



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202128136 A

(43)公開日：中華民國 110 (2021) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：109136015

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 10 月 16 日

(51)Int. Cl.：

A61K9/50 (2006.01)

A61K31/202 (2006.01)

A61K38/01 (2006.01)

A61K35/60 (2006.01)

A23L33/115 (2016.01)

A23L33/18 (2016.01)

A23L33/15 (2016.01)

A23P10/30 (2016.01)

(30)優先權：2019/10/16 澳大利亞

2019903901

(71)申請人：澳大利亞商克樓佛股份有限公司 (澳大利亞) CLOVER CORPORATION LIMITED (AU)

澳大利亞

(72)發明人：艾略特 格倫 ELLIOTT, GLENN (AU)；雷恩 潔西卡 RYAN, JESSICA (AU)；爾本 阿蘭德特 盧爾德 URBAN-ALANDETE, LOURDES (ES)；王 柏 WANG, BO (AU)；徐 允允 XU, YUNYUN (SG)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：44 項 圖式數：5 共 41 頁

(54)名稱

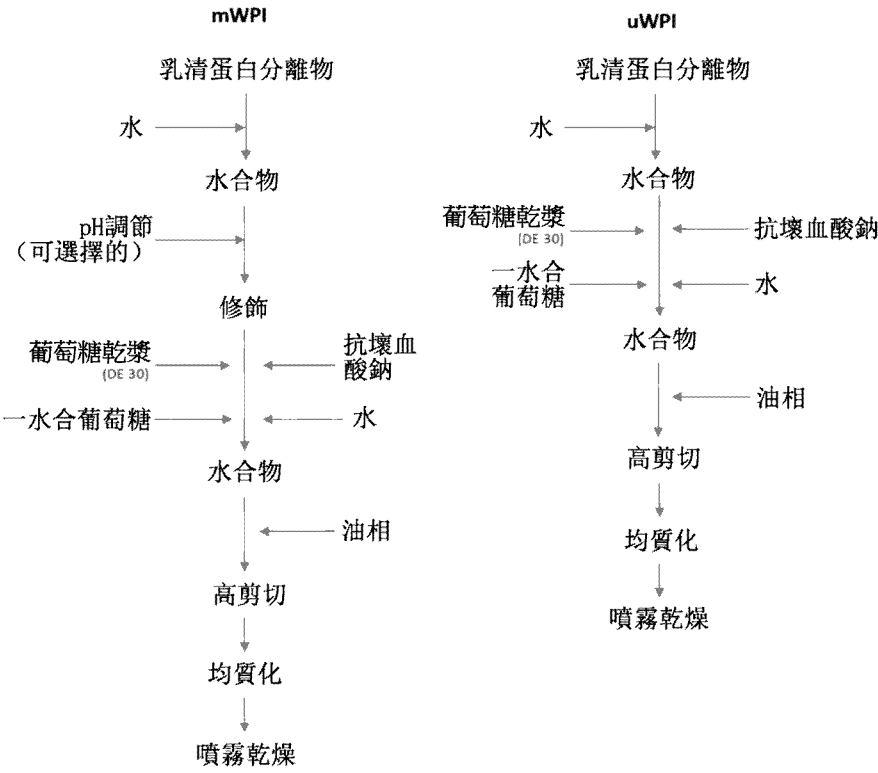
營養和藥物組成物之蛋白質包封

(57)摘要

本揭露關於微囊化組成物，其包含用包封劑包封的一種或多種疏水物質，其中該包封劑包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽；並且其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。本揭露進一步關於保護疏水物質免受氧化降解、改善疏水物質氧化穩定性、減少微囊化組成物表面游離脂肪之方法，並且關於包含疏水物質的穩定乳液和組成物。

The present disclosure relates to microencapsulated compositions comprising one or more hydrophobic materials encapsulated by an encapsulant, wherein the encapsulant comprises one or more modified proteins and/or peptides; and wherein the one or more modified proteins and/or peptides are obtained from a starting protein by subjecting the starting protein to a high shear process, such that the average particle size of the one or more modified proteins and/or peptides is reduced relative to the starting protein. The present disclosure further relates to methods for protecting a hydrophobic material from oxidative degradation, for improving the oxidative stability of a hydrophobic material, for reducing the surface free fat of a microencapsulated composition, and to stable emulsions and composition comprising a hydrophobic material.

指定代表圖：



【圖2】



202128136

【發明摘要】**【中文發明名稱】**

營養和藥物組成物之蛋白質包封

【英文發明名稱】PROTEIN ENCAPSULATION OF NUTRITIONAL AND
PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS**【中文】**

本揭露關於微囊化組成物，其包含用包封劑包封的一種或多種疏水物質，其中該包封劑包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽；並且其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。本揭露進一步關於保護疏水物質免受氧化降解、改善疏水物質氧化穩定性、減少微囊化組成物表面游離脂肪之方法，並且關於包含疏水物質的穩定乳液和組成物。

【英文】

The present disclosure relates to microencapsulated compositions comprising one or more hydrophobic materials encapsulated by an encapsulant, wherein the encapsulant comprises one or more modified proteins and/or peptides; and wherein the one or more modified proteins and/or peptides are obtained from a starting protein by subjecting the starting protein to a high shear process, such that the average particle size of the one or more modified proteins and/or peptides is reduced relative to the starting protein. The present disclosure further relates to

methods for protecting a hydrophobic material from oxidative degradation, for improving the oxidative stability of a hydrophobic material, for reducing the surface free fat of a microencapsulated composition, and to stable emulsions and composition comprising a hydrophobic material.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

營養和藥物組成物之蛋白質包封

【英文發明名稱】

PROTEIN ENCAPSULATION OF NUTRITIONAL AND
PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS

【技術領域】

【0001】 本揭露廣泛地關於適合於營養和藥物應用之包封組成物，以及關於用於保護包封組成物中的疏水物質免受氧化和氧化降解之手段。

【先前技術】

【0002】 眾所周知不同的疏水活性化合物例如長鏈多不飽和脂肪酸（「LCPUFA」）、類胡蘿蔔素、水不溶性維生素、酚類化合物、香料和香氣成分都對健康有不同益處。特別地，LCPUFA係人類飲食中重要的營養成分，並且許多人不能消耗足夠量的該等必需脂肪酸，特別是 ω -3脂肪酸，如二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）。大量研究發現 ω -3脂肪酸在心臟、大腦和眼睛的健康中起著極大影響作用，其在飲食中的攝入與改善心血管功能以及減少多種炎症相關病狀有關。例如，最近的一項研究表明，EPA和DHA可能具有降低運動時的心率和氧氣消耗的能力，因此有助於提高運動員之身心表現（People等，*Journal of Cardiovascular Pharmacology* [心血管藥理學雜誌] 2008, 52: 540-547）。由於它們的營養作用至關重要，包含 ω -3脂肪酸的組成物在營養補充和作為藥劑方面皆為重要的。

【0003】 因此，將 ω -3脂肪酸（例如魚油、藻油和一些植物籽油）

摻入食品中以促進公眾健康之趨勢日益增長。然而，由於該等脂肪酸在暴露於氧氣、升高的溫度或光線下易於氧化或降解（這種情況在食品生產和儲存過程中經常發生），因此成功強化含有 ω -3脂肪酸的產品，維持 ω -3脂肪酸的穩定性和活性係一項挑戰。 ω -3脂肪酸的氧化和/或降解產生不希望的氧化分解產物，該等氧化分解產物可能對配製物的感官性質或生理學性質有不利影響。就此而言，生產、運輸和存儲該等功能性食物係一項挑戰。

【0004】 微囊化技術（藉由這種技術可將生物活性化合物包陷在物理保護性殼材料中）已成功用於保護 ω -3脂肪酸免受氧化和降解。噴霧乾燥係最廣泛使用的生產微膠囊粉末之技術。典型地，噴霧乾燥的微膠囊粉末含有富含 ω -3的油並且具有大約30%（w/w）的油負載和大約1%（w/w）的表面游離脂肪含量。由於美拉德反應（**Maillard reaction**）產物（**MRP**）具有優越功能性質，已經生產出含有 ω -3油的微膠囊粉末，該等粉末具有高達48% $\pm$ 2%的油負載同時保持大約1%（w/w）的表面游離脂肪含量；然而，這樣的產物表現出的誘導期（包封油開始氧化前的小時數）一般只有50個小時。

【0005】 需要開發能夠改善疏水性化合物，尤其是 ω -3油的氧化穩定性之包封和遞送系統。

【發明內容】

【0006】 本揭露係以發明人之意外發現為基礎的，即用包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽之包封劑，其中一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，這樣可以使含有疏水物質的組成物有特別高的氧化穩定性以及表面游離脂肪含量特別

低（例如，油封效率高）。在具體的實施方式中，一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，使得一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於起始蛋白之平均粒徑降低。在具體的實施方式中，一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係起始蛋白平均粒徑的70%或更少，例如起始蛋白之平均粒徑的約65%或更少。在一些實施方式中，本揭露之組成物或方法使用了一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，其中所述之一種或多種經修飾的蛋白和/或肽從一種或多種起始蛋白分別獲取。

【0007】 本揭露之第一個方面提供了一種微囊化組成物，其包含一種或多種疏水物質，其中包封劑包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，並且其中所述一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。在較佳的實施方式中，經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係起始蛋白平均粒徑的70%或更少，例如起始蛋白之平均粒徑的約65%或更少。

【0008】 根據一些較佳的實施方式，微囊化組成物所含表面游離脂肪含量低於約1.8%，例如低於約1%，例如低於約0.8%。

【0009】 根據一些實施方式，高剪切過程在鹼性pH下進行，例如在pH約為8的條件下進行。在一些實施方式中，高剪切過程包括使起始蛋白經受從約20 mPa至約300 mPa的壓力。在一些實施方式中，高剪切過程係均質化過程。在一些實施方式中，高剪切過程係微流化過程。

【0010】 根據一些實施方式，一種或多種經修飾的蛋白和/或肽呈蛋白質片段之形式。根據一些實施方式，經修飾的蛋白係一種乳清蛋白。

【0011】 根據一些實施方式，包封劑進一步包含一個或多個碳水化合物，例如葡萄糖漿和一水合葡萄糖，或其組合。

【0012】 根據一些實施方式，一種或多種經修飾的蛋白和/或肽以基於該組成物的總重量的從約3% w/w至約25% w/w存在。

【0013】 根據一些實施方式，包封劑的經修飾的蛋白組分與該包封劑的碳水化合物組分之比率係在約1：10至1：1之範圍。

【0014】 根據一些實施方式，疏水物質係食用油。在一些實施方式中，疏水物質包含一個或多個長鏈多不飽和脂肪酸（LCPUFA）。在一些實施方式中，LCPUFA包含 ω -3脂肪酸和/或 ω -6脂肪酸。在一些實施方式中，LCPUFA以甘油三酯形式存在。在一些實施方式中，LCPUFA存在於一種或多種含有LCPUFA的油中；在一些實施方式中，一種或多種油包含魚油。在一些實施方式中，魚油係鮭油。

【0015】 根據一些實施方式，組成物進一步包含維生素C的至少一個來源。

【0016】 在一些實施方式中，組成物呈水包油乳液之形式。在一些實施方式中，組成物呈噴霧乾燥粉末之形式。

【0017】 根據第二個方面，本揭露提供了一種保護疏水物質免受氧化降解之方法，該方法包括：

使起始蛋白經受高剪切過程以製備一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，如此使得一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於起始蛋白降低；並且

用包含該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的包封劑包封該一種或多種疏水物質。

【0018】 根據第三個方面，本揭露提供了一種改善疏水物質氧化穩定性之方法，該方法包括：

使起始蛋白經受高剪切過程以製備一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，如此使得一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於起始蛋白降低；並且

用包含該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的包封劑包封該一種或多種疏水物質。

【0019】 根據第四個方面，本揭露提供了一種減少包含用包封劑包封的一種或多種疏水物質的微囊化組成物的表面游離脂肪之方法，該方法包括使起始蛋白經受高剪切過程以製備一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，如此使得一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於起始蛋白降低；並且

用包含該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的包封劑包封該一種或多種疏水物質。

【0020】 在根據該第二、第三或第四個方面之方法的一些實施方式中，一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係起始蛋白平均粒徑的約70%或更少，例如約65%或更少。

【0021】 在一些實施方式中，高剪切過程在鹼性pH下進行，例如在pH約為8的條件下進行。

【0022】 在一些實施方式中，疏水物質包含一個或多個LCPUFA，例如以甘油三酯形式存在。

【0023】 根據第五個方面，本揭露提供了一種包含疏水物質的穩定乳液，其中所述乳液進一步包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，並且

其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。

【0024】 在一些實施方式中，該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係起始蛋白平均粒徑的約70%或更少，例如約65%或更少。

【0025】 在一些實施方式中，高剪切過程在鹼性pH下進行，例如在pH約為8的條件下進行。

【0026】 在一些實施方式中，疏水物質包含一個或多個LCPUFA，例如以甘油三酯形式存在。

【0027】 根據第六個方面，本揭露提供了一種組成物，該組成物包含疏水物質和一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。

【圖式簡單說明】

【0028】 藉由僅舉非限制性實例，參考以下附圖，本文描述了本揭露之示例性實施方式。

【0029】 [圖1]. 1.0% w/w uWPI和mWPI玉米油之介面張力（天然的以及pH為8的溶液）。

【0030】 [圖2]. 方案顯示了製備未修飾乳清蛋白分離微囊化粉末（uWPI粉末）和修飾乳清蛋白分離微囊化粉末（mWPI粉末）。

【0031】 [圖3]. 圖表顯示了含有 ω -3油微囊化uWPI和mWPI粉末對比經美拉德反應產物（MRP）包封的含有 ω -3油微膠囊粉末之Oxipres分

析結果。

【0032】 [圖4]. 微囊化uWPI和mWPI粉末經4週快速暴露期之總品質。

【0033】 [圖5]. 微膠囊uWPI和mWPI粉末經4週快速暴露期之腐臭和海洋的氣味。

【實施方式】

【0034】 貫穿本說明書，除非上下文另外要求，詞語「包括」、或變體例如「包括了」或「包括著」應當理解為意指包括一個所述之步驟或要素或整體、或多個步驟或要素或整體的組，但不排除任何其他一個步驟或要素或整體、或多個要素或整體的組。因此，在本說明書的背景，術語「包括」表示「主要包括，但不是必須僅僅包括」。

【0035】 在本說明書的背景，術語「約」應理解為係指數字範圍，熟悉該項技術者認為該數字範圍相當於在實現相同功能或結果之情況下引用的值。

【0036】 在本說明書的上下文中，術語「一個/一種（a）」和「一個/一種（an）」係指該冠詞的語法對象的一個/一種或多於一個/一種（即，至少一個/一種）。藉由舉例，「一個/一種要素」意指一個/一種要素或多於一個/一種元素。

【0037】 術語「蛋白質」意指由肽鍵連接在一起的胺基酸組成之聚合物。術語「肽」也可能用來指代這樣的聚合物，即使在一些情況下肽可能會比蛋白質短（例如，由較少的胺基酸殘基組成）。術語「蛋白質」和「肽」在本文可互換地使用。

【0038】 如本文使用的，與疏水物質和化合物，例如LCPUFA，相

關的術語「氧化穩定性」意指疏水物質（例如LCPUFA或含有LCPUFA的油）的穩定性，在氧氣存在下的穩定性和抗氧化性或抗氧化降解性。因此，較高的氧化穩定性指示抗氧化性和抗氧化降解性更強。典型地，根據本揭露，關於藉由包封改進氧化穩定性意味著，在沒有根據本揭露之包封劑或在有替代包封劑的情況下觀察到的氧化穩定性的改進。

【0039】 根據本揭露之實施方式，在包含鮭油的微囊化組成物中用經修飾的乳清蛋白作為包封劑。藉由高剪切過程修飾乳清蛋白分離導致其平均粒徑降低，這可能是由於水溶性蛋白質聚合體的分離。特別地，經修飾的蛋白的平均粒徑為起始蛋白的約51%，二者都處於天然pH和鹼性pH（pH8）條件下。

【0040】 這種經修飾的蛋白被用作包封劑的關鍵組分提供噴霧乾燥的微囊化粉末，以穩定 ω -3油處於總油負載的高水平（> 45%總油負荷（w/w）（鮭油），特別是約49%），並且表面游離脂肪含量低於1.5% $\pm$ 0.1%（1.3% $\pm$ 0.5%和，在pH為8時，表面脂肪游離含量低於0.6% $\pm$ 0.1%）。得到的微囊化粉末也表現出極高的氧化穩定性，誘導期超過100小時，並且經4週快速暴露期後可接受的初級和次級氧化性能（包括過氧化值、茴香胺值、總品質以及腐臭和海洋氣味）。本文揭露的修飾過程可能可以運用於一系列蛋白質，以提供微囊化系統，該系統可用於延長各種易受疏水化合物的保質期，其中包括 ω -3油、類胡蘿蔔素、水不溶性維生素、酚類化合物、香料和香氣成分。

【0041】 據此，本揭露之具體實施方式提供了一種微囊化組成物，其包含一種或多種疏水物質，其中包封劑包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，並且其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經

受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。

【0042】 也提供了用經修飾的蛋白或肽包封一種或多種疏水物質之方法和組成物，以保護該一種或多種疏水物質免受氧化或氧化降解。可以藉由熟悉該項技術者熟知的任何合適之方法確定針對氧化或氧化降解之保護。

【0043】 本揭露之微囊化組成物可以是例如乳液的形式或可以是固體形式。乳液可包含水包油乳液。固體形式可以是粉末。粉末可以藉由例如噴霧乾燥乳液獲得。在一個實施方式中，組成物係自由流動的粉末。粉末的平均粒徑可以是約10 μm 與1000 μm 之間，或約50 μm 與800 μm 之間，或約100 μm 與300 μm 之間。在可替代的實施方式中，組成物可以是顆粒形式。

【0044】 藉由微囊化產生本揭露之組成物，其中包封劑包含經修飾的蛋白質和/或肽或由經修飾的蛋白質和/或肽組成。「經修飾的蛋白質」或「經修飾的肽」係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該經修飾的蛋白質或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。在一些實施方式中，本揭露之組成物或方法使用了一種或多種經修飾的蛋白質，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽從一種或多種起始蛋白分別獲取。

【0045】 本說明書中所提及的「蛋白質」可能指起始蛋白、經修飾的蛋白或指代二者，藉由關聯語境將會容易理解。

【0046】 高剪切過程可能會用於改變蛋白質的一個或多個屬性，例如其粒徑大小、溶解度、發泡、膠凝和/或乳化性能。由該等蛋白質和脂

肪的水溶液形成的乳劑的脂肪球的大小也可以降低，並且油的介面張力也可能被降低，特別地當使經修飾的蛋白質經受高剪切過程並且於鹼性pH的水溶液（例如pH約為8）中使用。任何適當的高剪切過程可能用於經修飾的蛋白，並且熟悉該項技術者熟知大量的高剪切過程。

【0047】 在一些實施方式中，高剪切過程係均質化過程。在一些示例性實施方式中，均質化過程可能是高壓均質化過程，其中蛋白質被迫在一個狹窄的間隙中高速流動。在一些實施方式中，均質化過程係微流化法。微流化過程使用高剪切速率以及統一的處理壓力，並且有利地提供了一致的奈米級粒徑大小和窄的顆度分佈。示例性的微流化設備可從美國微流體國際公司（**Microfluidics International Corporation**）。在一些示例性實施方式中，均質化過程可能是超音波壓力均質化過程，其中由媒介產生聲波壓力波來引起均質化。在一些實施方式中，均質化過程可能是機械均質化過程，例如使用轉子-定子均質器（例如具有多級）或葉片類均質器。有技能的讀者將理解本揭露之範圍不限於任何具體的均質化過程。

【0048】 在一些實施方式中，高剪切過程包括多次通過高剪切裝置。例如，在使用高壓均質化過程的實施方式中，物質可能會多次通過狹窄的間隙以達到所需的均質化。例如，高剪切過程可能包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多次通過。

【0049】 在一些實施方式中，高剪切過程包括使起始蛋白經受從約20 mPa到約300 mPa（例如從約50 mPa到約300 mPa，例如從約100 mPa到約300 mPa，例如從約100 mPa到約250 mPa，例如從約100 mPa到約200 mPa，例如從約125 mPa到約175 mPa，例如約150 mPa，或，可替代地，例如從約125 mPa到約300 mPa，例如從約150 mPa到約300 mPa，例

如從約175 mPa到約300 mPa，例如從約200 mPa到約300 mPa，例如從約225 mPa到約300 mPa，例如從約250 mPa到約300 mPa）的壓力。

【0050】 在一些實施方式中，高剪切過程包括均質化過程，該均質化過程包括使起始蛋白經受從約20 mPa到約300 mPa（例如從約50 mPa到約300 mPa，例如從約100 mPa到約300 mPa，例如從約100 mPa到約250 mPa，例如從約100 mPa到約200 mPa，例如從約125 mPa到約175 mPa，例如約150 mPa，或，可替代地，例如從約125 mPa到約300 mPa，例如從約150 mPa到約300 mPa，例如從約175 mPa到約300 mPa，例如從約200 mPa到約300 mPa，例如從約225 mPa到約300 mPa，例如從約250 mPa到約300 mPa）的壓力。

【0051】 在一些實施方式中，高剪切過程包括均質化過程，該均質化包括使起始蛋白經受持續1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多次通過的從約20 mPa到約300 mPa（例如從約50 mPa到約300 mPa，例如從約100 mPa到約300 mPa，例如從約100 mPa到約250 mPa，例如從約100 mPa到約200 mPa，例如從約125 mPa到約175 mPa，例如約150 mPa，或，可替代地，例如從約125 mPa到約300 mPa，例如從約150 mPa到約300 mPa，例如從約175 mPa到約300 mPa，例如從約200 mPa到約300 mPa，例如從約225 mPa到約300 mPa，例如從約250 mPa到約300 mPa）的壓力。

【0052】 在一些具體實施方式中，高剪切過程在鹼性環境下進行，例如鹼性水溶液，例如使蛋白質在pH約為8的水溶液中經受高剪切過程。

【0053】 可能會用使起始蛋白經受高剪切過程來提供與該起始蛋白相比平均粒徑減少的經修飾的蛋白或肽。特別地，經修飾的蛋白質或肽的

平均粒徑可能是該起始蛋白之平均粒徑的70%或更少，例如該起始蛋白之平均粒徑的約65%或更少。在一些實施方式中，經修飾的蛋白質或肽的平均粒徑可能是該起始蛋白之平均粒徑的60%或更少，例如該起始蛋白之平均粒徑的約55%或更少。蛋白質平均粒徑的減少可能會由任何適合之方法來確定，該方法對該熟悉該項技術者來說係很容易實現的。可能會用來確定該起始蛋白和該經修飾的蛋白或肽的平均粒徑，以此確定是否發生了減少的一個特別之方法係使用動態光散射原理，例如藉由使用瑪律文（Malvern）Zetasizer（瑪律文帕納科（Malvern Panalytical））。

【0054】 本揭露之範圍應當不限於提及的任何具體蛋白質。任何適合的起始和經修飾的蛋白質或肽可能會用於本揭露之組成物和方法中。該蛋白可能會以蛋白質片段的形式獲得，例如天然來源（如細胞或組織來源）獲得。細胞或組織來源可以獲得自任何合適的來源，如動物或植物來源。在一個示例性實施方式中，該蛋白質係乳清蛋白；該起始蛋白質係未經修飾的乳清蛋白分離物並且該經修飾的蛋白質係經修飾的乳清蛋白分離物。在另一個示例性實施方式中，蛋白質係乳清蛋白濃縮物；該起始蛋白質係未經修飾的乳清蛋白濃縮物並且該經修飾的蛋白質係經修飾的乳清蛋白濃縮物。在其他實施方式中，該蛋白質可能源於植物來源，並且可能包含，例如來自豌豆或大豆的蛋白質，或豌豆蛋白分離物或大豆蛋白分離物。

【0055】 任何適當分子量的蛋白質均可根據本揭露使用。例如，起始蛋白和/或經修飾的蛋白質或肽可能含有的分子量在約500 Da至約150 kDa的範圍內。例如，蛋白質的分子量可高達約500 Da、1 kDa、2 kDa、3 kDa、4 kDa、5 kDa、10 kDa、15 kDa、20 kDa、25 kDa、30 kDa、

35 kDa、40 kDa、45 kDa、50 kDa、55 kDa、60 kDa、65 kDa、70 kDa、75 kDa、80 kDa、85 kDa、90 kDa、95 kDa、100 kDa、105 kDa、110 kDa、115 kDa、120 kDa、125 kDa、130 kDa、135 kDa、140 kDa、145 kDa、或高達約150 kDa。

【0056】 任何適當分子大小的蛋白質均可根據本揭露使用。例如，起始蛋白和/或經修飾的蛋白質或肽可能含有的粒子半徑在約0.5 nm至約5 nm的範圍內。例如，蛋白質可能會有的粒子半徑為約0.5 nm、0.6 nm、0.7 nm、0.8 nm、0.9 nm、1.0 nm、1.1 nm、1.2 nm、1.3 nm、1.4 nm、1.5 nm、1.6 nm、1.7 nm、1.8 nm、1.9 nm、2.0 nm、2.1 nm、2.2 nm、2.3 nm、2.4 nm、2.5 nm、2.6 nm、2.7 nm、2.8 nm、2.9 nm、3.0 nm、3.1 nm、3.2 nm、3.3 nm、3.4 nm、3.5 nm、3.6 nm、3.7 nm、3.8 nm、3.9 nm、4.0 nm、4.1 nm、4.2 nm、4.3 nm、4.4 nm、4.5 nm、4.6 nm、4.7 nm、4.8 nm、4.9 nm、或約5.0 nm。

【0057】 可以在乳液或組成物製備的任何階段將該經修飾的蛋白和/或肽引入乳液或組成物中，使得形成均質水性分散體或漿液。熟悉該項技術者將能夠優化待引入蛋白質和/或肽的量和分子量而無需過多的負擔或實驗。在一些較佳的實施方式中，蛋白質和/或肽的分子量應足夠低以促進微囊化，而該蛋白質和/或肽的量應足夠提供作為包封劑的有效保護。在水包油乳液的情況下，還應控制黏度。如果黏度太高，則可能妨礙噴霧乾燥。確定適當的蛋白質含量和適當的黏度完全在熟悉該項技術者的能力範圍內。

【0058】 在示例性實施方式中，經修飾的蛋白和/或肽可能會以基於組成物的總重量的約3% (w/w) 與約30% (w/w) 之間存在或者以基於組成

物的總重量的3% (w/w) 與約25% (w/w) 存在。在水包油乳液的情況下，這意味著基於水相加油相的總重量約3% (w/w) 與約30% (w/w) 之間以及約3% (w/w) 和約25% (w/w) 之間。例如，基於組成物的總重量，蛋白質和/或肽可以以3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%或30% w/w存在。

【0059】 在本文描述的具體的實施方式中，包封劑除經修飾的蛋白質和/或肽外還包含化合物、物質或基團。例如，包封劑可包含經修飾的蛋白質以及一種或多種多糖或碳水化合物的組合。例如，具有還原糖官能基的碳水化合物可以與蛋白質、右旋糖（包括右旋糖一水合物）、葡萄糖、乳糖、蔗糖、寡糖和葡萄糖乾漿反應。在另外的實施方式中，可以將多糖、高甲氧基果膠或角叉菜膠添加到在一些配製物中的蛋白質-碳水化合物混合物中。需要注意的是使蛋白質和碳水化合物反應以確保該等條件不會導致蛋白質的廣泛膠凝或凝結，因為這會使蛋白質不能形成良好的薄膜。

【0060】 在一個示例性實施方式中，本揭露之組成物可能藉由在含有經修飾的蛋白質的水相中使包封劑的多糖或碳水化合物組分溶解，視需要使用高剪切混合器。然後可將混合物加熱至約50°C至80°C的溫度，此後如果需要可添加一種或多種抗氧化劑。疏水物質可以連續地加入到水性混合物中，使其通過高剪切混合器以形成粗乳液。然後可以使粗乳液通過均質化。如果需要製備粉末產物，可將乳液加壓並在約180°C的入口溫度和80°C的出口溫度下噴霧乾燥。

【0061】 藉由舉例，合適的多糖和碳水化合物組分可包含麥芽糖糊精、右旋糖（包括右旋糖一水合物）、葡萄糖、乳糖、蔗糖、寡糖和葡萄

糖乾漿、或其一種或多種的組合。在進一步的實施方式中，可以將多糖、高甲氧基果膠或角叉菜膠添加到在一些配製物中的蛋白質-碳水化合物混合物中。需要注意的是使蛋白質和碳水化合物反應以確保該等條件不會導致蛋白質的廣泛膠凝或凝結，因為這會使蛋白質不能形成良好的薄膜。經修飾的蛋白質與包封劑中多糖或碳水化合物組分的比率（按重量計）可以是，例如約3：1、2.5：1、2：1、1.5：1、1：1、1：1.5、1：2、1：2.5、1：3、1：3.5、1：4、1：4.5、1：5、1：5.5、1：6、1：6.5、1：7、1：7.5、1：8、1：8.5、1：9、1：9.5或1：10。

【0062】 在特定的實施方式中，包封劑的蛋白質組分與包封劑的碳水化合物組分的比率（按重量計）可以是從約1：10至約1：1.5。例如，蛋白質組分與碳水化合物組分的比率可以是約1：10、1：9.5、1：9、1：8.5、1：8、1：7.5、1：7、1：6.5、1：6、1：5.5、1：5、1：4.5、1：4、1：3.5、1：3、1：2.5、1：2或1：1.5。蛋白質組分與碳水化合物組分的比率可以是從約1：5至約1：1.5，例如約1：4、1：3、1：2.9、1：2.8、1：2.7、1：2.6、1：2.5、1：2.4、1：2.3、1：2.2、1：2.1、1：2、1：1.9、1：1.8、1：1.7、1：1.6或1：1.5。蛋白質組分與碳水化合物組分的比率可以是從約1：2至約1：1.9，例如約1：2、1：1.99、1：1.98、1：1.97、1：1.96、1：1.95、1：1.94、1：1.93、1：1.92、1：1.91或1：1.9。在示例性實施方式中，蛋白質組分與碳水化合物組分之比率係約1：1.99。

【0063】 多糖或碳水化合物組分的DE值可以是約0與100之間、約10與70之間、約20與60之間、或約20與40之間。DE值可以是約0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、

85、90、95或100。

【0064】 技術人員將理解，可替代的碳水化合物來源也可以與一種或多種低分子量蛋白質組合用於包封劑中。例如，碳水化合物來源可以包含辛烯基琥珀酸酐修飾的澱粉和一種或多種、或兩種或更多種還原糖來源，其中右旋糖當量值在約0與80之間，如先前在WO 2012/106777中所述，將該專利的揭露內容藉由引用併入本文。簡言之，澱粉可以包含一級和/或二級修飾，並且可以是酯或半酯。合適的辛烯基琥珀酸酐修飾的澱粉包括例如基於糯玉米並且由澳大利亞新南威爾士州七山小鎮（Seven Hills, NSW, Australia）的Ingredion ANZ私人有限公司（Ingredion ANZ Pty Ltd）以商品名PURITY GUM[®]、CAPSUL[®] IMF和HI CAP[®] IMF出售的那些。辛烯基琥珀酸酐修飾的澱粉可以以小於組成物總重量的約18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6.5%、6%、5.5%、5%、4.5%、4%、3.5%、3%、2.5%、2%或小於1%的量存在。

【0065】 還原糖的來源係熟悉該項技術者熟知的，並且包括單糖和二糖，例如葡萄糖、果糖、麥芽糖、半乳糖、甘油醛和乳糖。合適的還原糖的來源還包括寡糖，例如葡萄糖聚合物，如糊精和麥芽糖糊精以及葡萄糖漿固體。還原糖還可以衍生自葡萄糖漿，其通常含有不小於20%重量的還原糖。

【0066】 根據本揭露之微囊化組成物的表面游離脂肪含量可以是小於或約10%、小於或約9%、小於或約8%、小於或約7%、小於或約6%、小於或約5%、小於或約4%、小於或約3%、小於或約2.5%、小於或約2.4%、小於或約2.3%、小於或約2.2%、小於或約2.1%、小於或約2%、

小於或約1.9%、小於或約1.8%、小於或約1.7%、小於或約1.6%、小於或約1.5%、小於或約1.4%、小於或約1.3%、小於或約1.2%、小於或約1.1%、或者小於或約1%，或小於約0.8%。特別地，在較佳的實施方式中，表面游離脂肪含量小於約1.8%，例如小於約1.5%，例如小於約1.4%，例如小於約1%。在一些實施方式中，例如其中使蛋白質在鹼性pH下經受高剪切過程，例如在pH約為8的條件下，表面游離脂肪含量可能小於約1%，例如小於約0.8%。在特定的實施方式中，該表面游離脂肪含量在衍生自或產自乳液的粉末中確定。

【0067】 可測量根據本揭露之微囊化組成物的氧化穩定性，例如，就誘導期而言，例如使用ML Oxipres（Mikrolab Aarhus），如下文實例7中描述（「Oxipres」係對潛在氧化穩定性的間接測量）。在特別較佳的實施方式中，根據本揭露在70°C，壓強為5巴下測量微囊化組成物的誘導期為至少約50小時，例如至少約60小時，例如至少約70小時，例如至少約80小時，例如至少約90小時。在一些實施方式中，誘導期為至少約100小時。在一些實施方式中，誘導期為至少約120小時，例如至少約130小時。

【0068】 本揭露之組成物和乳劑包含一種或多種疏水物質。術語「疏水物質」包括純疏水化合物、疏水混合物以及疏水組成物。疏水物質可能是根據本揭露可以進行微囊化的任意疏水化合物或組成物。根據本揭露可以用的疏水物質的實例包括生物活性劑（例如LCPUFA和包含LCPUFA、類胡蘿蔔素的油）、水不溶性維生素（例如維他命A、維他命D、維他命E和維他命K）、酚類化合物、香料和芳香化合物以及食用油。當向受體施用時，疏水物質可能會提供一種或多種健康益處。在具體的實

施方式中，疏水物質可能是一種或多種LCPUFA，或含該一種或多種LCPUFA的油。這樣的油可以是天然存在的或天然衍生的，或者可以是合成自遺傳修飾的或非遺傳修飾的來源。在本揭露之上下文中，術語「天然存在的」和「天然衍生的」包括油和脂質組成物，其可以從天然來源（如本文列出的生物體）中提取，或者可以衍生自或修飾自在該等天然來源中發現的油或一種或多種脂質。技術人員將理解，本揭露之範圍不限於提及的疏水性物質的特性或來源，或一種或多種LCPUFA或包含該一種或多種LCPUFA的一種或多種油的特性或來源。

【0069】 可以是或可以被修飾為含有LCPUFA或富含LCPUFA的示例性油，或者可以在不修飾其LCPUFA內容物的情況下使用的示例性油包括來自海洋生物體的油，例如像甲殼綱動物如磷蝦，軟體動物如蠔，和魚類如鯖、鮭魚、鱒魚、沙丁魚、鯖魚、鱸魚、鯡魚、鯉、皮爾徹德魚（pilchard）、鰻魚、鰻魚或銀魚。油可以來自一種或多種如本文列出的那些海洋生物體的魚子。在示例性實施方式中，油係或包含鯖油、磷蝦油或來自魚子的脂質提取物。在具體的實施方式中，疏水物質係鯖油。

【0070】 可以是或可以被修飾為含有LCPUFA或富含LCPUFA的其他示例性油，或可以在不修飾其LCPUFA內容物的情況下使用的其他示例性油，其包括植物來源和微生物來源。植物來源包括但不限於亞麻籽、核桃、葵花籽、油菜、紅花、大豆、小麥胚芽、玉米和綠葉植物如羽衣甘藍、菠菜和歐芹。微生物來源包括藻類和真菌。

【0071】 疏水物質可以以組成物總重量的約0.1%與80%之間的量、或以組成物總重量的約1%與80%之間的量、或以約1%與75%之間的量、或以約5%與80%之間的量、或以約5%與75%之間的量、或以約5%與70%

之間的量存在。在示例性實施方式中，其中油係鯖油，該油可以以組成物總重量的約2%、4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、20%、22%、24%、26%、28%、30%、32%、34%、36%、38%、40%、42%、44%、46%、48%、49%、50%、52%、54%、56%、58%、60%、62%、64%、66%、68%、70%、72%、74%、76%、78%或80%的量存在。

【0072】 包含LCPUFA的疏水物質通常包含一種或多種 ω -3脂肪酸和/或一種或多種 ω -6脂肪酸，或其混合物。脂肪酸可包括DHA、AA、EPA、DPA和/或十八碳四烯酸（SDA），或其混合物。在一個實施方式中，脂肪酸包含DHA和EPA。

【0073】 本揭露期望的組成物可進一步包含另外的組分，例如抗氧化劑、抗結塊劑、調味劑、著色劑、維生素、礦物質、胺基酸、螯合劑等。

【0074】 合適的抗氧化劑係熟悉該項技術者熟知的，並且可以是水溶性的或油溶性的。合適的水溶性抗氧化劑包括例如，抗壞血酸鈉、抗壞血酸鈣、抗壞血酸鉀、抗壞血酸、麩胱甘肽、硫辛酸和尿酸。在實施方式中，水溶性抗氧化劑可以以總組成物的約0-10% wt/wt的範圍存在於組成物中。合適的油溶性抗氧化劑包括例如，生育酚、抗壞血酸棕櫚酸酯、生育三烯酚、酚類、多酚等。在實施方式中，油溶性抗氧化劑以總組成物的約0-10% wt/wt的範圍存在於油相中。

【0075】 與本揭露之組成物相容的抗結塊劑在熟悉該項技術者中是熟知的，並且包括磷酸鈣，如磷酸三鈣和碳酸鹽，如碳酸鈣和碳酸鎂以及二氧化矽。

【0076】 組成物可進一步包含一種或多種低分子量乳化劑。合適的

低分子量乳化劑包括例如單甘油酯和二甘油酯、卵磷脂和脫水山梨糖醇酯。其他合適的低分子量乳化劑係熟悉該項技術者熟知的。低分子量乳化劑可以以組成物總重量的約0.1%與3%之間的量、或以組成物總重量的約0.1%與約2%之間的量、或以約0.1%與0.5%之間的量、或以約0.1%與0.3%之間的量存在。例如，低分子量乳化劑可以以組成物總重量的約0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%或2%的量存在。

【0077】 本文期望的組成物可以配製用於藉由任何合適的途徑給予受試者，通常是口服給予。組成物可以是液體或固體形式，並且可以照此（例如以糖漿或其他合適的液體形式，或者作為膠囊或其他合適的固體形式）消費。可替代地，組成物可以摻入食品或飲料產品中。

【0078】 熟悉該項技術者將理解，在不脫離廣泛描述的本發明之精神或範圍的情況下，可以對本發明進行許多改變和/或修改。因此，本發明之實施方式在所有方面都被認為係說明性的而非限制性的。

【0079】 本說明書中對任何在先公開文檔（或從其中所得到的資訊）的提及或者對任何已知的事物的提及不是並且不應當被理解為這樣一種承認或准許或任何形式之暗示，即該在先公開文檔（或從其中得到的資訊）或已知的事物形成了在本說明書所關於的研究領域內的公知常識之一部分。

【0080】 現在將藉由對以下具體實例的提及更詳細地進一步描述本發明，該等實例不應以任何方式被解釋為限制本發明之範圍。

實例

實例1-乳清蛋白分離物的修飾

【0081】 乳清蛋白分離物（WPI）和乳清蛋白濃縮物（WPC）分別於10%（w/w）在水中溶解。調整部分WPI溶液的pH值到8。於50°C溫和剪切下攪動溶液（WPI、WPC和WPI（pH 8））30分鐘。隨後，混合物在1500巴（150 mPa）下均質化6次通過以誘導對乳清蛋白的修飾。在均質化過程中，用冰塊維持WPI和WPC的溫度在60°C以下。

實例2-蛋白質水溶液的粒徑分析

【0082】 藉由動態光散射原理，用了瑪律文（Malvern）Zetasizer測量實例1中獲得的未經修飾的乳清蛋白分離物（uWPI）和經修飾的乳清蛋白分離物（mWPI）和未經修飾的乳清蛋白聚合物（uWPC）和經修飾的乳清蛋白聚合物（mWPC）1.0% w/w溶液的蛋白質粒徑。反向散射（BS）檢測廣泛的粒徑，而前向散射（FS）捕獲更大的粒徑範圍。結果如下表1所示。

[表1]

Z-Av (nm)	uWPI	mWPI (天然 pH)	mWPI (pH 8)	uWPC	mWPC (天然pH)
BS	88.4 ± 4.3	45.3 ± 6.6	44.5 ± 14.7	84.7 ± 0.9	52.0 ± 0.3
FS	739.2 ± 31.2	367.8 ± 52.4	293.3 ± 147.4	258.2 ± 9.8	150.2 ± 6.3

【0083】 所有的樣本皆為多分散的，因此非常大的分子的存在可以極大影響平均粒徑大小（Z-Av），如表1所示。不考慮pH，經修飾的乳清蛋白分離物（mWPI），與未經修飾的乳清蛋白分離物（uWPI）在蛋白值粒徑上明顯減小。這被認為係由於壓力改性主要分離可溶性蛋白質聚集物，如FS結果所示uWPC與uWPI的平均分子粒徑相似但可溶性蛋白質聚集物要小得多。壓力改性的程度對乳清蛋白聚合物（WPC）粒徑減小的

影響程度係相似的。對WPI和WPC進行1500巴/6次通過的壓力改性，平均蛋白質分子粒徑幾乎減小2倍。

實例3-蛋白質水溶液的表面電荷分析

【0084】 用Zetasizer（測量電動電位）測量在天然pH（例如無任何pH調節）和pH為8下，實例1中獲得的uWPI和mWPI1.0% w/w水溶液/分散劑的表面電荷。結果示於下表2中。

[表2]

ZP (mV)	uWPI	mWPI (天然pH)	mWPI (pH 8)
1.0% w/w	-17.0 ± 0.6	-16.34 ± 1.1	-18.8 ± 0.9

【0085】 mWPI溶液表面電荷（Zetapotential；ZP）的輕微差別可以歸因於可溶性蛋白質聚合物減少。用鹼性pH為8改善WPI的水合性質並且觀察到負表面電荷。

實例4-含有玉米油的蛋白質水溶液的介面張力

【0086】 實例1中獲取的uWPI和mWPI的1.0% w/w水溶液的介面張力如圖1所示。

【0087】 含水玉米油的介面張力大約為27 mN/m。1.0% w/w WPI溶液有效地減少含水玉米油的介面張力，表現出良好的表面活性及介面吸附性能。因此，較低的平均分子粒徑、更好的水合作用（pH8）的mWPI溶液，與uWPI溶液相比，向介面的擴散速度更快，進一步降低了介面張力值。

實例5-蛋白質/油乳劑

【0088】 用實例1中獲取的uWPI和mWPI的1% w/w水溶液以及含有

混合天然生育酚的精製鮭油製備水包油乳劑（蛋白質和油的重量比為1：3）。在10,000 RPM下，用UltraTurrax，經10分鐘使WPI溶液和鮭油的混合物粗均質化。基於雷射器衍射原理，用測粒儀（Particle Sizer）（英國瑪律文儀器有限公司（Malvern Instruments），Mastersizer MS3000）測量中位油球尺寸d（0.5）和平均油球尺寸D[4.3]（以微米計）；結果顯示於下文表3中。如表3所示「EAI」指乳化活性指數並且「ESI」指乳化穩定性指數。EAI反映了蛋白質在油-水介面吸收的能力，ESI在抗乳液不穩定性中的作用，例如絮凝和膏化。

[表3]

		uWPI	mWPI（天然）	mWPI（pH 8）
第0天	d(0.5)	4.5 ± 0.5	4.0 ± 0.7	2.5 ± 0.3
	D[4,3]	6.3 ± 2.1	5.1 ± 1.2	4.1 ± 0.4
第4天	d(0.5)	6.2 ± 0.6	5.1 ± 1.1	3.1 ± 0.3
	D[4,3]	16.5 ± 3.7	7.2 ± 0.9	6.5 ± 1.5
第7天	d(0.5)	9.2 ± 1.0	11.0 ± 3.6	3.9 ± 1.0
	D[4,3]	28.0 ± 11.9	27.7 ± 19.0	16.5 ± 9.0
EAI (m ² /g)		0.0099 ± 0.0004	0.0104 ± 0.0015	0.0114 ± 0.0007
ESI (mins)		38.78 ± 3.58	85.37 ± 26.19	362.9 ± 141.62

【0089】 mWPI（pH 8）的情況下，中位油球大小d(0.5)和平均油球大小D[4.3]更小。不考慮修飾或pH的改變，這兩個參數隨時間增加，但是在mWPI（pH 8）下，貯存時間為1週後，改變的幅度最小。這說明mWPI（pH 8）溶液具有較好的介面活性，如實例4所示並且隨著時間的推移，乳液的吸附行為具有良好的穩定性。

實例6-用未經修飾的和經修飾的蛋白包封劑對疏水物質包封

【0090】 用實例1中獲得的未經修飾的乳清蛋白分離物（uWPI）和

經修飾的乳清蛋白分離物（mWPI）製備微囊化組成物。使用含有混合天然生育酚的精製鮭油作為疏水核心物質。每種微囊化組成物的配方見下表4所示。每種組成物的製備方法如圖2所描述並且在下文中詳細討論。

[表4]. 鮭油微囊化粉末的配方

	乳清蛋白微囊化粉末
WPI	15.00
一水合葡萄糖	14.50
葡萄糖乾漿（DE值為30）	15.10
抗壞血酸鈉	5.35
鮭油	50.00
抗氧化劑	0.05
總計	100

用uWPI和碳水化合物包封劑製備微囊化粉末組成物（「uWPI微囊化粉末」）

【0091】 WPI（15.00%（w/w））、一水合葡萄糖（14.50%（w/w））、葡萄糖乾漿（DE值為30）（15.10%（w/w））以及抗壞血酸鈉（5.35%（w/w））溶解於水中。在50°C下，水相在溫和的剪切作用下被攪動，持續35分鐘。然後加入含有抗氧化劑的鮭油（50.05%（w/w）），然後按如下方法製備乳劑：在10,000 rpm下，經10-15分鐘使用高剪切混合製備粗乳劑，然後在400/200巴（總計600巴）下，經過持續3次通過的兩級均質化，以製備細乳液。使用臺式噴霧乾燥機，進出口溫度分別為170°C和90°C-100°C，噴霧乾燥，最終得到油包水乳劑。在N₂下，其作為保護氣體，製備的粉末用鋁製小袋包裝。uWPI粉末在使用前在25°C下存儲。uWPI粉末的總油載量為50%（w/w）。

用mWPI和碳水化合物包封劑製備微囊化粉末組成物（「mWPI微囊化粉末」）

【0092】 按在實例1中的描述修飾WPI。在50°C下，添加葡萄糖乾漿（DE值為30）（15.10%（w/w）以及抗壞血酸鈉（5.35%（w/w））到mWPI一水合葡萄糖的水相（14.50%（w/w））中。添加含有混合天然生育酚的精製鮭油（50.05%（w/w）），之後按如下製備乳劑：在10,000 rpm下，經10-15分鐘使用高剪切混合製備粗乳劑，然後在400/200巴（40/20 mPa）（總計600巴（60 mPa））下，經過持續3次通過的兩級均質化，以製備細乳液。使用臺式噴霧乾燥機，進出口溫度範圍分別為170°C和90°C-100°C，噴霧乾燥，最終得到油包水乳劑。在N₂下，其作為保護氣體，製備的粉末用鋁製小袋包裝。mWPI粉末的總油載量為50%（w/w）。
用mWPI（pH 8的溶劑）和碳水化合物包封劑製備微囊化粉末組成物（「mWPI微囊化粉末（pH 8）」）。

【0093】 按在實例1中的描述修飾並將WPI溶液的pH調整至8。在50°C下，添加葡萄糖乾漿（DE值為30）（15.10%（w/w）以及抗壞血酸鈉（5.35%（w/w））到mWPI一水合葡萄糖的水相（14.50%（w/w））中。添加含有混合天然生育酚的精製鮭油（50.05%（w/w）），之後按如下製備乳劑：在10,000 rpm下，經10-15分鐘使用高剪切混合製備粗乳劑，然後在400/200巴（40/20 mPa）（總計600巴（60 mPa））下，經過持續3次通過的兩級均質化，以製備細乳液。使用臺式噴霧乾燥機，進出口溫度範圍分別為170°C和90°C-100°C，噴霧乾燥，最終得到油包水乳劑。在N₂下，其作為保護氣體，製備的粉末用鋁製小袋包裝。mWPI粉末的總油載量為50%（w/w）。

實例7-微膠囊粉末中表面游離脂肪和氧化穩定性的評價

【0094】 作為一個快速可靠的儀器分析法，使用Oxipres分析微囊

化粉末的氧化穩定性。共含 4 g 油的微囊化粉末在容器中密封並在 5 巴（0.5 mPa）氧氣下加熱至 70°C。將容器中氧氣壓力開始下降的時間記錄為誘導期（IP），意味著氧化出現。圖 3 顯示了含有 ω-3 油微囊化粉末對比經美拉德反應產物（MRP）包封的含有 ω-3 油微膠囊粉末的 Oxipres 分析結果，如 US 7374788B2 中所描述。

【0095】藉由將粉末置於石油溶劑油中一段時間（15 分鐘）以提取表面游離脂肪，來測量表面游離脂肪的百分比；藉由濾紙去除壁材/包封油，然後蒸發含有「洗淨」油脂的溶劑，剩餘重量即油脂除以所用粉末的重量 (g)，乘以 100%，得到表面游離脂肪%。結果示於下表 5 中。

[表 5]

	uWPI	mWPI (天然pH)	mWPI (pH 8)
總脂肪含量 (%)	49.0	49.0	49.0
表面游離脂肪 (%)	2.2 ± 0.7	1.3 ± 0.5	0.6 ± 0.1

【0096】如圖 3 所示，藉由使用經修飾的蛋白包封劑極大增加了誘導期。如表 5 所示，與 uWPI 相比 mWPI 微囊化粉末明顯表現出較低的表面游離脂肪（SFF）值。mWPI（pH 8）有不到 1% 的 SFF，符合典型粉末要求，同時也提供了高（約 50%）載油量和良好的氧化穩定性。所有的樣本都藉由 Oxipres（70°C，5 巴），經過超 100 小時的 IP，表現出良好的氧化穩定性。

【0097】下表 6 進一步說明了初級和次級氧化性能方面良好的氧化穩定性，其中微囊化粉末經過 4 週的暴露達到了 40°C 的溫度。4 週後，所有樣本均符合過氧化值（POV；5 meq O₂/Kg 脂肪）及茴香胺值（p-AV；

20) 的要求。

[表6]

樣本 (50%載 油量)	基線			加速的 2週			加速的 4週		
	總脂肪 (%)	POV (meq O ₂ /Kg 脂肪)	PAV	總脂肪 (%)	POV (meq O ₂ /Kg 脂肪)	PAV	總脂肪 (%)	POV (meq O ₂ /Kg 脂肪)	PAV
uWPI	49.2	0.8	4.8	49.2	0.9	3.9	49.4	0.7	2.8
mWPI (天然)	49.5	0.6	4.3	49.8	0.5	4.1	49.3	0.6	3.1
mWPI (pH 8)	49.7	1.2	4.5	49.5	0.5	3.3	49.7	0.8	2.4

【0098】 經過4週的快速暴露期，評估了微膠囊化uWPI及mWPI的感官屬性。結果見圖4和5。15分的最高分數表示優秀的品質/屬性。在儲藏期結束時，所有樣本的整體品質（圖4）被評為良好，沒有可察覺的腐臭和海洋氣味和味道（圖5）。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種微囊化組成物，其包含用包封劑包封的一種或多種疏水物質，其中該包封劑包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽；並且其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。

【請求項2】

如請求項1之微囊化組成物，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係該起始蛋白之平均粒徑的約70%或更少。

【請求項3】

如請求項2之微囊化組成物，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係該起始蛋白之平均粒徑的約65%或更少。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之微囊化組成物，其具有低於約1.8%的表面脂肪游離含量。

【請求項5】

如請求項4之微囊化組成物，其具有低於約1%的表面脂肪游離含量。

【請求項6】

如請求項5中之微囊化組成物，其具有低於約0.8%的表面脂肪游離含量。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之微囊化組成物，其中該高剪切過程在鹼性pH下進行。

【請求項8】

如請求項7之微囊化組成物，其中該高剪切過程在約為8的pH下進行。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之微囊化組成物，其中該高剪切過程包含使該起始蛋白經受從約20 mPa至約300 mPa的壓力。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之微囊化組成物，其中該高剪切過程係均質化過程。

【請求項11】

如請求項1至10中任一項之微囊化組成物，其中該高剪切過程係微流化過程。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之微囊化組成物，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽呈蛋白質片段之形式。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之微囊化組成物，其中該經修飾的蛋白係經修飾的乳清蛋白。

【請求項14】

如請求項1至13中任一項之微囊化組成物，其中該包封劑進一步包含一種或多種碳水化合物。

【請求項15】

如請求項14之微囊化組成物，其中該一種或多種碳水化合物選自葡萄糖糖漿和一水合葡萄糖，或其組合。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之微囊化組成物，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽以基於該組成物的總重量的從約3% w/w至約25% w/w存在。

【請求項17】

如請求項1至16中任一項之微囊化組成物，其中該包封劑的經修飾的蛋白組分與該包封劑的碳水化合物組分之比率係在約1：10至1：1之範圍。

【請求項18】

如請求項1至17中任一項之微囊化組成物，其中該疏水物質係食用油。

【請求項19】

如請求項1至18中任一項之微囊化組成物，其中該疏水物質包含一個或多個長鏈多不飽和脂肪酸（LCPUFA）。

【請求項20】

如請求項19之微囊化組成物，其中該LCPUFA包含 ω -3脂肪酸和/或 ω -6脂肪酸。

【請求項21】

如請求項19或20之微囊化組成物，其中該LCPUFA以甘油三酯形式存在。

【請求項22】

如請求項19至21中任一項之微囊化組成物，其中該LCPUFA存在於一種或多種含有LCPUFA的油中。

【請求項23】

如請求項22之微囊化組成物，其中該一種或多種油包含魚油。

【請求項24】

如請求項23之微囊化組成物，其中該魚油係鮭油。

【請求項25】

如請求項1至24中任一項之微囊化組成物，其中該組成物進一步包含維生素C的至少一個來源。

【請求項26】

如請求項1至25中任一項之微囊化組成物，其中該組成物呈水包油乳液之形式。

【請求項27】

如請求項1至26中任一項之微囊化組成物，其中該組成物呈噴霧乾燥粉末之形式。

【請求項28】

一種保護疏水物質免受氧化降解之方法，該方法包括：

使起始蛋白經受高剪切過程以製備一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低；並且

用包含該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的包封劑包封一種或多種疏水物質。

【請求項29】

一種改進疏水物質氧化穩定性之方法，該方法包括：

使起始蛋白經受高剪切過程以製備一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低；並且

用包含該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的包封劑包封一種或多種疏水物質。

【請求項30】

一種減少包含用包封劑包封的一種或多種疏水物質的微囊化組成物的表面游離脂肪之方法，該方法包括使起始蛋白經受高剪切過程以製備一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低；並且

用包含該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的包封劑包封該一種或多種疏水物質。

【請求項31】

如請求項28至30中任一項之方法，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係該起始蛋白之平均粒徑的約70%或更少。

【請求項32】

如請求項31之方法，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係該起始蛋白之平均粒徑的約65%或更少。

【請求項33】

如請求項28至32中任一項之方法，其中該高剪切過程在鹼性pH下進行。

【請求項34】

如請求項33之方法，其中該高剪切過程在約為8的pH下進行。

【請求項35】

如請求項28至34中任一項之方法，其中該疏水物質包含一種或多種LCPUFA。

【請求項36】

如請求項35之方法，其中該一種或多種LCPUFA呈甘油三酯形式。

【請求項37】

一種包含疏水物質的穩定乳液，其中該乳液進一步包含一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，並且其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。

【請求項38】

如請求項37之穩定乳液，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係該起始蛋白之平均粒徑的約70%或更少。

【請求項39】

如請求項38之穩定乳液，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑係該起始蛋白之平均粒徑的約65%或更少。

【請求項40】

如請求項37至39中任一項之穩定乳液，其中該高剪切過程在鹼性pH下進行。

【請求項41】

如請求項40之穩定乳液，其中該高剪切過程在約為8的pH下進行。

【請求項42】

如請求項37至41中任一項之穩定乳液，其中該疏水物質包含一種或多種LCPUFA。

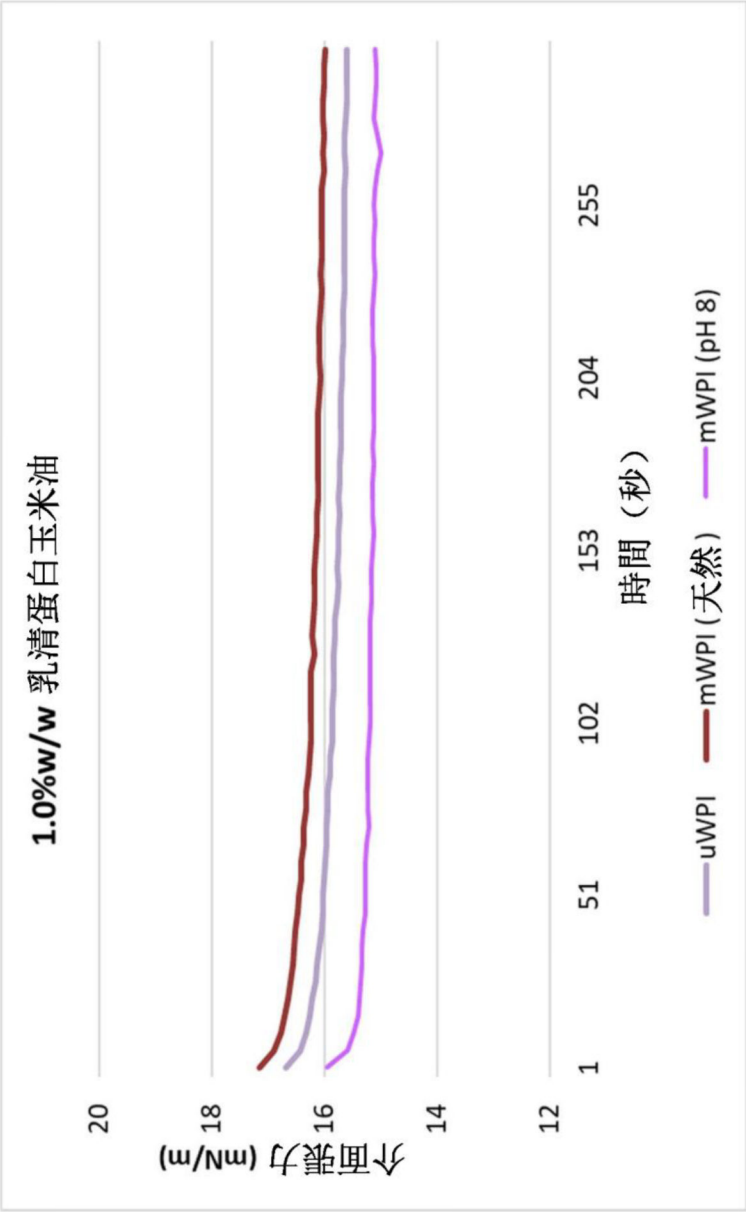
【請求項43】

如請求項42之穩定乳液，其中該LCPUFA以甘油三酸酯形式存在。

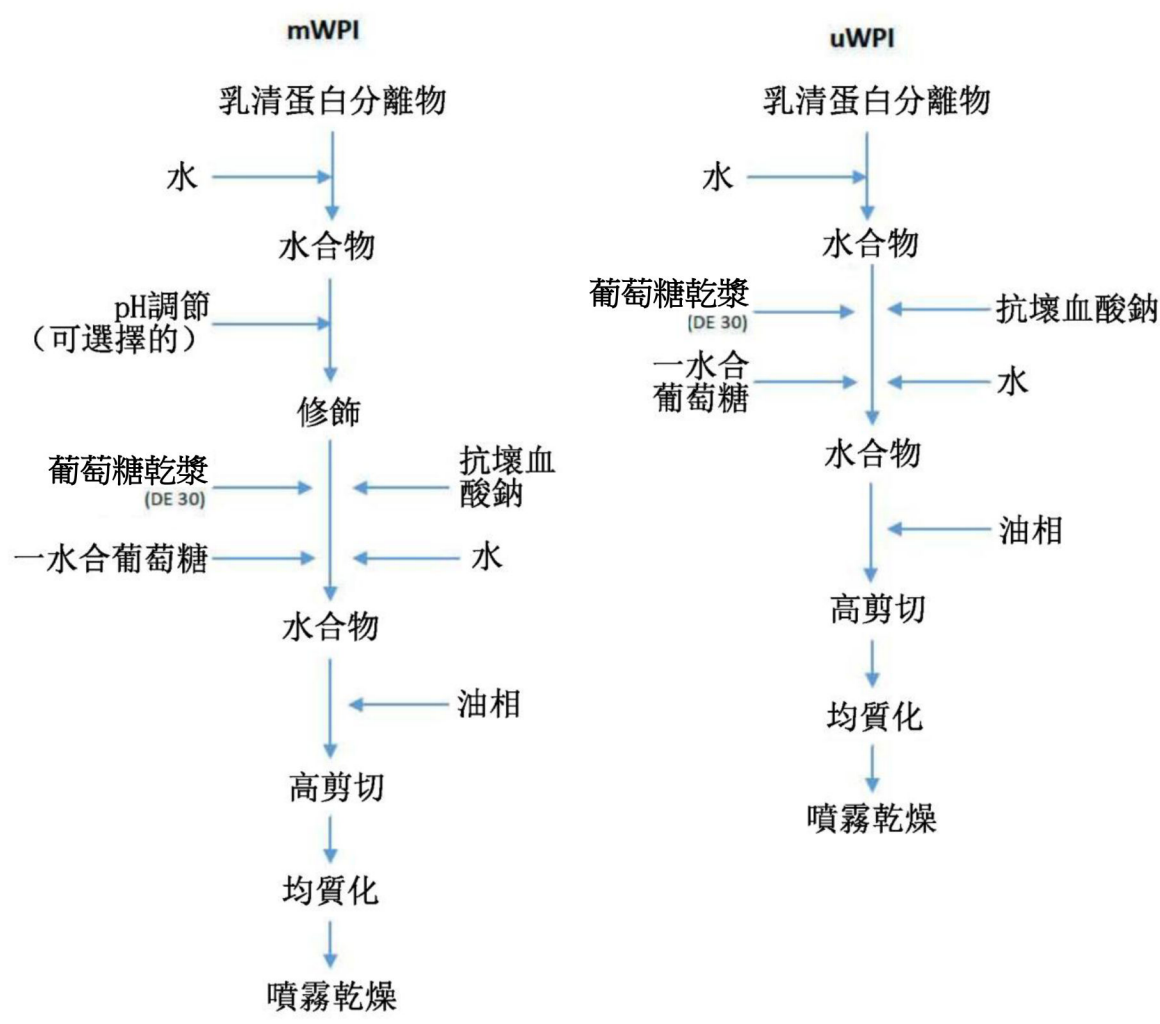
【請求項44】

一種組成物，其包含疏水物質以及一種或多種經修飾的蛋白和/或肽，其中該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽係藉由使起始蛋白經受高剪切過程從該起始蛋白中獲得的，如此使得該一種或多種經修飾的蛋白和/或肽的平均粒徑相對於該起始蛋白降低。

【發明圖式】



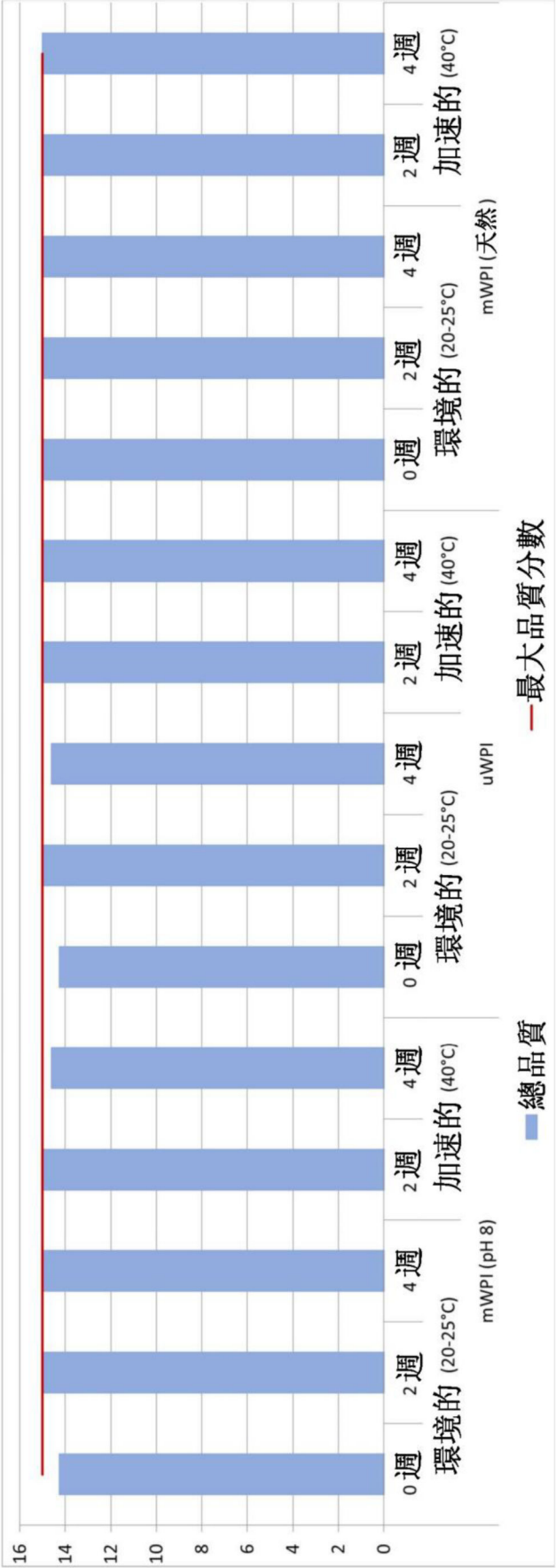
【圖 1】



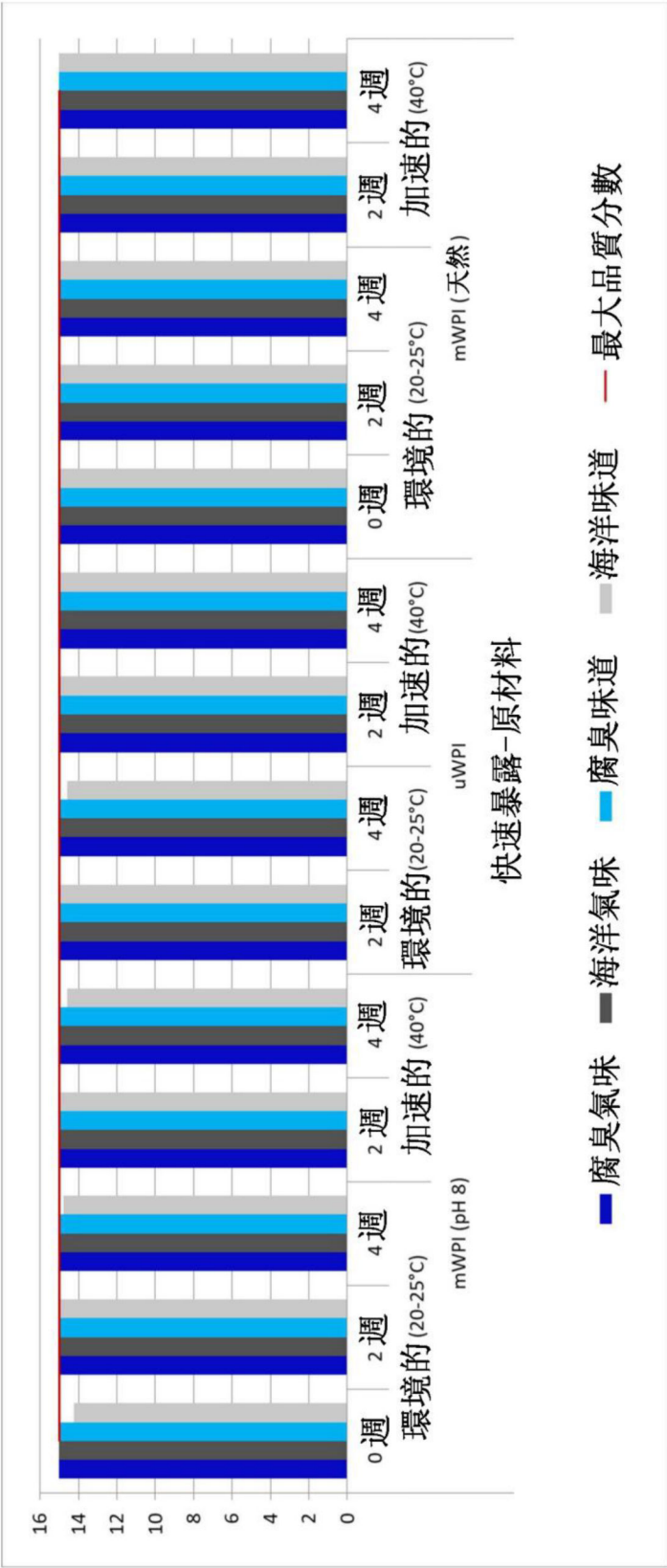
【圖2】



【圖 3】



【圖 4】



【圖 5】