



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105228457 B

(45) 授权公告日 2021.08.06

(21) 申请号 201480029216.9

(22) 申请日 2014.04.19

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105228457 A

(43) 申请公布日 2016.01.06

(30) 优先权数据

61/813,663 2013.04.19 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015.11.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IL2014/050368 2014.04.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/170904 EN 2014.10.23

(73) 专利权人 迪格玛斯玛特有限公司

地址 开曼群岛大开曼岛阿格兰屋

(72) 发明人 阿德尔·彭哈西

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51) Int.CI.

A23C 9/123 (2006.01)

A23C 9/127 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/225 (2006.01)

(56) 对比文件

WO 2012020403 A1, 2012.02.16

审查员 王士磊

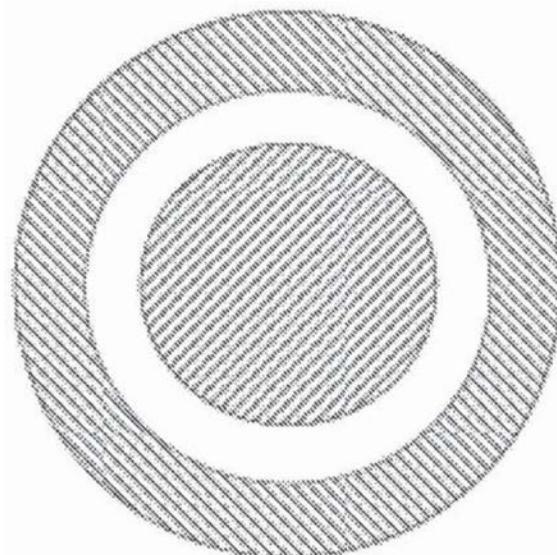
权利要求书1页 说明书22页 附图6页

(54) 发明名称

包含具有抵抗热和潮湿的益生菌的颗粒的液体食品

(57) 摘要

在此披露一种液体食品，包含核心颗粒，这些核心颗粒被含有基于淀粉的聚合物的至少一个层包衣，所述颗粒含有抵抗热和潮湿的益生菌。还披露一种用于制备抵抗热和潮湿的益生菌的组合物，这些益生菌处于稳定的益生菌颗粒形式，用于基于液体的婴儿食品；以及一种用于制备所述组合物的方法。



1. 一种组合物，该组合物用于制备处于稳定的益生菌颗粒形式的抵抗热和潮湿的益生菌，用于基于液体的婴儿食品，该组合物包含：

i) 核心颗粒，该核心颗粒包含益生菌、至少一种基质、以及任选地其他食物级成分；

ii) 至少一个内层，所述内层包含防止水和潮湿渗透至所述核心颗粒内的聚合物，包衣所述核心颗粒；

iii) 至少一个外层，所述外层包衣所述核心颗粒和所述内层，包含具有溶胶-凝胶转变温度的热敏感的聚合物；

其中所述内层包含羟丙基淀粉且所述外层包含磷酸化的磷酸双淀粉、乙酰化的磷酸双淀粉或其组合；并且

其中在与液体接触时，所述外层在比所述内层高的温度下变得可溶，且在所述内层和所述外层变得可溶的温度之间存在至少5°C的差异。

2. 如权利要求1所述的组合物，其中，在该内层和该外层变得可溶的温度之间存在至少10°C、至少15°C、至少20°C、至少25°C、或至少30°C的差异。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的组合物，其中在一个特定层变得可溶的每个温度下，溶解在至少30秒、1分钟、2分钟、3分钟、4分钟或5分钟后发生。

4. 如权利要求1所述的组合物，其中所述基于液体的婴儿食品是一种粉末状婴儿配方。

5. 如权利要求1所述的组合物，其中所述基于液体的婴儿食品是一种即用型液体婴儿配方。

6. 一种液体食品，包含权利要求1所述的组合物。

7. 一种用于制备如权利要求1中所述的处于稳定的益生菌颗粒形式的抵抗热和潮湿的益生菌的方法，包括如下步骤：

i) 制备核心颗粒，所述核心颗粒包含益生菌和至少一种基质；

ii) 通过至少一个内层包衣所述核心颗粒，从而获得密闭的核心颗粒；

iii) 通过至少一个外层包衣所述密闭的核心颗粒，所述至少一个外层包含热敏的、形成凝胶的聚合物；

其中所述内层包含羟丙基淀粉且所述外层包含磷酸化的磷酸双淀粉、乙酰化的磷酸双淀粉或其组合；并且

其中在与液体接触时，所述外层在比所述内层高的温度下变得可溶，且在所述内层和所述外层变得可溶的温度之间存在至少5°C的差异。

8. 如权利要求7所述的方法，还包括用外表层包衣包含热敏凝胶的核心颗粒，所述外表层包含至少一种水溶性聚合物。

包含具有抵抗热和潮湿的益生菌的颗粒的液体食品

发明领域

[0001] 本发明涉及健康食品,特别是用于婴儿的含有益生菌的液体食品。

[0002] 发明背景

[0003] 益生菌是活的微生物食品补充剂,它通过支持天然存在的肠道菌群、通过与胃肠道中的有害微生物竞争、通过协助有用的代谢过程、并且通过增强宿主生物体针对有毒物质的抗性来有益地影响宿主。益生菌食品中使用了大量微生物,例如乳杆菌属或双歧杆菌属、或拟干酪乳杆菌St11(或NCC2461)、强壮乳杆菌(*Lactobacillus fortis*)、约氏乳杆菌La1(=LC1乳杆菌、约氏乳杆菌NCC533)或乳双歧杆菌。益生菌有机体应当在该产品的有效期存活以便有效,并且此外它们应当在消化道至结肠整个范围内存活。益生菌生物体通常并入到乳制品(如酸奶)中。该需要是为了递送其他食品类型中有益的微生物,例如基于液体的产品中,尤其是在其制备的至少一个阶段经历热处理的那些产品。制备基于液体的健康食品时主要问题是高温与水的组合,它可能损害所包含益生菌的全部或其显著部分。

[0004] US 2005/0019417 A1描述了一种制备含有湿气敏感的活微生物(包括益生菌)的产品的方法,包括至少以下这样的步骤:通过这些步骤,益生菌与一种糖聚合物在可与水混溶的溶剂中的悬浮液被喷雾到一种水溶性的、形成凝胶的固体微粒上。通过这些手段,由水溶性的形成凝胶的固体微粒构成的核心可以吸收溶剂残余物,并且为置于所述核心上的益生菌提供保护。

[0005] 发明概述

[0006] 根据本发明的至少一些实施例,提供一种液体产品的配制品,该配制品在其制备或使用的至少一个阶段中经受热处理,从而保存了足够量的活性益生菌微生物;以及用于其制备和使用的方法。

[0007] 用于婴儿的液体食品的特征是,该产品甚至在应用之前在加入热水或热的基于水性的液体之后也包含足够量的活性细菌。因此,该用于婴儿的液体食品包含热稳定的益生菌组合物,该益生菌组合物显示长保质期。

[0008] 该液体食品包含含有益生菌、至少一种基质以及任选地其他食品级成分的核心颗粒,这些核心颗粒随后被基于淀粉的聚合物包衣。根据至少一些实施例,基于淀粉的聚合物包含选自下组的组分,该组由以下各项组成:天然淀粉、热塑性淀粉、改性淀粉、淀粉衍生物、部分预凝胶化淀粉以及预凝胶化淀粉;和/或角叉菜胶、瓜尔胶和角豆胶(又称刺槐豆胶)中的一种或多种;或其组合。

[0009] 任选地,改性淀粉包括以下中的一种或多种:酸处理淀粉(E1401)、碱处理淀粉(E1402)、漂白淀粉(E1403)、氧化淀粉(E1404)、淀粉、酶处理淀粉(E1405)、磷酸单淀粉(E1410)、甘油双淀粉(E1411)、用三偏磷酸钠酯化的磷酸双淀粉(E1412)、磷酸化的磷酸双淀粉(E1413)、乙酰化磷酸双淀粉(E1414)、用醋酸酐酯化的醋酸淀粉(E1420)、用醋酸乙烯酯酯化的醋酸淀粉(E1421)、乙酰化己二酸双淀粉(E1422)、乙酰化甘油双淀粉(E1423)、羟丙基淀粉(E1440)、磷酸羟丙基双淀粉(E1442)、羟丙基甘油双淀粉(E1443)、辛烯基琥珀酸淀粉钠(E1450)。

[0010] 根据至少一些实施例，基于淀粉的聚合物选自下组，该组由以下各项组成：羟丙基淀粉、磷酸化的磷酸双淀粉和乙酰化磷酸双淀粉。

[0011] 根据至少一些实施例，这些核心被两层包衣，一个内层和一个外层。任选地且优选地，外层在比内层高的温度下变得可溶，更优选地，在与一种液体接触时变得可溶，该液体可以任选地包括水性溶液、分散液、悬浮液等等。例如但不限于，外层任选地在70°C开始变得可溶，而内层任选地在50°C开始变得可溶。通过“开始变得可溶”意指此温度是层迅速开始溶解或变成可溶的阈值；显然在高于此阈值的温度下，层将更快速溶解。优选地，在内层和外层变得可溶的温度之间存在至少5°C、至少10°C、至少15°C、至少20°C、至少25°C、或至少30°C的差异。还任选地且优选地，外层还是更加粘性的并且在相同温度下形成比内层更稳定和强大的凝胶。因此，外层的粘性凝胶在相同温度并且特别是在较低温度下需要比内层花费更长时间来溶解。

[0012] 在特定层变得可溶的每个温度下，溶解优选地在至少30秒、1分钟、2分钟、3分钟、4分钟或5分钟后发生。任选地且优选地，每个层的溶解速度是不同的并且外层的溶解速度更大。还任选地且优选地，内层的溶解仅在一旦外层溶解完成时才开始；通过完成意指优选地由外层与具有至少适当的阈值温度的水或其他液体接触时最初形成的凝胶也被分散。

[0013] 任选地且更优选地，内层包含羟丙基淀粉。还任选地且更优选地，外层包含磷酸化的磷酸双淀粉、乙酰化磷酸双淀粉或其组合。

[0014] 任选地且更优选地，液体食品包含含有益生菌、至少一种基质以及任选地其他食品级成分的核心颗粒；包含羟丙基淀粉的内层；以及包含磷酸化的磷酸双淀粉、乙酰化磷酸双淀粉或其组合的外层。

[0015] 根据一些说明性实施例，内层和外层的存在提供益生菌针对热和/或潮湿暴露的保护。根据本发明的一些实施例，可以将附加保护层添加到外层之上以便对本发明的包含核心颗粒的液体食品提供附加保护。例如，至少一种水溶性聚合物可以用作附加保护层以提供稳定的益生菌颗粒。

[0016] 根据至少一些实施例，提供一种用于制备供基于液体的健康食品使用的处于稳定的益生菌颗粒形式的抵抗热和潮湿的益生菌的方法，该方法包括以下步骤：i) 制备含有益生菌、至少一种基质以及任选地其他食品级成分的核心颗粒；ii) 任选地，用至少一个内层包衣所述核心颗粒，从而获得密封的核心颗粒；iii) 用包含热敏的、形成凝胶的聚合物的至少一个外层包衣所述任选的密封的核心颗粒；并且iv) 任选地，用包含至少一种水溶性聚合物的外部涂层来包衣包含热敏凝胶的所述核心颗粒。由此获得稳定的益生菌颗粒，用于混合至一种基于液体的食品中，所述益生菌颗粒包含抵抗热和抵抗潮湿的益生菌。在制造或制备基于液体的食品过程中，稳定的细菌能够抵抗较高温度，即使在潮湿环境中；有待抵抗的高温的实例是当制造益生菌汁时的巴氏灭菌步骤，或当制备幼儿食品时混合本发明的包含这些颗粒的婴儿粉末食品与热水的步骤。

[0017] 根据一些说明性实施例，本发明的稳定的益生菌颗粒可能够抵抗高温，例如，从室温(约25°C)和高达140°C左右。

[0018] 在一些说明性实施例中，可以将稳定的益生菌颗粒添加至粉末状的婴儿配方中，并且暴露于可以处于室温与100°C之间范围的温度。

[0019] 根据其他说明性实施例，可以将稳定的益生菌颗粒添加至任何其他基于液体的婴

儿产品中,如例如可能经过巴氏灭菌过程的即用型液体婴儿配方,例如,其中温度范围可取决于巴氏灭菌条件。例如,可以将液体婴儿配方在280°F(138°C)下加热8秒钟并且冷却至73°F-80°F(23°C-27°C)以便进行巴氏灭菌。

[0020] 本发明涉及一种用于制备基于液体的食品的包括加热步骤的方法,该产品含有活性益生菌,该方法包括i)制备如上所述的稳定的益生菌颗粒;ii)将所述稳定的益生菌颗粒混合至一种半成品中;iii)将所述益生菌颗粒/粒子与所述基于液体的半成品的混合物在一个预先确定的温度下加热,并且持续一段预先确定的时间;并且iv)通过冷却所述混合物完成含有所述稳定的益生菌颗粒的所述基于液体的半成品,由此获得含有活性益生菌的所述基于液体的食品。术语“半成品”说明了根据本发明制造食品中的一个阶段,其中所述食品尚未含有所有成分或尚未经历所有制备步骤,还不能随时用于消费。在本发明的优选实施例中,包括加热步骤的用于制备基于液体的食品的方法包括i)制备如上所述的稳定的益生菌颗粒;ii)将所述稳定的益生菌颗粒/粒子混合至包含一种婴儿粉末食品的一种半成品中,由此获得含有稳定的益生菌颗粒/粒子的一种益生菌婴儿粉末食品;并且iii)在所述益生菌婴儿食品的预期消费之前的短时间内,向所述食品加入冷水并且加热或可替代地加入热水,同时将该混合物在一个预先确定的温度保持一段预先确定的时间。由一种热敏感的形成凝胶的聚合物构成的所述外层在所述加热步骤过程中在该益生菌核心周围形成了一种固体凝胶,由此阻止热和潮湿传递到这些益生菌,同时在所述冷却之后所述凝胶溶解,允许该益生菌材料释放到一种所希望的基于液体的产品中。

[0021] 本发明提供了稳定的益生菌颗粒,这些颗粒用于混合至一种基于液体的食品中,在一种水性环境中抵抗加热,包含热可逆转的形成凝胶的聚合物。本发明的稳定的益生菌颗粒包含处于一种基质中或与一种基质相混合的益生菌核心、至少一个包衣所述核心的内层、以及至少一个包含热可逆转的形成凝胶的聚合物的外层。这些颗粒优选地包含具有一种基质的益生菌核心、至少一个包衣所述核心的内层、以及至少一个包含热可逆转的形成凝胶的聚合物的外层、以及至少一个包含水溶性聚合物或可侵蚀的聚合物的外表层。本发明的颗粒优选地包含处于一种基质中的益生菌核心、至少一个包含热可逆转的形成凝胶的聚合物的外层、以及至少一个包含水溶性聚合物或可侵蚀的聚合物的外表层。

[0022] 该基质可以包含一种组分,该组分选自下组,该组由以下各项组成:针对细菌的补充剂、稳定剂、填充剂、粘合剂、及其混合物。所述基质可以包含一种益生元多糖,其中所述内层可以包含一种水溶性的或可侵蚀的聚合物,并且其中所述外层可以包含一种热敏感的形成凝胶的聚合物。在一个实施例中,所述基质包含一种益生元多糖,其中所述内层包含一种水溶性的或可侵蚀的聚合物,所述外层包含一种热敏感的形成溶胶-凝胶的聚合物,并且其中所述外表层包含一种水溶性聚合物或可侵蚀的聚合物。所述基质优选地包含一种益生元多糖,其中所述外层包含一种热敏感的形成溶胶-凝胶的聚合物,并且其中所述外表层包含一种水溶性聚合物或可侵蚀的聚合物。本发明的颗粒优选地具有一个外层,该外层由一种热敏感的形成凝胶的聚合物构成,当加热时它在这些核心颗粒的周围形成一种固体凝胶,由此阻止热和潮湿传递至该益生菌,同时在冷却后所述胶溶解,允许所述细菌释放到一种基于液体的产品中。

[0023] 当使用术语“基于液体的食品”时,是指一种产品,它具有高含量的水,或它旨在用于分散在水中。由此,根据本发明的一种基于液体的食品可以是一种具有液体、悬浮液、乳

液、或糊状物形式的产品,但它可以是一种粉末,旨在分散于水中或基于水的液体中,例如奶。在一个优选的实施例中,所述颗粒包含处于一种基质中的益生菌核心、任选地至少一个包衣所述核心的内层、至少一个包含热可逆转的形成凝胶的聚合物的外层、以及任选地至少一个包含水溶性聚合物的最外层。所述基质可以包含一种组分,该组分选自下组,该组由以下各项组成:针对细菌的补充剂、稳定剂、缓冲剂、螯合剂、填充剂、粘合剂、及其混合物。在本发明的一个实施例中,所述颗粒包含处在该核心中的一种益生元多糖、处在所述内层中的一种水溶性的或可侵蚀的聚合物、重要的是处在该外层中的一种热敏感的形成凝胶的聚合物、以及处在所述最外层中的一种水溶性的或可侵蚀的聚合物。

[0024] 本发明提供了选自以下各项的一种食品:婴儿食品、婴儿食品粉末复合物、酸奶、乳制品、花蜜(nectar)、果汁、以及能量饮品/饮料,该食品是一种健康食品,包含如以上所说明的热稳定的益生菌。

[0025] 术语婴儿食品例如可参考旨在被新生儿、婴儿、幼儿和/或幼童消化的任何软的、易消费食品,并且可以包括有待加强的母乳、任何婴儿配方、以及任何液体和/或半固体食品,如谷物,水果,蔬菜,肉类等。

[0026] 由此,本发明涉及经热加工或可以热加工的保健食物,其有益地影响了消费者的肠道微生物平衡,其中所述热抵抗和可热加工性是通过用多个层来包衣益生菌核心而确保的,这些层限制热和潮湿传递到该益生菌并且因此在一个包含加热步骤的方法过程中增加了它们的抵抗性。

[0027] 附图简述

[0028] 本发明的以上和其他特征和优点通过以下实例、并且参考以下附图将变得更加明显,其中:

[0029] 图1示出根据本发明的一个实施例的多层胶囊的简图,该多层胶囊有待包括于健康食品中;胶囊化被设计成用于提供在制造过程或制备过程的加热步骤过程中具有最大抗热性的益生菌;核心包含益生菌和一种吸收基底;邻近核心的第一层是内部的第一密封层;邻近所述内层的外层是外部的、热可逆转的形成凝胶的层;可替代地,核心包含益生菌和一种吸收基底;邻近核心的第一层是外部的、热可逆转的形成凝胶的层;邻近所述外层的第二层是外表层;

[0030] 图2示出普朗尼克(Pluronic)的结构,普朗尼克即为包含聚环氧丙烷和聚环氧乙烷的ABA三嵌段共聚物;图2A示出分子结构;并且图2B是三嵌段聚合物链的示意性图示;

[0031] 图3示出普流尼克作为温度函数的溶胶-凝胶转变,普流尼克即为聚环氧丙烷和聚环氧乙烷的ABA三嵌段共聚物;具有一定浊点的聚合物嵌段的存在赋予聚合物在高于浊点的温度下被转化成疏水状态以及在低于浊点温度的温度下被转化成亲水状态的特性;这是由疏水键的强度随着温度的升高而增加(并且相反地随着温度的降低而减小)的热力学性质引起的;图3A示出分子结构;并且图3B是凝胶化过程的示意性图示;

[0032] 图4示出纤维素衍生物如羟丙基纤维素(HPC)作为温度函数的溶胶-凝胶转变;临界温度的增加导致链-链相互作用,包括疏水作用和氢键合,以支配链-水氢键合;另一方面,当温度降低至低于临界温度时,水氢键合支配链-链相互作用,使得该聚合物能够溶解。图4A示出分子结构;并且图4B是分子间相互作用的示意性图示;

[0033] 图5是经微胶囊化的乳双歧杆菌(BL818)的粒径分布图,这些颗粒根据实例1中描

述的一个本发明实施例来制作,在水中在70°C加热之后并且冷却;羟丙基纤维素(HPC LF)用作热敏感的溶胶-凝胶膜包衣,重量增加70%;

[0034] 图6是经微胶囊化的乳双歧杆菌(BL818)的粒径分布图,这些颗粒处于根据本发明的稳定颗粒的形式,在水中在70°C加热之后并且冷却;羟丙基纤维素(HPC LF)用作热敏感的溶胶-凝胶膜包衣,重量增加50%;以及

[0035] 图7是经微胶囊化的乳双歧杆菌(BL818)的粒径分布图,这些颗粒根据实例2中描述的一个本发明实施例来制作,在水中在70°C加热之后并且冷却;羟丙基纤维素(HPC EF)用作热敏感的溶胶-凝胶膜包衣,重量增加70%;

[0036] 图8是根据本文所述的一些说明性实施例的即用型液体婴儿配方的制造过程流程图。

[0037] 图9是根据本文所述的一些说明性实施例的可以将本发明的益生菌微胶囊添加至即用型液体婴儿配方中的阶段的流程图。

[0038] 优选实施方式的详细说明

[0039] 现在已经发现益生菌可以出人意料地得到有效稳定化以便在加热步骤中使用,该加热步骤包括通过用形成溶胶-凝胶的聚合物包衣进行的过程。细菌被配制成包衣有一层或多层包衣层的颗粒化核心,从而获得即使是在高潮湿下相对高的温度下加热后仍提供活性的益生菌生物体的益生菌组合物,该组合物还在存储时是稳定的并且能够在口服后将活性的细菌给药至胃肠道。本发明提供有待用作健康食品添加剂的颗粒化益生菌。本发明特别针对一种用于制备基于液体的食品的方法,该基于液体的食品诸如为基本上悬浮于热水(约70°C)中的婴儿食品粉末复合物、果汁、花蜜、酸奶、基于奶的乳制品、以及含有抗热性益生菌的能量饮品。

[0040] 根据一些实施例,婴儿配方可以有三种基本形式:即用型、液体浓缩物和粉末状的。即食型(或即用型)婴儿配方是一种液体婴儿配方,这可以是一种不需要附加的组成变化(如,在消费之前添加水)而被消费的配方,或一种通过将水(无菌水)与粉末状配方混合而制成的复原的粉末状婴儿配方(如可从美赞臣有限公司(Mead Johnson&Company)(Enfamil® Infant Formula)或罗氏实验室(Ross Laboratories)(Similac® Infant Formula)商业购得的那些)。即用型液体婴儿配方可能是最方便的一不需要混合或测量,只需要打开和使用。它是医院经常提供给新生儿的配方种类。它是卫生的并且在人们不知道是否将能够获得安全饮用水时特别有帮助。即用型液体婴儿配方是巴氏灭菌产品并且一旦打开,配方具有短的使用期限—它必须在几个小时内使用(即食型婴儿配方在打开后可以冷藏至多72小时并且随后需要丢弃)。

[0041] 与粉末状婴儿配方相比而言,即用型液体婴儿配方在填充至瓶子前需要进行巴氏灭菌。商业即用型液体婴儿配方组合物是使用巴氏灭菌法来生产的。巴氏灭菌法需要将奶加热至特定温度持续特定时间。巴氏灭菌过程杀死所有病原体和大部分引起变质的微生物。通过在巴氏灭菌前将益生菌添加至配方中可以生产含有益生菌的商业即用型配方组合物,但巴氏灭菌过程将杀死许多益生菌微生物并且因此在消费配方时妨碍婴儿获得足够剂量的益生菌。类似地,通过在巴氏灭菌后、刚好在将配方填充至它的容器中前将益生菌添加至配方中可以生产含有益生菌的即用型配方组合物。由后者引起的问题是将污染物带入已经巴氏灭菌的液体配方的可能性。这随后可能导致配方被有害细菌污染并且还缩短储存寿

命。

[0042] 增加储存寿命并且改进成活力的方法包括寻找改良菌株以及将各种化合物如防腐剂(如抗坏血酸)和生长因子添加至配方中。由于这些限制,当前含有益生菌的商业即用型液体婴儿配方可能不具有需要给予所希望的健康益处的数量的益生菌微生物。而且,这类配方组合物在相对短时间内容易变质并且未被销售和消费的那些必须作为废物丢弃。

[0043] 使用根据本发明的技术,可以为即用型婴儿配方提供延长的储存寿命,该即用型婴儿配方含有在生产过程以及整个储存寿命过程中保持活性的益生菌。此外,将使用本文所述的技术制备的产品被纯化除去任何污染物并且仍含有推荐剂量的有益健康的活性益生菌。

[0044] 根据一些实施例,并且基于大多数制造的生产过程,即用型液体配方的制造过程如下:

[0045] 1. 散装、即用型婴儿配方的制备

[0046] 在此过程中,将即用型婴儿液体配方的所有组分在水中溶解或分散并且均质化。此过程的流程图在图8中展示。结果得到120升批次的即用型婴儿配方,含有在表1中概括的如下成分:

[0047]	成分	量(克)
	液体乳清	6412.04克
	脂肪共混物	4193.1
	液体脱脂乳	2294.81
	乳糖	2273.39
	柠檬酸钾	93.56
	单和双甘油酯	86.80
	磷酸钙	50.22
	干维生素预混料	45.19
	卵磷脂浓缩物	44.33
	角叉菜胶	33.91
	氯化钙	31.80
	氯化钠	16.92
	核苷酸预混料	8.35
[0048]	抗坏血酸	8.11
	硫酸亚铁	7.30
	柠檬酸钠	5.46
	维生素A、D、E、K ₁ 浓缩物	3.89
	微量无机盐预混料	3.65
	水,足量至	120升

[0049] 表1:组成即用型液体婴儿配方的成分和它们的量

[0050] 根据一些实施例,最终制品可以存储在带盖罐中用于以下巴氏灭菌和装瓶过程的阶段。

[0051] 本发明的经微胶囊化的益生菌可以刚好在巴氏灭菌过程前被添加至在此阶段如

上所述制备的即用型婴儿配方批次的容器中,如图9所示。

[0052] 2. 巴氏灭菌过程

[0053] 可以将婴儿配方在280°F(138°C)下加热8秒钟并且冷却至73°C-80°F(23°C-27°C)。将婴儿配方装瓶至经灭菌的3盎司玻璃瓶内并且用经灭菌的闭合件盖上。可替代地,可以在巴氏灭菌前首先将该液体婴儿配方装瓶,并且然后巴氏灭菌、随后盖上。

[0054] 在巴氏灭菌过程中,利用本发明的技术提供具有优越保护作用和稳定性的细菌,使得细菌的成活力很高。在温度冷却下来之后,当经微胶囊化的层充分溶解时细菌被完全释放。通过这些手段,所得到的液体婴儿配方将是完全巴氏灭菌的并且仍具有高水平的活性益生菌。

[0055] 根据一些说明性实施例,本发明的稳定的颗粒可以被添加至任何婴儿配方中,无论是在液体浓缩物状态、粉末状状态或是即用型状态。

[0056] 包含稳定颗粒的本发明的组合物可以在婴儿配方巴氏灭菌前或后的基本上任何阶段被添加。

[0057] 根据一些说明性实施例,在巴氏灭菌发生前将本发明组合物添加至婴儿配方将使得能够消灭可能存在于配方中的有害病原体,但避免伤害包含在本发明组合物的稳定颗粒中的益生菌。

[0058] 在粉末状配方的情况下,本发明的组合物可以在配方生产的基本上任何阶段被添加,而在配方的最终制备时,即刚好在食用前,将热水(至少60°C,并且优选地70°C以及以上)添加至粉末状配方中。

[0059] 刚好在使用前热水的添加可以使得能够消灭可能存在于配方中的有害病原体,但将避免伤害包含在本发明组合物的稳定颗粒中的益生菌。

[0060] 本发明提供一种用于制备基于液体的食物的方法,包括以下步骤i)制备包含益生菌的核心(颗粒);ii)任选地用至少一个内层包衣所述核心(颗粒),该内层包含用于防止潮湿渗透至核心(颗粒)内的水溶性聚合物;iii)用至少一个外层包衣所述颗粒,该外层包含用于抵抗热和潮湿的热可逆转的形成凝胶(溶胶-凝胶)的聚合物,从而获得稳定的益生菌颗粒;iv)任选地用至少一个最外层包衣所述核心(颗粒),该最外层包含一种水溶性聚合物;v)将所述稳定的益生菌颗粒混合至一种基于液体的食物预产品(半成品)中;并且vi)通过在预先确定的温度下热处理预先确定的时间来完成包含所述稳定益生菌颗粒的所述基于液体的食品预产品的制备。在本发明的一个重要的实施例中,将所述稳定的益生菌颗粒添加到一种基于固体的食品中,例如粉末状产品(像婴儿食品粉末复合物),该食品应当最终在使用之前添加至热水(达到70°C),并且允许在消费之前冷却。在本发明的一个重要的实施例中,所述稳定的益生菌颗粒具有一个包含益生菌的核心和一种基质,所述细菌在被吸收至该基质或被其颗粒化,所述核心另外含有其他营养学可接受的辅料;该颗粒任选地进一步具有一个具有水溶性聚合物的内层;该颗粒具有一个具有热敏感(热可逆的)的形成凝胶的聚合物的外层,该聚合物具有一种溶胶-凝胶转变(转变温度);该颗粒任选地具有一个具有水溶性聚合物的外表层;在本发明的另一个重要的实施例中,所述内层与所述外层这二者包含热敏感的形成凝胶的聚合物,这些聚合物具有一种溶胶-凝胶转变,但具有不同的分子量或粘度。在本发明的另一个重要的实施例中,所述内层与所述外表层这二者包含具有相似的分子量或粘度的相似的聚合物,或者具有不同的分子量或粘度的相似的聚合

物。在本发明的另一个重要的实施例中，所述稳定的益生菌颗粒具有一个包含益生菌的核心以及一种基质，所述细菌在该基质中被颗粒化或被吸收，所述颗粒含有另外的辅料，以及另外的一个具有热敏感的形成凝胶的聚合物的单层，该聚合物具有一种溶胶-凝胶转变。在本发明的另一个重要的实施例中，所述稳定的益生菌颗粒具有一个包含益生菌的核心以及一种基质，所述细菌在该基质中被吸收或被颗粒化，并且所述颗粒另外地含有其他的可接受的辅料；一个具有热敏感的形成凝胶的聚合物的外层，该聚合物具有一种溶胶-凝胶转变；一个具有水溶性聚合物的外表层。在本发明的另一个实施例中，所述稳定的益生菌颗粒具有一个包含益生菌的核心以及一种基质，所述细菌在该基质中被吸收或被颗粒化，并且所述颗粒另外地含有其他的可接受的辅料；一个具有水溶性聚合物的内层；以及两个外层，包括一个提供耐胃性的下部肠溶层和一个具有热敏感的形成凝胶的聚合物的上部层，该聚合物具有一种溶胶-凝胶转变。

[0061] 根据一些说明性实施例，所述内层与所述外层这二者包含热敏感的形成凝胶的聚合物，这些聚合物具有一种溶胶-凝胶转变，但具有不同的分子量或粘度。根据这些实施例，选择具有不同分子量和/或粘度的热敏感的形成凝胶的聚合物使得生产的益生菌颗粒可以抵抗不同的温度和/或潮湿水平。

[0062] 在一个优选的实施例中，本发明的优选方法包括将益生菌颗粒化并且通过至少一个用于抵抗潮湿的内层、至少一个用于抵抗生产(制造)热和潮湿的外层包衣它们，其中所述抵抗在一个预先确定的生产温度发生，持续预先确定的热加工时间，之后所述第二层在暴露于高温的过程中膨胀形成凝胶，由此防止热的液体渗透到含有所述益生菌的核心中，允许该益生菌在加热时保持安全，并且然后当该外层或外表层在冷却溶解时释放到一种液体食品中。在一个优选的实施例中，根据本发明的一种方法包括制备一种稳定的益生菌颗粒，它具有i)一个具有益生菌的核心，该核心可以含有至少一种稳定剂、抗氧化剂、糖、填充剂、粘合剂以及其他辅料，并且进一步具有ii)一个包衣该核心、包含一种水溶性聚合物的内层，该聚合物防止水和潮湿渗透到该核心中，并且还进一步具有iii)一个包衣所述核心以及所述内层的外层，其中所述外层包含至少一种热可逆转的形成凝胶的聚合物，这些聚合物具有溶胶-凝胶转变温度。在另一个优选的实施例中，本发明的优选方法包含将益生菌颗粒化并且通过至少一个用于抵抗生产(制造)热和潮湿的外层(第一层)以及用于在冷却时增强所述外层(第一层)溶解的至少一个最外层(第二层)包衣它们，其中所述抵抗在一个预先确定的生产温度发生，持续预先确定的热加工时间，之后所述外层在暴露于高温的过程中膨胀形成凝胶，由此防止热的液体渗透到含有所述益生菌的核心中，允许该益生菌在加热时保持安全，并且然后当该外层在冷却溶解时释放到所述液体食品中。在另一个优选的实施例中，本发明的优选方法包括将益生菌颗粒化，通过至少一个用于抵抗潮湿的内层(第一层)、至少一个用于抵抗生产(制造)热和潮湿的外层(第二层)、以及用于在冷却时增强所述外层(第二层)溶解的至少一个外表层(第三层)包衣它们，其中所述抵抗在一个预先确定的生产温度发生，持续预先确定的热加工时间，之后所述外层在暴露于高温的过程中膨胀形成凝胶，由此防止热的液体渗透到含有所述益生菌的核心中，允许该益生菌在加热时保持安全，并且然后当该外层在冷却溶解时释放到所述液体食品中。

[0063] 在一个优选的实施例中，根据本发明的一种方法包括制备一种稳定的益生菌颗粒，它具有i)一个具有益生菌的核心，并且该核心可以含有至少一种稳定剂、抗氧化剂、糖、

填充剂、粘合剂以及其他辅料，并且进一步具有ii)一个包衣该核心、由一种水溶性聚合物构成的内层，该聚合物防止水和潮湿渗透到该核心中，并且还进一步具有iii)一个包衣所述核心以及所述内层的外层，其中所述外层包含至少一种热可逆转的形成凝胶的聚合物，这些聚合物具有溶胶-凝胶转变温度，其中所述内层包含至少一种热可逆转的形成凝胶的聚合物，这些聚合物具有溶胶-凝胶转变温度，该内层可以在化学方面与所述外层相似或不同。

[0064] 本发明提供一种稳定的益生菌颗粒，包括i)一个包含益生菌和一种基质的核心，所述细菌被吸收或被包衣在所述基质上；ii)任选地一个包含一种聚合物的内层，该聚合物防止水和潮湿渗透到该核心中，该内层包衣所述核心；ii)至少一个外层，该外层包衣所述核心和所述内层，包含具有溶胶-凝胶转变温度的热敏感的聚合物；以及iv)任选地一个外表层，包含增强所述外层(第一层)在冷却时的溶解的聚合物。所述核心优选地进一步包含一种或多种针对所述细菌的补充剂，例如益生元寡糖。

[0065] 在本发明的一个优选的实施例中，所述益生菌包含一个选自乳杆菌属和双歧杆菌属的属。根据本发明的稳定的益生菌核心颗粒或核心混合物是一种经包衣的颗粒，包含至少两个分层相，例如一个核心和两层包衣、或一个核心和三层或更多层包衣。通常，这些包衣中之一主要的贡献是在该外层包衣过程中或在稍后的阶段过程中(例如当在制备一种基于液体的产品的过程中最终多层化的益生菌悬浮在所述基于液体的产品中时)防止水或潮湿渗透到该核心中。另一个外层包衣在基于液体的食品加工过程中贡献了热抵抗。另一个外表包衣当冷却时贡献了所述外部热敏感的形成凝胶的层的溶解增强。通常，正是这些包衣中之一最大程度地贡献了所述热抵抗以及抵抗水或潮湿渗透到该核心中；然而，本发明的稳定的益生菌颗粒可以包含贡献这些细菌加工稳定的更多层，并且在储存所述食品过程中以及在将这些细菌安全递送至肠的过程中贡献它们的稳定性。同样，这两个内包衣和外表包衣可以是相同的聚合物，粘度或分子量相同或不同。同样，一种热敏感的形成凝胶的聚合物可以用于包衣这些核心粒料，由此一个单包衣层提供保护抵抗水和潮湿渗透到该核心中，以及提供抵抗热和潮湿。

[0066] 本发明涉及一种制造健康食品的方法，包括i)将益生菌的悬浮液与一种基质和用于细菌的补充剂混合，由此获得一种核心混合物；ii)用一种内部水溶性聚合物包衣所述核心混合物的粒料；iii)用一个外部聚合物层包衣所述经包衣的粒料，所述外部聚合物层在热和潮湿条件下赋予所述细菌稳定性，从而获得被两个层包衣的粒料。本发明还涉及一种制造健康食品的方法，包括i)将益生菌的悬浮液与一种基质和用于细菌的补充剂混合，由此获得一种核心混合物；ii)任选地用一种内部水溶性聚合物包衣所述核心混合物的粒料；iii)用一个外部聚合物层包衣所述经包衣的粒料；任选地用一种外表水溶性聚合物包衣所述核心混合物的所述经包衣的粒料，所述外部聚合物层在热和潮湿条件下赋予所述细菌稳定性，从而获得被三个层包衣的粒料。本发明还涉及一种制造健康食品的方法，包括i)将具有基质和用于细菌的补充剂的益生菌颗粒化，由此获得核心颗粒粒料；ii)用一种内部水溶性聚合物包衣所述核心颗粒的粒料；iii)用一个外部聚合物层包衣所述经包衣的粒料，所述外部聚合物层在热和潮湿条件下赋予所述细菌稳定性，从而获得被两个层包衣的粒料。本发明还涉及一种制造健康食品的方法，包括i)将具有基质和用于细菌的补充剂的益生菌颗粒化，由此获得核心颗粒粒料；ii)用一个外部聚合物层包衣所述核心颗粒的粒料，所述

外部聚合物层在热和潮湿条件下赋予所述细菌稳定性；iii) 用一种外表水溶性聚合物包衣所述经包衣的粒料，从而获得被两个层包衣的粒料。本发明还涉及一种制造健康食品的方法，包括i) 将具有基质和用于细菌的补充剂的益生菌颗粒化，由此获得核心颗粒粒料；ii) 用一种内部水溶性聚合物包衣所述核心颗粒的粒料；iii) 用一个外部聚合物层包衣所述经包衣的粒料，所述外部聚合物层在热和潮湿条件下赋予所述细菌稳定性；iv) 用一种外表水溶性聚合物包衣所述经包衣的粒料，从而获得被三个层包衣的粒料。

[0067] 在一种优选的制造益生菌食品的方法中，将益生菌的水性悬浮液与至少一种基质以及至少一种寡糖以及任选地其他食物级添加剂（例如稳定剂、填充剂、粘合剂、抗氧化剂等等）混合，由此获得一种湿的核心混合物；干燥所述湿的核心混合物的粒料，由此获得一种核心混合物；用一种内部包衣层聚合物包衣所述核心混合物的粒料，该聚合物防止或降低水或潮湿渗透到所述核心，由此获得水密封的经包衣的粒料；用一种热可逆转的形成凝胶的聚合物包衣所述水密封的经包衣的粒料。所述至少一种基质可以包括半乳聚糖、半乳糖或它的混合物，所述至少一种寡糖可以包括半乳聚糖、麦芽糖糊精、以及海藻糖，所述其他食物级添加剂包括稳定剂、抗氧化剂、填充剂和粘合剂，所述内部包衣层聚合物可以包括羟丙基甲基纤维素、和/或基于聚乙烯基的聚合物，并且所述热可逆转的形成凝胶的聚合物可以包括羟丙基纤维素和/或聚丙二醇与聚乙二醇的共聚物（普流尼克）。在另一种优选的制造益生菌食品的方法中，将益生菌的水性悬浮液与至少一种基质以及至少一种寡糖以及任选地其他食物级添加剂（例如稳定剂、填充剂、粘合剂、抗氧化剂等等）混合，由此获得一种湿的核心混合物；干燥所述湿的核心混合物的粒料，由此获得一种核心混合物；用一种含有热可逆转的形成凝胶的聚合物的外部包衣层包衣所述核心混合物的粒料，由此获得由热敏感的聚合物包衣的核心混合物；用一种外表水溶性聚合物包衣所述由热敏感的聚合物包衣的核心混合物的粒料，该外表水溶性聚合物增强所述热敏感的形成凝胶的聚合物在冷却时的溶解。所述至少一种基质可以包括半乳聚糖、半乳糖或它们的混合物，所述至少一种寡糖可以包括半乳聚糖、麦芽糖糊精、以及海藻糖，所述其他食物级添加剂包括稳定剂、抗氧化剂、填充剂和粘合剂，所述热可逆转的形成凝胶的聚合物可以包括羟丙基纤维素和/或聚丙二醇与聚乙二醇的共聚物（普流尼克）；并且所述最外层包衣层聚合物可以包括羟丙基甲基纤维素，和/或基于聚乙烯基的聚合物。

[0068] 根据本发明制造经微胶囊化的益生菌的另一种优选的方法包括以下步骤：

[0069] 1. 干燥益生菌混合物与至少一种基质以及至少一种寡糖以及任选地其他食物级添加剂（例如稳定剂、填充剂、粘合剂、抗氧化剂等等）的混合物，由此获得一种核心混合物。

[0070] 2. 使用一种在纯化水中的粘合剂溶液将所述核心混合物颗粒化，由此获得一种核心颗粒。

[0071] 3. 任选地用一种内部包衣层聚合物对所述核心颗粒的粒料包衣，该聚合物防止或降低水或潮湿渗透到所述核心，由此获得水密封的经包衣的粒料。

[0072] 4. 用一种热可逆转的形成凝胶的聚合物对所述水密封的经包衣的粒料包衣。

[0073] 5. 任选地用一种外表包衣层聚合物对所述核心颗粒的粒料包衣，该聚合物增强所述热可逆转的形成凝胶的聚合物在冷却低于它的浊点或最低临界溶解温度 (LCST) 时的溶解。

[0074] 本发明提供了益生菌组合物，包含以上说明的稳定的益生菌颗粒，这些颗粒展示

出高热抵抗性和较长的储存稳定性。根据本发明的组合物优选是一种保健食品，例如选自下组的食品，该组由以下各项组成：婴儿食品、婴儿食品粉末复合物、酸奶、乳制品、花蜜、以及果汁。将所述食品在生产过程中或制备过程中暴露于高于环境温度的温度。

[0075] 一方面，本发明指向一种用于制备基于液体的、包含益生菌的食品的方法，这些食品例如益生菌果汁、花蜜、酸奶、基于奶的乳制品、能量饮品/饮料、以及有待悬浮于热水(大约70°C)中的婴儿食品粉末复合物。制备包含益生菌材料的混合物并且将其转化成颗粒，例如通过流化床技术，例如Glatt或turbo jet、Glatt或一台Innojet包衣机/颗粒机、或Huttlin包衣机/颗粒机、或Granulex。将得到的颗粒用一个第一层胶囊化，优选是用一种用于抵抗水或潮湿渗透到该核心颗粒中的水溶性聚合物层，这种渗透可以在热抵抗益生菌组合物制备的另外的步骤中发生，之后通过一个含有热敏感的形成凝胶的聚合物的第二层胶囊化，该聚合物用于在一个预先确定的温度抵抗热持续一段预先确定的时间。可替代地，将得到的颗粒通过一个含有热敏感的形成凝胶的聚合物的外层(第一层)胶囊化，该聚合物用于在一个预先确定的温度抵抗热持续一段预先确定的时间，之后通过一个第二层(外表层)胶囊化，优选是一个水溶性聚合物层，其用于增强所述热敏感的形成凝胶的聚合物在冷却低于它的浊点或最低临界溶解温度(LCST)时的溶解。可替代地，将得到的颗粒用一个第一层(内层)胶囊化，优选是用一个水溶性聚合物层，其用于抵抗水或潮湿渗透到该核心颗粒中，这种渗透可以在热抵抗的益生菌组合物制备的另外的步骤中发生，之后用一个含有热敏感的形成凝胶的聚合物的第二层(外层)胶囊化，该聚合物用于在一个预先确定的温度抵抗热持续一段预先确定的时间，之后用一个第三层(外表层)胶囊化，优选是用一个水溶性聚合物层，其用于增强所述热敏感的形成凝胶的聚合物在冷却低于它的浊点或最低临界溶解温度(LCST)时的溶解。根据以上步骤得到的经微胶囊化的益生菌被导入一种基于液体的产品中，该产品在其制备过程中必须经历一个加热步骤。可替代地，以上得到的经微胶囊化的益生菌可以被添加到一种食品中，该食品是一种固体粉末混合物，例如一种婴儿食物粉末，它应当进一步添加到热水(经常达到70°C)中。在将以上得到的经微胶囊化的益生菌暴露于热的过程中，在制备基于液体的食品的过程中，由一种热敏感的形成凝胶的聚合物构成的该外层在这些益生菌核心颗粒周围形成一种固体凝胶，防止热和潮湿传递至这些益生菌。在降低温度之后，该外部的热敏感的形成凝胶的层溶解，允许该益生菌材料释放到该基于液体的产品中。可以将这些两层或三层胶囊化的颗粒有利地添加到一种固体粉末混合物食品中，例如一种婴儿食品粉末复合物。在消费该固体粉末之前的情况下，它应当被添加到热水中(达到80°C，优选是70°C)以便制备一种合适的悬浮液。同样，在根据本发明的这些微胶囊化的益生菌暴露于如以上所说明的热水过程中，由一种热敏感的形成凝胶的聚合物构成的该最外层在该益生菌核心周围形成一种固体凝胶，防止热传递至这些益生菌。在让该悬浮液冷却之后，将该外部的热敏感的形成凝胶的层溶解以便允许该益生菌材料释放到婴儿悬浮液中。本发明由此提供了一种基于液体的包含益生菌的食品，这些益生菌在制备用于人类使用的产品的过程中所需要的加热步骤中存活，例如酸奶、乳制品、花蜜、以及果汁。该产品由以下各项组成：a) 经胶囊化的颗粒，这些颗粒由包含益生菌材料的混合物制成，这些益生菌材料被干燥并转化成有待通过以下各层来胶囊化的核心颗粒：任选地一个内层(第一层)，优选一个水溶性聚合物层，其用于抵抗水和潮湿渗透到这些核心颗粒中，以及一个外层(第二层)，包含至少一种热敏感的形成凝胶的聚合物，该聚合物针对预先确定的制

造温度和时间抵抗热与潮湿传递到在这些核心颗粒中,之后该第二层当冷却时溶解,以便允许该益生菌材料释放到该基于液体的食品中,以及任选地一个外表层(第三层),优选是一个水溶性聚合物层,其用于增强所述热敏感的形成凝胶的聚合物在冷却低于它的浊点或最低临界溶解温度(LCST)时的溶解;以及b)一种婴儿食品或一种婴儿食品粉末复合物,之前向其中添加了根据本发明的经微胶囊化的颗粒。在消费之前,根据本发明的婴儿食品或婴儿食品粉末复合物与这些经微胶囊化的颗粒的混合物被添加到热水(优选是大约70°C)中。

[0076] 因此,提供一种用于制备在制造或制备食物过程中能够在高生存率下加热的益生菌的方法。根据本发明的一个实施例,制作所述益生菌食品的第一步是制备包含经干燥益生菌的核心或颗粒,随后任选地通过一个第一水溶性聚合物层将这些颗粒胶囊化。该第一层有助于抵抗水和潮湿渗透到这些颗粒中。然后产生第二层,该第二层包含至少一种热敏感的形成凝胶的聚合物。任选地接着产生第三层,该第三层包含至少一个水溶性聚合物层,用于增强所述热敏感的形成凝胶的聚合物在冷却到低于它的浊点或最低临界溶解温度(LCST)时的溶解。随后将胶囊化颗粒添加至最终制品前的基于液体的食品中。在制备过程结束时,在将基于液体的食品冷却后使第二层溶解,这允许益生菌材料从胶囊化颗粒释放至基于液体的产品内。

[0077] 内部包衣层:这些经胶囊化的益生菌进一步包含一个内层包衣,它在内部核心与热可逆转的外部溶胶-凝胶包衣层之间成层。可以用于该第一包衣层的材料的例子选自下组,该组由以下各项组成:水溶性的或可侵蚀的聚合物,例如像聚维酮(PVP:聚乙烯吡咯烷酮)、共聚维酮(乙烯基吡咯烷酮与醋酸乙烯酯的共聚物)、聚乙烯醇、Kollicoat Protect(BASF)(它是Kollicoat IR(一种聚乙烯醇(PVA)-聚乙二醇(PEG)接枝共聚物)与聚乙烯醇(PVA)的混合物)、Opadry AMB(Colorcon)(它是一种基于PVA的混合物)、Aquarius MG(它是一种基于纤维素的聚合物,包含天然蜡、卵磷脂、黄原胶以及滑石)、低分子量HPC(羟丙基纤维素)、低分子量HPMC(羟丙基甲基纤维素)(例如羟丙基纤维素(HPMC E3或E5)(Colorcon))、甲基纤维素(MC)、低分子量羧甲基纤维素(CMC)、低分子量羧甲基乙基纤维素(CMEC)、低分子量羟乙基纤维素(HEC)、低分子量羟乙基甲基纤维素(HEMC)、低分子量羟甲基纤维素(HMC)、低分子量羟甲基羟乙基纤维素(HMHEC)、低粘度的乙基纤维素、低分子量甲基乙基纤维素(MEC)、明胶、水解的明胶、聚氧化乙烯、水溶性树胶、水溶性多糖、阿拉伯树胶、糊精、淀粉、经修饰的纤维素、水溶性聚丙烯酸酯、聚丙烯酸、聚羟乙基甲基丙烯酸酯(PHEMA)、聚甲基丙烯酸酯、它们的共聚物、和/或它们的混合物。

[0078] 更优选地,这些内部的第一包衣层聚合物是低分子量HPMC(羟丙基甲基纤维素)(例如羟丙基纤维素(HPMC E3或E5)(Colorcon))、聚乙烯醇、Kollicoat Protect(BASF)(它是Kollicoat IR(一种聚乙烯醇(PVA)-聚乙二醇(PEG)接枝共聚物)与聚乙烯醇(PVA)与二氧化硅的混合物)、Opadry AMB(Colorcon)(它是基于PVA的混合物)、以及Aquarius MG(它是一种基于纤维素的含有天然蜡的聚合物)。这些聚合物提供了杰出的屏障特性,抵抗水/潮湿渗透到该核心中。任选地,该内部的第一包衣层可以进一步包含一种辅料,它可以是助流剂、表面活性剂、填充剂、溶解剂、以及缓冲剂中的至少一种。

[0079] 外部抗热性包衣层:该外部包衣层提供了热抵抗,并且还防止水和潮湿渗透到该核心。该包衣层包含一种热可逆转(热敏感)的形成溶胶-凝胶的聚合物。热可逆转的形成溶

胶-凝胶的聚合物或热敏感的形成溶胶-凝胶的聚合物属于一种物理转变类别,它不要求使用有机溶剂、化学交联反应或外部操作的装置(例如,光聚作用)以在一种预先确定的条件下在与水性溶液接触时形成凝胶,并且因此不太可能诱导对周围介质的毒性。温度敏感的聚合物显示它们的溶解度随环境温度的变化而突然变化。这种特性被采用,以便形成这些聚合物的水性溶液,它们响应温度变化经历溶胶-凝胶转变。在最低临界溶解温度(LCST),与聚合物-聚合物以及水-水相互作用相比,水分子与聚合物之间的相互作用力(氢键合)成为不利的,并且随着该聚合物脱水,发生相分离。因此,水性聚合物溶液在环境温度显示出低粘度,但在温度上升后显示出粘度迅速增加,形成一种半固体凝胶。基于此类聚合物的配制品的一个主要优点是它们形成一种稳定凝胶的能力,该凝胶在较高的温度不溶解,并且在水性介质中膨胀,防止水渗透到核心中。该膨胀的稳定的凝胶进一步防止高温对内部核心的影响。很多聚合物显示出它们的水性溶解度随温度增加而显著变化;在最低临界溶解温度(LCST)发生的溶胶-凝胶转变其特征是最小化的热产生并且没有副产物。根据一些实施例,一般而言没有副产品在新生儿、幼小婴儿和儿童的情况下非常重要,他们更容易受到不想要或有害的副产品的影响。“浊点”表示以下温度,在该温度一种水溶性复合物开始析出溶液,导致光散射或“云”形成。聚合物-聚合物与聚合物-溶剂的相互作用(在食物应用中的溶剂经常是水)显示出在微小温度范围内的突然再次调整,并且这被转化成延伸状态与压缩缠绕状态之间的链转变。温度响应的聚合物表示它们在结构方面的良好疏水-亲水平衡,并且在临界溶解温度(LCST)周围的小温度变化使这些链崩溃或扩展,同时响应在聚合物链与水性介质之间的亲水和疏水相互作用的新调整。

[0080] 考虑到这些聚合物链之间的结合自由能(ΔG):

$$[0081] \Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

[0082] 其中 ΔH 是焓术语, ΔS 是熵术语,并且 T 是温度,它可以被总结为增加超过临界温度导致 $T \Delta S$ 值比阳性焓术语(ΔH)更大,并且因此负性 ΔG 有利于聚合物结合:链-链相互作用(疏水效应,氢键合)支配链-水的氢键合。另一方面,当温度降低至低于临界温度时,水氢键合支配链-链相互作用,由此可以发生该聚合物的溶解。该聚合物的宏观反应将取决于这些链的物理状态。如果这些大分子链是线性并且溶解的,则该溶液将从单相变为双相,原因是当转变发生时聚合物沉淀。聚合物溶液在环境温度是一种自由流动的液体,并且在高温下是凝胶。在一些情况下,如果降低热凝胶化聚合物的量是必要的,则它可以与一种pH敏感的可逆转的凝胶化聚合物相混合。

[0083] 含有一个嵌段(在其LCST的温度范围内另一个嵌段是溶解的)的嵌段共聚物响应于温度增加而自我组装。自组装结构的形态取决于共聚物构造和MW;无限大MW的胶束或网络(凝胶)可以通过适当的设计而获得。一个最近报到的可替代的方法是基于聚(N-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAM)与聚(丙烯酸)(PAAc)的相互渗透,以纳米颗粒配制.PNIPAM在其LCST之上的崩解触发了这些NP键合成一个网络,同时带电PAA链之间的排斥阻止了凝聚作用。

[0084] 展示出热驱动的相转变的热敏感聚合物可选自下组,该组由以下各项组成:聚-N-取代的丙烯酰胺衍生物,例如聚(N-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAM)、聚-N-丙烯酰哌啶、聚-N-丙基甲基丙烯酰胺、聚-N-异丙基丙烯酰胺、聚-N-二乙基丙烯酰胺、聚-N-异丙基甲基丙烯酰胺、聚-N-环丙基丙烯酰胺、聚-N-丙烯酰吡咯烷、聚-N,N-乙基甲基丙烯酰胺、聚-N-环丙基甲基丙烯酰胺、聚-N-乙基丙烯酰胺,聚-N-取代的甲基丙烯酰胺衍生物,包括一种N-取代的

丙烯酰胺衍生物与一种N-取代的甲基丙烯酰胺衍生的共聚物,N-异丙基丙烯酰胺与丙烯酸的共聚物,聚氧化丙烯,聚乙烯甲醚,聚乙烯醇的部分地乙酰化的产物,包括环氧丙烷与另一种环氧烷烃的共聚物,例如非离子性的、两性的聚(乙二醇)-bl-聚(丙二醇)-bl-聚(乙二醇)(PEGPPG-PEG)嵌段共聚物(也被称为Tetronics®、泊洛沙姆(poloxyamer)、普流尼克®(Pluronic®)),泊洛沙姆-co-PAAc,寡(泊洛沙姆),甲基纤维素(MC),羟丙基纤维素(HPC),甲基羟乙基纤维素(MHEC),羟丙基甲基纤维素(HPMC),羟丙基乙基纤维素(HPEC),羟甲基丙基纤维素(HMPC),乙基羟乙基纤维素(EHEC)(Ethulose),羟乙基甲基纤维素(HEMC),羟甲基乙基纤维素(HMEC),丙基羟乙基纤维素(PHEC),经疏水性修饰的羟乙基纤维素(NEXTON),直链淀粉,支链淀粉,聚(有机磷腈),类似木葡聚糖的自然聚合物,或它们的一种混合物。

[0085] 以上提及的聚-N-取代的丙烯酰胺衍生物可以是一种均聚合物或共聚物,它包括一种由以上聚合物构成的单体以及“另一种单体”。有待用于此目的的“另一种单体”可以是一种亲水性单体或一种疏水性单体。通常,当进行与一种亲水性单体的共聚时,得到的浊点温度可能增加。另一方面,当进行与一种疏水性单体的共聚时,得到的浊点温度可能降低。因此,一种具有所希望的浊点的聚合物(例如,高于30°C的浊点)可以通过选择有待用于共聚作用的单体而获得。

[0086] 以上亲水性单体的具体例子包括:N-乙烯基吡咯烷酮,乙烯基吡啶,丙烯酰胺,甲基丙烯酰胺,N-甲基丙烯酰胺,羟乙基甲基丙烯酸酯,羟乙基丙烯酸酯,羟甲基甲基丙烯酸酯,羟甲基丙烯酸酯,甲基丙烯酸以及具有一个酸性基团的丙烯酸,以及这些酸的盐类,乙烯基磺酸,苯乙烯磺酸等等,以及具有一个碱性基团的衍生物,例如N,N-甲基丙烯酸二甲基氨基乙酯、N,N-甲基丙烯酸二乙基氨基乙酯、N,N-二甲基氨基丙基丙烯酰胺,这些衍生物的盐类等等。然而,能够在本发明中使用的亲水性单体并非局限于这些特定的例子。

[0087] 另一方面,以上疏水性单体的具体例子可以包括丙烯酸酯衍生物以及甲基丙烯酸酯衍生物,例如丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯、以及甲基丙烯酸缩水甘油酯;N-取代的甲基丙烯酸烷基酯衍生物,例如N-甲基丙烯酸正丁酯;氯乙烯、丙烯腈、苯乙烯、醋酸乙烯酯等等。然而,能够在本发明中使用的疏水性单体并非局限于这些特定的例子。

[0088] 显示热敏感性特点的聚合物包括聚(环氧乙烷)-聚(环氧丙烷)-聚(环氧乙烷)三嵌段共聚物(PEO-PPG-PEO)(普流尼克®或泊洛沙姆®),它是ABA类型的三嵌段共聚物家族,由超过30种非离子性的两性共聚物组成(图2)。这些共聚物的物理状态(液体、糊状、固体)由它们的MW和嵌段比例控制。泊洛沙姆良好耐受(非毒性)的生物相容的聚合物。这些嵌段共聚物显示在体温在浓度大于15%(w/w)时的凝胶作用。这些具有浊点的嵌段的以上说明的特性是由这些嵌段的疏水键引起的,它们的强度随温度的增加而增加,随温度的降低而降低。在本发明中,疏水键在这些浊点嵌段之间形成,替代了这些嵌段与水分子之间的键,由此造成这些嵌段不可溶。亲水性嵌段的存在赋予该聚合物形成一种含有水的凝胶的能力,而不是在高于浊点的温度由于这些浊点嵌段的疏水性键合强度过多增加而沉淀,。这些浊点嵌段与亲水性嵌段在该聚合物中的共同存在造成它从低于该温度时的一种水溶性的溶胶状态在浊点或高于浊点的温度转化为一种水不溶性的凝胶状态,该温度基本上与该聚合物的溶胶-凝胶转变温度对应(图3)。

[0089] 另一方面,在由甲基纤维素、羟丙基纤维素等为代表的醚化纤维素的情况下,其溶胶-凝胶转变温度达到约45°C或更高。羟丙基纤维素(HPC)是一种热敏感的聚合物的例子。

HPC是一种纤维素的醚,其中重复性葡萄糖单元内的羟基基团有一些已经被使用环氧丙烷羟丙基化形成- $\text{OCH}_2\text{CH(OH)CH}_3$ 基团。每个葡萄糖单元的经取代的羟基基团的平均数目指作取代程度(DS)。全部取代将提供DS 3。因为加入的羟丙基基团含有一个羟基基团,这也可以在HPC的制备过程中被醚化。当该过程发生时,每个葡萄糖环的羟丙基基团的摩尔数(取代摩尔(MS))可以大于3。因为羟丙基纤维素(HPC)具有疏水基团与亲水基团的组合,所以它在45°C时还具有最低临界溶解温度(LCST)。在低于LCST的温度下,HPC易溶于水中;在高于LCST的温度下,HPC不可溶(图4)。

[0090] 外部包衣层:根据本发明的任一实施例中的另外的特性,经胶囊化的益生菌任选地并且优选地进一步包含一个最外(外表)包衣层,它优选地是一个水溶性聚合物层,用于增强所述热敏感的形成凝胶的聚合物在冷却低于其浊点或其最低临界溶解温度(LCST)时的溶解。可以用于该最外包衣层的材料的例子选自下组,该组由以下各项组成:水溶性的或可侵蚀的聚合物,例如像聚维酮(PVP:聚乙烯吡咯烷酮)、共聚维酮(乙烯基吡咯烷酮与醋酸乙烯酯的共聚物)、聚乙烯醇、Kollicoat Protect (BASF)(它是Kollicoat IR(一种聚乙烯醇(PVA)一聚乙二醇(PEG)接枝共聚物)与聚乙烯醇(PVA)的混合物)、Opadry AMB (Colorcon)(它是一种基于PVA的混合物)、Aquarius MG(它是一种基于纤维素的聚合物(包含天然蜡、卵磷脂、黄原胶以及滑石))、低分子量HPC(羟丙基纤维素)、低分子量HPMC(羟丙基甲基纤维素)(例如羟丙基纤维素(HPMC E3或E5)(Colorcon))、甲基纤维素(MC)、低分子量羧甲基纤维素(CMC)、低分子量羧甲基乙基纤维素(CMEC)、低分子量羟乙基纤维素(HEC)、低分子量羟乙基甲基纤维素(HEMC)、低分子量羟甲基纤维素(HMC)、低分子量羟甲基羟乙基纤维素(HMHEC)、低粘度的乙基纤维素、低分子量甲基乙基纤维素(MEC)、明胶、水解的明胶、聚氧化乙烯、水溶性树胶、水溶性多糖、阿拉伯树胶、糊精、淀粉、经修饰的纤维素、水溶性聚丙烯酸酯、聚丙烯酸、聚羟乙基甲基丙烯酸酯(PHEMA)以及聚甲基丙烯酸甲酯以及它们的共聚物、和/或它们的一种混合物。

[0091] 基质:根据本发明的一个优选的实施例,在所述颗粒核心中的益生菌与一种基质相混合。所述基质优选地包含至少一种材料,该材料还可以是一种针对益生菌的补充剂。该基质可以包括单糖,例如丙糖,包括酮丙糖(二羟基丙酮)以及丙醛糖(甘油醛),丁糖,例如酮丁糖(赤藓酮糖)、丁醛糖(赤藓糖、苏糖)以及戊酮糖(核酮糖、木酮糖),戊糖,例如戊醛糖(核糖、阿拉伯糖、木糖、来苏糖)、脱氧糖(脱氧核糖)以及己酮糖(阿洛酮糖、果糖、山梨糖、塔格糖),己糖,例如己醛糖(阿洛糖、阿卓糖、葡萄糖、甘露糖、古洛糖、艾杜糖、半乳糖、塔罗糖)、脱氧糖(岩藻糖、墨角藻糖、鼠李糖),以及庚糖,例如(景天庚糖),以及辛糖和壬糖(神经氨酸)。该基质可以包括多种糖,例如1)二糖,例如蔗糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖、松二糖、以及纤维二糖,2)三糖,例如棉子糖、松三糖以及麦芽三糖,3)四糖,例如阿卡波糖和水苏糖,4)其他低聚糖,例如低聚果糖(FOS)、低聚半乳糖(GOS)以及甘露低聚糖(MOS),5)多糖例如基于葡萄糖的多糖/葡聚糖,包括糖原淀粉(直链淀粉、支链淀粉)、纤维素、糊精、右旋糖酐、 β -葡聚糖(酵母聚糖、香菇多糖、西佐糖)、以及麦芽糖糊精,基于果糖的多糖/果聚糖,包括菊糖、果聚糖 β 2-6,基于甘露糖的多糖(甘露聚糖),基于半乳糖的多糖(半乳聚糖),以及基于N-乙酰葡糖胺的多糖,包括几丁质。可以包含其他多糖,包括树胶,如阿拉伯树胶(金合欢树胶)。

[0092] 根据本发明的优选实施例,该核心进一步包含一种抗氧化剂。优选地,该抗氧化剂选

自下组,该组由以下各项组成:盐酸半胱氨酸、半胱氨酸碱、4,4-(2,3二甲基四亚甲基二邻苯二酚)、富含生育酚的提取物(天然维生素E)、 α -生育酚(合成的维生素E)、 β -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚、butylhydroxinon、丁基羟基茴香醚(BHA)、丁基羟基甲苯(BHT)、没食子酸丙酯、没食子酸辛酯、没食子酸十二酯、叔丁基氢醌(TBHQ)、富马酸、苹果酸、抗坏血酸(维生素C)、抗坏血酸钠、抗坏血酸钙、抗坏血酸钾、抗坏血酸棕榈酸酯、以及抗血酸硬脂酸酯。包含于该核心中的可以是柠檬酸、乳酸钠、乳酸钾、乳酸钙、乳酸镁、阿诺克索默(anoxomer)、异抗坏血酸、异抗坏血酸钠、异抗坏血酸(erythorbin acid)、异抗坏血酸钠(sodium erythorbin)、乙氧喹、甘氨酸、愈创木脂、柠檬酸钠(柠檬酸单钠、柠檬酸二钠、柠檬酸三钠)、柠檬酸钾(柠檬酸单钾、柠檬酸三钾)、卵磷脂、多磷酸酯、酒石酸、酒石酸钠(酒石酸单钠、酒石酸二钠)、酒石酸钾(酒石酸单钾、酒石酸二钾)、酒石酸钾钠、磷酸、磷酸钠(磷酸一钠、磷酸二钠、磷酸三钠)、磷酸钾(磷酸一钾、磷酸二钾、磷酸三钾)、乙二胺四乙酸二钠钙(EDTA二钠钙)、乳酸、三羟基丁酰苯、以及硫代二丙酸、及其混合物。根据一个优选实施例,该抗氧化剂是半胱氨酸碱。

[0093] 根据本发明的一些实施例,该核心进一步包含注心剂和粘合剂。填充剂的实例包括,例如,微晶纤维素;糖,如乳糖、葡萄糖、半乳糖、果糖、或蔗糖;磷酸二钙;糖醇,如山梨糖醇、甘露糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇、异麦芽糖醇、赤藓糖醇以及氢化淀粉水解物;玉米淀粉;土豆淀粉;羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素,或它们的混合物。更优选地,该填充剂是乳糖。粘合剂的例子包括聚维酮(PVP:聚乙烯吡咯烷酮)、共聚维酮(乙烯基吡咯烷酮与醋酸乙烯酯的共聚物)、聚乙烯醇、低分子量HPC(羟丙基纤维素)、低分子量HPMC(羟丙基甲基纤维素)、低分子量羧甲基纤维素、低分子量羟乙基纤维素、低分子量羟甲基纤维素、明胶、水解的明胶、聚氧化乙烯、阿拉伯树胶、糊精、淀粉、以及水溶性聚丙烯酸酯以及聚甲基丙烯酸酯、低分子量乙基纤维素或它们的一种混合物。

[0094] 益生菌的例子包括但不限于:凝结芽孢杆菌GBI-30、6086、枯草杆菌变种natt、双歧杆菌LAFTI® B94、双歧杆菌属LAFTI B94、两歧双歧杆菌、两歧双歧杆菌rose11-71、短双歧杆菌、短双歧杆菌Rose11-70、婴儿双歧杆菌、乳双歧杆菌、长双歧杆菌、长双歧杆菌Rose11-175、动物双歧杆菌、动物双歧杆菌乳酸亚种BB-12、动物双歧杆菌乳酸亚种HN019、动物双歧杆菌35624、大肠埃希氏菌M-17、尼氏大肠杆菌(*Escherichia coli* Nissle 1917)、嗜酸乳杆菌、嗜酸乳杆菌LAFTI® L10、嗜酸乳杆菌LAFTI L10、干酪乳杆菌LAFTI® L26、干酪乳杆菌LAFTI L26、短乳杆菌、保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、格氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)、拟干酪乳杆菌、植物乳杆菌、罗伊氏乳杆菌ATTC 55730(罗伊氏乳杆菌SD2112)、鼠李糖乳杆菌、唾液乳杆菌、德氏乳杆菌、发酵乳杆菌、乳酸乳球菌、乳酸乳球菌乳酸亚种、乳酸乳球菌Rose11-1058、拟干酪乳杆菌St11(或NCC2461)、Nestlé强壮乳杆菌(*Lactobacillus fortis* Nestlé)、约氏乳杆菌La1(=乳杆菌LC1、约氏乳杆菌NCC533)Nestlé、鼠李糖乳杆菌Rose11-11、嗜酸乳杆菌Rose11-52、嗜热链球菌、*Diacetylactis*、或其他微生物像酵母菌、啤酒酵母,及其混合物。

[0095] 本文所述的方法允许制造不同的保健食品,而不分离混合与加热步骤。例如但不限于,甚至在加热阶段之前、过程中或不久之后,将含有益生菌颗粒的基于液体的产品直接混合至液体中。根据本发明的经胶囊化的益生菌可以被结合到婴儿食品如婴儿食品粉末复合物,和/或结合到在其制造或制造后制备过程中经历加热步骤的基于液体的产品中。在不

受限制情况下,根据本发明的经胶囊化的益生菌可以被结合到最终透明度和外观是一个重要的营销因素的产品中,以及结合到热饮品中,结合到花蜜中以及结合到果汁中,以及结合到其他饮品中,这些饮品可以在其加工和/或生产过程中暴露于高于环境温度(室温)的温度。

[0096] 本发明的不同实施例将在以下实例中将进一步说明和阐述。

[0097] 实例

[0098] 实例1

[0099] 材料

材料:	功能:
乳双歧杆菌	一种益生菌
麦芽糖糊精	核心物质
海藻糖	核心物质
羟丙基淀粉	核心粘合剂
羟丙基淀粉	第一包衣层剂
磷酸化的磷酸双淀粉	第二包衣层聚合物

[0101] 方法

[0102] 将羟丙基淀粉(HPS)溶解于90°C的水中20分钟,在这之后聚合物溶解。然后制备HPS(5%w/w)在水中的溶液。

[0103] 使用Innojet Ventilus包衣机,将乳双歧杆菌(BL 818)(44.8g)、麦芽糖糊精(402.3g)以及海藻糖(51.1g)与HPS的溶液进行颗粒化。然后使用以上HPS溶液通过一个含(内层)HPS的亚包衣层将得到的颗粒(518.9g)包衣,以获得与核心重量相比在包衣的颗粒重量中的10%(W/W)增重。然后使用一种在水/乙醇混合物中的5%(W/W)溶液,用一个包含磷酸化的磷酸双淀粉的外部包衣层将得到的经包衣的颗粒包衣,以获得与核心加上内层的重量相比在包衣的颗粒重量中的30%(W/W)增重。

[0104] 实例2

[0105] 材料

材料:	功能:
乳双歧杆菌	一种益生菌
麦芽糖糊精	核心物质
海藻糖	核心物质
羟丙基淀粉	核心粘合剂
羟丙基淀粉	第一包衣层剂
乙酰化磷酸双淀粉	第二包衣层聚合物

[0107] 方法

[0108] 将预凝胶化的羟丙基淀粉(HPS)溶解于室温下的水中。

[0109] 使用Innojet Ventilus包衣机,将乳双歧杆菌(BL 818)(44.8g)、麦芽糖糊精(402.3g)以及海藻糖(51.1g)与HPS的溶液进行颗粒化。然后使用以上HPS溶液通过一个含(内层)HPS的亚包衣层将得到的颗粒(518.9g)包衣,以获得与核心重量相比在包衣的颗粒重量中的10% (W/W) 增重。然后使用一种在水中的5% (W/W) 溶液,用一个包含乙酰化磷酸双淀粉的外部包衣层将得到的经包衣的颗粒包衣,以获得与核心加上内层的重量相比在包衣的颗粒重量中的30% (W/W) 增重。

[0110] 实例3

[0111] NaCl溶液(0.9%)中的热抵抗测试方法

[0112] 在纯化水中

[0113] 目的

[0114] 评估根据本发明的经微胶囊化的细菌的生存率。该测试通过以下方式进行:将经微胶囊化的细菌粒料的样品分散到70°C的处于纯化水中预先加热的NaCl溶液(0.9%)里,持续5分钟。

[0115] 该方法的原理

[0116] 1. 将经微胶囊化的益生菌粒料样品分散在预先加热到70°C的水(NaCl溶液,0.9%)中。

[0117] 2.5分钟之后,将水(NaCl溶液,0.9%)冷却至40°C以下。

[0118] 3. 经微胶囊化的益生菌颗粒完全溶解。

[0119] 4. 进行计数测试,以便确定在该样品中每克细菌含量中的菌落形成单位(CFU/g)。

[0120] 5. 这些结果将与空白样品(未经微胶囊化的细菌)的结果相对比。

[0121] 6. 对照样品将通过经微胶囊化的细菌和未经微胶囊化的细菌在室温(没有预先加热)直接溶解到水(NaCl溶液,0.9%)中来制备。

[0122] 用于热抵抗测试方法的步骤

[0123] 1. 准确测量10克益生菌样品(根据本发明的经微胶囊化的细菌粒料或未经微胶囊化的细菌)。

[0124] 2. 将100ml蒸馏水(NaCl溶液,0.9%)放置在玻璃烧杯中,并且使用配备了恒温器的水浴加热至70°C。

[0125] 2. 测量并记录温度。

[0126] 3. 将称重的样品引入到水(NaCl溶液,0.9%)中,并且立刻开始测量时间。

[0127] 4. 精确地5分钟后,从水浴中取出玻璃烧杯并将其冷却降至40°C。

[0128] 5. 使用振荡器将经微胶囊化的细菌粒料的样品彻底溶解大约0.25小时至4小时,这取决于热敏感的形成凝胶的包衣层的质量增加。

[0129] 6. 进行计数测试并计算CFU/gr。

[0130] 用于对照样品的步骤

[0131] 1. 准确测量10克益生菌样品(根据本发明的经微胶囊化的细菌粒料或未经微胶囊化的细菌)。

[0132] 2. 将称重的样品在室温分散到100ml水(NaCl溶液,0.9%)中。

[0133] 3. 使用振荡器将经微胶囊化的细菌粒料的样品彻底溶解大约0.25小时至4小时,这取决于热敏感的形成凝胶的包衣层的质量增加。

[0134] 4. 进行计数测试并计算CFU/gr。

[0135] 实例4

[0136] 在婴儿奶中的热抵抗测试方法

[0137] 配制品悬浮液

[0138] 目的

[0139] 评估根据本发明的经微胶囊化的细菌的生存率。该测试通过以下方式进行：将经微胶囊化的细菌粒料的样品分散到70°C的婴儿奶配制品悬浮液中，持续5分钟。

[0140] 该方法的原理

[0141] 1. 将经微胶囊化的益生菌粒料的样品以颗粒分散在70°C的婴儿奶配制品悬浮液中，持续5分钟。

[0142] 2.5分钟后，将婴儿奶配制品悬浮液冷却降至40°C以下。

[0143] 3. 振荡该婴儿奶配制品悬浮液，以便溶解经微胶囊化的益生菌粒料。

[0144] 4. 进行计数测试，以便确定在该样品中每克细菌含量中的菌落形成单位(CFU/g)。

[0145] 用于对照样品的步骤

[0146] 1. 将210ml水加热至70°C，并且置入烧瓶中。

[0147] 2. 将样品与婴儿奶粉末的混合粉末分散到该烧瓶中。

[0148] 3. 密闭该烧瓶，垂直旋转，上下摇晃30次。

[0149] 4. 将奶冷却，将烧瓶在室温放置，直到奶温度为37°C(缓慢冷却)；时间估计：30min。

[0150] 5. 进行计数测试并计算CFU/gr。

[0151] 制备样品与婴儿奶粉末的混合粉末

[0152] 混合粉末I, 3.2g样品与28.8g婴儿奶粉末，

[0153] 混合粉末II, 9.6g样品与22.4g婴儿奶粉末，

[0154] 混合粉末III, 16g样品与16g婴儿奶粉末。

[0155] 实例5

[0156] 方法-微胶囊化过程和配制品

[0157] 首先，使用Innojet Ventilus包衣机，将经干燥益生菌粉末、麦芽糊精与一种在纯水中的羟丙基甲基淀粉(HPS)(测试2、3和5-8)或羟丙基甲基纤维素(HPC)(测试4)的溶液进行颗粒化。然后使用如下表所示的在纯水中的HPC(测试4)或HPS或HPS与乙酰化磷酸双淀粉(ADSP)组合的溶液将得到的颗粒包衣。随后在纯水中的粉末状婴儿配方(PIF)分散液中针对抗热性测试(存活测试)来测试所得到的微胶囊。

测试	批次 #	细菌	聚合物类型	细菌含量%
[0158]				

				(w/w)
1	原样纯 BB	短双歧杆菌		100
2	13-0125-0134, 16.05.13	短双歧杆菌	基于 8% 羟丙基淀粉 (HPS) 的双层微胶囊作为内层并且 23% 乙酰化磷酸双淀粉 (ADSP) 作为外层	6.18
3	13-0129-0134_D	短双歧杆菌	基于 37% 羟丙基淀粉 (HPS) 的单层微胶囊	5.6
4	13-0130-0134_B	短双歧杆菌	基于 37% 羟丙基纤维素 (HPC) 的单层微胶囊	5.6
5	13-0171-0134_D2,	短双歧杆菌	基于 19% 羟丙基淀粉 (HPS) 的双层微胶囊作为内层并且 19% 乙酰化磷酸双淀粉 (ADSP) 作为外层	6.25
6	13-0185-0134_C	短双歧杆菌	基于羟丙基淀粉 (HPS) 的单层微胶囊和 37% 乙酰化磷酸双淀粉 (ADSP) (1:1 重量比)	30.83
7	13-0359-0134+_B	短双歧杆菌	基于羟丙基淀粉 (HPS) 的单层微胶囊和 9-26% 乙酰化磷酸双淀粉 (ADSP) (7:3 重量比)	36.1
8	13-0387-0134+_B	短双歧杆菌	基于羟丙基淀粉 (HPS) 的单层微胶囊和 9-26% 乙酰化磷酸双淀粉 (ADSP) (7:3 重量比)	43.3

[0159] [0160] 粉末状婴儿配方 (PIF) 分散液的存活测试方法

[0161] 用于短双歧杆菌 (B.Breve) 在PIF中的生存率的测试方法是改编自由WHO与联合国FAO发布的新指南 (世界卫生组织,粉末状婴儿配方的安全制备、存储和加工,指南2007 (World Health Organization.Safe Preparation,Storage and Handling of Powdered Infant Formula.Guidelines2007))。通常,通过将之前制备的经微胶囊化的细菌粒料样品与PIF的混合物在不同温度下分散在一个塑料婴儿瓶中的一定体积的纯化预热水中来进行该测试。然后将瓶子盖上并且不断地连续上下摇晃,持续不同时间段。接着通过允许将PIF分散液置于室温来冷却至37℃。随后在分散液的整个体积上进行计数测试以测定细菌在PIF分散液中的CFU。

[0162] 测试1-6的结果

[0163] 不同的微胶囊化配制品相比于原样短双歧杆菌 (未微胶囊化的) 的计数测试的结果示于下表。

测试	测试项目	温度 测试°C	CFU/细菌 3分钟	CFU/细菌 5分钟
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	短双歧杆菌	40	$> 10^{10}$	$> 10^{10}$
		70	7.3×10^5	7.8×10^5
		85	$< 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^4$
		100	$< 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^4$

[0164] [0165] 测试7和8的结果

[0166] 对于具有不同包衣层厚度的两个批次在40°C和70°C下(在Aptamil中5分钟)的CFU/g细菌的结果总结于下表中。

[0167] 测试7(批次#13-0359-0134+_B)

样品	涂层重量增加 (%)	40°C CFU/g 细菌	70°C CFU/g 细菌
BB	原样纯短双歧 杆菌	3.5×10^{10}	2.3×10^4
1	核心(未包衣)	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

[0170] ND-未测定

[0171] 测试8(批次#13-0387-0134+_B)

[0172]

样品	涂层重量增加 (%)	40°C CFU/g 细菌	70°C CFU/g 细 菌
BB	原样纯短双歧 杆菌	3.5×10^{10}	2.3×10^4
1	核心 (未包衣)	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

[0173] 尽管本发明在一些特定实例方面已经进行说明,很多修改和变体是可能的。因此,应该理解在所附的权利要求范围内,除了如特定说明的之外,本发明可以被实现。

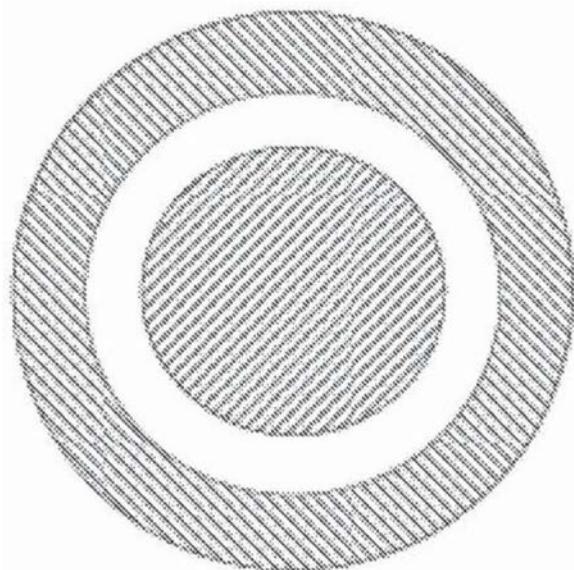


图1

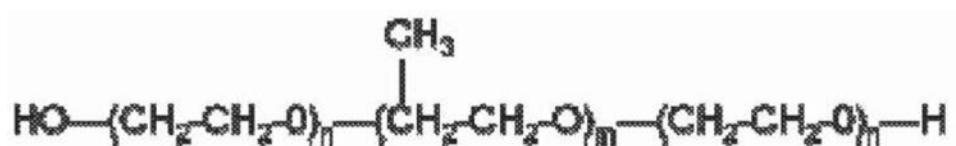


图2A

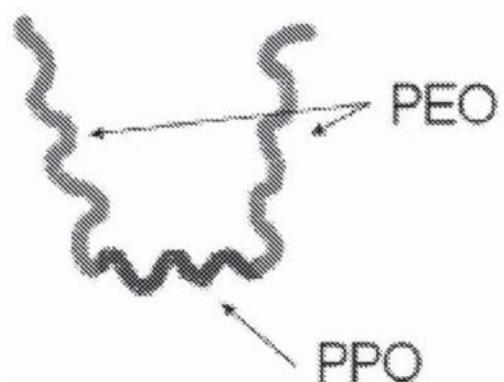


图2B

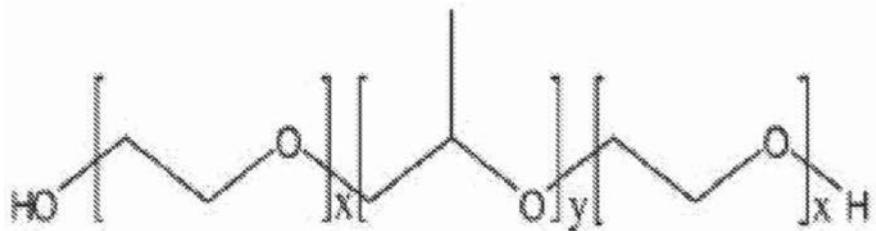


图3A

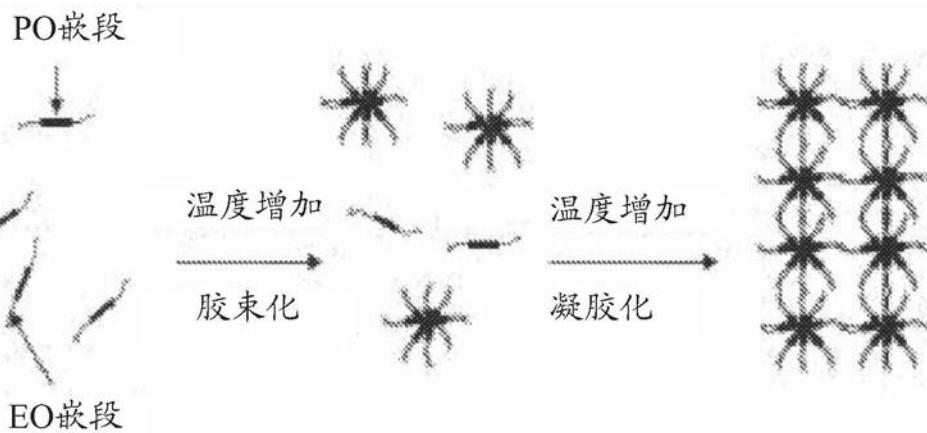


图3B

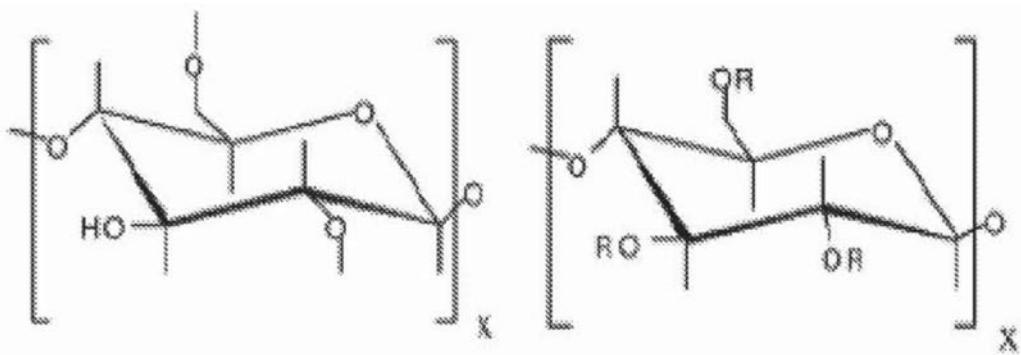


图4A

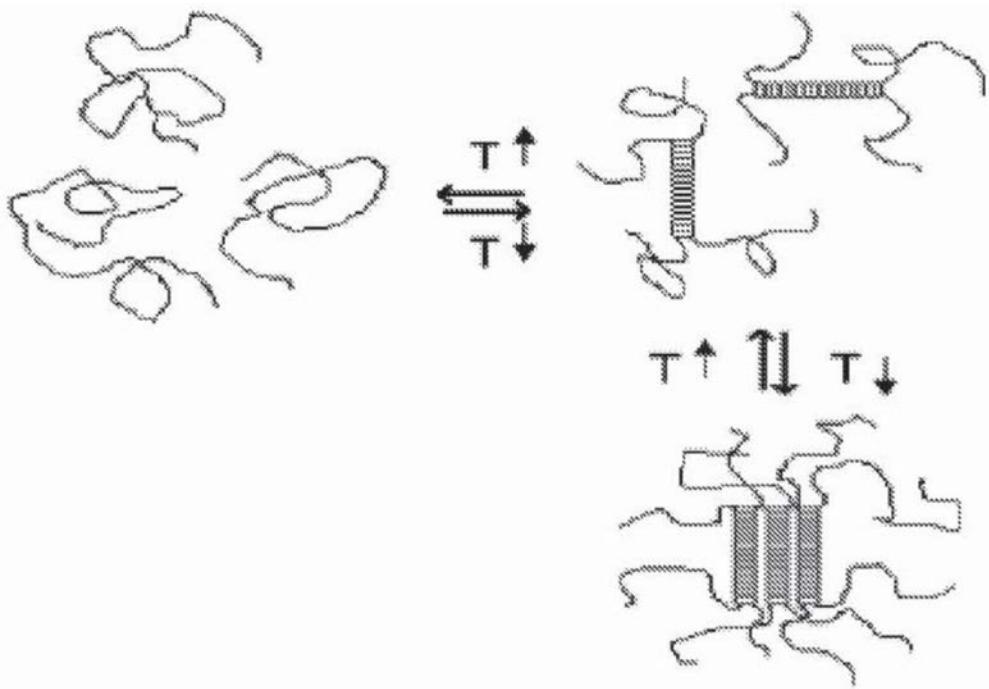


图4B

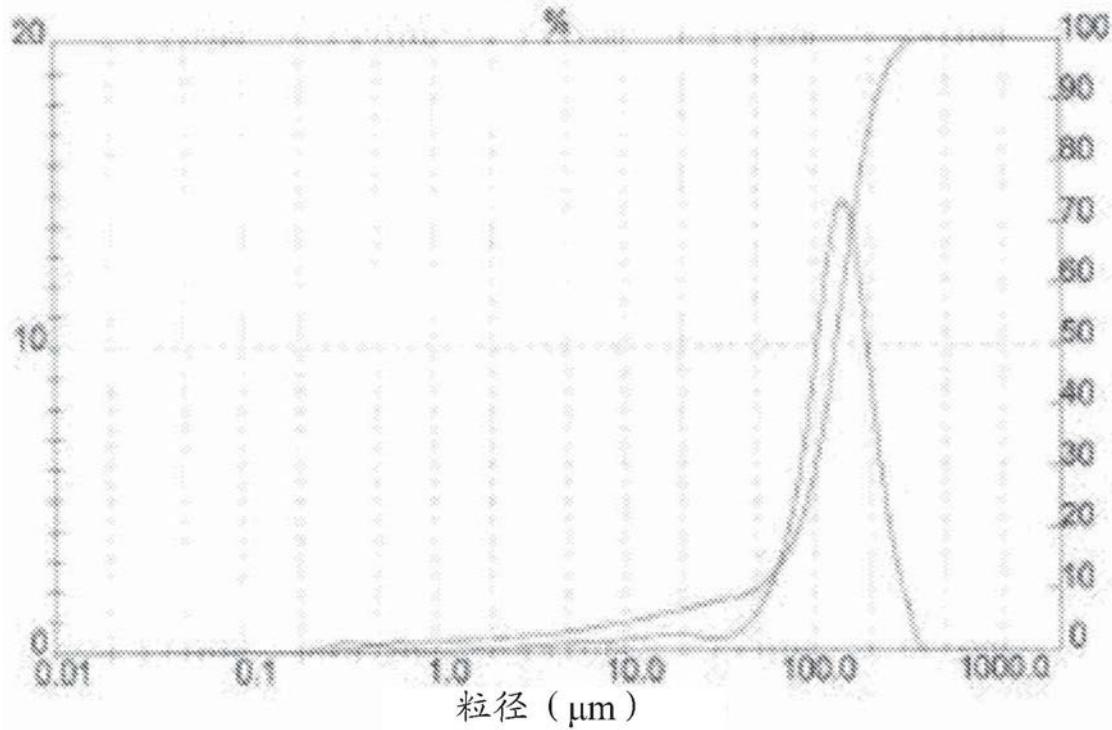


图5

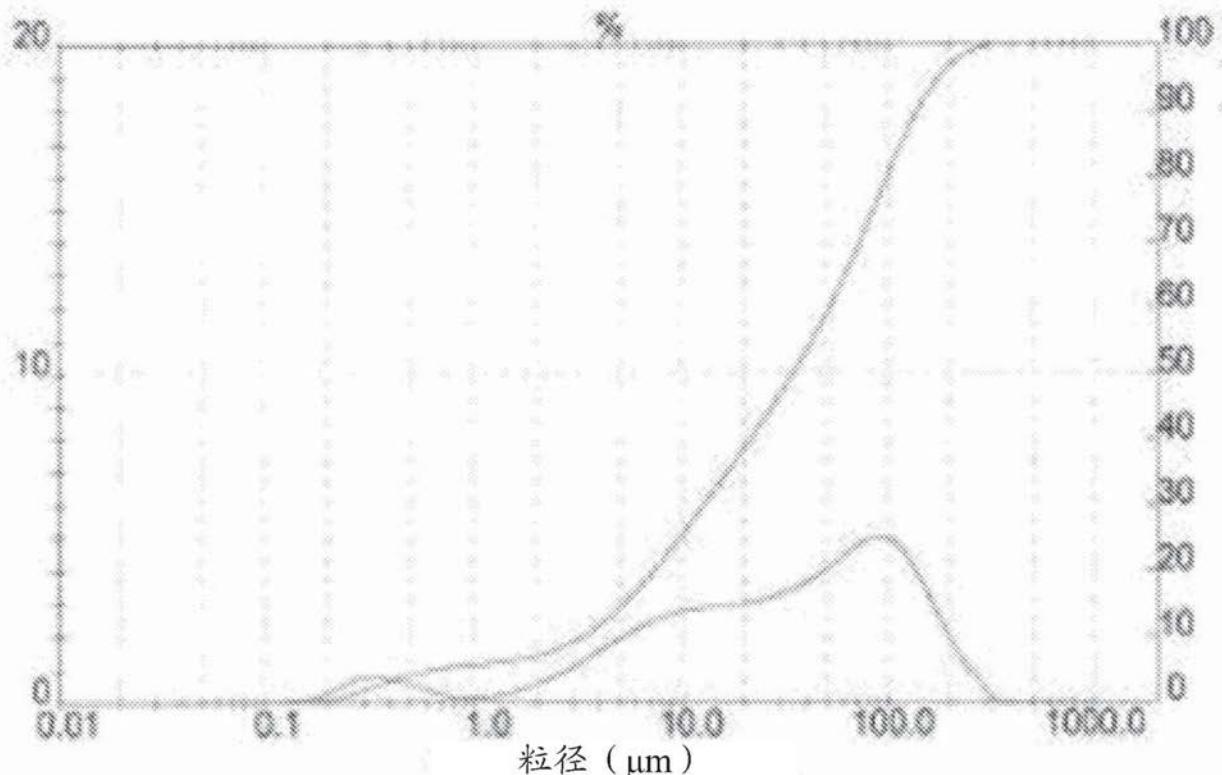


图6

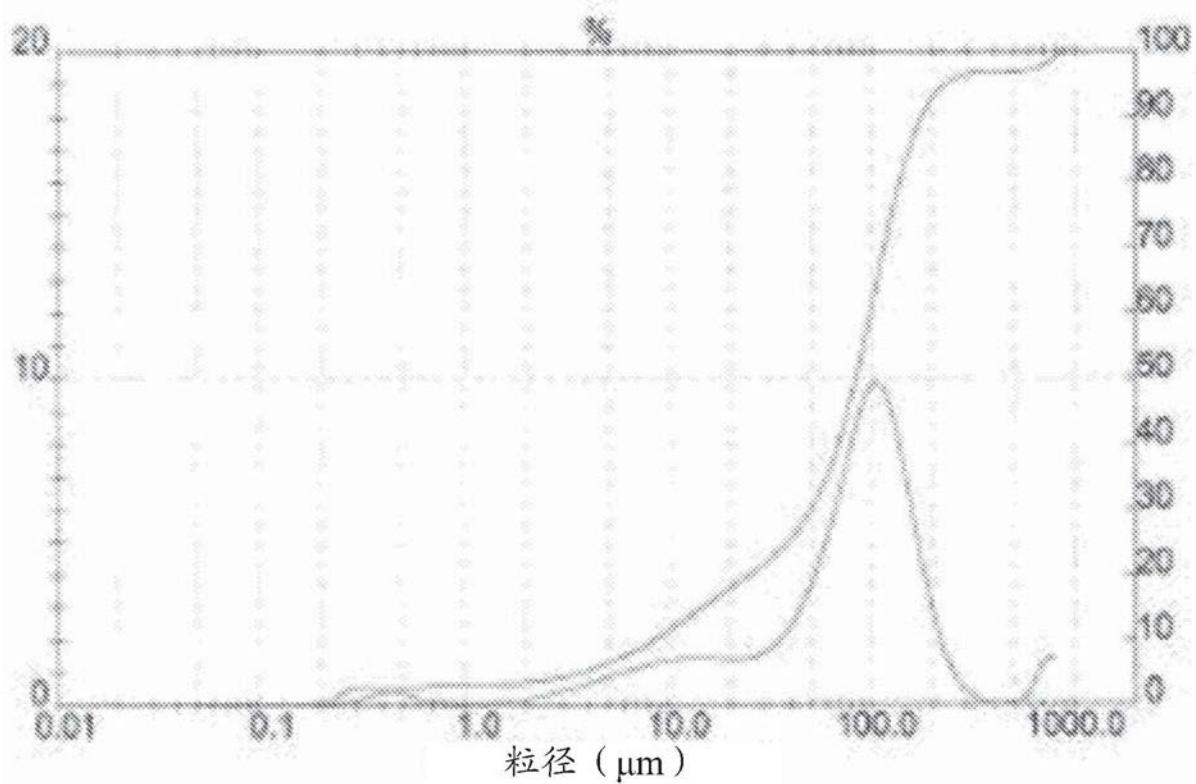


图7

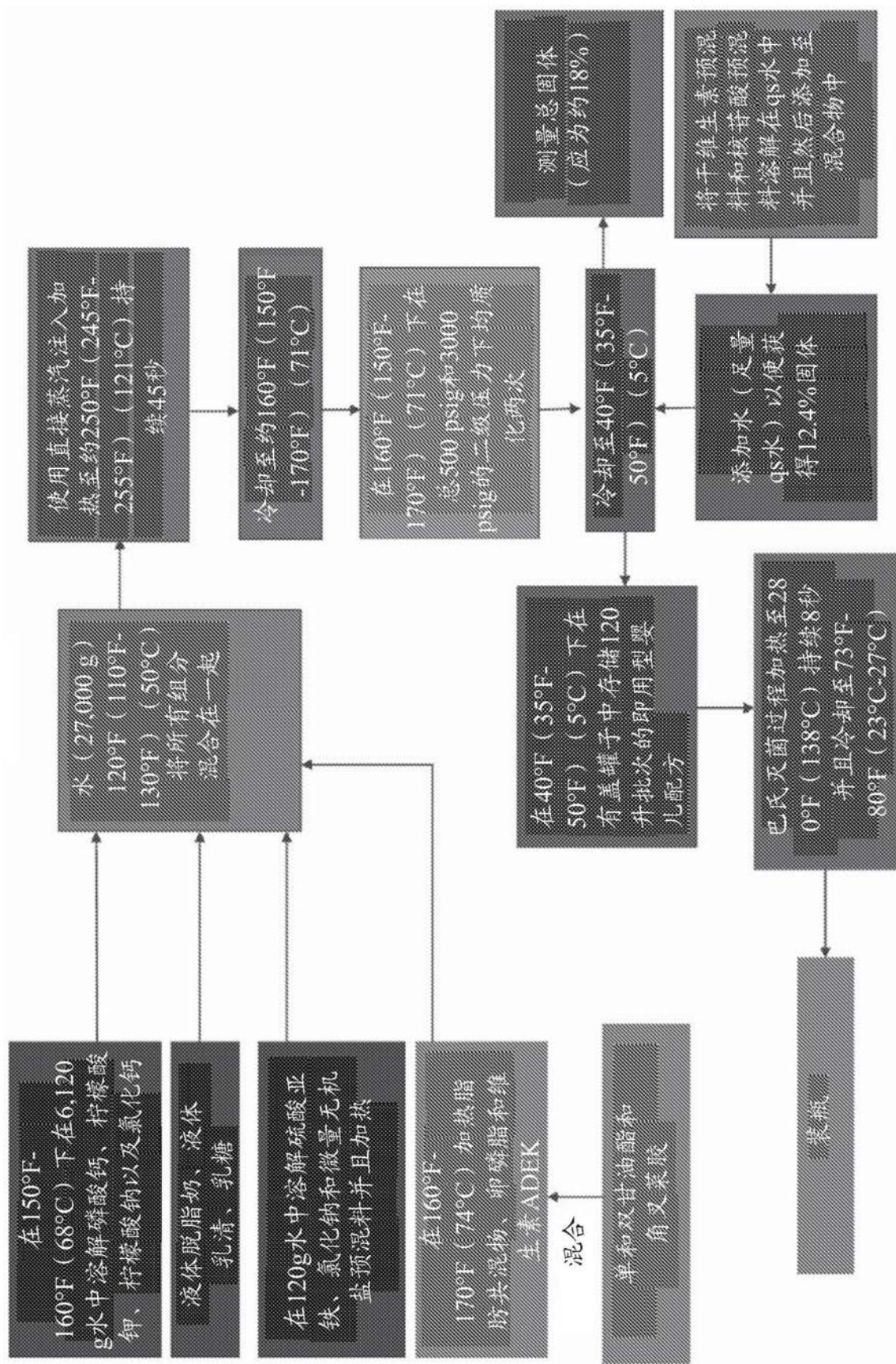


图8

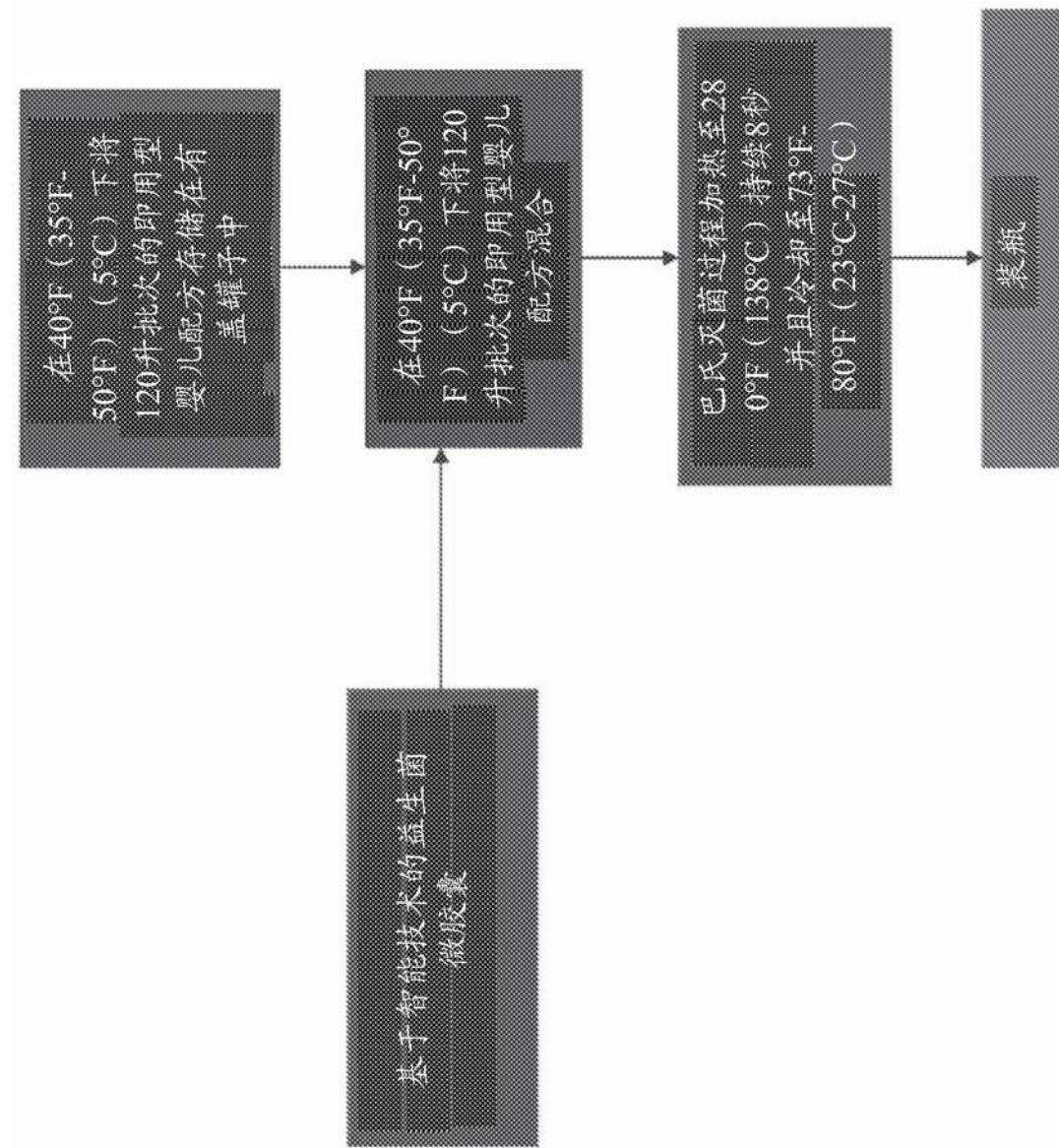


图9