

申請日期	90-04-30
案號	90110324
類別	12N/00-A236/58, A61K 35/66

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、發明 名稱	中文	以噴霧乾燥方法乾燥之菌體乾燥物
	英文	THE DRIED BACTERIA MASS BY SPRAY-DRYING METHOD
二、發明 人	姓名	1. 水口泰治 TAIJI MIZUGUCHI 2. 荒井輝彦 TERUHIKO ARAI 3. 平山耕一 KOUICHI HIRAYAMA
	國籍	日本國
	住、居所	1.2.3.地址同 日本國兵庫縣神戶市西區井吹台東町七丁目3-4 表飛鳴製藥股份有限公司神戶工場內 c/o BIOFERMIN PHARMACEUTICAL CO., LTD. Kobe Factory 3-4, Ibukidai Higashimachi 7-chome, Nishi-ku, Kobe-shi, HYOGO 651-2242 JAPAN
三、申請人	姓名 (名稱)	表飛鳴製藥股份有限公司 BIOFERMIN PHARMACEUTICAL CO., LTD
	國籍	日本國
	住、居所 (事務所)	日本國兵庫縣神戶市長田區三番町五丁目5番地 5, Sanbancho 5-chome, Nagata-ku, Kobe-shi, HYOGO 653-0011 JAPAN
	代表 姓名	大西章史 TAKAHITO OHNISHI

裝

訂

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：

A6

大類：

B6

IPC 分類：

本案已向：

日本 國(地區)申請專利，申請日期： 案號： ，☒有 ☐無主張優先權

2000 年 5 月 2 日 特願 2000-133307 (主張優先權)

2000 年 11 月 7 日 特願 2000-339267 (主張優先權)

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(1)

[發明所屬技術領域]

本發明係有關一種以噴霧乾燥方法得到菌體乾燥物之製造方法及該製造方法所得之菌體乾燥物，以及含有菌體乾燥物之醫藥或食品等組成物。

[技術背景]

以往醫藥及食品之製造工程所使用之乾燥方法主要是使用凍結乾燥法及真空凍結乾燥法。凍結乾燥法是使用液態氮等於約 -20°C 至 -16°C 左右之低溫下使物品乾燥之方法；真空凍結乾法則是於約 35°C 以下，約50至400hPa左右之壓力下使物品乾燥之方法。

但是，於乳酸菌及酵母菌等菌體、及含有該菌體之醫藥或食品等組成物之製造工程中，使用凍結乾燥法及真空凍結乾燥法時，於乾燥時有菌體死亡或受到損害之缺點。這是因為採用凍結乾燥法及真空凍結乾燥法時到達凍結溫度需要之時間過長，在這期間細菌所生成之代謝物及凍結過程使菌體產生障害。尤其是真空凍結乾燥法之乾燥速度非常緩慢，而醫藥或食品中之水分要完全除去所需要之時間又特別長，上述問題更加明顯。

另外、要施行凍結乾燥法及真空凍結乾燥法需要非常大規模之設備，這樣的設備所需要之費用非常龐大。

除此之外、使用凍結乾燥法及真空凍結乾燥法來乾燥時，以連續工程製造時非常困難，製造工程極為繁雜。又、凍結乾燥及真空凍結乾燥後因為還需要粉碎及均值化等工程整個製造工程非常之多，在這期間菌體之死亡也成為一

五、發明說明(2)

大問題。

以上為凍結乾燥法及真空凍結乾燥法所容易產生之問題。

另外，對乾燥法而言，已知除了凍結乾燥法及真空凍結乾燥法以外，還有噴霧乾燥法。噴霧乾燥法是將液體經過微粒化裝置使成液滴，將此液滴接觸較高溫之乾燥風使水分蒸發乾燥之方法。

但是，從來之噴霧乾燥法因為乾燥風之溫度過高，乾燥風之熱度使菌體死亡，所以對一般含生菌之醫藥及食品之製造並不適合。但是如果為了解決這個問題而將乾燥風之溫度降低，則又無法得到十分乾燥之菌體乾燥物，有回收量及安定性兩者皆低落之缺點。

[發明之揭示]

本發明之目的係提供於菌體乾燥物及含有菌體乾燥物之醫藥或食品等組成物之製造工程中，使菌體之死亡及損傷達到最少，而可保持菌體液高生菌率之乾燥方法。

本發明之其他目的係提供每單位重量所含之菌體數增多，及作為醫藥或食品容易成形之單微米尺寸(Single micron size)菌體乾燥物。

本發明另外之其他目的係提供能將製造工程大幅簡化而能得到菌體組成物之製造方法及與該製造方法相關之裝置。

本發明人等，為了能達到上面之目的，經過無數檢討所得之結果發現使單微米尺寸之噴霧液滴經乾燥風乾燥可

五、發明說明(3)

解決以往噴霧乾燥法所產生之問題。

亦即，從來之噴霧乾燥裝置所形成之噴霧液滴約 10 至 $40\mu\text{m}$ 左右，相對的當形成單微米尺寸之非常微小之噴霧液滴時，因噴霧液滴每單位重量之表面積增大，所以與乾燥風所接觸之效率也相當良好。而且，就算與從來噴霧乾燥使用相同範圍溫度之乾燥風乾燥之場合，因乾燥菌體液所需要之時間較短，所以菌體之死亡或損傷可降至最少。又，即使乾燥風之溫度比從來之噴霧乾燥之乾燥風溫度為低時，回收量及安定性也不會減少，乾燥物可十分的乾燥，而且因乾燥風之溫度降低由於乾燥風之熱度引起之菌體死亡及損傷可以減至最低。

又，已知本發明者等人以乾燥風乾燥單微米尺寸之噴霧液滴所得之菌體乾燥物，其粒徑極小，而含有單微米尺寸之粒子。粒徑小之菌體乾燥物，在壓縮成形等之際對菌體所加之壓力可不用太高，又、因不容易引起靜電，很容易成形為錠劑等劑型之醫藥及食品係其優點。

亦即，本發明係有關：

- (1)單微米尺寸之菌體乾燥物，
- (2)上述(1)所記載之菌體乾燥物其特徵為生菌數為 1.0×10^5 至 $2.0 \times 10^{12}\text{CFU/g}$ ，
- (3)菌體乾燥物其特徵為生菌數為 1.0×10^{11} 至 $2.0 \times 10^{12}\text{CFU/g}$ ，
- (4)上述(1)至(3)所記載之菌體乾燥物，其中之菌體為比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(4)

化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌(Bacillus toyoi)、地衣芽孢桿菌、丁酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌，

(5)菌體乾燥物其特徵為將上述(1)至(4)所記載之菌體乾燥物進一步包衣或罩護者，

(6)上述(1)至(5)所記載菌體乾燥物之製造方法，其特徵以乾燥風乾燥單微米尺寸之噴霧液滴，

(7)上述(6)所記載菌體乾燥物之製造方法，其特徵為單微米尺寸之噴霧液滴是以4流路噴嘴形成者，

(8)上述(6)及(7)所記載之菌體乾燥物之製造方法其特徵為乾燥風於乾燥室入口之溫度為5至150℃，

(9)上述(5)所記載之菌體乾燥物之製造方法其特徵為液狀之包衣劑或罩護劑係與菌體液同時噴霧而形成噴霧液滴，並將該噴霧液滴以乾燥風乾燥者，

(10)上述(9)所記載之菌體乾燥物之製造方法其特徵為於具有2管液體流路和2管氣體流路之4流路噴嘴中，自其中一管液體流路供給菌體液，另一管液體流路供給液態包衣劑或罩護劑，自兩管氣體流路供給壓縮氣體，所產生之噴霧液滴以乾燥風乾燥者，

(11)菌體組成物之製造方法其特徵為進行使用粉狀物及結合劑之流動層造粒工程和使用噴霧乾燥得到單微米菌體乾燥物之乾燥工程係在同一個容器內實施者，

(12)一種裝置其特徵係使用粉狀物及結合劑之流動層造粒工程和使用噴霧乾燥得到單微米菌體乾燥物之乾燥工程係在同一個容器內實施者，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(5)

(13)菌體組成物其特徵為由粉狀物與結合劑所產生之造粒物上附著有單菌體乾燥物者，

(14)含有前述(1)至(5)所記載之菌體乾燥物及(13)所記載之菌體組成物之醫藥及食品，及

(15)含有菌體之單微米液滴。

又，本發明係有關

(1)將單微米之噴霧液滴以乾燥風乾燥而得之單微米菌體乾燥物，

(2)單微米之噴霧滴是使用4流路噴嘴而形成之前述(1)所記載之菌體乾燥物，

(3)前述(1)及(2)所記載之菌體乾燥物其中乾燥風於乾燥室入口之溫度為5至150℃，

(4)前述(1)至(3)所記載之菌體乾燥物係經過包衣及罩護者，

(5)前述(1)至(4)所記載之菌體乾燥物其特徵為液狀之包衣劑及罩護劑係與菌體液同時噴霧形成噴霧液滴者，

(6)前述(1)至(5)所記載之菌體乾燥物其特徵為由具有2管液體流路和2管氣體流路之4流路噴嘴中，自其中一管液體流路供給菌體液，另一管液體流路供給液態之包衣劑或罩護劑，自兩管氣體流路供給壓縮氣體，所產生之單微米尺寸噴霧液滴係以乾燥風乾燥者，

(7)前述(1)至(6)所記載之菌體乾燥物其中之菌體為比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(6)

菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌等，

(8)為前述(1)至(7)所記載之菌體乾燥物其特徵為生菌數為 1.0×10^{11} 至 2.0×10^{12} CFU/g，及

(9)含有前述(1)至(8)所記載菌體乾燥物之醫藥及食品。

[圖面之簡單說明]

第 1 圖為含有 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置之噴射邊緣部分之內部構造圖。

第 2 圖為具有 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置之概要圖。

第 3 圖為經腸溶性包衣加工之菌體乾燥物之耐酸性試驗中經時之生菌數變化。

第 4 圖為本發明裝置其特徵為使用粉狀物和結合劑之流動層造粒工程及噴霧乾燥獲得單微米尺寸菌體乾燥物之工程係於同一容器內之裝置之概要圖。

[符號之說明]

1、2 供給壓縮氣體之氣體流路

3、4 供給含有被乾燥物液體之液體流路

5 流體流動面

6 衝突焦點

7 噴霧液滴

21 菌體液、包衣劑或單護劑

22 液體流路

23 氣體流路

24 壓縮空氣送入口

25 乾燥風送入口

26 入口溫度計

27 微粒化裝置

28 4 流路噴嘴

29 出口溫度計

30 乾燥室內壓力計

31 乾燥室

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(7)

- | | | | |
|----|----------|----|----------|
| 32 | 菌體乾燥物出口 | 33 | 整流器 |
| 41 | 裝置本體 | 42 | 流動床 |
| 43 | 袋濾器 | 44 | 菌液體 |
| 45 | 結合劑 | 46 | 菌體液噴霧用噴嘴 |
| 47 | 結合劑噴霧用噴嘴 | 48 | 粉狀體 |
| 49 | 流動用氣體 | | |

[實施發明之最優良型態]

本發明之菌體乾燥物，通常是指經乾燥之各種菌體或是經乾燥菌體之集合物。

本發明之菌體乾燥物及本發明含菌體乾燥物之醫藥及食品等組成物，只要含有粒徑為單微米之菌體乾燥物者全屬本發明之範圍內。也就是，上述之菌體乾燥物為單微粒徑之菌體乾燥物及單微粒以上粒徑之菌體乾燥物之混合物之場合，如果其粒徑之平均值為單微米時也屬於本發明之範圍。

這裡的單微米是指，小數第一位四捨五入後其值為 1 至 $10\mu\text{m}$ 者。

本發明所使用之菌體並無特別之限定，可例舉如兩岐雙岐桿菌(*Bifidobacterium bifidum*)，長雙岐桿菌(*B. longum*)，短雙岐桿菌(*B. breve*)，青春雙岐桿菌(*B. adrecentis*)，嬰兒雙岐桿菌(*B. infantis*)，假長雙岐桿菌(*B. pseudolongum*)，嗜熱雙岐桿菌(*B. thermophilum*)等比菲德氏菌；例如嗜酸乳桿菌(*Lactobacillus acidophilus*)，乾酪乳桿菌(*L. casei*)，纖細乳桿菌(*L. gasseri*)，植物乳桿菌(*L.*

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(8)

plantalum)，保加利亞乳細菌亞種(*L. delbrueckii* subsp *bulgaricus*)，德化乳酸乳細菌亞種(*L. delbrueckii* subsp *lactis*)等乳酸桿菌；例如腸膜明串珠菌(*Leuconostoc mecenteroides*)，糞鏈球菌(*Streptococcus (Enterococcus) faecalis*)，屎鏈球菌(*Streptococcus (Enterococcus) faecium*)，*Streptococcus (Enterococcus) hirae*，乳酸鏈球菌(*Lactococcus lactis*)，嗜熱性鏈球菌(*Streptococcus thermophilus*)等乳酸球菌；例如凝結芽孢桿菌(*Bacillus coagulans*)等有孢子性乳酸菌；例如枯草芽孢桿菌(*Bacillus subtilis*)，腸膜芽孢桿菌(*Bacillus mesentericus*)，多發酵芽孢桿菌(*Bacillus polyfermenticus*)等糖化菌；例如啤酒酵母菌(*Saccaromyces cerevisiae*)，念珠菌(*Candida*)等酵母菌；例如米麴菌(*Aspergillus oryzae*)，黑麴菌(*Asp. nigar*)，大豆麴菌(*Asp. sojae*)等麴菌；鏈黴菌等放線菌；例如東洋芽孢桿菌，地衣芽孢桿菌，酪酸梭菌(*Clostridium butyricum*)等丁酸菌；例如乙酸菌等醋酸菌；棒狀菌屬(*Corynebacterim*)等氨基酸發酵菌及其他之有用菌。

上述之菌體，依公知之條件或以其為標準之條件培養即可得。舉例來說乳酸菌類之場合：使用含有葡萄糖、酵母抽提液及胰等之液體培養基，將前面所提到之乳酸菌類1種或2種以上，通常於約25至45℃下培養4至24小時左右，由培養液中將菌體收集、洗淨後可得到濕菌體。

菌體可為上述菌體之處理物。所謂之處理為例如使用適當之溶媒進行提取等。具體來說，如酵母抽提液為酵母

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(9)

之熱水抽出液等。

有關本發明之菌體乾燥物之製造方法中，首先係將上述菌體溶於溶媒中而得菌體液。溶媒以業界常用之公知溶媒為宜，其中以水為佳。如有需要可加入適量之乙醇。若係加入乙醇等，於乾燥之初因乙醇等會先氣化然後水再氣化，如此一來可能產生階段性乾燥。

菌體液也可以是懸濁液。溶媒如上述可使用公知之溶媒，其中以水或水中添加乙醇等之水溶液為宜。要將其懸濁時亦可使用懸濁劑。懸濁劑可使用例如褐藻酸鈉或甲基纖維素等公知之懸濁劑。

上述之菌體液中亦可添加保護劑。

保護劑以業界時常使用者為佳，如維他命 C 等維他命類；如谷氨酰胺、谷氨酸、L-半胱氨酸、甘氨酸、苯基丙氨酸、絲氨酸或是蘇氨酸等氨基酸；如葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、甘露糖醇或是麥芽糖醇等糖類及糖醇類；如寡糖、環糊精或糊精等多糖類；如自油菜籽、大豆或落花生等所得到之高級脂肪酸類等脂肪；如由牛奶或大豆等得到之蛋白質或胜肽等蛋白質分解產物；如硫酸鎂等無機鹽類；另外還有，如蔗糖脂肪酸酯、蘋果酸、核酸類、酵母抽提液、脫脂奶粉、朊、明膠或是鞣質等。

上述之保護劑可以單獨使用，也可以二種以上任意組合使用。另外這些保護劑之添加量約為濕菌體重量之 0.1 至 5.0 倍左右，較好為 0.5 至 3.0 倍左右。

上述之菌體液中還可添加如賦形劑、結合劑、崩散劑

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(10)

或靜電防止劑等業界一般常用之添加劑，依一般配合比率添加即可。

所謂之賦形劑為例如乳糖、細粒糖或是玉米澱粉等糖類；如甘露糖醇等糖醇；如天然纖維素或是結晶纖維素等纖維素，或羧基纖維素等纖維素衍生物等。所謂之結晶纖維素舉例來說，如天然纖維素經例如酸處理後，其網狀之分子構造經某種程度之細分化所產生白色粉末狀之水不溶性纖維素等。又、舉例來說為例如於結晶纖維素中加入羧甲基纖維素及羧甲基纖維素鈉等混合之物。

所謂之結合劑，如羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、甲基纖維素、糊精或 α 化澱粉等。

所謂之崩散劑，如羧甲基纖維素鈣、羧甲基纖維素或羧甲基纖維素鈉等交聯產物(阿庫利膠(Acrygel))、聚乙烯吡咯烷酮等交聯產物(普拉斯頓(Plasdon))、玉米澱粉或低取代度羥基丙基纖維素等。

靜電防止劑可列舉如賽洛得(Siloid)、滑石或埃羅記(Aelozl)等。

本發明之菌體乾燥物之製造方法，是將上述之菌體液噴霧乾燥。噴霧乾燥所使用之噴霧乾燥裝置較好是具備能形成單微米噴霧滴之微粒化裝置。如能產生粒徑極小之噴霧液滴，則噴霧液滴之單位重量所相對之表面積變大，與乾燥風之接觸將更有效率，菌體因乾燥風之熱度而造成之死亡及損傷可減至最少。

在此處，所謂單微米之噴霧液滴，是指噴霧液滴之粒

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(11)

徑為小數第一位經四捨五入後介於 1 至 $10\mu\text{m}$ 者。

噴霧乾燥裝置具體來說可例舉如具有 2 流路噴嘴或 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置，其微粒化裝置係利用回轉噴霧器(回轉圓盤)、加壓噴嘴或壓縮氣體之力者。

於本發明中，不限於上述之噴霧乾燥裝置，無論什麼形式之噴霧乾燥裝置都可使用。但是為了能得到微小之噴霧液滴還是以 4 流路噴嘴較為適合。該噴霧乾燥裝置以自體公知者為佳。

關於具有 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置之 4 流路噴嘴之構造，是將氣體流路和液體流路成為 1 個系統，將 2 系統設置於對稱之地方使之成為噴嘴引擎，且於流體流動面之斜面處設置噴嘴引擎。

4 流路噴嘴構造之一種樣式以第 1 圖更進一步詳加說明。關於 4 流路噴嘴之噴嘴引擎，將由液體流路 3 或 4 湧出之菌體液，藉由氣體流路 1 或 2 噴出之高速氣體流所產生之流體流動面 5 稀薄的延伸，延伸之液體於噴嘴引擎先端之衝突焦點 6 處發生衝突波而產生微粒化，於是產生單微米之噴霧液滴 7。

如此，4 流路噴嘴於噴嘴引擎先端之衝突焦點相匯，兩端噴出之壓縮氣體和液體相交於一點而成為由外部混合之方式亦可。以這樣的方式混合，噴嘴不容易阻塞可長時間噴霧。

壓縮氣體可以使用如空氣、二氧化碳氣體、氮氣或氫氣等之不活性氣體。特別是，對容易氧化之物進行噴霧乾

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(13)

又，乾燥室也可以減壓。減壓之優點為乾燥時間較短乾燥效率增加。關於乾燥室減壓後之壓力，雖然因噴霧液滴大小之差異而無法概言，例如低真空領域程度之壓力、具體來說，約 1.0×10^3 至 $7.0 \times 10^3 \text{Pa}$ 左右。

如使用具有 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置，如上面所述噴嘴中液體流路有 2 管，所以 2 種不同之菌體液或菌體液和其他溶液或懸濁液可以從不同之流路同時噴霧，而可製得混合之菌體乾燥物。舉例來說，藉由將 2 種不同種類之菌體液同時噴霧，可得含有該 2 種菌體之菌體乾燥物。又，將菌體液和食用組成物同時噴霧時則可得含有該菌體及食用組成物之菌體乾燥物。

本發明所使用之食用組成物可例舉如乳類、肉類、魚類、果實類及蔬菜類之液體組成物。又，也可將這些食用組成物 2 種以上混合在一起。

這些食用組成物於使用時只要含有不失流動性程度之水分即可，噴霧乾燥前最好將其水分含量濃縮至約未達 70 重量%左右。

上述之果實類及蔬菜類之液體組成物可例舉如食用植物之種子、根、塊莖、莖、葉、花及果實之加熱或生的微細粉碎物以適當溶媒溶解或懸濁之溶液或懸濁液。

適用之果實類及蔬菜類，如韭菜、蔥、蘆筍、茴香或高麗菜等之葉；如大黃或莖椰菜等之莖；如得自可可亞、碗豆、大豆或穀類等之種子；如紅蘿蔔、洋蔥、西洋白蘿蔔、芹菜或比妥樹(Bitotree)等之根；如木薯或馬鈴薯等之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(14)

塊莖；如蕃茄、Crujet、茄子、香蕉、蘋果、杏、哈密瓜、西瓜、梨子、李子、桃子、櫻桃、奇異果、西巴松木瓜或是蜜拉錐櫻桃等之果實；或是蘑菇等。

乳類、肉類及魚之液體組成物可例舉如乳類、蛋類、肉類或是魚類其加熱或生的微細粉碎物以適當之溶媒溶解或懸濁之液體或懸濁液；或是由其所得之蛋白質或蛋白質加水分解物等。

又，於具有 4 流路噴射器之噴霧乾燥裝置中，噴射器之 2 管液體流路，其中一流路噴出菌體液，另一流路噴出液狀之包衣劑或罩護劑，則菌體得以包衣或罩護，可得經包衣或罩護之本發明菌體乾燥物。

藉由菌體之包衣可調節崩散時間或調節成可在腸等特定器官中作用者。另外也可以改善外觀及提高品質。除此以外，於含有 2 種以上成分之醫藥或食品中，該成分互相接觸會導致變質之場合，將其中一方或二方之成分包衣則可以抑制變質。

又藉由菌體之罩護可以抑制其苦味或是酸味。特別是含有高濃度乳酸菌等之醫藥或食品會有獨特之味道，將菌原末表面之一部分或是全部包衣或是罩護，則有緩和獨特味道之優點。

本發明中所用之包衣劑為例如羥基丙基纖維素(以下簡稱 HPC)、澱粉糊、矽、糖飴等之糖液或各種包衣基材等，以具有被覆能之公知材料為佳。

可例舉如腸溶性包衣基材，如羥基丙基甲基纖維素苯

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(15)

二甲酸酯(HPMCP)、羥基丙基甲基纖維素乙酸酯琥珀酸酯(HPMCAS)、纖維素乙酸酯苯二甲酸酯(CAP)、羧基甲基乙基纖維素(CMEC)、甲基丙烯酸-丙烯酸乙酯共聚物及甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯共聚物等。其他包衣基材，有乙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、乙酸苯二甲酸纖維素及聚乙稀乙縮醛二乙基胺基乙酸酯等。

本發明適合之罩護劑可例舉如氨基丙烯基甲基丙烯酸酯共聚物-E、氨基丙烯基甲基丙烯酸酯共聚物-RS、甲基丙烯酸共聚物-LD及HPC等。

這些包衣劑和罩護劑如為液狀，則可直接使用。又，也可以用水等稀釋劑稀釋後使用。又，若為固體，可用水等溶媒溶解或呈懸濁狀態後使用。

除此之外，自4流路噴嘴其中之一管液體流路噴射壁膜物質來代替包衣劑或罩護劑，則可形成微膠囊。

此種情況，可將菌體懸濁於甘油、中鏈甘油三酸酯或玉蜀黍油等對菌體不活性之溶媒中而成菌體液。因為若菌體液係以水為溶媒，則因菌之活潑代謝所產生之生產物會使菌體之生存率低下。

所謂壁膜物質，如乙基纖維素等之纖維素系物質；如聚乳酸、聚苯乙烯、聚丁二烯或是苯乙烯-丙烯酸甲酯共聚物等高分子物質；又，如硬化棕櫚油等熔點在體溫以上之硬化油等。

這些壁膜物質如為液狀，則可直接使用。又，也可以用水等稀釋劑稀釋後使用。又，若為固體，可用水等溶媒

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(16)

溶解或呈懸濁狀態使用。

本發明經包衣或罩護之菌體乾燥物之製造方法，或含有菌體乾燥物之微膠囊之製造方法，不只是上記之方法，也可為先將上述之菌體液、包衣劑、罩護劑或壁膜物質預先混合後，將該混合液進行本發明噴霧乾燥之方法等。

本發明依上述之噴霧乾燥所得之菌體乾燥物，係視菌體液為溶液或是懸濁液，或其濃度及黏性等性質之不同，送至噴嘴之壓縮氣體的氣體量和菌體液之液體量可互相調整，這樣即可得任何粒徑之菌體乾燥物。

但是，如上面所敘述，菌體乾燥物之粒徑以小數第 1 位四捨五入後約 1 至 $10\mu\text{m}$ 程度之粒徑為佳。粒徑為小粒時舉例來說，製劑工程中不容易產生靜電，打錠時加諸於菌體之壓力也減少。而且菌體乾燥物之粒徑可簡易的由檢鏡測知。

又，為了能得到粒徑較小之菌體乾燥物，在噴物乾燥前可先以自體公知之方法處理。所謂公知之處理方法，是使菌體液之黏度及表面張力達到最小，又，菌體液為菌體懸濁液之場合係使一次粒子徑變小，或使充分成懸濁狀態等之處理。

如同所述藉由使菌體乾燥物之粒徑變小則生菌率增加，而有可提供含生菌數多之醫藥及食品之優點。也就是說，為了得到單微米之菌體乾燥物，噴霧液滴較好為單微米。噴霧液滴之粒徑越小則噴霧液滴每單位重量之表面積就越大，因此可與乾燥風進行有效率之接觸，則乾燥風之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(17)

溫度較低時也可有效率的乾燥，因乾燥風之熱度而死滅及損傷之菌體可減至最少。其結果使生菌率提高而得到生菌數較多之菌體乾燥物。

因此，依據本發明之噴霧乾燥，可得到生菌率約 1.0×10^5 至約 2.0×10^{12} CFU/g 左右，較好約為 1.0×10^{11} 至 2.0×10^{12} CFU/g 左右，更好約為 1.2×10^{11} 至 1.5×10^{12} CFU/g 左右，最好約為 1.5×10^{11} 至 8.0×10^{11} CFU/g 左右之菌體乾燥物。此處，菌體乾燥物中之生菌數之測定因菌體之不同而有所不同，但依日本藥局方外醫藥品規格中所記載之各種菌體定量方法即可容易的測定。

關於本發明，上述之噴霧乾燥和流動層造粒也可互相組合。也就是，使用粉狀物和結合劑之流動層造粒工程 and 由噴霧乾燥法獲得菌體乾燥物之乾燥工程，可於同一容器內一起施行為其裝置之特徵，於該裝置內也可連續施行造粒、菌體之噴霧、混合。

以往之噴霧乾燥、造粒、混合之工程係使用個別之裝置施行，但是如同本發明造粒、菌體之噴霧乾燥、混合係於同一裝置內施行，在簡化製造工程的同時具有提高菌體乾燥物和造粒物之混合均勻性及不容易產生分粒之優點。

關於本發明裝置之具體樣態，可例舉如設置有由乾燥室之上方可往下噴出結合劑之結合劑噴霧用噴嘴，與同樣可由乾燥室之上方往下噴出菌體液之菌體液噴霧用噴嘴，另外，於底部還附設有藉由吹入壓縮氣體或以排氣風扇將裝置內之空氣吸引使粉狀物保持流動狀態之流動層裝置。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

五、發明說明(18)

此處，形成流動層之空氣，可使用以自體公知之除濕裝置先乾燥者。

此處於本裝置中設有噴霧噴嘴 2 管，則其中之一噴嘴用於結合劑噴霧用噴嘴、另一噴嘴用於菌體液噴霧用噴嘴，若只設有 1 管噴霧噴嘴時，則其噴霧噴嘴也可同時當結合劑噴霧用噴嘴及菌體液噴霧用噴嘴來使用。

利用上述之裝置、可使粉狀物和結合劑之流動層造粒工程及噴霧乾燥產生單微米菌體乾燥物之乾燥工程於同一裝置內進行為本發明之特徵，該菌體組成物之製造方法之具體樣態將敘述於下。以下之樣態，首先進行流動層造粒工程，接下來進行乾燥工程，這兩個工程也可以同時進行。

首先，介紹使用粉狀物和結合劑之流動層造粒工程。具體來說，係(a)自裝置底部吹出壓縮氣體，較好為氮氣、二氧化碳等不活性氣體，或(b)藉由排氣風扇將裝置內之空氣吸引，使粉狀物保持流動狀態，並同時將結合劑由結合劑噴霧用噴嘴噴霧，使一流動中之粉狀物與結合劑之液滴接觸使粉狀體凝結而進行造粒。

這裡，結合劑噴霧用噴嘴使用自體公知之物品也可以，但是使用上述之 4 流路噴嘴為佳。若使用 4 流路噴嘴，由於結合劑之噴霧液滴較小，所以造粒物之粒徑相對也較小。這個結果使造粒物之乾燥所需時間減短，這與製造之效率化相關。又，若使用 4 流路噴嘴，可以得到粒子徑比較均一之造粒物。這個結果可節省粉碎・整粒之工程，又，菌體乾燥物與造粒物混合時不易起分粒。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(19)

又，造粒物之粒子徑較好約為 100 至 500 μm 。

接下來，使用菌體液噴霧用噴嘴將菌體液噴霧，噴霧乾燥後得到單微米之菌體乾燥物。此時接續前階段藉由自裝置底部吹入之壓縮氣體或排氣風扇吸引之裝置內氣體(以下總稱為「流動用氣體」)，於以乾燥風將菌體液之噴霧液滴乾燥之同時與藉由流動用氣體而成為流動狀態之造粒物互相混合。

所得混合物之樣態可例舉如造粒物之粒子與菌體乾燥物之粒子係各自獨立、二者混合之情況當然亦可，另外還有粉狀粒子與菌體乾燥物之粒子以結合劑結合為一個粒子之情況，及該粒子和造物粒之粒子或/及菌體乾燥物之粒子混合之情況。如同這樣，即可容易製得由粉狀物與結合劑形成之造粒物附著於單微米菌體乾燥物為其特徵之菌體組成物。

這裡，菌體液噴霧用噴嘴可使用自體公知之物品，但是使用上述之 4 流路噴嘴為佳。若使用 4 流路噴嘴，則上述以 4 流路噴嘴噴霧乾燥之優點於此製造方法中亦可發揮其效果。

上述之裝置及本發明之菌體組成物之製造方法之一樣態以第 4 圖說明之。

關於流動層造粒，係於本發明之裝置本體 41 內設置有流動床 42，粉狀體 48 於收容狀態下，自結合劑噴霧用噴嘴 47 噴出結合劑 45 之同時排氣扇也開始轉動，將經熱交換器加熱過之流動用氣體 49 由裝置本體 41 之下側連續導

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(20)

入。這時，流動用氣體 49 也可預先以除濕裝置(圖中沒有畫出)加以乾燥。導入之流動氣體 49 由排氣風扇將其向上吸引。隨著流動用氣體 49 風速之增加，粉狀體 48 由流動床 42 向上浮游懸浮於空氣中，形成所謂之流動層。接下來，這些流動中之粉狀體 48 與接合劑 45 之液滴相接觸使粉狀體 48 凝集，而進行造粒。

關於噴霧乾燥、以菌體液噴霧用噴嘴 46 將菌液體 44 噴霧，以排氣風扇將流動用氣體 49 由流動床 42 向上吸引而使該菌體液之噴霧液滴乾燥。這時，流動用氣體 49 之溫度最好能比流動造粒時之溫度為低，約 2 至 400℃ 左右，較好為 5 至 250℃ 左右，若為 5 至 150℃ 左右更好，若為 20 至 70℃ 左右則最佳。這可抑制因流動用氣體之熱度使菌體死亡或損傷。

上述之方法所製造之造流物及菌體乾燥物於裝置 41 內以流動用氣體 49 混合之。

流動層造粒所使用之上述粉狀物雖然並無特別之限定，但以能與菌體乾燥物並用投與及攝取者為佳。

具體來說，例如除了菌體乾燥物以外之其他含有藥理作用之物質、賦形劑及其他微粉末狀食品材料等。其可使用自體公知之物品，又兩種以上之混合物也可使用。

該微粉末狀食品材料為例如肉桂、薑、芥末、肉豆蔻、胡椒、鳶尾、芝麻、薑黃、洋芫荽、薄荷類、芹菜、洋蔥、蒜頭等之香辛料類，花草類之乾燥粉碎物及其香辛料，適當混入香草類而調製之咖哩粉與混合香辛料等香辛料類；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(21)

蘋果、橘子、檸檬、草莓、鳳梨、葡萄柚、葡萄、哈密瓜、萊姆等果汁粉末；咖啡、綠茶、紅茶、烏龍茶、可可亞、麥茶等嗜好性飲料粉末；牛肉抽提液、豬肉抽提液、雞肉抽提液、干貝抽提液、蛤抽提液、牡蠣抽提液、螃蟹抽提液、蝦抽提液、鰹節抽提液等動物抽提液類粉末；蒜頭抽提液、洋蔥抽提液、芹菜抽提液、高麗菜抽提液、鴨兒芹抽提液等植物類抽提液粉末；脫脂奶粉、全脂奶粉、發酵乳粉末等粉末狀乳製品；蛋黃粉末、全蛋粉末、穀類粉末、動植物蛋白質加水分解物、食鹽、氨基酸類、核酸系調味料粉末等。

關於流動層造粒時之結合劑係以能使粉狀物之粒子間或粉狀物之粒子與菌體乾燥物間之結合力增高之添加劑為佳，其代表例為例如水溶性高分子。具體來說，如羥基丙基纖維素、羥基丙基甲基纖維素、甲基纖維素等。另外之結合劑，可使用例如聚乙炔吡咯烷酮、明膠、聚乙炔醇、澱粉糊液或糖漿等。

結合劑如需要可添加配合劑。配合劑可使用自體公知之物品，如卵磷脂、皂樹皂苷、蔗糖脂肪酸酯、甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯等天然或合成之界面活性劑；又如明膠、酪蛋白、水溶性胨肽、大豆蛋白質、白蛋白、谷蛋白等蛋白質類等。

有關本發明含有菌體乾燥物之醫藥或食品係含有本發明之菌體乾燥物時也可同時含有其他成分。

如可含有具有其他藥理作用之成分或其他食品，如有

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(22)

需要也可添加含具有其他所需機能之添加劑或添加物。

如上述般依據噴霧乾燥所得到之菌體乾燥物，可直接以得到之散劑或顆粒劑之劑型，或加工成錠劑、丸劑及口含錠等劑型，做為本發明含菌體乾燥物之醫藥或食品。

含有本發明菌體乾燥物之醫藥及食品如為散劑或顆粒劑等劑型之場合，依據上述之噴霧乾燥劑所得之菌體乾燥物可直接使用，也可以業界自體公知之之方法來處理。

含有本發明菌體乾燥物之醫藥及食品之劑型為錠劑之場合，係將上述噴物乾燥所得之菌體乾燥物以打錠機打錠而製造。所謂打錠機，可使用例如迴轉式打錠機等公知之打錠機。

依據本發明噴霧乾燥所得之菌體乾燥物，例如通常係將粉狀或粒狀之賦形劑、結合劑、崩散劑或靜電防止劑等業界常用之添加劑以通常之配合比例混合，所得之混合物也可使用打錠機打錠製造。

另外，所得之錠劑也可進行糖衣包衣、腸溶性包衣或薄膜包衣等之包衣或罩護。包衣劑或是罩護劑最好使用上述等公知之物品。又，包衣與罩護可依公知或標準方法進行。

上述之錠劑、也可作成徐放性錠劑。所謂徐放性錠劑，可例舉如將上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物，分散於能直接排出體外之塑膠格中之漸融物，將依據上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物分散放入海綿狀之蠟格子中而形成之蠟鑄模、將依據上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物以離子交換樹

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(23)

脂吸附而成之樹脂網，或由溶解及釋出性不同之數層所形成之短纖錠(span tab)等。這些徐放性錠劑可依公知或其基準方法製造。

含有本發明菌體乾燥物之醫藥及食品如為丸劑或口含錠劑形之場合，可以依錠劑之相同方法製造。但是，口含錠之場合，為了能於口中徐徐溶解或崩散，通常不加崩散劑。

依據上劑噴霧乾燥所得之菌體乾燥物也可充填於膠囊中形成膠囊劑。膠囊之基材以明膠等公知之膠囊基材為佳。又，如為軟膠囊劑之場合，可使用甘油或山梨糖醇等可塑劑。又，依據上述之噴霧乾燥所得之菌體乾燥物以打錠等方法壓縮成形時，如有需要亦可將其含浸於油脂等之後，以固體狀油脂被膜，繼之以膠囊基材被膜製造之。經由這些步驟，就算水滲入膠囊被膜之內部，菌體乾燥物也不會直接與水接觸，因而可防止因水而引起之菌體死亡或損傷。

又，依從來公知之方法，使用聚乳酸等以微膠囊化亦可。

含有本發明菌體乾燥物之醫藥及食品，也可以是藥劑所容許之溶解劑、懸濁劑、糖漿劑或是醃劑等之液體劑型。

所使用之稀釋劑，有精製水、植物油或乙醇等。又，也可以與稀釋劑以外之浸潤劑、懸濁劑、甘味劑、風味劑、芳香劑或防腐劑等添加劑混合。

關於懸濁劑，以將依據上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(24)

物與懸濁劑或其他所希望之添加劑一起加至水或植物油等溶媒中，以公知之方法使全體均勻混合而懸濁之製造者為佳。懸濁劑最好使用公知之物品，如阿拉伯膠、羧甲基纖維素鈉、甲基纖維或褐藻酸鈉等。

關於糖漿劑，以將依據上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物與蔗糖及其他所希望之糖類或甘味料一起加入如精製水等稀釋劑內溶解或懸濁而製造者為佳。於使用時方將菌體乾燥物溶解或懸濁之乾式糖漿劑亦可。

關於醃劑，以將依據上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物，及其他所希望之添加劑一起加至有甘味或芳香之乙醇中溶解製造者為佳。乙醇之含量約為4至40重量%左右為佳。

關於含有本發明菌體乾燥物之醫藥，也可調製成水性注射劑、非水性注射劑、水性懸濁注射劑或非水性懸濁注射劑等非經口用注射劑。

關於注射劑，以將依據上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物及其他所希望之添加劑一起溶解於溶劑後過濾，或是懸濁於溶劑中，接下來充填於容器內，將容器密封後進行滅菌製造者為佳。

溶劑可列舉如注射用蒸餾水、生理食鹽水或林格氏液等水性溶劑；丙二醇、聚乙二醇或橄欖油類之植物油，又如乙醇類之酒精類等非水性溶劑。

添加劑可列舉如(a)如乙二胺等安定劑，(b)如對羥基苯甲酸酯類、苯甲醇、氯丁醇、酚或甲酚等保存劑，(c)如聚

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(25)

氧化乙烯硬化蓖麻油、蔗糖脂肪酸酯等界面活性劑，或卵磷脂或加氫卵磷脂等可溶化劑，(d)如氯化鈉、葡萄糖或甘油等等張化劑，(e)如磷酸鹽或檸檬酸鹽等緩衝劑，及(f)如阿拉伯膠、羥甲基纖維素鈉、甲基纖維素、或褐藻酸鈉等懸濁劑。

含有本發明菌體乾燥物之醫藥及食品，是為了促進哺乳類之健康狀態而使用。又，亦做為農藥或飼料之添加物使用。

舉例來說、乳酸菌類為腸內有益菌之一與健康有極大之關係已為大家所知。特別是有關比菲德氏菌、乳酸球菌或乳酸桿菌等對生理學意義之報告甚多，於腸內因產生乳酸或醋酸等有機酸而對有害菌之增殖有抑制作用，增加維他命之產生或免疫力之賦活化等乃已明瞭。所以，從以前開始以對人、家畜動物及寵物等健康之維持強化或疾病之預防或治療為目的，含有乳酸菌之醫藥及食品等各種製品被開發。

又，乳酸菌類於味噌、醬油、漬物或日本酒等食品之製造工程中，對風味及保存性之提高或品質之維持有極大之關係，而常被利用。

關於本發明含乳酸菌或比菲德氏菌之醫藥，可用於下痢、便秘、高膽固醇血症、肝疾患、免疫低下性疾患(Immunosuppressant)、腸炎(如胃腸炎或結腸炎)之治療及預防；因食品、藥劑、化學藥品或物理性藥劑使用後之失調、或外科性侵襲、化學療法或接觸感染症後腸之回復；

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(26)

可用於阻害內毒素之吸收及拮抗內因性毒素之生成。

該醫藥對腸黏膜之回復或因腸管酵素位能或壓力狀況導致之結果之變化有調節作用。又，可促進腸內細菌叢機能之正常化、維他命及蛋白質之合成、消化過程或酵素過程及吸收過程，防止病原性微生物集落形成、刺激免疫應答等作用。

關於本發明含有乳酸菌或比菲德氏菌之菌體乾燥物食品之用途，如可將上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物添加於優格或乳酪等乳製品、點心類或飲料類等。

又，若要當調味料時，上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物可直接使用，或將上述噴霧乾燥所得之菌體乾燥物於水或油等溶媒中溶解或懸濁後當調味料使用。也可以與其他之調味料混合使用。

上述噴霧乾燥所得乳酸菌之菌體乾燥物，也可以當作使乳酸發酵食品之工業規模能安定生產之啟始原料。

粉末乳酸菌啟始原料可用於乳製品、黑麥麵包、發酵熱狗等。

上述噴霧乾燥所得酵母之菌體乾燥物，由於酵母對酒精發酵有促進之性質，可應用於啤酒、清酒及葡萄酒等之酒類工業。又亦可用於麵包等之發酵。

另外，酵母之自己消化液或以熱水抽出之酵母抽提液中含有多量之維他命類、有機鹼類或氨基酸類，營養價值極高，因此上述噴霧乾燥所得酵母抽提液之菌體乾燥物可作為維他命劑等醫藥或健康食品使用。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(27)

上述噴霧乾燥所得麴菌之菌體乾燥物，可應用於清酒、甘酒、燒酒、味噌、食用酒或醬油等之製造。米麴菌廣泛被應用，而酒精之製造亦可以使用黑麴菌。

又，麴菌有多種可生成澱粉酶、蛋白酶或其他各種酵素及各種有機鹼類或維他命類學之菌株，因此本發明之麴菌菌體乾燥物可作為消化酵素劑或維他命劑等之醫藥或健康食品使用。

實施例 1

[菌體之培養]

將預先以 GAM 培養基(日水製藥株式會社製)增菌之兩歧雙歧桿菌培養液於相同之培養基以 0.1 重量%接種，於 37℃ 下培養 16 小時後將其離心分離所得沉澱物即濕菌體。

[菌懸濁液之製作]

於調整成為甘露糖醇 0.5M，谷氨酸鈉 0.5M，精氨酸 0.1M，琥珀酸鈉 0.1M，硫酸鎂 0.01M 之濃度之水溶液中，加糊精使成為 35 重量%而調製分散媒，將上述所得之濕菌體懸濁於其中。

[菌懸濁液中生菌數之測定]

依日本藥局方外醫藥品規格「比菲德氏菌」之項目中所記載之比菲德氏菌之定量法測定。即，取菌懸濁液 1mL，使用如下記所調製之稀釋液以 10 倍稀釋法稀釋使每 1mL 中之生菌數為 20 至 200 個。取此稀釋液 1mL 於培養皿中，該培養皿中加入保存於 50℃ 之比菲德氏菌試驗用洋菜培

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(28)

養基 20mL 盡快混合後使凝固。將此培養皿於 37℃ 嫌氣下培養 60 小時，由出現之菌落數與稀釋倍率換算求得菌懸濁液中之生菌數。

此處，比菲德氏菌試驗用洋菜培養基是將下述成分中除馬血以外全部加熱溶解，pH 調整為 7.2，以高壓蒸氣滅菌器於 115℃ 下加熱 20 分鐘滅菌後，冷卻至 50℃ 再將馬血加入而製作。

牛肝臟浸出液	150mL
獸肉製朮	10g
酪蛋白朮	5g
酵母抽提液	5g
肉抽提液	3g
大豆製朮	3g
葡萄糖	10g
磷酸氫二鉀	1g
磷酸二氫鉀	1g
澱粉	0.5g
L-鹽酸半胱氨酸	0.5g
硫酸鎂	0.2g
氯化鈉	0.01g
硫酸亞鐵	0.01g
硫酸錳	7mg
聚山梨酸酯 80	1g
洋菜	15g

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

五、發明說明(29)

馬血	50mL
----	------

精製水	790 mL
-----	--------

pH	7.1~7.3
----	---------

上述之稀釋液與下記之成分混合後以高壓蒸氣滅菌器於 121℃ 下加熱 15 分鐘滅菌調製而成。

無水磷酸氫二鈉	6.0g
---------	------

磷酸二氫鉀	4.5g
-------	------

聚山梨酸酯 80	0.5g
----------	------

L-鹽酸半胱氨酸	0.5g
----------	------

洋菜	1.0g
----	------

精製水	1000 mL
-----	---------

pH	6.8~7.0
----	---------

[噴霧乾燥]

將如上述所製得之菌懸濁液以第 2 圖所示裝有 4 流路噴嘴(特許第 2797080 內所記載者)之噴霧乾燥機噴霧乾燥。即，從 2 管液體流路將菌懸濁液以 8mL/分(4 mL/分/1mm 噴嘴)之速度供給，從 2 管氣體流路將壓縮氣體以 40NL/分(於 20℃ 下之換算數值)之速度供給，產生之噴霧液滴以乾燥風乾燥，製得本發明之菌體乾燥物。且，以入口溫度 100℃、1.0m³/分比例將乾燥風送入乾燥室，出口溫度為 67℃。

[菌體乾燥物中生菌數之測定]

所得到之菌體乾燥物中之生菌數依日本藥局方外醫藥品規格「比菲德氏菌」項目所記載比菲德氏菌之定量法測

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(30)

定。即，菌體乾燥物 5g 以事先加溫至 37℃ 與上述相同之稀釋劑稀釋至全量成為 50 mL。將其攪拌後於 37℃ 下加溫 30 分鐘，此為試料原液。使用稀釋液依 10 倍稀釋法稀釋至 1 mL 中之生菌數為 20 至 200 個。將此液 1 mL 置於培養皿中加入保存於 50℃ 之比菲德氏菌試驗用洋菜培養液 20 mL 快速混合後使凝固。將此培養皿於 37℃ 嫌氣下培養 60 小時，由出現之菌落數與稀釋倍率換算求出菌體乾燥物中之生菌數。

另外將乾燥風入口之溫度依 80℃、60℃、50℃ 之順序調整，以同樣之試驗方法實施。

比較例 1

將與實施例同樣條件所得到之菌體懸濁液凍結乾燥。凍結乾燥之條件為棚溫度 30℃ 以下，到達真空度 0.1Torr (13.3Pa)。

乾燥後粉末中之生菌數與實施例 1 同樣之方法測定。實施例及比較例之生菌數、生存率如第 1 表中所示。此處之生存率以下式算出。

生存率(%)={ (菌體乾燥物 1g 相當之生菌數×菌懸濁液固形分含有率)/(菌懸濁液 1g 所相當之生菌數)}×100

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(31)

第 1 表

	入口溫度 (%)	排氣溫度 (%)	粉末中之生 菌數(CFU/g)	生存率(%)	與比較例 之對比(%)
實施例	100	67	1.65×10^{11}	52	104
	80	56	1.80×10^{11}	55	113
	60	44	2.28×10^{11}	72	143
	50	37	2.43×10^{11}	77	153
比較例			1.59×10^{11}	50	100

如第 1 表所示，可知使用本發明之噴霧乾燥比使用凍結乾燥能得到生存率較高之菌體乾燥物。

[菌體乾燥物之粒徑]

如實施例 1，入口溫度為 60℃ 時所得之本發明菌體乾燥物以顯微鏡(基原斯(Kiens)股份有限公司製，數字 HD 顯微鏡 VH-7000)測定。關於粒徑之分布如下表所示。

第 2 表

粒徑	比率(%)
1 至 5 μ m	39
5 至 5 μ m	31
10 至 20 μ m	26
20 至 50 μ m	4

實施例 2

與實施例 1 同樣之方法，培養菌體並作成菌懸濁液，測定菌懸濁液中之生菌數。

[噴霧造粒]

於流動層造粒機 FLO-120(佛羅銀度(Floint)公司製)中

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(32)

除了使用以往之 2 流路噴霧噴嘴外另外再加入 4 流路噴嘴(特許 2797080 中所記載之物)裝置，於流動層中將乳酸菌懸濁液噴霧而得含乳酸菌之粉末。

將工程分為二大部分，第一工程是使用 2 流路噴嘴於作為粒狀物之賦型劑中吹入結合劑以進行造粒。第二工程是將不斷流動之流動層維持低溫狀態下使用 4 流路噴嘴將乳酸菌懸濁液噴霧乾燥，同時與第一工程得到之粒狀物混合。

本實驗所使用之機械運轉條件為：給氣風量為 $70\text{m}^3/\text{分}$ ，噴嘴空氣量為 $40\text{NL}/\text{分}$ (20°C 下之換算值)。

又，造粒時所使用之賦型劑、結合劑之組成係如下示。

賦型劑：	玉米澱粉	40kg
	結晶纖維素	40kg
	乳糖	40kg
結合劑：	玉米澱粉	1.8kg
	精製水	60L

關於第一工程於下面詳細說明之。將上述之賦型劑原料秤 120kg 於漏斗中，給氣溫度設定為 100°C 、送入乾燥空氣使形成流動層，使用 2 流路噴嘴將結合劑以液流速 $1.6\text{L}/\text{分}$ 噴霧。這時之排氣溫度為 45 至 50°C ，流動層內之溫度為 55 至 60°C 。結合劑之噴霧終了後流動層繼續乾燥 20 分鐘而得低水分之造物粒。

接下來、關於第二工程將於下面詳細說明。造物粒之後乾燥終了後，給氣溫度降到 70°C 以下使用 4 流路噴嘴將

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂
線

五、發明說明(33)

與實施例 1 之相同方法所作成之菌懸濁液以液流速 16mL/分噴霧 350mL。這時之排氣溫度為 30 至 35℃，流動層內之溫度為 35 至 40℃。於這樣之低溫下噴霧乾燥，則乳酸菌成粉末化，同時於流動層內混合而得含有本發明乳酸菌之粉末。

比較例 2

將製劑中之乳酸菌調整至含相同量而製作乳酸菌混合粉末。

將實施例 1 所得之菌體粉末 2g 以玉米澱粉 10 倍稀釋成 20g，加入實施例 2 之第一工程所得之賦型劑及結合劑所成之造例物 1180g，以 V 型混合機於 100rpm、3 分鐘混合而得之物作為乳酸菌混合粉末。

實施例 2 或比較例 2 所得之粉末 1g 中所含之生菌數依實施例 1 之[菌體乾燥物中生菌數之測定]項目測定之。實施例 2 之生菌數為 5.12×10^8 (CFU/g)，比較例之生菌數為 4.85×10^8 (CFU/g)。

由此可知，使用噴霧乾燥和流動層造粒互相組合之本發明之方法，與從來之噴霧乾燥、造粒等混合工程而得粉末之製法相比最少也維持相同程度、或保有更高之生菌率，而且製造工程也可簡略化。

實施例 3

於蒸餾水 500g 中添加下記之成分攪拌後做包著衣劑。

包衣劑之組成：歐德拉特(Oidlagit)L30-D55 500g

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(34)

聚乙二醇 6000	15g
Tween80	7.5g
滑石	45g

其他與實施例 1 相同之方法作成菌懸濁液。

使用設有 4 流路噴嘴(特許 2797080 中所記載者)如第 2 圖所示之噴霧乾燥機噴霧乾燥。即，含有 2 管液體流路和 2 管氣體流路之 4 流路噴嘴，從其中之一管液體流路將菌懸濁液以 5g/分之速度供給，自另一管液體流路將液狀之包衣劑以 20g/分之速度供給，自 2 管氣體流路將壓縮氣體以 40NL/分之速度供給，產生之噴霧液滴以乾燥風乾燥，製得本發明部分著衣之菌體乾燥物。

又，乾燥風之入口溫度為 100℃，以 1.0m³/分之比例供給至壓力為 0.9mPa 之乾燥室內。

將從來之比菲德氏菌原末與本實施例之部份包衣菌體乾燥物分別取 10mg 進行食品味道試驗，本實施例之部份包衣菌體乾燥物之味道有所改善。

實施例 4

與實施例 1 相同方法製成之菌懸濁液 100g 與下記組成之腸溶性包衣基劑混合，該混合液以設有 4 流路噴嘴(特許 2797080 中所記載者)如第 2 圖所示之噴霧乾燥機噴霧乾燥。即，自 2 管液體流路將混合液以 5.6g/分之速度供給，自 2 管之氣體流路將壓縮氣體以 40NL/分之速度供給，生成之噴霧液滴以乾燥風乾燥，製得本發明之腸溶性包衣菌體乾燥物。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(35)

而且，乾燥風之入口溫度為 80°C ，以 $1.0\text{m}^3/\text{分}$ 之比率供給至壓力為 0.9mPa 之乾燥室內。

腸溶性包衣基劑：AQOAT(信越化學股份有限公司製) 30g

檸檬酸三乙酯 8.4g

蒸餾水 161.6g

[腸溶性包衣菌體乾燥物之耐酸性試驗]

使用日本藥局方・一般試驗法・崩散試驗法中所記載之第 1 液($\text{pH}1.2$ 、 36 至 38°C)進行耐酸性試驗。將第 1 液注入 1000mL 左右之可保溫容器內於 36 至 38°C 保溫。於其中加入得到之菌體乾燥物後攪拌均勻，投入菌體乾燥物後分別於 5 、 15 、 30 、 60 分後各取 1mL 為樣本。取樣之菌體加入實施例 1 中所記載之稀釋液以適當之濃度依次稀釋後與實施例 1 相同之方法測定生菌數。又，局方第 1 液即所謂之人工胃液，是於氯化鈉 2.0g 中添加鹽酸 7mL 及蒸餾水溶解並使全量為 1000mL 而成者。

又，從來之比菲德氏菌原末也依同樣之試驗方法實施。

第 3 圖為第 1 液之保護時間和生菌數之關係。從來之菌原末投入 5 分鐘後之生菌數為 1000 分之 1 以下， 30 分鐘後生菌數幾乎沒有。相對的，本發明之包衣菌原末投入 60 分鐘後都含有 1% 左右之生菌數。也就是說，進行上述包衣後之菌體乾燥物之耐酸性大幅度改善。

實施例 5

除菌體改為嗜酸乳桿菌以外其他與實施例 1 相同方法

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(36)

作成菌懸濁液。

菌懸濁液中之生菌數依日本藥局方外醫藥品規格「乳密凍(Lacmiton)」之項目所記載之乳密凍定量法測定。即，取菌懸濁液 1mL，使用下記方法調製之稀釋液依 10 倍稀釋法稀釋至 1mL 中之生菌數為 20 至 200 個。取此液 1mL 置於培養皿中加入保存於 50℃ 之乳密凍試驗用洋菜培養液 20mL 並迅速混合後使凝固。將此培養皿於 37℃ 下培養 48 小時，由出現之菌落數與稀釋倍率換算求出菌體乾燥物中之生菌數。

這裡之乳密凍試驗用洋菜培養基係依下記之成分混合，以高壓蒸氣滅菌器於 121℃ 下加熱 15 分鐘滅菌製成。

此處係將蕃茄汁加至等量之精製水混合，不斷攪拌煮沸後，將 pH 調整至 6.8 後過濾使用。

酪蛋白朊	20g
酵母抽提液	5g
肉抽提液	15g
葡萄糖	20g
L-鹽酸半胱氨酸	1g
聚山梨酸酯 80	3g
蕃茄汁	200mL
洋菜	20g
精製水	800mL
pH	6.8

上述之稀釋液與下記之成分混合，以高壓蒸氣滅菌器

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(37)

於 121℃ 下加熱 15 分鐘滅菌調製而成。

磷酸氫二鈉	6.0g
磷酸二氫鈉	4.5g
聚山梨酸酯 80	0.5g
L-鹽酸半胱氨酸	0.5g
洋菜	1.0g
精製水	1000mL
pH	6.9

如上述所作成之菌懸濁液以與實施例 1 相同之方法噴霧乾燥。

機器運轉之條件除入口溫度為 60℃，排氣溫度為 45℃ 以外，其他與實施例 1 相同。

所得菌體乾燥物中之生菌數依日本藥局方外醫藥品規格「乳密凍」之項目所記載之乳密凍定量法測定。即，將菌體乾燥物 5g 加入事先加溫至 37℃ 之稀釋液中，使全量為 50mL，攪拌均勻後於 37℃ 下加溫 30 分鐘，成為試料原液。將其以稀釋液依 10 倍稀釋法稀釋至 1mL 中之生菌數為 20 至 200 個。取此液 1mL 置於培養皿中加入事先保存於 50℃ 之乳密凍試驗用洋菜培養液 20mL 迅速混合均勻後使凝固。將此培養皿於 37℃ 下培養 48 小時後，由出現之菌落數與稀釋倍率換算求出菌體乾燥物中之生菌數。

菌體乾燥物中之生菌數為 7.24×10^{11} (CFU/g)，生存率為 90%。又，生存率之求法與實施例 1 相同。

由此證明，使用本發明之噴霧乾燥可提高菌體之生存

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(38)

率，結果可以得到生菌數極多之菌體乾燥物。

[產業上利用之可能性]

使用備有可形成單微米噴霧液滴之微粒化裝置之噴霧乾燥裝置，噴霧液滴之單位重量所相當之表面積相對變大，與乾燥風之接觸效率相對的提高。而且、就算與從來之噴霧乾燥使用相同溫度之乾燥風乾燥時，因菌體液乾燥所需要之時間較短，菌體之死亡或損傷將可減少。又，若乾燥風之溫度比從來之噴霧乾燥時之溫度來的低時也不會減少其收穫量及安定性並可充分的乾燥，又由於乾燥風之溫度降低因乾燥風之熱度使菌體之死亡或損傷將可減至最少。因此，以本發明之製造方法所得之菌體乾燥物其生菌數較多。

又，此種小粒徑之噴霧液滴以乾燥風乾燥所得之含有單微米尺寸粒子之菌體乾燥物於壓縮成形之際對菌體所施加之壓力不必太大，又不容易起靜電等，於製成錠劑等劑型之醫藥或食品時容易成形。

關於本發明之噴霧乾燥裝置，是使用具有2管液體流路及2管氣體流路之4流路噴嘴之噴霧乾燥裝置，液體流路因有2管所以可大量噴霧提昇製造效率，另外2種不同之溶液或懸濁液可由個別之液體流路同時噴霧，而可製得混合之菌體乾燥物。

又，由其中之一管液體流路噴出液狀之罩護劑或包衣劑，另一管液體流路噴出菌體液，可製得罩護或包衣之菌體乾燥物。而且，因罩護或包衣工程不需另外進行，製造

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

五、發明說明(39)

工程將可減少。又，以同樣之方法將膠囊基材與菌體液同時噴霧時可製得微膠囊。

除此之外、使用含有 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置因粉度分布於較狹窄之範圍，所以接下來之整粒、過篩等工程較易進行。

噴霧乾燥之裝置規模較凍結乾燥之情況為小，且裝置運轉所需要之能源也較少，於資金及資源兩方都可節省而有用。

又，所使用之裝置其特徵為本發明使用粉狀物及結合劑進行流動層造粒之工程與藉由噴霧乾燥製得單微米菌體乾燥物之工程係於同一容器內實施，於該裝置內造粒、菌體之噴霧乾燥、混合可連續施行，於簡化製造工程之同時菌體乾燥物和造粒物之混合均一性提昇也不容易產生分粒。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

訂

線

四、中文發明摘要（發明之名稱：以噴霧乾燥方法乾燥之菌體乾燥物）

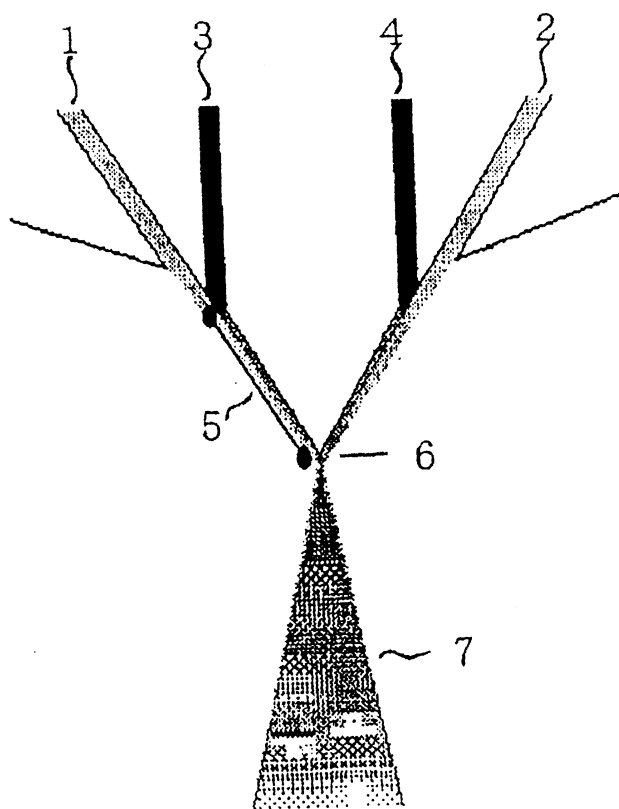
本發明之目的係提供於製造菌體乾燥物或含此菌體乾燥物之醫藥或食品等組成物之步驟中，將菌體死亡及損傷降到最低，且可保持高度生菌率之菌體液之乾燥方法，以及使用該方法所得每單位重量之菌體數增多，且做為醫藥或食品時容易成形之單微米尺寸之菌體乾燥物。

將單微米噴霧液滴以乾燥風乾燥為其特徵之單微米菌體乾燥物之製造方法及單微米菌體乾燥物。

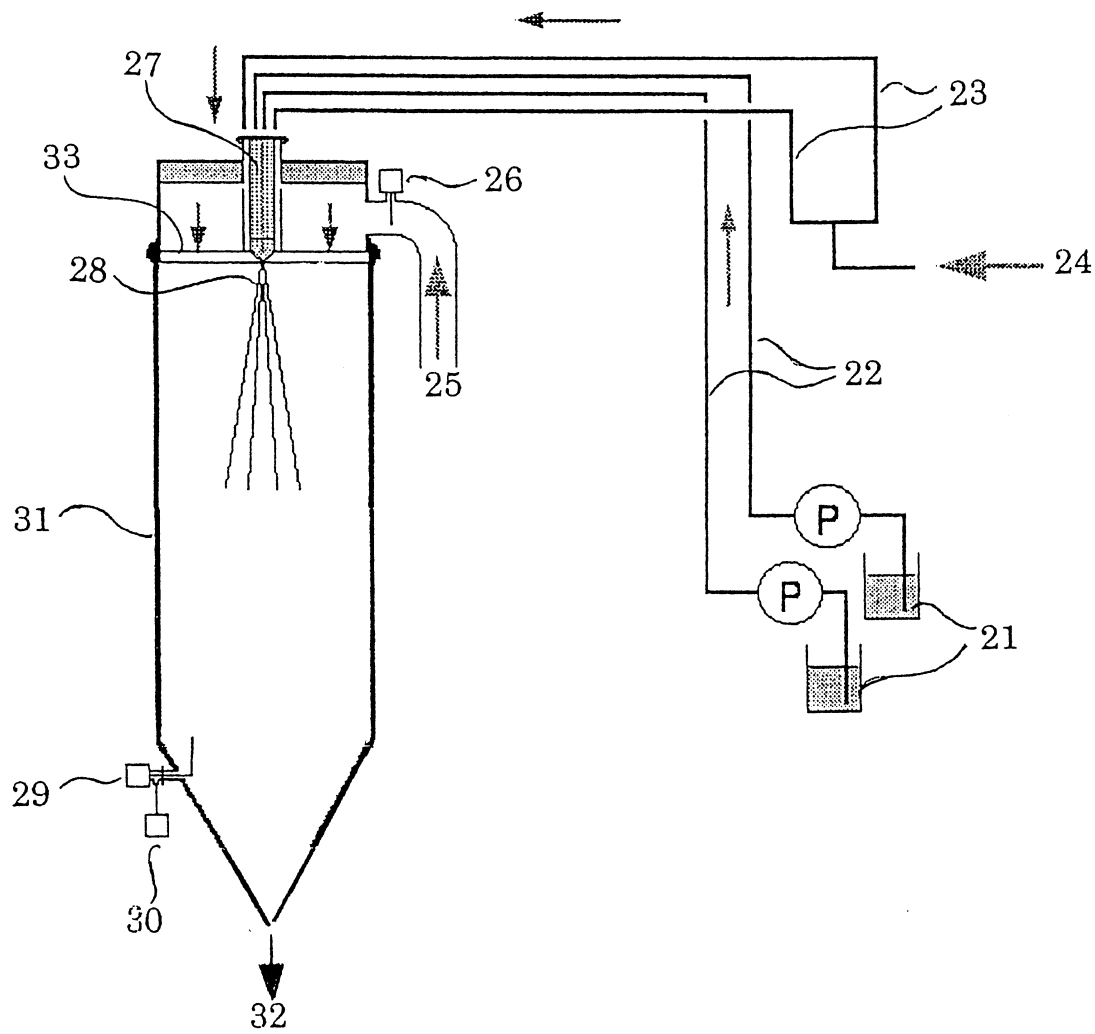
（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄）

英文發明摘要（發明之名稱：

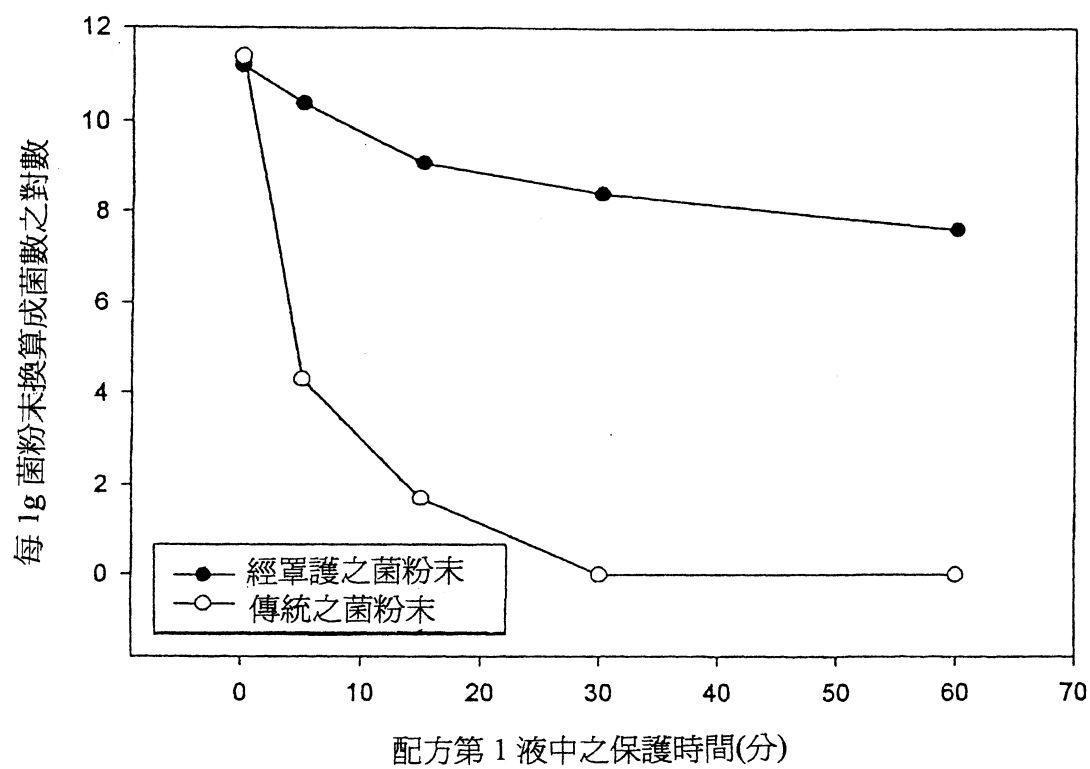
）



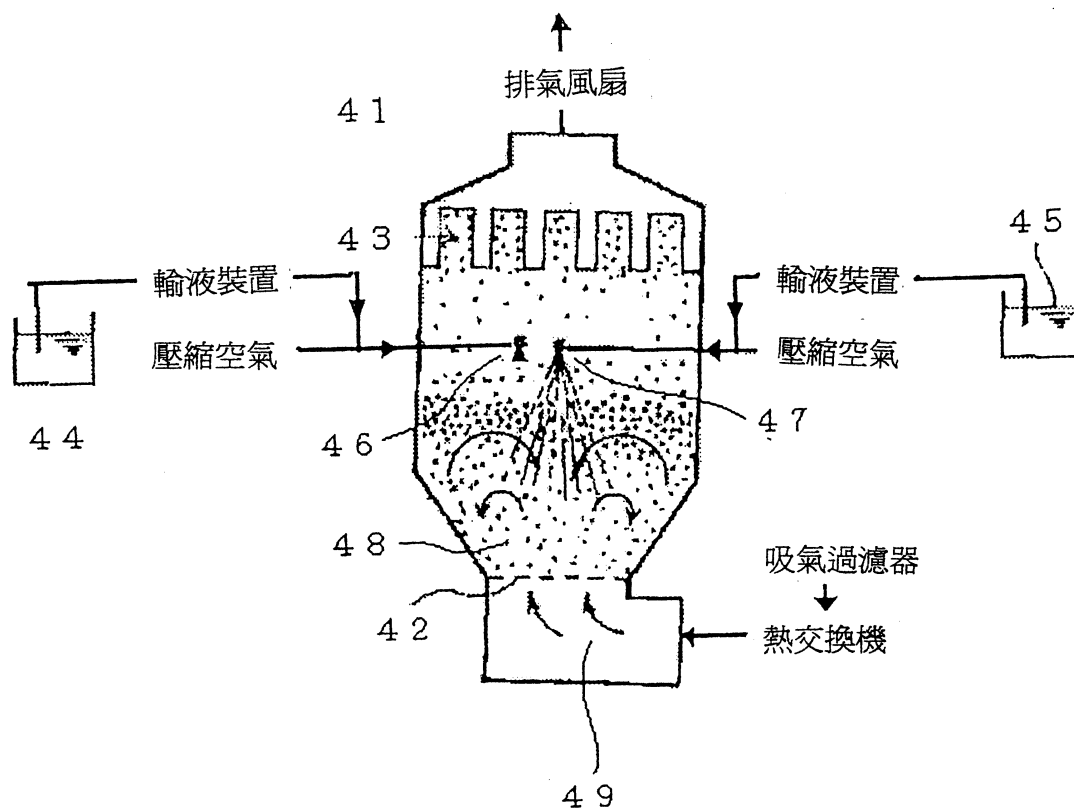
第1圖



第 2 圖



第3圖



第 4 圖

五、發明說明 (12)

燥時，最好使用氮氣或氬氣等之非活性氣體。

壓縮氣體之壓力約為 1 至 15kgw/cm² 左右，較好是約 3 至 8 kgw/cm² 左右。

關於噴嘴噴出之氣體量，噴射引擎每 1mm 為 1 至 100L/分左右，較好為 5 至 50 L/分左右，若為 10 至 20 L/分左右則更好。

具有 4 流路噴嘴之噴霧乾燥裝置之一樣式如第 2 圖所示。以第 2 圖說明本發明噴霧乾燥之一實施狀態時，菌體液(符號 21)係由上述第 1 圖所說明之 4 流路噴嘴(符號 28)噴霧。於乾燥室(符號 31)中，使該噴霧液滴與自乾燥風送入口(符號 25)經整流器(符號 33)送出之乾燥風接觸使水分蒸發而得到菌體乾燥物。

乾燥風之乾燥室入口溫度(以下稱為「入口溫度」)約 2 至 400℃ 左右，最好為約 5 至 250℃ 左右，若能夠為約 5 至 150℃ 左右更好。入口溫度即使為約 200 至 400℃ 左右之高溫，但由於水分蒸發時吸收部分熱量作為氣化熱而使被乾燥物之溫度不致如此高，另外因於乾燥室內之滯留時間短，所以生菌之死亡及損傷也可減至最少程度。

又，乾燥風之乾燥室出口溫度(以下稱為「出口溫度」)約 0 至 120℃ 左右，最好為 5 至 90℃ 左右，若能夠為 5 至 70℃ 程度更好。

而且，第 2 圖所示之噴霧乾燥裝置中，入口溫度係指入口溫度計(符號 26)所測量之溫度，又出口溫度係指出口溫度計(符號 29)所測量之溫度。

第 90110324 號專利申請案

申請專利範圍修正本

(92 年 11 月 7 日)

1. 一種由比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌所選出之菌體之單微米之菌體乾燥物。
2. 如申請專利範圍第 1 項之菌體乾燥物，其中生菌數為 1.0×10^5 至 2.0×10^{12} CFU/g 者。
3. 一種菌體乾燥物其特徵為生菌數為 1.0×10^{11} 至 2.0×10^{12} CFU/g。
4. 一種菌體乾燥物，其特徵為將申請專利範圍第 1 項至第 3 項之菌體乾燥物另外加以包衣或罩護者。
5. 一種申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之菌體乾燥物之製造方法，其特徵係以乾燥風將由比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌所選出之菌體以 4 流路噴嘴形成單微米之噴霧液滴，而以乾燥風乾燥者。
6. 如申請專利範圍第 5 項之菌體乾燥物之製造方法，其中乾燥風於乾燥室入口之溫度為 5 至 150°C 者。
7. 如申請專利範圍第 4 項之菌體乾燥物之製造方法，其中液狀之包衣劑或罩護劑與菌體液係同時噴霧形成噴霧液滴，而該噴霧液滴經乾燥風乾燥者。

- 8.如申請專利範圍第 7 項之菌體乾燥物之製造方法，其中係自具有 2 管液體流路及 2 管氣體流路之 4 流路噴嘴之一液體流路供給菌體液，自另一液體流路供給液態之包衣劑或罩護劑，自 2 管氣體流路供給壓縮氣體將生成之噴霧液滴以乾燥風乾燥者。
- 9.一種菌體組成物之製造方法，其特徵為將使用粉狀物及結合劑進行流動層造粒之步驟，與藉由噴霧乾燥而得由比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌所選出之菌體之單微米菌體乾燥物之乾燥步驟於同一容器內進行。
- 10.一種裝置，其特徵為將使用粉狀物及結合劑進行流動層造粒之步驟，與藉由噴霧乾燥而得由比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌所選出之菌體之單微米菌體乾燥物之乾燥步驟於同一容器內進行者。
- 11.一種菌體組成物，其特徵為於由粉狀物與結合劑所形成之造粒物上附著有由比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌所選出之菌體之單微米菌體乾燥物。
- 12.一種醫藥或食品，係含有申請專利範圍第 1 項至第 4 項

之菌體乾燥物或申請專利範圍第 11 項之菌體組成物者。

13. 一種單微米液滴，係含有由比菲德氏菌、乳酸桿菌、乳酸球菌、有孢子性乳酸菌、糖化菌、酵母菌、麴菌、放線菌、東洋芽孢桿菌、地衣芽孢桿菌、酪酸菌、醋酸菌及氨基酸發酵菌所選出之菌體者。