

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

[12] 发明专利申请公开说明书

A61K 9/14
A61K 9/50 A61K 9/64
A61K 31/593 A23L 1/30
A23K 1/16

[21] 申请号 99121688.1

[43]公开日 2000年4月19日

[11]公开号 CN 1250650A

[22]申请日 1999.8.24 [21]申请号 99121688.1

[30]优先权

[32]1998.8.24 [33]DE [31]19838189.1

[71]申请人 BASF 公司

地址 联邦德国路德维希港

[72]发明人 W·贝弗特 R·贝茨 E·吕德克

T·弗里德里希

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 杨九昌

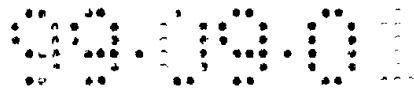
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 粉末形式的稳定维生素和类胡萝卜素制剂、和其生产方法

[57]摘要

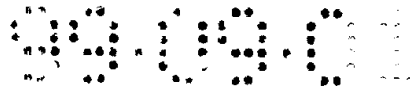
本发明涉及活性成分制剂,其中在蛋白质基质中包埋了一种或多种活性成分,该蛋白质与转谷氨酰胺酶交联。活性成分制剂是例如稳定干燥粉末的形式。本发明另外涉及含有这样的制剂的人类食品和动物饲料,生产该干燥粉末的方法和交联的蛋白质的特定用途。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4



权 利 要 求 书

1. 生产活性成分制剂的一种方法, 该方法包括下列步骤:
 - a) 完全混合可交联的蛋白质, 转谷氨酰胺酶和活性成分的水溶液。
 - 5 b) 雾化,
其中在活性成分和蛋白质之间的比例按重量计是 1 到 10 和 4 到 1。
2. 根据权利要求 1 的方法, 其中活性成分是维生素, 人类食品添加剂或动物饲料添加剂。
3. 根据权利要求 1 或 2 的方法, 其中活性成分是疏水的。
- 10 4. 根据权利要求 1 到 3 任一项权利要求的方法, 其中可交联蛋白质选自明胶, 酪蛋白, 大豆蛋白质, 玉米蛋白质和胶原。
5. 根据权利要求 1 到 4 的任一项权利要求的方法, 其中利用了从微生物获得的转谷氨酰胺酶。
6. 根据权利要求 1 到 5 的任一项权利要求的方法, 其中发生雾化成为负载
15 疏水二氧化硅, 玉米淀粉或疏水玉米淀粉的惰性气体大气。
7. 根据权利要求 1 到 6 的任一项权利要求的方法, 其中雾化后接着干燥到残留水分含量低于 10% 重量。
8. 根据权利要求 1 到 7 的任一项权利要求的方法, 其中活性成分制剂的温度保持基本上低于 80°C。
- 20 9. 一种活性成分制剂, 该制剂由权利要求 1 到 8 的任一项权利要求的方法获得。
10. 根据权利要求 9 的活性成分制剂, 其中活性成分选自下列一组化合物:
类胡萝卜素
维生素 A
25 维生素 E
维生素 D₃
11. 根据权利要求 9 或 10 中任一项权利要求的活性成分制剂, 其中该活性成分制剂具有释放剂或释放剂混合物的含量是活性成分的重量的 0.025 到 4 倍。
12. 一种人类食品或动物饲料, 其中含有如权利要求 9 到 10 的任一项权利
30 要求的活性成分制剂。



说明书

粉末形式的稳定维生素和类胡萝卜素制剂，和其生产方法

5

本发明涉及其中一种或多种活性成分包埋在蛋白质基质中的活性成分制剂。这些蛋白质与转谷氨酰胺酶交联。活性成分制剂的形式例如是稳定的干燥粉末。另外，本发明涉及含有这些制剂的人类食物和动物饲料，生产干燥粉末的方法和交联蛋白质的特定用途。本发明特别涉及含有维生素，人类食物和动物饲料添加剂如类胡萝卜素的干燥粉末。也可能包埋各种添加剂。

粉末形式的维生素和类胡萝卜素产品通常是已知的并且用于大规模的医药工业和人类食品和动物饲料工业中。所以，在文献中叙述了生产稳定产品的许多过程。

叙述了用于生产粉末形式的制剂的各种生产方法特别是喷洒方法，并且其中保护了氧化敏感的物质如可溶于油的维生素或类胡萝卜素以对抗氧化作用。

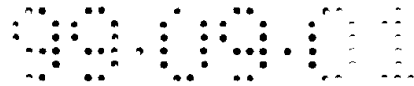
德国专利 1 035319 叙述了在低湿度含量(低于 8%)的大量粉末状淀粉中将油状维生素分散体系喷成雾状。利用干燥淀粉粉末从雾化颗粒除去水。这导致了这些颗粒的固体化，大量淀粉仍然附着于颗粒的表面。这就另外需要除去过量淀粉含量，然后重新用于该方法。

瑞士专利 488 455 叙述了利用由作为撒粉剂的水推进剂和水吸收物质组成的无机物质。这据说避免了由于精细分裂干燥淀粉存在的爆炸的危险。

瑞士专利 389 505 公开了在冷的气体介质中将活性成分的分散体系喷成雾状，其中通过冷冻雾化的颗粒固体化。这一过程需要落下的高度是 15 米，另外温度必须明显保持低于室温。

固体化雾化颗粒的另一个可能的方法是通过把颗粒密封在粉末中，该粉末包括高级脂肪酸的金属盐。这一过程在瑞士专利 431 252 中叙述了。

在欧洲专利 0 618 001 中叙述了生产含有稳定活性成分的制剂的可替代方法。在这种方法中，通过控制分散最初从水包油乳化剂形成小球体，其中包括在不可混合水的溶剂中加入油形式的活性成分物质，蛋白质和水，并且然后除去得到的小球体以生产其中活性成分包埋在各种载体物质的混合物中的小球体



颗粒。生产小球体必需特定的混合系统。然后，利用醛，例如乙醛，戊二醛或乙二醛处理这种情况中获得的颗粒，导致化学交联，得到物质在水中的不溶性证实了这一点，并且所以获得了活性成分的其他稳定性。

5 美国专利 4 670 247 叙述了生产交联颗粒的另一个方法。这可以首先通过喷雾和干燥过程转化乳液成粉末形式的颗粒，乳液基本含有油可溶维生素，保护胶质，例如明胶和还原糖。然后，在热过程中在 105 和 180℃ 之间处理这些颗粒。由于基质成分的交联，在蛋白质的氨基基团和还原糖的氧基团之间的美拉 (Maillard) 反应导致干燥粉末颗粒变成不溶于水。

10 EP 782883 叙述了含有胶囊壁并且通过利用可食盐盐析出蛋白质和将胶囊壁与转谷氨酰胺酶交联生产的可食微胶囊。

当对氧化敏感的化合物(在这种情况下特别是脂溶性维生素和类胡萝卜素)与空气接触时，发生了与氧的反应，并且由于转化成不需要的化合物而导致失去活性成分。为了防止这一氧化，例如通过与蛋白质中反应基团反应，依次使它们的氧渗透性更少，并且因此使活性成分得到稳定保护，在制剂中加入一些添加剂是可能的。通过例如在美拉型反应中使蛋白质与还原糖反应，以便防止蛋白质溶解于水中是可以发生的。通过将蛋白质与醛反应获得交联也是可能的，这同样使载体基质的稳定性增加。

20 但是，这些方法存在一些缺点，以致于寻找提高稳定性的方法似乎是符合需要的。所以，利用在蛋白质和还原糖之间的美拉反应意味着在每种情况下的热应力，并且因此至少在一个小的程度上降解活性成分。另外，证明该产品带棕色。

利用醛作为交联剂与在这种情况下利用对健康特别危险的高反应添加剂的严重缺点相关。这些方法生产的产品没有发现被消费者不受限制的接受。

25 相反，利用酶交联作为稳定的因素意味着避免了热过程和添加剂，这在每个方面对于每个食物链的天然成分的物质都是无危险的。而且，产品没有棕色。

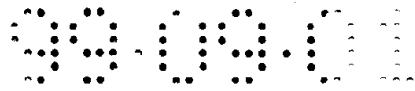
用本发明的方法生产活性成分的制剂包括下列步骤：

a) 完全混合可交联的蛋白质，转谷氨酰胺酶和活性成分的水溶液。

b) 喷雾，

其中活性成分和蛋白质之间的比例按重量计是 1 到 10 和 4 到 1。

30 活性成分和蛋白质之间的优选比例按重量计是 1 到 4 和 2 到 1，特别优选



地是 1 到 3 和 1 到 1。

优选的可交联蛋白质是明胶，酪蛋白，大豆蛋白质，玉米蛋白质和胶原。

根据本发明，优选的方法是将含有活性成分的乳液或分散体系喷雾进入装载疏水二氧化硅的惰性气体大气中。

5 其它优选的方法是喷雾之后干燥残留水分含量低于 10%重量，优选地低于 6%重量。

本发明的方法的温度基本保持低于 80℃，优选地低于 60℃。

本发明另外涉及通过本发明的过程可获得的活性成分制剂以及作为另外的特征，那些活性成分制剂具有释放剂或释放剂混合物的含量是该活性成分的重量的
10 0.025 倍到 4 倍，还涉及含有这一类型的活性成分制剂的人类食品或动物饲料。

优选的释放剂是疏水二氧化硅，玉米淀粉，已经通过化学处理制成疏水的玉米淀粉、高级脂肪酸的金属盐和其它蔬菜淀粉。

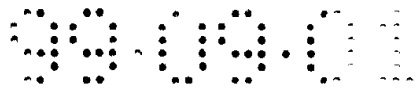
在疏水二氧化硅的情况中，活性成分的含量优选地在 0.025 和 0.4 范围，特别优选的是 0.05 和 0.2 之间。在玉米淀粉的情况中，对应的比例优选地是 0.25
15 和 2 之间，特别优选地在 0.5 和 1.5 之间。

通过从碳水化合物和/或天然或化学修饰淀粉的基团生产基本含有这些活性成分，蛋白质和其它载体和膨胀剂的分散体系可获得本发明活性成分制剂。它也可以另外含有添加剂如稳定剂或乳化辅剂。它另外含有能够将蛋白质分子以各种方法连接的酶。由此使蛋白质交联和同时其中包埋活性成分的基质也获得
20 交联，水可溶性减弱，因此增强稳定性。

对于交联基质的分布，获得的活性成分制剂基本是均一的。

优选的可交联蛋白质是明胶，例如骨明胶，小牛明胶，鱼明胶，牛奶蛋白质例如，酪蛋白，大豆蛋白质，玉米蛋白质和胶原，特别优选的蛋白质是牛奶蛋白质和大豆蛋白质。本发明的交联酶是转谷氨酰胺酶，特别是从微生物获得的
25 的那些，特别是微生物来源的转谷氨酰胺酶。

优选的活性成分是维生素，和人类食品和动物饲料添加剂。疏水活性成分
是特别优选的，以及容易氧化的那些是特别优选的。A, D, E 和 K 组的维生素是这些物质。优选的人类食品和动物饲料添加剂是胡萝卜素和类胡萝卜素，如β-胡萝卜素，和例如虾青素，虾红素，脱-8'-胡萝卜素酸乙酯，citranaxanthin，
30 鸡油菌黄质，玉米黄素，脱-8'-胡萝卜素，黄体素，辣椒红，番茄红素，和



它们的混合物。

利用疏水释放剂如疏水二氧化硅，天然淀粉，例如玉米淀粉，疏水淀粉衍生物，例如疏水玉米淀粉，长链脂肪酸的盐或这些物质的混合物来雾化乳液。但是，释放剂最初也可以存在于喷洒室，例如作为在惰性气体(例如，氮)中的疏水二氧化硅颗粒。然后，通过在空气或保护性气体的蒸汽中处理，适当温和加热到 80°C，优选地 60°C，特别优选地是在室温，以适当地在除去释放剂之后干燥雾化颗粒。

实施例 1

将 81.8 克明胶(A 型 100Bloom)和 50.7 克 Isosweet(来自 Amylum)分散在 360 克水中并通过在 60°C 搅拌 30 分钟导致溶解。然后加入 62.6 克玉米淀粉，并且继续搅拌直到所有成分均一分散。接着加入 62.9 克醋酸维生素 A，通过加入乙氧基喹啉(100 毫克/10⁶I.U.)和 BHT(4.5 毫克/10⁶I.U.)使其稳定。利用高效搅拌器在水相中乳化维生素 A。最后，加入 10% 强氢氧化钠水溶液，将得到的乳液的 pH 调节到 8.0，并且与 20 毫升 200 单位细菌转谷氨酰胺酶水溶液混合。

然后，在 4.2 巴的压力下通过单成分管嘴在 55°C 将得到的乳液喷雾化进入加载疏水二氧化硅的氮气中。然后，在室温下，在 15 小时内氮气流中在流化床干燥器中干燥得到的产品直到残留的水分含量为 4.2%。

实施例 2

如前面实施例所述来生产干燥粉末，所不同的是没有加入转谷氨酰胺酶。在干燥后，这一产物具有的残留水分含量为 3.9%。

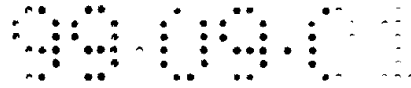
实施例 3

将来自实施例 2 的干燥粉末的一部分用 120°C 的油浴，在旋转烧瓶中热处理 20 分钟。由于美拉反应产生了棕色颜色。产品的残留水分含量在这一方法中下降到 1.9%。

实施例 4

通过 EP0 065 193 中详细叙述的过程生产虾青素配方。

在 240 克异丙醇以及 1.1 克抗坏血酸棕榈酸酯和 6.4 克乙氧喹中悬浮 30 克虾青素，将压力控制阈值设定在 30 巴，在混合室中与 370 克异丙醇连续混合。在悬浮液一边计量速度是 6 升/小时，在溶剂一边计量值是 9 升/小时，在混合室设定混合温度为 173°C。在 0.3 秒的停留时间之后，在另一个混合室中调节



混合室中的 pH 到 9.5, 将分子分散溶液与 含有 38.6 克明胶和 105 克葡聚糖于 4000 克水中的溶液以 80 升/小时的通过量相混合。获得了活性成分的胶质分散体系。颗粒大小分析显示是平均 0.15 微米, 分布范围是 $\pm 31\%$ 。

在薄层薄膜蒸发器中, 将微粉粒浓缩到固体含量约 25%。然后, 浓缩的产品在 60°C 熔化, 加入 50 毫升 250 单位细菌转谷氨酰胺酶的水溶液, 并且用浆搅拌器在四颈烧瓶中搅拌。

将完成的分散体系导入高温灭菌釜并且通过管嘴喷雾进入含有 Sipernat D17 作为在空气中分散的喷洒辅剂的容器中。将以这种方式生产的干燥粉末在流化床干燥器中, 在 20 小时内在室温, 干燥到水分含量 $<6\%$ 。

10 实施例 5

从得到的干燥粉末中筛选出颗粒大小为 250 到 355 微米的部分, 在标准预混合物中进行稳定性测试。为此, 在样品试管中称重约 100 毫克测试样品(每个样品, 称重和测试 4 次), 然后用手将含有 60% 小麦麸糠, 在二氧化硅上的 30% - 50% 强氯化胆碱和含有 37.43% $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ 、46.78% $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ 、15 11.79% ZnO 、3.61% MnO 和 0.39% CoCO_3 的 10% 痕量元素的 4 克预混合物小心混合。

在恒定温度和湿度(40°C 和 70% 相对湿度)在一厨中的开放容器中储藏测试样品 6 星期。在储藏开始和 4 和 6 星期后, 取出用于检测特别测试时间而制备的 4 个测试样品, 并检测其中残留的维生素 A 活性成分的含量。

20 测试的结果表示在下面的表中:

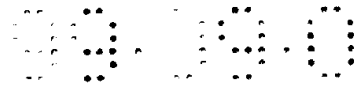
维生素 A 保留(%)

测试产品

干燥粉末	起始(I.U./克)	在 4 星期后	在 6 星期后
1. 含有加入的转谷氨酰胺酶	494, 884	86.7	79.5
2. 没有转谷氨酰胺酶	520, 924	85.1	76.6
3. 与 2 相同, 加热处理	526, 144	87.4	80.7

实施例 6

25 利用 420 克水, 102.3 克明胶 100Bloom A, 63.4 克 Isosweet, 76.5 克维生素 A 乙酸酯(2.16 百万 I.U./克; 利用 100 毫克乙氧喹/百万 I.U. 和 14.5 毫克 BHT/百



万 I.U.来稳定)和 80.6 克玉米淀粉, 如实施例 1 制备一种乳液, 然后利用 10% 强氢氧化钠水溶液调节该乳液到 pH 8.0。将这一乳液分成 3 等分, 处理如下:

A: 没有加入

B: 在多糖中加入 2.05 克 1% 强转谷氨酰胺酶制剂(“TG”)。

5 C: 在多糖中加入 5.11 克强转谷氨酰胺酶制剂(“TG”)。

如实施例 1 中将乳液喷雾进入用疏水二氧化硅负载的氮气中。

在室温和氮气流中干燥批料 A 到残留水分含量 3.1%。它的一部分在 120°C 另外加热 20 分钟。

同样在流体化床中在室温干燥批料 B, 和在室温将它的一部分储藏后干燥
10 15 小时。

如处理批料 B 那样处理批料 C。

将得到的产品如在实施例 5 中那样进行稳定性测试。将得到的数据归纳在下面的表中。

产品	处理	维生素 A 含量 (IU/克)	残留 水分(%)	在 4 星期后 残留(%)	在 6 星期后 残留(%)
没有加入	流化床干燥(=干燥)	548,700	3.1	53.9	29.1
没有加入	流化床干燥+热交联	563,300	1.5	63.8	45.9
2.05 克 TG	流化床干燥	543,600	3.9	56.2	34.5
2.05 克 TG	RT 15 小时+流化床干燥	541,900	3.4	54.8	32.4
5.11 克 TG	流化床干燥	540,000	3.2	62.6	35.5
5.11 克 TG	RT 15 小时+流化床干燥	544,600	3.6	64.4	39.7



产品	处理	扩散速度(usec,tau)	强度(kcps)
没有加入	流化床干燥	596.3	559.3
		581.2	579.0
		552.2	543.3
没有加入	流化床干燥+热交联		
2.05 克 TG	流化床干燥	510.7	545.4
		514.6	536.4
		496.9	536.4
2.05 克 TG	RT 15 小时+流化床干燥		
5.11 克 TG	流化床干燥	544.0	518.3
		574.4	539.1
		549.5	542.3
5.11 克 TG	RT 15 小时+流化床干燥		

RT = 室温 ~23°C

- 明胶是各种大小的蛋白质分子的混合物。利用荧光染料标记所有分子。在观察期，利用广泛的交联，只有最小的分子能够离开交联明胶的网络。另外，
- 5 较小的分子具有直接受交联的影响的更低的可能性。在与转谷氨酰胺酶广泛交联的明胶的上清液中通过 FCS 观察分子大小表明通常小分子大小有高扩散速度(在微秒的 tau 小于对照)。同时观察到所有样品的强度(I, kcps)基本上是相类似的。

实施例 7

- 10 在另一个测试中，如实施例 4 将虾青素分散体系加工成为各种量的转谷氨酰胺酶的干燥粉末。

加入	处理	活性成分含量(%)	在 6 星期后保留物(%)
没有	在 RT 干燥	11,4	67
0.01%TG	在 RT 干燥	11,5	80
0.05%TG	在 RT 干燥	11,2	75

RT=室温~23°C