



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101668518 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 07

(21) 申请号 200880005097. 8

(22) 申请日 2008. 02. 14

(30) 优先权数据

60/901, 469 2007. 02. 14 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2009. 08. 14

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/054012 2008. 02. 14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/127777 EN 2008. 10. 23

(73) 专利权人 尼尔·A·所罗门

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 尼尔·A·所罗门

(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理

有限责任公司 11290

代理人 张淑珍 王维玉

(51) Int. Cl.

A61K 9/50 (2006. 01)

A61K 38/46 (2006. 01)

(56) 对比文件

US 6008027 A, 1999. 12. 28, 说明书第 2 栏第 55 行 - 说明书第 6 栏第 3 行.

CN 1376518 A, 2002. 10. 30, 说明书第 2 页第 5 行 - 说明书第 7 页倒数第 1 行.

US 6365208 B1, 2002. 04. 02, 说明书第 1 栏第 50 行 - 说明书第 4 栏第 55 行.

CN 1201372 A, 1998. 12. 09,

US 2004/0161498 A1, 2004. 08. 19, 说明书第 2 页 [0014] 段 - 说明书第 7 页 [0066] 段.

审查员 赵菁

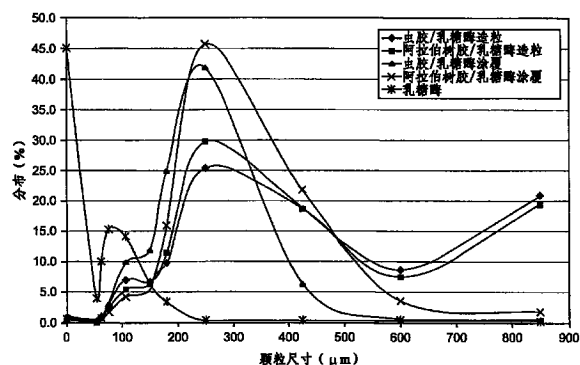
权利要求书2页 说明书15页 附图2页

(54) 发明名称

乳糖酶制剂

(57) 摘要

本发明提供了一种包含许多含有乳糖酶和保护材料的颗粒的微粒组合物。该颗粒具有使人舌不能感觉到或最小感觉到的尺寸。该微粒组合物可通过包括如下步骤的方法进行制备:提供乳糖酶;提供保护材料;以及形成包含许多含有乳糖酶和保护材料的颗粒的微粒组合物,该颗粒具有使人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸。该微粒组合物的使用可通过将乳糖酶组合物应用于食物制品中、或是通过在摄入食物制品的过程中使用该乳糖酶组合物。



1. 一种用于含有乳糖的食物制品的、微粒形式的固体乳糖酶组合物,所述组合物由许多涂覆颗粒组成,所述涂覆颗粒由乳糖酶和保护材料组成,其中所述涂覆颗粒被所述保护材料涂覆、且具有使人舌不能感觉到或最小感觉到的尺寸,其中所述颗粒的尺寸为 400 微米以下,所述乳糖酶的浓度占组合物总重的 20wt% 至低于 100wt% ;

所述保护材料选自于阿拉伯树胶和虫胶。

2. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述颗粒的尺寸为 200 微米以下。

3. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述颗粒的尺寸为 100 微米以下。

4. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述颗粒的尺寸为 50 微米以下。

5. 如权利要求 1 所述的组合物,其中所述涂覆颗粒是食物制品的组分,或者在摄取食物制品时加入所述涂覆颗粒。

6. 一种用于含有乳糖的食物制品的、微粒形式的固体乳糖酶组合物,所述组合物由许多颗粒组成,所述颗粒由乳糖酶和保护材料组成,其中所述颗粒包含包封有乳糖酶的微胶囊、且具有使人舌不能感觉到或最小感觉到的尺寸,其中所述颗粒的尺寸为 400 微米以下,所述乳糖酶的浓度占组合物总重的 20wt% 至低于 100wt% ;

所述保护材料选自于阿拉伯树胶和虫胶。

7. 一种用于含有乳糖的食物制品的、微粒形式的固体乳糖酶组合物,所述组合物由许多颗粒组成,所述颗粒由乳糖酶和作为基质材料的保护材料组成,其中所述颗粒具有使人舌不能感觉到或最小感觉到的尺寸,并且其中所述颗粒的尺寸为 400 微米以下,所述乳糖酶分散于所述颗粒中,所述乳糖酶的浓度占组合物总重的 20wt% 至低于 100wt% ;

所述保护材料选自于阿拉伯树胶和虫胶。

8. 一种制备用于含有乳糖的食物制品的、微粒形式的固体乳糖酶组合物的方法,包含:

提供乳糖酶;

提供保护材料;以及

形成由许多颗粒组成的组合物,所述颗粒由所述乳糖酶和所述保护材料组成,其中所述颗粒具有使人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸,其中所述颗粒的尺寸为 400 微米以下,所述乳糖酶的浓度占组合物总重的 20wt% 至低于 100wt% ;

所述保护材料选自于阿拉伯树胶和虫胶。

9. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述形成微粒组合物包括将所述微粒组合物过滤以产生具有人舌不能感觉到的尺寸的颗粒。

10. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述形成微粒组合物包括使所述保护材料包封所述乳糖酶以产生包封有乳糖酶的微胶囊。

11. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述形成微粒组合物包括在所述颗粒上涂覆包含有所述保护材料的保护层。

12. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述保护材料为基质材料,并且其中所述乳糖酶分散于所述颗粒中。

13. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述颗粒的尺寸为 200 微米以下。

14. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述颗粒的尺寸为 100 微米以下。

15. 如权利要求 8 所述的方法,其中所述颗粒的尺寸为 50 微米以下。

16. 微粒形式的固体乳糖酶组合物在制备含有乳糖的食物制品中的用途,其中所述乳糖酶组合物由许多颗粒组成,所述颗粒由乳糖酶和保护材料组成,以及其中所述颗粒具有使人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸,其中所述颗粒的尺寸为 400 微米以下,所述乳糖酶的浓度占组合物总重的 20wt% 至低于 100wt%;

所述保护材料选自于阿拉伯树胶和虫胶。

17. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述颗粒的尺寸为 200 微米以下。

18. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述颗粒的尺寸为 100 微米以下。

19. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述颗粒的尺寸为 50 微米以下。

20. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述颗粒是包封有乳糖酶的微胶囊。

21. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述颗粒包括含有保护材料的涂层。

22. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述保护材料为基质材料,并且所述乳糖酶分散于所述颗粒中。

23. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述食物制品为乳制品。

24. 如权利要求 16 所述的用途,其中所述食物制品选自奶、咖啡、巧克力、谷类食品、思慕雪、比萨饼和冰淇淋。

## 乳糖酶制剂

[0001] 本申请相关文献

[0002] 本申请为非临时申请,要求 2007 年 2 月 14 日递交的美国临时申请 No 60/901,469 的优先权,整体引入本文作为参考。

### 技术领域

[0003] 总体而言,本发明涉及乳糖酶制剂、其制备方法及其使用方法。

### 背景技术

[0004] 人类消化系统利用  $\beta$ -半乳糖苷酶(通常称为乳糖酶)分解哺乳动物乳汁中存在的复杂糖分子乳糖。乳糖酶活性降低在许多族群中很常见,经常出现在幼年,但是却伴随不同形式的痛苦。这种病症在摄取乳类饮料或乳类食物后会引发胃胀、痉挛、腹痛和气胀等症状,这种病症称为乳糖不耐症。

[0005] 目前有几种方法可治疗乳糖不耐症。许多乳糖不耐受的病人避免使用乳制品。但是,因为乳类是钙的主要来源,对许多人来说这并不是一种健康的行为。用乳糖酶加以处理,将乳糖水解为葡萄糖和半乳糖后的乳品可容易购得。因为葡萄糖是比乳糖更甜的糖,所以其所制得的乳品比传统乳品更稠并且更甜。还可得到经预处理除去乳糖的很多其它乳制品,诸如冰淇淋和农家干酪(cottage cheese)等。作为含有乳糖的传统乳制品的替代品,这些产品同样有着不同的味道和粘稠度。

[0006] 第三种治疗乳糖不耐症的方法是在摄取乳类时摄取含乳糖酶的片剂。这类片剂在药店或日用品店的药物区以及其它大型零售店都可买到。公开摄取药片表明具有医学问题,这在公共餐厅进餐的情况下会很尴尬。孩子们还会发现很难摄取乳糖酶片剂。最后,从最需要的地点和时间分离乳糖酶使其变得不方便并且常常难以得到。

[0007] 因此,需要有一种不改变乳类口感(texture)和味道的乳糖酶食品添加剂。如果将乳糖酶包埋在食品中,使其在经过味蕾后能对乳糖起作用,则将不会改变所需的乳制品的味道。如果乳糖酶能在胃和小肠中具有活性,则也会使乳糖水解并且避免出现乳糖不耐受的症状。通过将乳糖酶包埋在与乳类一起摄入的配料(toppings)、调味品和食物中,可达到该目的。

[0008] 本文公开的制备和使用该制剂的方法正是针对于上述问题和需要。

[0009] 发明内容

[0010] 本发明的一个方面提供了一种包含许多含有乳糖酶和保护材料的颗粒的组合物。所述颗粒具有使人舌最小感觉到的尺寸。颗粒可以是包封乳糖酶的微胶囊或颗粒上具有保护材料的涂层的颗粒。在有些实施方式中,颗粒可以是将乳糖酶分散于基质材料(粘合材料)中的颗粒。

[0011] 本文公开的组合物的乳糖酶浓度可为高于 0wt% 至低于 100wt%。例如,组合物的乳糖酶浓度可为组合物总重的约 5wt%~约 95wt%。

[0012] 保护材料可以为食品业和/或制药业常用的任何材料。该保护材料的一些例子可

以是醋酸邻苯二甲酸直链淀粉 (amylose acetate phthalate)、苯乙烯-马来酸共聚物、醋酸琥珀酸纤维素、醋酸邻苯二甲酸纤维素、聚醋酸乙烯邻苯二甲酸酯 (polyvinyl acetate phthalate)、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、脂肪酸、羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、甘油三乙酸酯 (三醋精)、Marcoat、阿拉伯树胶、甘油、脂肪酸酯、甘油酯、聚甘油酯、石蜡、巴西棕榈蜡、缩甲醛化明胶 (formalized gelatin)、虫胶、氢化植物油以及它们的组合。

[0013] 本发明的另一方面提供了一种制备乳糖酶组合物的方法。所述方法包括：提供乳糖酶；提供保护材料；以及形成微粒组合物，所述微粒组合物包含乳糖酶和保护材料，具有使人舌最小感觉到的尺寸的颗粒。在有些实施方式中，形成微粒组合物的过程包括将微粒组合物过滤以产生具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸的颗粒。在有些实施方式中，形成微粒组合物的过程包括使保护材料包封乳糖酶以产生包封乳糖酶的微胶囊。在有些实施方式中，形成微粒组合物的过程包括在颗粒上涂覆包含保护材料的保护层。微粒组合物的实施方式如上所述。

[0014] 本发明的另一方面提供了一种本文所述的乳糖酶组合物的使用方法。所述方法包括：将乳糖酶组合物用于食物制品、或在摄入食物制品过程中使用乳糖酶组合物。所述组合物包含许多含有乳糖酶和保护材料的颗粒，所述颗粒具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸。微粒组合物的实施方式如上所述。食物制品可以是任何乳制品。

## 附图说明

[0015] 图 1. 4 组加工过的乳糖酶的颗粒尺寸分布图。

[0016] 图 2. 所测量的 4 组加工过的乳糖酶组的乳糖酶活性；涂覆阿拉伯树胶的乳糖酶 (AC) 组 #CW12-29、阿拉伯树胶造粒的乳糖酶 (AG) 组 #CW12-127、涂覆虫胶的乳糖酶 (SC) 组 #CW12-128 以及虫胶造粒的乳糖酶 (SG) 组 #CW12-125。

## 具体实施方式

[0017] 本发明的一个方面提供了一种包含许多含有乳糖酶和保护材料的颗粒的微粒组合物。所述颗粒具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸。所述保护材料能使食物制品中的乳糖酶保持稳定。在消化食物制品的过程中，所述组合物释放乳糖酶。

[0018] 在有些实施方式中，颗粒可以是包封乳糖酶的微胶囊、或颗粒上具有保护材料涂层的颗粒。在有些实施方式中，颗粒包括将乳糖酶分散于其中的基质材料（粘合材料）。

[0019] 本文公开的组合物的乳糖酶浓度可为高于 0wt% 至低于 100wt%。例如，组合物的乳糖酶浓度可为组合物总重的约 5wt%~约 95wt%。在有些实施方式中，本文所述的微粒组合物可包括浓度为诸如制剂总重约 10wt%、约 20wt%、约 30wt%、约 40wt%、约 50wt%、约 60wt%、约 70wt%、约 80wt% 或约 90wt% 的乳糖酶。

[0020] 在有些实施方式中，任意的上述形成步骤可包括将上面形成的颗粒过滤以产生具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的一定尺寸的颗粒。

[0021] 在有些实施方式中，微粒组合物可以是固体制剂。例如，微粒组合物可以是粉剂或颗粒剂，并且可以将其放入振荡器或小包装袋 (packets) 中以撒在乳类食品上。微粒组合物可包括常规的固体填充剂或载体，诸如淀粉；滑石；磷酸钙；硫酸钙；硬脂酸钙；硬脂酸镁；硬脂酸；山梨醇；甘露醇；明胶；天然或合成树胶，诸如羧甲基纤维素、甲基纤维素、藻

酸盐、右旋糖苷、阿拉伯树胶、刺梧桐树胶、刺槐豆胶、黄蓍胶和其它常规的载体。

[0022] 在有些实施方式中,微粒组合物可以是液体制剂。例如,可将微粒组合物配制到水或非水的分散液或悬浮液中。常规的液体载体诸如甘油;和食用乙二醇;食用油,诸如棉籽油、大豆油、玉米油、花生油、红花油和其它甘油三酯油;以及分散剂或悬浮剂,诸如前述的天然或合成树胶。

[0023] 可利用常规的方法制备本发明的固体和液体制剂。1990 年的 Remington's Pharmaceutical Sciences,第 18 版,第 83 章和第 89 章记载了适宜的技术,将其整体引入本文作为参考。

[0024] 本文所述的微粒组合物可以与包括乳制品在内的任何食物制品联合使用。供一人食用的每份食物所包含的用于乳糖不耐受的乳糖酶的有效量,相当于约至少 9000FCC 乳糖酶单位 (FCC Lac U)。供一人食用的每份食物中乳糖酶的一些示例性用量可相当于约 10000 FCC Lac U、约 15000 FCC Lac U、约 20000 FCC Lac U、约 25000 FCC Lac U、约 30000FCC Lac U、约 35000 FCC Lac U、约 40000 FCC Lac U、约 45000 FCC LacU、或约 50000 FCC Lac U。在有些实施方式中,供一人食用的每份食物中乳糖酶的用量可相当于 50000 FCC Lac U 以上。

[0025] 本文所述的微粒制剂提供了一种解决乳糖不耐症问题的有效方案。本文公开的组合物使乳糖酶易于被乳类摄取者利用。乳糖酶制剂性质稳定并且可用于包括乳糖的任何食物制品。所述制剂不改变食物制品的味道。此外,本文所述的制剂允许将乳糖酶加入食品中而不改变食品的味道、气味或口感。

[0026] 颗粒尺寸

[0027] 微粒组合物包括具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸的颗粒。该颗粒通常的尺寸为 500 微米以下。在有些实施方式中,颗粒尺寸为约 400 微米以下、约 300 微米以下、约 200 微米以下、约 100 微米以下、约 50 微米以下、约 20 微米以下、约 10 微米以下、或约 1 微米以下。在有些实施方式中,颗粒尺寸为约 500 纳米以下、约 200 纳米以下、约 100 纳米以下、约 50 纳米以下、约 20 纳米以下、或约 10 纳米以下。颗粒的一些示例性尺寸为约 10 纳米~约 500 微米、约 100 纳米~约 100 微米、约 1 微米~约 100 微米、或约 10 微米~约 100 微米。一些示例性微胶囊尺寸为约 20 纳米、约 50 纳米、约 150 纳米、约 200 纳米、约 500 纳米、约 750 纳米、约 5 微米、约 15 微米、约 20 微米、约 30 微米、约 40 微米、约 50 微米、约 60 微米、约 70 微米、约 80 微米、约 90 微米、约 150 微米、约 200 微米、约 300 微米、或约 400 微米。

[0028] 如本文所用的术语“几乎不能感觉到”与术语“最小感觉到”可互换使用。

[0029] 本文所述的微粒组合物的尺寸对制剂中乳糖酶的释放很重要。颗粒尺寸与乳糖酶从制剂中的释放速率呈正相关。通常,本文所述的具有较小尺寸颗粒的微粒组合物,使乳糖酶从制剂释放出来较快,而本文所述的具有较大尺寸颗粒的微粒组合物使乳糖酶从制剂释放出来较慢。通过改变微粒组合物的颗粒尺寸,可得到不同的乳糖酶释放曲线 (profiles),从而使人们能够通过调整本文所述的微粒组合物中颗粒的尺寸或尺寸范围,来满足针对乳糖不耐症中对乳糖酶的不同需要。

[0030] 保护材料

[0031] 保护材料可以是能够使食物制品中的乳糖酶保持稳定和允许乳糖酶在食物制品

消化过程中被释放的、用于食品业和制药业的任何材料。在有些实施方式中,保护材料可用于包封、涂覆、或结合乳糖酶。

[0032] 保护材料可包括天然材料(诸如天然聚合物)或合成材料(诸如合成聚合物)。例如,在有些实施方式中,保护材料可以是纤维素聚合物和列为 GRAS(FDA 规定的“通常认为是安全的”)的其它成分。

[0033] 在有些实施方式中,保护材料为涂覆材料。适于乳糖酶的涂覆材料包括醋酸邻苯二甲酸直链淀粉、苯乙烯-马来酸共聚物、醋酸琥珀酸纤维素、醋酸邻苯二甲酸纤维素、聚醋酸乙烯邻苯二甲酸酯、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、脂肪酸、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、甘油三乙酸酯(三醋精)、Marcoat、阿拉伯树胶、甘油、脂肪酸酯、甘油酯、聚甘油酯、石蜡、巴西棕榈蜡、缩甲醛化明胶、虫胶以及氢化植物油诸如氢化蓖麻油和棉籽油。1990 年 Lieberman, H A 等人在 Pharmaceutical Dosage Forms Tablets, 第 3 卷, 第 114-116 页中公开了其它适合的涂覆材料,将其整体引入本文作为参考。

[0034] 在有些实施方式中,保护材料为包封材料(诸如脂质体等)。

[0035] 制备方法

[0036] 本发明的另一方面提供了一种制备乳糖酶组合物的方法。所述方法包括:提供乳糖酶;提供保护材料;以及形成包含乳糖酶和保护材料的微粒组合物,所述微粒组合物具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸的颗粒。在有些实施方式中,形成微粒组合物的过程包括将微粒组合物过滤以产生具有人舌能感觉到的尺寸的颗粒。

[0037] 在有些实施方式中,形成微粒组合物的过程包括使保护材料包封乳糖酶以产生包封乳糖酶的微胶囊。在有些实施方式中,形成微粒组合物的过程包括在颗粒上涂覆包含保护材料的保护层。在有些实施方式中,形成微粒组合物的过程包括形成将乳糖酶分散于基质材料(粘合材料)中的颗粒。

[0038] 微粒组合物的实施方式如上所述。形成微胶囊的方法和涂覆颗粒的方法具体如下所述。

[0039] A. 包封

[0040] 在有些实施方式中,本发明提供了一种在微胶囊内包封有乳糖酶的乳糖酶微粒组合物。该包封的微胶囊在接触生理流体(例如唾液)时易于溶解,从而释放出包封于其中的乳糖酶。在有些实施方式中,微胶囊在中性或微碱性流体中保持稳定,但可在酸性环境中溶解从而释放出乳糖酶。

[0041] 在有些实施方式中,微胶囊在中性或微酸性流体中保持稳定,但可在碱性环境中溶解从而释放出乳糖酶。

[0042] 形成微胶囊的材料可以是上述任意的保护材料。文献记载了包封酶或其它活化剂的方法。美国专利号 5,902,617、6,680,184 和 6,242,405 记载了一些酶的包封或微包封的示例性方法。

[0043] B. 涂层

[0044] 在有些实施方式中,制剂可包括涂覆有保护涂层的乳糖酶颗粒。涂层在接触生理流体(例如,唾液)时易于溶解,从而释放出包封于其中的乳糖酶。在有些实施方式中,涂层在中性或微碱性流体中保持稳定,但可在酸性环境中溶解从而释放出乳糖酶。在有些实施方式中,涂层在中性或微酸性流体中保持稳定,但可在碱性环境中溶解从而释放出乳糖酶。

[0045] 可通过任何已知的方法在乳糖酶颗粒上形成涂层。例如,可通过喷涂或滴注在乳糖酶颗粒上形成涂层。形成涂层的材料可以是上述任意的保护材料。

[0046] 本领域已经建立了各种涂覆颗粒的方法(参见,例如美国专利申请公开号2004022938)。

[0047] 食物制品

[0048] 本发明的另一方面提供了一种使用本文所述的乳糖酶组合物的方法。所述方法包括:将乳糖酶组合物用于食物制品、或在摄入食物制品过程中使用乳糖酶组合物。所述组合物包含许多含有乳糖酶和保护材料的颗粒,所述颗粒具有人舌不能感觉到或几乎不能感觉到的尺寸。所述微粒组合物的实施方式如上所述。食物制品可以是任何乳制品。

[0049] 可将本文所述的组合物用于含有乳糖的任意食物制品、或包含到含有乳糖的任意食物制品中。微包封的乳糖酶珠非常小以至于人舌不能感觉到,并且所述珠或颗粒是无味的。这些颗粒或珠在消化过程中基本感觉不到。

[0050] 包埋有乳糖酶珠的每种食物,其平均供一人食用的每份食物可至少具有与两片标准(9000个单位)乳糖酶片剂等价的活性。

[0051] 可将制剂包含到含有乳糖的任意食物制品中。食物制品的一些例子包括冰淇淋制品、乳制补充品、思慕雪(smoothies)、精品咖啡(specialty coffees)、比萨饼和意大利面食。可包含本文所述制剂的一些示例性冰淇淋制品例如包括巧克力糖浆;棉花糖浆(marshmallow syrups);所有口味的思冰客(Sprinkle)-包括普通型和嚼碎型-混合品诸如饼干碎片、条状糖、葡萄干、巧克力碎片,以及其它通常在商业冰淇淋店都供应的产品。可包含本文所述制剂的一些示例性乳制补充品例如包括巧克力奶糖浆和粉末。可包含本文所述制剂的一些示例性思慕雪例如包括蛋白添加剂。可包含本文所述制剂的一些示例性精品咖啡例如包括焦糖添加剂、肉桂添加剂、可可和巧克力添加剂。可包含本文所述制剂的一些示例性比萨饼和意大利面食例子例如包括比萨配料、以及帕尔马干酪(parmesan)和罗马诺干酪(romano)的配料。

[0052] 在有些实施方式中,包埋本文所述制剂的产品可以是巧克力糖浆或思冰客。可使制剂与冰淇淋一起食用。例如,可将制剂包含到冰淇淋店和家用日用品店出售的冰淇淋产品中。

[0053] 在有些实施方式中,可将本文所述制剂包含到诸如棉花糖和焦糖配料等产品中。

[0054] 在有些实施方式中,可将本文所述制剂包含到咖啡产品中。咖啡产品可以是包含乳糖的任意咖啡产品。例如,该咖啡产品包括卡布奇诺咖啡(cappuccinos)、拿铁咖啡、印度茶(chais)和咖啡店提供的其它含乳饮品。可将制剂包含到咖啡店能供应的任意调味品(诸如肉桂和可可粉等)中。在有些实施方式中,可将制剂配制成无法觉察的液体或粉末形式,以使咖啡师可在制备搅打(whipped)咖啡饮品时加入。

[0055] 可包含本文所述制剂的一些其它食物制品包括用于思慕雪、饭店用的奶油酱、酸奶酪和干酪的食品添加剂。

[0056] 在有些实施方式中,可将本文所述制剂配制到包含乳糖酶的口腔薄贴片剂型(thin-strip)制品中。该薄片是一种扁平、可溶的输送系统。该载体相对于现有片剂的优点在于它们更便利,人们不需要携带包袋(例如放入钱夹中),并且孩子们更易于摄取,因为不需要基于食物的制剂。



**[0057] 实施例****[0058] 乳糖酶制剂****[0059] 概述**

**[0060]** 设计方法和制剂以改进各种食物制品中乳糖酶的稳定性。每种方法使用两种不同的聚合物体系（虫胶 /HPMC 和阿拉伯树胶 /HPMC）对各份乳糖酶在流化床中进行涂覆和在高剪切造粒机中进行造粒。选择 3 种食物制品（冰淇淋、拿铁咖啡和热奶油巧克力糖浆（hot fudge））加入乳糖酶。在开始和两周后记录每种样品的水分、温度和 pH。建立检验加工的乳糖酶的分析方法，并且在开始和两周后分析每种食物制品的样品以测定乳糖酶的稳定性。此外，在不同 pH 下，测量未加工的乳糖酶活性以测定乳糖酶活性最大的 pH 范围。

**[0061] 实验****[0062] 材料**

**[0063]** 以下为对本文研究所用的材料和制造商的汇总：

**[0064]**

| 成分                     | 批号          | 制造商                     |
|------------------------|-------------|-------------------------|
| 热奶油巧克力糖浆（18 盎司）        | 无           | Smuckers                |
| 拿铁咖啡（16 盎司）            | 无           | Starbucks               |
| 香草冰淇淋                  | 无           | Emerson                 |
| 乳糖酶                    | 70229307    | National Enzyme Company |
| 羟丙基甲基纤维素（HPMC）         | 6076437     | Shinetsu                |
| 三醋精                    | 530364197   | Univar                  |
| Marcoat（虫胶体系，含 25% 固体） | M070401     | Emerson Resources       |
| 阿拉伯树胶                  | K85904J15   | Ruger Chem. Co.         |
| 甘油                     | MV096824160 | Proctor & Gamble        |

**[0065] 测试**

**[0066]** pH：使用浸于介质中的 Orion 探针测量 pH 直至获得稳定的读数。

**[0067]** 干燥失重（LOD）：使用检验 50℃ A90，通过将约 1g 样品放入湿度分析仪测量干燥失重。

**[0068]** 分析：使用 National Enzyme Company 提供的检验方法 #C20229 分析乳糖酶。采用 Food Chemical Codex 第四版（FCC IV）规定的酸性乳糖酶单位（ALU）说明书和药典方法。

**[0069] 总结**

**[0070]** 选择两种聚合物体系和两种制备方法作为改进各种食物制品中乳糖酶稳定性的方法。选择虫胶 /HPMC 体系，因其能抗湿、形成氧屏障和具有肠溶趋势（enteric tendencies）。虫胶体系通常在食物制品中用作糖衣。还可以选择阿拉伯树胶 /HPMC 体系，因其具有保护性能，并且能形成渗透性较小的屏障从而防止乳糖酶在胃中接触酸性 pH。选择两种使用这些聚合物体系的方法。选择流化床涂层法，作为在每个单独的乳糖酶颗粒上均匀涂覆薄层的方法。利用高剪切造粒来聚集乳糖酶颗粒以形成颗粒剂。

**[0071]** 在前述研究中（数据未显示出），基于 pH 和温度，选择三种类型的食品（冰淇淋、热奶油巧克力糖浆和拿铁咖啡）；为了将该研究中测定的结果与前述研究进行比较，选择相同的三种食品。按照说明购买或制备每种食品，并且在供一人食用的每份食物中加入 9000 个乳糖酶单位。在加入时，测定食物样品的 pH 和温度。然后立即分析样品的乳糖酶活

性。测试后在适宜的储藏条件下保存样品两周,两周后重新测定乳糖酶活性。制剂 A :虫胶 /HPMC 造粒,组 #CW12-125

[0072] 使用以下制剂和加工方法制备虫胶 /HPMC 造粒物 :

[0073]

| 成分      | 固体百分比  | 重量百分比  | 每批重量 (g) | 每批固体重量 (g) |
|---------|--------|--------|----------|------------|
| HPMC    | 100.0% | 6.0%   | 21.00    | 21.00      |
| 三醋精     | 100.0% | 2.0%   | 7.00     | 7.00       |
| Marcoat | 25.0%  | 48.0%  | 168.00   | 42.00      |
| 去离子水    | 0.0%   | 44.0%  | 154.00   | 0.00       |
| 总计      | 20.0%  | 100.0% | 350.00   | 70.00      |

[0074]

|     |        |        |        |        |
|-----|--------|--------|--------|--------|
| 乳糖酶 | 100.0% | 100.0% | 300.00 | 300.00 |
|-----|--------|--------|--------|--------|

[0075] 步骤 :

[0076] a) 开始用旋涡混匀器搅拌去离子水。将 Marcoat 和三醋精加入搅拌着的水中。

[0077] b) 将 HPMC 慢慢加入 (a) 中,继续用旋涡混匀器搅拌约 1 小时。

[0078] c) 在造粒前对溶液进行脱气。

[0079] d) 将 300g 乳糖酶加入 1L 造粒机辊筒中。以搅拌叶片在 1350rpm 下、粉碎叶片在 3600rpm 下开始搅拌。

[0080] e) 将溶液慢慢加入造粒机中直至乳糖酶充分造粒。记录加入的溶液量。

[0081] 将溶液逐滴加入造粒机中直到加入 70.1g 为止。以此方式加入 14.02g 固体,使得理论增重为 4.67%。因此,9000 个乳糖酶单位等价于 94mg 造粒物。造粒完毕,收集物料并将其放入 35℃烘箱内的不锈钢盘中约 18 小时以加速干燥。

[0082] 制剂 B :阿拉伯树胶 /HPMC 造粒,组 #CW12-127

[0083] 使用以下制剂和加工方法制备阿拉伯树胶 /HPMC 造粒物 :

[0084]

| 成分    | 固体百分比  | 重量百分比  | 每批重量 (g) | 每批固体重量 (g) |
|-------|--------|--------|----------|------------|
| 阿拉伯树胶 | 100.0% | 9.0%   | 27.00    | 27.00      |
| HPMC  | 100.0% | 9.0%   | 27.00    | 27.00      |
| 甘油    | 100.0% | 2.0%   | 6.00     | 6.00       |
| 去离子水  | 0.0%   | 80.0%  | 240.00   | 0.00       |
| 总计    | 20.0%  | 100.0% | 300.00   | 60.00      |

[0085]

|     |        |        |        |        |
|-----|--------|--------|--------|--------|
| 乳糖酶 | 100.0% | 100.0% | 300.00 | 300.00 |
|-----|--------|--------|--------|--------|

[0086] 步骤 :

[0087] a) 开始用旋涡混匀器搅拌去离子水。将甘油加入搅拌着的水中。

[0088] b) 在袋中将 HPMC 和阿拉伯树胶混和。

[0089] c) 将 (b) 慢慢加入 (a) 中,继续用旋涡混匀器搅拌约 1 小时。

[0090] d) 在造粒前对溶液进行脱气。

[0091] e) 将 300g 乳糖酶加入 1L 造粒机辊筒中。以搅拌叶片在 1350rpm 下、粉碎叶片在 3600rpm 下开始搅拌。

[0092] f) 慢慢将溶液加入造粒机中直至乳糖酶充分造粒。记录加入的溶液量。

[0093] 将溶液逐滴加入直至加入 70.2g 溶液,使得理论增重为 4.68%。同样,94mg 造粒物等价于 9000 个乳糖酶单位。将造粒物放入相同的 35℃烘箱中并且干燥约 18 小时。

[0094] 制剂 C :虫胶 /HPMC 涂覆,组 #CW12-128

[0095] 使用以下制剂和加工方法制备虫胶 /HPMC 造粒物 :

[0096]

| 成分      | 固体百分比  | 重量百分比  | 每批重量 (g) | 每批固体重量 (g) |
|---------|--------|--------|----------|------------|
| HPMC    | 100.0% | 4.5%   | 54.00    | 54.00      |
| 三醋精     | 100.0% | 1.5%   | 18.00    | 18.00      |
| Marcoat | 25.0%  | 36.0%  | 432.00   | 108.00     |
| 去离子水    | 0.0%   | 58.0%  | 696.00   | 0.00       |
| 总计      | 15.0%  | 100.0% | 1200.00  | 180.00     |

[0097]

|     |        |        |        |        |
|-----|--------|--------|--------|--------|
| 乳糖酶 | 100.0% | 100.0% | 650.00 | 650.00 |
|-----|--------|--------|--------|--------|

[0098] 步骤 :

[0099] a) 开始用旋涡混匀器搅拌去离子水。将 Marcoat 和三醋精加入搅拌着的水中。

[0100] b) 将 HPMC 慢慢加入 (a) 中,继续用旋涡混匀器搅拌约 1 小时。

[0101] c) 在涂覆前对溶液进行脱气。以涂覆参数为指导。

[0102] 涂覆参数 :

[0103] 产品温度 :47-48℃ 喷雾速率 :15-22g/min

[0104] 空气流量 :50cfu 液体喷嘴 :1.0mm

[0105] 雾化空气 :30psi 气帽 :2.0mm

[0106] 入口温度 :75-80℃

[0107] 当完成溶液的制备时,将 650g 乳糖酶加入向量 FLM-I 流化床。乳糖酶得到流化和加热。当产品温度合适时,开始进行溶液喷雾。理想的增重为 20%,假定涂覆效率为 90%,进行溶液喷雾直至达到理论量。因此,108mg 涂覆的乳糖酶等价于 9000 个乳糖酶单位。

[0108] 记录实际的涂覆参数,如表 1 所示。

[0109] 表 1. 组 #CW 12-128 制备过程中使用的涂覆参数

[0110]

| 时间 (分钟) | 喷雾质量 (g) | 喷雾速率 (g/分钟) | 入口温度 (°C) | 产品温度 (°C) | 空气流量 (cfm) | 喷嘴气压 (psi) |
|---------|----------|-------------|-----------|-----------|------------|------------|
| 0       | 0.0      | -           | 85.6      | 45.8      | 19         | -          |
| 4       | 65.0     | 16.3        | 86.0      | 38.7      | 28         | 30         |
| 8       | 124.9    | 15.0        | 90.9      | 38.2      | 32         | 30         |
| 13      | 198.9    | 14.8        | 89.8      | 39.0      | 32         | 30         |
| 21      | 317.8    | 14.9        | 90.4      | 41.3      | 33         | 30         |
| 29      | 438.7    | 15.1        | 90.7      | 42.1      | 34         | 30         |
| 38      | 572.4    | 14.9        | 91.1      | 42.8      | 34         | 30         |
| 49      | 737.2    | 15.0        | 89.4      | 44.2      | 33         | 30         |
| 57      | 857.2    | 15.0        | 89.9      | 44.4      | 33         | 30         |
| 64      | 963.1    | 15.1        | 89.8      | 44.5      | 32         | 30         |

[0111] 尽管低于产品所需温度,涂覆过程也进行得很好,没有观察到其它加工产物 (processing issues)。可能是尽管入口温度升高,较低的空气流量体积也会导致温度更低。空气流速只增加到 30cfu,因为此量足以流化床。

[0112] 制剂 D :阿拉伯树胶 /HPMC 涂覆,组 #CW12-129

[0113] 使用以下制剂和加工方法制备阿拉伯树胶 /HPMC 造粒物 :

[0114]

| 成分    | 固体百分比  | 重量百分比 | 每批重量 (g) | 每批固体重量 (g) |
|-------|--------|-------|----------|------------|
| 阿拉伯树胶 | 100.0% | 6.8%  | 81.00    | 81.00      |
| HPMC  | 100.0% | 6.8%  | 81.00    | 81.00      |

|      |        |        |         |        |
|------|--------|--------|---------|--------|
| 甘油   | 100.0% | 1.5%   | 18.00   | 18.00  |
| 去离子水 | 0.0%   | 85.0%  | 1020.00 | 0.00   |
| 总计   | 15.0%  | 100.0% | 1200.00 | 180.00 |

[0115]

|     |        |        |        |        |
|-----|--------|--------|--------|--------|
| 乳糖酶 | 100.0% | 100.0% | 650.00 | 650.00 |
|-----|--------|--------|--------|--------|

[0116] 步骤：

[0117] a) 用旋涡混匀器搅拌甘油和去离子水直至充分混合。

[0118] b) 在袋中将阿拉伯树胶和 HPMC 混和。

[0119] c) 将 (b) 加入 (a) 中, 继续用旋涡混匀器搅拌约 1 小时。

[0120] d) 在喷雾涂覆前对溶液进行脱气。以涂覆参数为指导。

[0121] 涂覆参数：

[0122] 产品温度 :47-48°C 喷雾速率 :15-22g/min

[0123] 空气流量 :50cfu 液体喷嘴 :1.0mm

[0124] 雾化空气 :30psi 气帽 :2.0mm

[0125] 入口温度 :75-80°C

[0126] 以与上述涂覆试验相同的方式制备阿拉伯树胶涂覆体系。再次达到理论增重为 20%, 假定 108mg 涂覆的乳糖酶等价于 9000 个乳糖酶单位。

[0127] 记录涂覆参数, 如表 2 所示。

[0128] 表 2. 组 #CW 12-129 制备过程中使用的涂覆参数。

[0129]

| 时间 (分钟) | 喷雾质量 (g) | 喷雾速率 (g/分钟) | 入口温度 (°C) | 产品温度 (°C) | 空气流量 (cfm) | 喷嘴气压 (psi) |
|---------|----------|-------------|-----------|-----------|------------|------------|
| 0       | 0.0      | -           | -         | -         | -          | -          |
| 2       | 31.5     | 15.8        | 89.9      | 41.5      | 26         | 30         |
| 12      | 185.5    | 15.4        | 91.2      | 40.0      | 29         | 30         |
| 20      | 304.7    | 14.9        | 90.0      | 40.4      | 30         | 30         |
| 27      | 411.4    | 15.2        | 90.6      | 41.3      | 30         | 30         |
| 37      | 569.3    | 15.8        | 91.0      | 41.7      | 30         | 30         |
| 44      | 681.7    | 16.1        | 90.7      | 41.9      | 30         | 30         |
| 54      | 844.2    | 16.3        | 89.5      | 41.9      | 30         | 30         |
| 61      | 963.2    | 17.0        | 89.4      | 41.8      | 30         | 30         |

[0130] 再次观察到产品温度偏低, 不过涂覆过程并不需要担心。

[0131] 冰淇淋

[0132] 香草冰淇淋按如下配方制得：

[0133] • 1 杯全脂奶，

[0134] • 3/4 杯砂糖，

[0135] • 2 杯高脂厚奶油 (heavy cream)，

[0136] • 1-2 茶匙纯香草精，

[0137] • 供一人食用的每份食物中加入 9000 单位的乳糖酶 (719.6mg 的乳糖酶, 供一人食用的每份的量约为 1/2 杯的冰淇淋)。

[0138] 将上述成分按如下步骤制成含有乳糖酶的冰淇淋：

[0139] a. 在碗中搅拌奶和砂糖直至砂糖溶解, 大约 1-2 分钟。

[0140] b. 将高脂厚奶油和香草搅匀。

[0141] c. 打开冰淇淋机, 将混合物倒入冷冻碗中, 使其变稠大约 20-25 分钟。

[0142] d. 继续搅动 1-2 小时。

[0143] e. 保持冷冻。

[0144] 制作完成后,将冰淇淋分为 4 部分,每部分包含两份供一人食用的量。另外,在供一人食用的每份冰淇淋中加入等价于 9000 乳糖酶单位理论值的加工过的乳糖酶。

[0145] 表 3. 每部分冰淇淋中加入的加工过的乳糖酶的质量。

[0146]

|                     | 虫胶造粒<br>CW12-125 | 阿拉伯树胶造粒<br>CW12-127 | 虫胶涂覆<br>CW12-128 | 阿拉伯树胶涂覆<br>CW12-129 |
|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|
| 冰淇淋的质量 (g)          | 173.1            | 173.0               | 172.8            | 173.0               |
| 加工过的乳糖酶<br>的质量 (mg) | 191              | 190                 | 216              | 216                 |

[0147] 热奶油巧克力糖浆

[0148] 热奶油巧克力糖浆按包装标签所述方法进行制备。将其分装于 4 个玻璃容器中,每个部分视为单独的供一人食用的一份。每份中加入等价于 9000 乳糖酶单位理论值的加工过的乳糖酶,进行检验,然后储存于 80℃ 的烘箱中 (表 4)。

[0149] 表 4. 每部分热奶油巧克力糖浆中加入的加工过的乳糖酶的质量。

[0150]

|                     | 虫胶造粒,<br>CW12-125 | 阿拉伯树胶造粒,<br>CW12-127 | 虫胶涂覆,<br>CW12-128 | 阿拉伯树胶涂覆,<br>CW12-129 |
|---------------------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| 热奶油巧克力糖<br>浆的质量 (g) | 38.9              | 39.0                 | 39.0              | 39.0                 |
| 加工过的乳糖酶<br>质量 (mg)  | 95.1              | 95.6                 | 110.7             | 110.2                |

[0151] 星巴克 (Starbucks) 拿铁咖啡,16 盎司

[0152] 在星巴克购买四杯 16 盎司的拿铁咖啡。立即在每一杯中加入等价于 9000 乳糖酶单位理论值的加工过的乳糖酶。然后将这些样品 (表 5) 转移入玻璃瓶中在 80℃ 的烘箱中储存两个星期。

[0153] 表 5. 每部分拿铁咖啡中加入的加工过的乳糖酶的质量。

[0154]

|                   | 虫胶造粒<br>CW12-125 | 阿拉伯树胶造粒<br>CW12-127 | 虫胶涂覆<br>CW12-128 | 阿拉伯树胶涂覆<br>CW12-129 |
|-------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|
| 拿铁咖啡的质量 (g)       | 472.0            | 485.8               | 471.0            | 109.4               |
| 加工过的乳糖酶质量<br>(mg) | 95.1             | 95.2                | 108.6            | 109.4               |

[0155] 结果与讨论

[0156] 乳糖酶的特征

[0157] 对未加工的和加工过的乳糖酶在水分、密度和颗粒尺寸方面进行了表征。结果如下表 6 所示。

[0158] 表 6. 未加工的和加工过的乳糖酶的堆积密度及振实密度。

[0159]

| 密度 (g/ml)         |        |           |           |             |             |
|-------------------|--------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| 样品                | 质量 (g) | 起始体积 (ml) | 最终体积 (ml) | 堆积密度 (g/ml) | 振实密度 (g/ml) |
| 虫胶造粒组#CW12-125    | 67.9   | 100       | 86        | 0.68        | 0.79        |
| 阿拉伯树胶造粒组#CW12-127 | 64.1   | 100       | 83        | 0.64        | 0.77        |
| 虫胶涂覆组#CW12-128    | 39.5   | 100       | 84        | 0.40        | 0.47        |
| 阿拉伯树胶涂覆组#CW12-129 | 37.5   | 100       | 81        | 0.38        | 0.46        |
| 乳糖酶组#70229307     | 53     | 100       | 80        | 0.53        | 0.66        |

[0160] 表 7. 乳糖酶、加工过的乳糖酶以及三种食品的水分含量 \*。

[0161]

| 起始水分含量 (50°C, A90)  |          |        |
|---------------------|----------|--------|
| 样品                  | 起始重量 (g) | 水分 (%) |
| 虫胶造粒, 组#CW12-125    | 0.995    | 98.99  |
| 阿拉伯树胶造粒, 组#CW12-127 | 1.002    | 99.20  |
| 虫胶涂覆, 组#CW12-128    | 1.004    | 99.00  |
| 阿拉伯树胶涂覆, 组#CW12-129 | 1.001    | 97.40  |
| 冰淇淋 (计时起点)          | 1.020    | 45.20  |
| 热奶油巧克力糖浆 (计时起点)     | 1.019    | 94.79  |
| 拿铁咖啡 (计时起点)         | 1.024    | 10.74  |
| 乳糖酶, 组#70229307     | 1.000    | 99.40  |

[0162] \* 检验在 50°C 下进行, 一旦失重率低于 1mg/90 秒即完成检验。

[0163] 四组加工过的乳糖酶颗粒尺寸分布如图 1 所示。下面的表 8 中总结了四组加工过的乳糖酶平均颗粒尺寸。

[0164] 表 8. 四组加工过的乳糖酶的平均颗粒尺寸。

[0165]

| 样品                   | 平均颗粒尺寸 (μm) |
|----------------------|-------------|
| 虫胶造粒, 组 #CW12-125    | 396.6       |
| 阿拉伯树胶造粒, 组 #CW12-127 | 387.6       |
| 虫胶涂覆, 组 #CW12-128    | 243.3       |
| 阿拉伯树胶涂覆, 组 #CW12-129 | 319.6       |

[0166] 颗粒尺寸数据表明, 正如预期的一样, 造粒产生的颗粒要比相应的涂覆产生的颗粒大得多。因此, 造粒产生的乳糖酶加入到冰淇淋和热奶油巧克力糖浆后都是肉眼可见的。

[0167] 食品表征

[0168] 表 9. 加工过的乳糖酶 / 食物样品起始及两周后的 pH 测量结果。

[0169]

| 用乳糖酶处理后的食品的 pH 测量结果 |      |      |      |      |          |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------------|------|------|------|------|----------|------|------|------|------|------|------|------|
|                     | 冰淇淋  |      |      |      | 热奶油巧克力糖浆 |      |      |      | 拿铁咖啡 |      |      |      |
|                     | SC   | SG   | AC   | AG   | SC       | SG   | AC   | AG   | SC   | SG   | AC   | AG   |
| 起始                  | 6.05 | 6.29 | 6.51 | 6.55 | 6.00     | 5.91 | 5.97 | 5.88 | 6.50 | 6.46 | 6.47 | 6.50 |
| 最终                  | 6.40 | 6.34 | 6.36 | 6.43 | 4.19     | 3.86 | 3.97 | 4.04 | 4.89 | 4.94 | 4.89 | 5.04 |

[0170] 表 10. 加入加工过的乳糖酶时食物介质的温度。

[0171]

| 加入时的温度 (°C) |    |
|-------------|----|
| 冰淇淋         | -4 |
| 热奶油巧克力糖浆    | 48 |
| 拿铁咖啡        | 63 |

[0172] 乳糖酶活性

[0173] 在一定的 pH 范围内对加工过的乳糖酶活性进行测量,以测定活性最理想的环境。配制从 pH 1 至 pH 7 的七种缓冲溶液。在每种溶液中加入加工过的乳糖酶并测定其活性。然后将加入乳糖酶的 pH 1 溶液的 pH 值升至 7。再次测量其活性以确定这一 pH 值是破坏了酶本身还是仅仅使其失活。活性数据如下面的图表所示。

[0174] 表 11. pH 范围 1 至 7 的涂覆阿拉伯树胶的乳糖酶活性。

[0175]

| 涂覆阿拉伯树胶的乳糖酶, 恢复的百分比 |      |       |      |       |        |       |       |            |
|---------------------|------|-------|------|-------|--------|-------|-------|------------|
| 平行测定                | pH 1 | pH 2  | pH 3 | pH 4  | pH 5   | pH 6  | pH 7  | pH 1 增加至 7 |
| 1                   | 7.1% | -0.3% | 2.4% | 66.4% | 66.1%  | 65.4% | 91.7% | 66.6%      |
| 2                   | 0.5% | -0.4% | 6.3% | 97.5% | 107.1% | 86.8% | 81.6% | 105.6%     |
| 3                   | 1.3% | 0.1%  | 5.2% | 67.3% | 89.6%  | 80.0% | 91.6% | 86.5%      |
| 平均值                 | 3.0% | -0.2% | 4.6% | 77.1% | 87.6%  | 77.4% | 88.3% | 86.2%      |
| 标准偏差                | 3.6% | 0.2%  | 2.0% | 17.7% | 20.6%  | 10.9% | 5.8%  | 19.5%      |

[0176] 表 12. pH 范围 1 至 7 的阿拉伯树胶造粒的乳糖酶活性。

[0177]

| 阿拉伯树胶造粒的乳糖酶, 恢复的百分比 |      |      |      |       |       |       |       |            |
|---------------------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|------------|
| 平行测定                | pH 1 | pH 2 | pH 3 | pH 4  | pH 5  | pH 6  | pH 7  | pH 1 增加至 7 |
| 1                   | 0.3% | 0.3% | 0.9% | 43.3% | 39.2% | 32.1% | 30.4% | -5.2%      |
| 2                   | 0.2% | 0.1% | 1.2% | 40.6% | 35.2% | 36.4% | 21.3% | 10.2%      |
| 3                   | 0.2% | 0.1% | 1.0% | 36.4% | 29.9% | 29.3% | 36.9% | -3.7%      |
| 平均值                 | 0.2% | 0.2% | 1.0% | 40.1% | 34.8% | 32.6% | 29.5% | 0.4%       |
| 标准偏差                | 0.0% | 0.2% | 0.2% | 3.5%  | 4.6%  | 3.6%  | 7.8%  | 8.5%       |

[0178] 表 13. pH 范围 1 至 7 的涂覆虫胶的乳糖酶活性。

[0179]

|      | 涂覆虫胶的乳糖酶，恢复的百分比 |       |       |        |        |        |        |            |
|------|-----------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|------------|
| 平行测定 | pH 1            | pH 2  | pH 3  | pH 4   | pH 5   | pH 6   | pH 7   | pH 1 增加至 7 |
| 1    | 0.03%           | 0.50% | 1.08% | 33.88% | 82.12% | 73.77% | 75.94% | 7.06%      |
| 2    | -0.17%          | 0.55% | 5.25% | 48.66% | 68.39% | 70.20% | 68.02% | 28.45%     |
| 3    | -0.02%          | 0.54% | 1.86% | 55.97% | 58.79% | 62.50% | 71.47% | 54.28%     |
| 平均值  | -0.1%           | 0.5%  | 2.7%  | 46.2%  | 69.8%  | 68.8%  | 71.8%  | 29.9%      |
| 标准偏差 | 0.1%            | 0.0%  | 2.2%  | 11.3%  | 11.7%  | 5.8%   | 4.0%   | 23.6%      |

[0180] 表 14. pH 范围 1 至 7 的虫胶造粒的乳糖酶活性。

[0181]

|      | 虫胶造粒的乳糖酶，恢复的百分比 |      |      |       |       |       |       |            |
|------|-----------------|------|------|-------|-------|-------|-------|------------|
| 平行测定 | pH 1            | pH 2 | pH 3 | pH 4  | pH 5  | pH 6  | pH 7  | pH 1 增加至 7 |
| 1    | 1.7%            | 0.5% | 0.8% | 71.7% | 70.4% | 79.8% | 61.3% | 5.5%       |
| 2    | -0.6%           | 0.5% | 1.2% | 58.8% | 90.5% | 64.6% | 67.8% | 5.0%       |
| 3    | -0.9%           | 0.7% | 3.7% | 56.2% | 65.1% | 44.3% | 50.5% | 0.6%       |
| 平均值  | 0.1%            | 0.6% | 1.9% | 62.2% | 75.3% | 62.9% | 59.8% | 3.7%       |
| 标准偏差 | 1.4%            | 0.1% | 1.6% | 8.3%  | 13.4% | 17.8% | 8.7%  | 2.7%       |

[0182] 四组加工过的乳糖酶其活性曲线 (profile) 如图 2 所示:阿拉伯树胶涂覆的乳糖酶 (AC) 组 #CW12-29,阿拉伯树胶造粒的乳糖酶 (AG) 组 #CW12-127,虫胶涂覆的乳糖酶 (SC) 组 #CW12-128 以及虫胶造粒的乳糖酶 (SG) 组 #CW12-125。乳糖酶活性值显示,在 pH 处于 5 到 7 之间时,乳糖酶具有最高的活性。该活性曲线同时显示在 pH 3 及以下时,乳糖酶不具有活性。从 pH 1 升高至 pH 7 的样品却显示出活性的增加。这表明以下两点之一:或者是乳糖酶在强酸性 pH 下不具有活性而在更碱性的环境中变得具有活性,或者是阿拉伯树胶和虫胶在酸性条件下保护了乳糖酶,而一旦处于中性环境,就将乳糖酶释放出来。相比造粒形成的乳糖酶而言,虫胶和阿拉伯树胶涂覆的乳糖酶都具有的较高活性支持了后一种假设,表明涂覆的方法对酶形成了保护。

[0183] 除了 pH 曲线之外,向冰淇淋、拿铁咖啡、热奶油巧克力糖浆三种食物中分别加入所述的四种加工过的乳糖酶,并对其乳糖酶活性也进行了测量。

[0184] 分别在样品制备时以及将其储存两个星期后对其活性进行测量。每钟食物的测量结果如下所示。

[0185] 表 15. 冰淇淋中加工过的乳糖酶的活性。

[0186]



|                       |      | 冰淇淋中的乳糖酶活性（恢复的百分比） |                       |                    |                       |
|-----------------------|------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
|                       |      | 虫胶造粒<br>组#CW12-125 | 阿拉伯树胶造粒<br>组#CW12-127 | 虫胶涂覆<br>组#CW12-128 | 阿拉伯树胶涂覆<br>组#CW12-129 |
| 起始<br>（计<br>时起<br>点）  | 1    | 109.3%             | 76.9%                 | 111.90%            | 70.8%                 |
|                       | 2    | 115.9%             | 76.5%                 | 118.61%            | 63.6%                 |
|                       | 3    | 114.0%             | 73.4%                 | 116.69%            | 68.5%                 |
|                       | 平均值  | 113.17%            | 75.6%                 | 115.7%             | 67.67%                |
|                       | 标准偏差 | 3.4%               | 1.9%                  | 3.5%               | 3.7%                  |
| 最终<br>（两<br>个星<br>期后） | 1    | 101.49%            | 95.06%                | 66.92%             | 79.45%                |
|                       | 2    | 123.67%            | 98.72%                | 163.99%            | 98.12%                |
|                       | 3    | 57.30%             | 102.19%               | 74.68%             | 94.07%                |
|                       | 平均值  | 94.2%              | 98.7%                 | 101.9%             | 90.5%                 |
|                       | 标准偏差 | 33.8%              | 3.6%                  | 53.9%              | 9.8%                  |

[0187] 表 16. 咖啡中加工过的乳糖酶的活性。

[0188]

|                       |      | 拿铁咖啡中的乳糖酶活性（恢复的百分比） |                       |                    |                       |
|-----------------------|------|---------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
|                       |      | 虫胶造粒<br>组#CW12-125  | 阿拉伯树胶造粒<br>组#CW12-127 | 虫胶涂覆<br>组#CW12-128 | 阿拉伯树胶涂覆<br>组#CW12-129 |
| 起始<br>（计<br>时起<br>点）  | 1    | -7.0%               | 8.2%                  | -13.1%             | -4.4%                 |
|                       | 2    | -10.2%              | -13.3%                | -3.6%              | -4.7%                 |
|                       | 3    | -11.6%              | -11.4%                | -5.8%              | -3.4%                 |
|                       | 平均值  | -9.6%               | -5.5%                 | -7.5%              | -4.2%                 |
|                       | 标准偏差 | 2.4%                | 11.9%                 | 5.0%               | 0.6%                  |
| 最终<br>（两<br>个星<br>期后） | 1    | 4.4%                | 47.4%                 | 13.0%              | 12.2%                 |
|                       | 2    | 24.4%               | 65.9%                 | 11.5%              | 12.8%                 |
|                       | 3    | 54.8%               | 30.9%                 | 13.7%              | 26.1%                 |
|                       | 平均值  | 27.9%               | 48.1%                 | 12.8%              | 17.0%                 |
|                       | 标准偏差 | 25.4%               | 17.5%                 | 1.1%               | 7.8%                  |

[0189] 表 17. 热奶油巧克力糖浆中加工过的乳糖酶的活性。

[0190]

|                       |      | 热奶油巧克力糖浆中的乳糖酶活性（恢复的百分比） |                       |                    |                       |
|-----------------------|------|-------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
|                       |      | 虫胶造粒<br>组#CW12-125      | 阿拉伯树胶造粒<br>组#CW12-127 | 虫胶涂覆<br>组#CW12-128 | 阿拉伯树胶涂覆<br>组#CW12-129 |
| 起始<br>（计<br>时起<br>点）  | 1    | 35.5%                   | 11.7%                 | 4.24%              | 51.5%                 |
|                       | 2    | 31.4%                   | 12.7%                 | -5.75%             | 51.6%                 |
|                       | 3    | 8.6%                    | 12.8%                 | -5.07%             | 57.9%                 |
|                       | 平均值  | 25.15%                  | 12.38%                | -2.19%             | 53.69%                |
|                       | 标准偏差 | 14.48%                  | 0.63%                 | 5.59%              | 3.66%                 |
| 最终<br>（两<br>个星<br>期后） | 1    | -6.38%                  | 7.95%                 | 5.21%              | 6.97%                 |
|                       | 2    | -0.30%                  | 41.04%                | 6.49%              | -2.08%                |
|                       | 3    | -1.29%                  | 13.89%                | 2.92%              | -4.73%                |
|                       | 平均值  | -2.65%                  | 20.96%                | 4.87%              | 0.05%                 |
|                       | 标准偏差 | 3.26%                   | 17.64%                | 1.81%              | 6.14%                 |

[0191] 对每一种加入到冰淇淋中的加工过的乳糖酶测量所得到的活性表明,与之前在Emerson 研究得到的结果类似,冰淇淋近中性的 pH 和低温的储存条件维持了乳糖酶的活性。用阿拉伯树胶加工过的乳糖酶其活性的增加表明,最初在计时起点对酶形成的保护在两个星期内随着其屏障的不断降解而将酶全部释放出来。另一方面,看起来虫胶屏障是在加入后立即进行释放,在整整两个星期内没有对酶形成保护,从而导致了其活性略有下降。

[0192] 在拿铁咖啡中加入的每种加工过的乳糖酶其测得的活性在两个星期内都有所上升。在开始时每一组都无法测量出活性。可能是高温和保护屏障共同抑制了其活性因而导致了乳糖酶没有活性的结果。两个星期的储存期过后,每一组都显示出较低程度的乳糖酶活性,而阿拉伯树胶加工的乳糖酶再次证明其具有更好的稳定性。尽管有着连续的高温 and 弱酸性的环境,看起来涂层仍然能够在较长的时间里持续提供保护。

[0193] 最后,在热奶油巧克力糖浆中加入的每组加工过的乳糖酶其测得的活性表明,在两个星期的时间里该屏障并没有提供保护。我们推测高温以及不断降低的 pH 导致了乳糖酶不具有活性。

[0194] 结论

[0195] 与前面研究得到的结果类似,证明了无论是处理过的还是未处理过的乳糖酶,其活性在低温、中性的环境中更为稳定。另一方面,乳糖酶活性在高温或是在酸性环境中会受到限制。不过,从 pH 值 1 到 7 的样品 中其活性的增加以及拿铁咖啡样品两个星期以后其活性的增加可以看出,看起来虫胶和阿拉伯树胶都能够提供一定的保护。在这两种高聚物中,看起来阿拉伯树胶能够提供更为良好的保护。

[0196] 当本发明的实施方式被展示和描述出来的时候,很明显对于所属技术领域的技术人员来说,对其所进行的变化和改进可以在不脱离发明本身的情况下被应用在更广泛的领域。因此,附加的权利要求意在涵盖所有属于本发明范围内及与其精神相符之任何变化与改进。

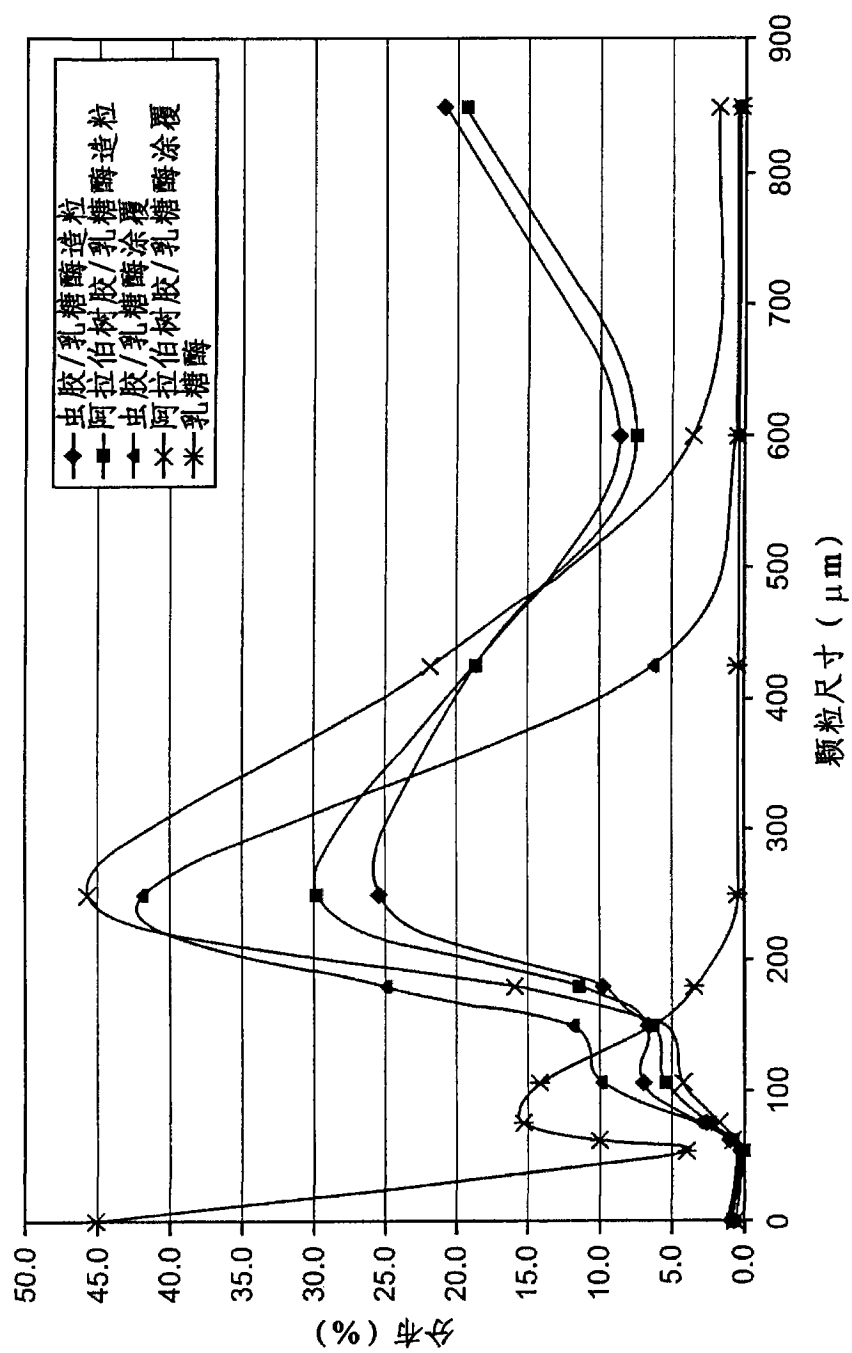


图 1

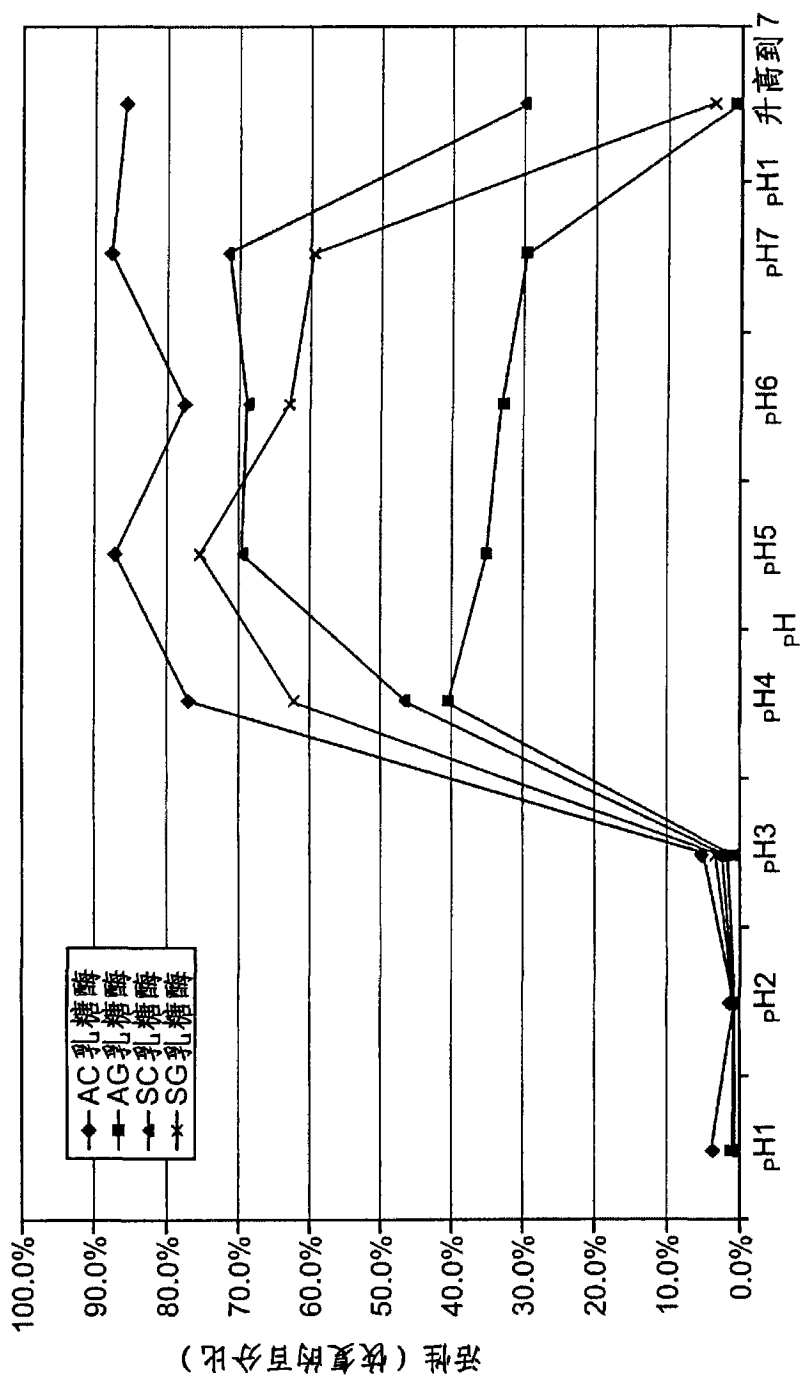


图 2