CFU / g 細菌の結果を下表に要約する。

【 0 0 9 3 】

【表 6】

試験7(バッチ #13-0359-0134+_B)

試料	コーティング重量増加(%)	40℃ CFU/g細菌	70℃ CFU/g細菌
BB	B. プレーベ純分のまま	3.5×10^{10}	2.3×10^4
1	コア (非被覆)	7.2×10^{10}	ND
2	10	1.9×10^{10}	1.7×10^5
3	20	4.2×10^9	9.6×10^6
4	30	4.8×10^9	1.5×10^8
5	35	3.3×10^9	5.8×10^6

ND-未検

【0094】

【表 7】

試験8(バッチ #13-0387-0134+_B)

試料	コーティング重量増加(%)	40℃ CFU/g細菌	70℃ CFU/g細菌
BB	B. プレーベ純分のまま	3.5×10^{10}	2.3×10^4
1	コア (非被覆)	8.2×10^{10}	6.0×10^5
2	10	3.0×10^{10}	4.9×10^6
3	20	1.1×10^9	2.7×10^7
4	30	9.8×10^9	8.7×10^6
5	35	5.3×10^9	6.0×10^6

【0095】

本発明を幾つかの具体例で記述したが、多数の改変及び変更が可能である。したがって、本発明は、添付の特許請求の範囲内で、具体的に記述したものとは異なる方法で実施できることを理解されたい。

10

20

30

【図 1】

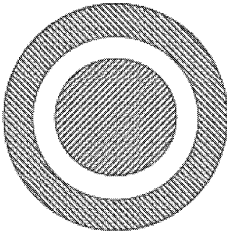


Fig. 1

【図 2 A】

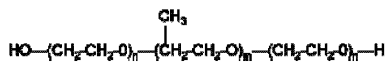


Fig. 2A

【図 2 B】

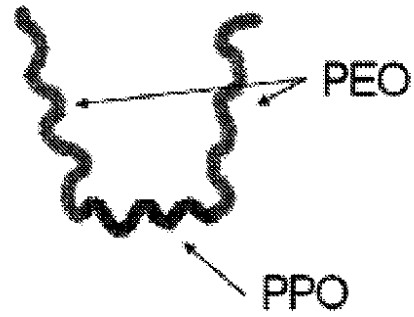


Fig. 2B

【図 3 A】

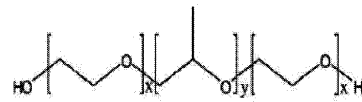
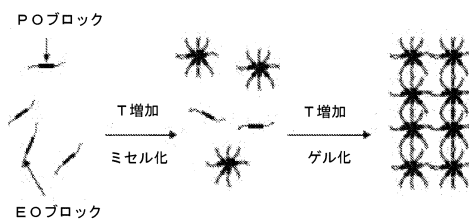


Fig. 3A

【図 3 B】



【図 4 A】

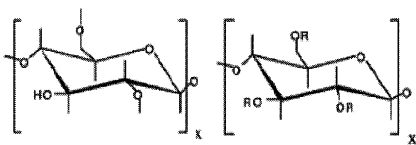


Fig. 4A

【図 4 B】

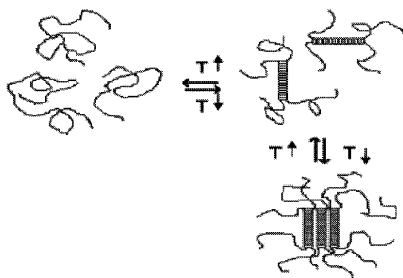
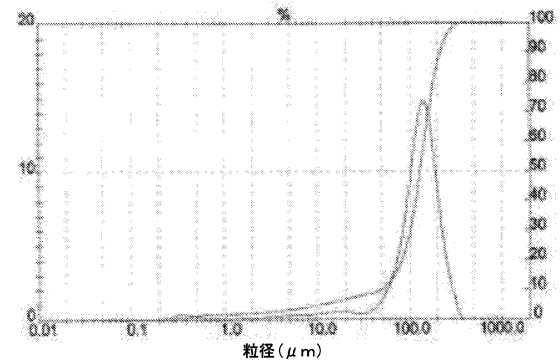
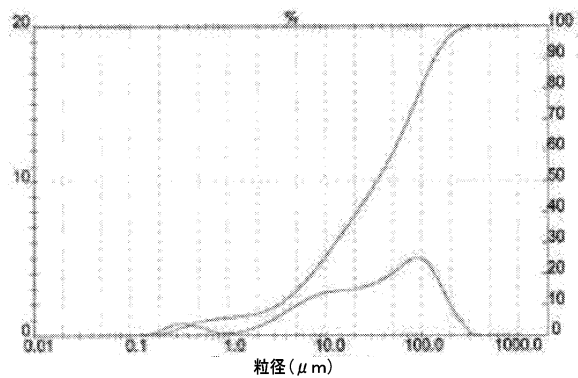


Fig. 4B

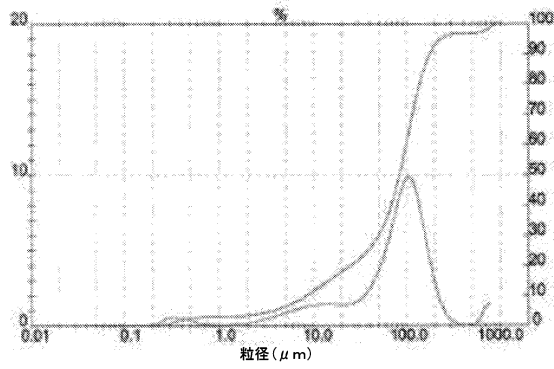
【図 5】



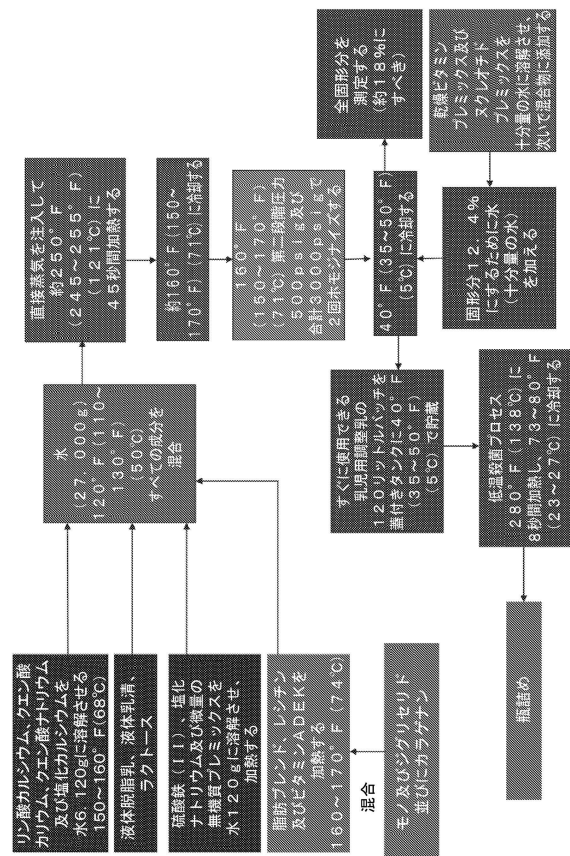
【図 6】



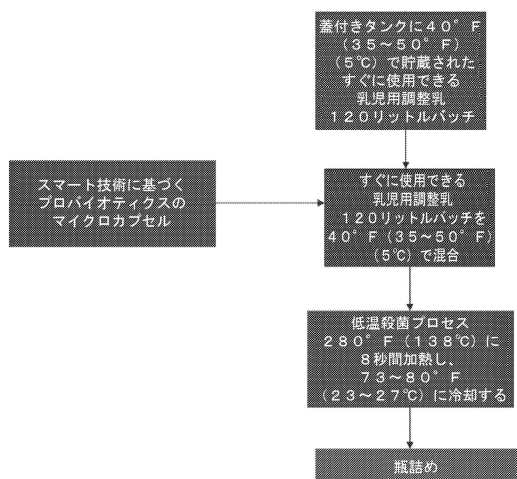
【図 7】



【図 8】



【図 9】



フロントページの続き

(72)発明者 ペンハシ アデル

イスラエル国 5 8 6 7 1 ホロン イェホシヨア ラビノビッチ 5 3 / 1 5

審査官 松田 芳子

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 2 / 0 2 0 4 0 3 (W O , A 1)

特表 2 0 0 5 - 5 1 9 6 0 0 (J P , A)

米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 0 0 8 4 9 3 (U S , A 1)

特開 2 0 1 0 - 1 8 7 6 7 0 (J P , A)

特開 2 0 0 8 - 0 8 1 5 0 1 (J P , A)

国際公開第 9 9 / 0 0 4 6 4 9 (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 2 3 L 5 / 0 0

A 2 3 C 9 / 1 3

A 2 3 L 3 3 / 1 3 5

P u b M e d

C i N i i