

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

**2002 - 2376**

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09.01.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **10.01.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/0000303**

(33) Země priority: **FR**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16.10.2002**  
(Věstník č. 10/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/FR01/00055**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/50870**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**A 21 D 13/00**

**A 23 L 1/10**

(71) Přihlašovatel:

**LU, Ris-Orangis, FR;**

(72) Původce:

**Lang Vincent, Maisons-Alfort, FR;**

**Degouy Magali, Viroflay, FR;**

**Champenois Yann, Athis-Mons, FR;**

(74) Zástupce:

**PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,  
14000;**

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití cereálního produktu pro zlepšení  
kognitivní výkonnosti a duševního stavu pohody u  
osoby, zvláště u dítěte a mladistvého**

(57) Anotace:

Použití cereálního produktu jako je sušenka nebo suchar s obsahem pomalu stravitelného škrobu vzhledem k celkovému obsahu škrobu větším než 12 % hmotnostních, s výhodou větším než 20 % hmotnostních, pro zlepšení kognitivní výkonnosti, zvláště udržení v paměti, pozornosti, koncentrace, bdělosti a/nebo duševního stavu pohody u lidí, zvláště pak u dítěte a dospívajícího. Zmíněné cereální produkty mohou být konzumovány k snídani.

**CZ 2002 - 2376 A3**

## **Použití cereálního produktu pro zlepšení kognitivní výkonnosti a duševního stavu pohody u osoby, zvláště u dítěte a mladistvého**

### Oblast techniky

Příhláška se týká použití cereálních produktů, které mají obsah pomalu stravitelného škrobu vzhledem k celkovému obsahu škrobu větší než 12%, s výhodou pak větší než 20%, a to pro zlepšení kognitivní výkonnosti a/nebo duševního stavu pohody.

### Dosavadní stav techniky

Učení je jednou ze základních složek lidského chování, protože umožňuje jeho trvalou modifikaci a tím zlepšuje fungování jedince. Učení zahrnuje mnoho funkcí, například získávání znalostí, pamatování, vybavování a analýza informací. Mechanizmy učení jsou stále málo známy.

Mozek je orgán, který hraje základní úlohu při učení v součinnosti se všemi ostatními orgány jedince. Výzkumné studie posledních několika desítek let ukázaly, že přísun energie a stav minerálů a vitamínů jedince má vliv na projevy a schopnosti jeho učení.

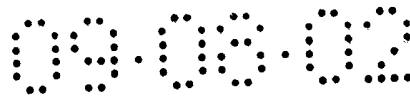
Naše současné společnosti mají obecně několik určitých zevrubných organizačních znaků. Jeden z nich, byť ho nelze použít u všech společností na světě, je učení ve škole. To je prováděno v několika částech během dne. Pro děti je dopolední část často velmi různorodá s různými učitelskými aktivitami. Během dopoledne je po dětech požadováno mnoho úsilí ve smyslu pozornosti, koncentrace, pamatování a vybavování znalostí.

Tyto nároky také platí pro dospělé, kteří v práci nebo během svého volného času provádějí mnoho fyzických a intelektuálních aktivit.

Z tohoto důvodu se velmi doporučuje posnídat, aby se opět vytvořily energetické rezervy po nočním půstu a aby se tělo zásobilo energií pro dopolední aktivity. To je zejména pravdou pro děti, u kterých je obnova energie zvláště důležitá.

Pro obnovení těchto zásob energie se obecně navrhuje tak zvaná „vyvážená“ snídaně, která je zpravidla složena ze čtyř druhů produktů:

- cereální produkt (chléb, francouzské toasty, Vídeňský druh produktů, cereálie k snídani nebo sušenky)
- mléčný výrobek
- ovoce nebo ovocná šťáva
- nápoj



Vyváženosti tohoto druhu snídaně je dosaženo poskytnutím vhodného procenta a dostatečného množství lipidů, karbohydrátů a proteinů. Tento druh příjmu umožňuje efektivně vytvořit rezervy, ale nemusí s sebou přinášet zlepšení intelektuálních funkcí, zvláště kognitivních funkcí, jak bylo zmíněno dříve. Nyní výzkumné studie žadatele ukázaly, že určité druhy jídla přijímané zvláště při snídani umožňují zlepšit intelektuální funkce zvláště u dětí a dospívajících.

Souhrny v CN 1 135288 a CN 1 107655 zmiňují sušenky obsahující různé rostlinné extrakty, o kterých se předpokládá, že mají blahodárné účinky na zdraví, zvláště na zlepšení imunity, funkcí mozku a předvídavosti.

Ross et al. (Am J Clin Nut, 1987) popisuje glykemické a insulinemické indexy různých cereálních produktů; nejnižší indexy jsou pozorovány v případě sušenek pro vysoký obsah tuku.

Korol et al. (Am J Clin Nut, 1998) poukázal na to, že hladina cirkulující glukózy ovlivňuje určité kognitivní funkce a zvláště může zlepšovat poruchy paměti u starších osob.

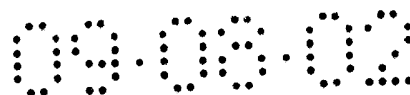
Avšak jiné studie tvrdí, že glukóza nehraje v těchto procesech roli.

Žadatelé nečekaně ukázali, že samotná regulace glykemického indexu nepostačuje pro zlepšení těchto výkonností. Žadatelé nyní demonstrovali, že určité cereální produkty signifikantně zlepšují kognitivní výkonnost výběrem vhodných poměrů mezi pomalu stravitelným škrobem a celkovým škrobem přítomným v produktu. Tyto produkty mohou navíc obsahovat nepříliš vysokou hladinu lipidů.

Navíc měněním poměru mezi pomalu stravitelným škrobem a celkovým škrobem (který paralelně indukuje změny v množství pomalu dostupné glukózy vzhledem k celkovému množství karbohydrátů) je možné získat cereální produkty s nízkým glykemickým indexem při jinak stejném složení, a zvláště při stejném obsahu tuku. Produkt s obsahem lipidů 17 g/100 g a s obsahem pomalu dostupné glukózy > 15% má glykemický index 45. Produkt s obsahem lipidů 9 g/100 g a s obsahem pomalu dostupné glukózy > 15% má glykemický index 59. Naproti tomu produkt s obsahem lipidů 12 g/100 g a s obsahem pomalu dostupné glukózy < 7% má glykemický index 70.

### Podstata vynálezu

Proto je předmětem této přihlášky použití cereálních produktů, zvláště sušenek nebo sucharů, které mají obsah pomalu stravitelného škrobu vzhledem k celkovému obsahu škrobu větší než 12% hmotnosti, s výhodou pak větší než 20%, pro zlepšení duševního stavu pohody



a/nebo kognitivní výkonnosti, zvláště pamatování, pozornosti, koncentrace a/nebo bdělosti u osoby, zvláště u dítěte a mladistvého.

Příhláška se také týká cereálních produktů, zvláště sušenek nebo sucharů, pro zajištění pozornosti, koncentrace, bdělosti, pamatování a/nebo duševního stavu pohody u osoby, zvláště u dítěte a mladistvého, které jsou charakteristické tím, že mají obsah pomalu stravitelného škrobu vzhledem k celkovému obsahu škrobu větší než 12%, s výhodou pak větší než 20%.

Preferovaný obsah škrobu v cereálních produktech použitelných podle vynálezu je od 30 do 70 g na 100 g sušiny, zvláště pak od 34 do 60 g na 100 g sušiny.

S výhodou mají cereální produkty použitelné podle vynálezu obsah pomalu dostupné glukózy vzhledem k celkovému množství karbohydrátů větší než 10% a ještě výhodněji větší než 15%.

Preferovaný obsah karbohydrátů cereálních produktů použitelných podle vynálezu je od 60 do 90 g na 100 g sušiny.

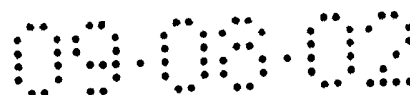
Obsah cukru v cereálních produktech použitelných podle vynálezu je s výhodou od 2 do 40 g na 100 g sušiny. Cukr může být monosacharid a/nebo disacharid a zvláště glukóza, sacharóza, fruktóza a/nebo maltóza.

Obsah vody v cereálních produktech použitelných podle vynálezu se může měnit a zvláště může být v řádu od 7 do 10% hmotnosti. Avšak produkty, které jsou vhodné pro provádění vynálezu, obsahují méně než 5% vody, zvláště v řádu od 3 do 4%.

Další důležitou vlastností cereálních produktů použitelných podle vynálezu je jejich obsah lipidů. Skutečně, je všeobecně přijímáno, že vysoká hladina lipidů ovlivňuje rychlost trávení karbohydrátů jejím snižováním vlivem účinku na žaludeční vyprazdňování. Nyní bylo možné demonstrovat, že nízké hladiny lipidů přesto umožňují dosáhnout požadovaného zlepšení v rámci přihlášky, což je výhodné pro vyhnutí se akumulaci lipidů. Proto je výhodně obsah lipidů v cereálních produktech použitelných podle vynálezu od 3 do 25 g na 100 g sušiny a ještě výhodněji od 10 do 20 g na 100 g sušiny a nejméně od 14 do 20 g na 100 g sušiny.

Zvláště cereální produkty připravené podle této přihlášky s obsahem lipidů menším než 15 g na 100 g sušiny a zvláště v řádu 12 g na 100 g sušiny a s rovnovážným podáváním škrobu vzhledem ke karbohydrátům umožňují zlepšit různé aspekty kognitivní výkonnosti.

Překvapivě je obsah proteinů v cereálních produktech použitelných podle vynálezu nízký, výhodně od 5 do 11 g na 100 g sušiny. Je tomu skutečně naopak v porovnání s komparativní studií prováděné na dospělých, která se týkala účinků jídel bohatých na proteiny vzhledem k jídlům bohatých na karbohydráty, a která doporučovala používání proteinů pro zlepšení



pozornosti (Spring et al., „Effects of proteins and carbohydrate meals on mood and performance: interaction with sex and ages“, J. Psychiat. Res., 1982, vol. 17, 2, 155-167).

Ačkoliv cereální produkty podle vynálezu obecně umožňují zlepšení kognitivní výkonnosti a/nebo duševního stavu pohody bez ohledu na čas konzumace, kognitivní výkonnost a/nebo duševní stav pohody jsou zvláště zlepšeny, pokud jsou cereální produkty použitelné podle vynálezu konzumovány během snídaně.

Navíc požití cereálních produktů obsahujících obsahy pomalu stravitelného škrobu podle vynálezu umožňuje udržení kognitivní výkonnosti a zejména schopnosti pamatování a učení se dokonce i tehdy, pokud je tělo vystaveno podmínkám snižování energetických zásob.

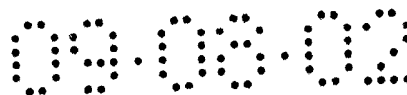
Přihláška se také týká neterapeutické metody pro zlepšení pozornosti, koncentrace, bdělosti a/nebo pamatování u osoby, a zvláště u dítěte a mladistvého charakteristické tím, že zahrnuje konzumaci, s výhodou během snídaně, cereálních produktů, zvláště sušenek a sucharů podle vynálezu.

Termín „cereální produkt“ v této přihlášce představuje přípravek skládající se zejména z mouky, tuků, vody a sladidel u slazených produktů.

Škrob se všeobecně považuje za pomalu stravitelný. Avšak rychlost a míra trávení a absorpce se mohou značně lišit podle zdroje škrobu a potravinové technologie, která je použita při výrobě potraviny.

Obsah pomalu stravitelného škrobu v cereálních produktech použitelných podle vynálezu může být proto závislý jak na zdroji škrobu, tak také na technologii použité pro jejich výrobu. Obsah pomalu dostupné glukózy odráží rychlost, s jakou se glukóza vytvářející se z cukru a škrobu stane dostupnou pro absorpci v lidském tenkém střevě.

Obsah pomalu stravitelného škrobu vzhledem k obsahu celkového škrobu a obsah pomalu dostupné glukózy vzhledem k celkovému množství karbohydrátů v cereálních produktech použitelných podle vynálezu jsou měřeny Englystovou metodou (Englyst HN., Veenstra J., Hudson GJ., 1996, Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: a potential in vitro predictor of the glycaemic response, *British Journal of Nutrition*, 75, 327-337 a Englyst KN., Englyst HN., Hudson GJ., Cole TJ., Cummings JH., 1999, Rapidly available glucose in foods: a measurement that reflects the glycemic response, *Am J Clin Nutr*, 69, 448-454). Tato metoda umožňuje klasifikovat potraviny jako funkci in vitro biodostupnosti jejich škrobu a stravitelnosti všech dostupných karbohydrátů. Klasifikace určitých potravin je ukázána v následující tabulce 1.



**Tabulka 1. Biodostupnost in vitro u různých potravin (Englystova metoda)**

	<b>Pomalu stravitelný škrob/celkový škrob (%)</b>	<b>Pomalu dostupná glukóza/celkové dostupné krohydráty (%)</b>
<b>Špagety</b>	42	74
<b>Fazole</b>	42	84
<b>Instantní bramborová kaše</b>	1	8
<b>Cornflakes</b>	3	3
<b>Cereálie k snídani pro děti</b>	2	1
<b>Ovesná kaše</b>	9	10
<b>Bílý chléb</b>	9	15
<b>Celozrný chléb</b>	7	12
<b>Bageta</b>	0	0
<b>Petit beurre sušenky</b>	14	11
<b>Sušenky k snídani</b>	38	23

Cereální produkty použitelné podle vynálezu mají navíc s výhodou zvláště nízký glykemický index, zejména nižší než 60, výhodně méně než 50 a ještě výhodněji méně než 45.

Cereální produkty použitelné podle vynálezu jsou s výhodou získávány tvarovacími technologiemi, které jsou zkušeným osobám v oboru známy, jako jsou válcování, válcování u kynutého těsta, řezané těsto a nebo strunou řezaná a rotační těsta.

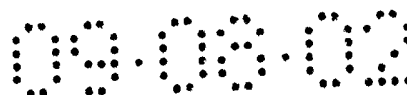
Příklady procesů používaných pro získávání cereálních produktů použitelných podle vynálezu jsou následující:

#### 1. Cereální proces pro slazená těsta

Převažující základní materiály jsou mouka, sladidla a tuk. Jsou smíchány v hnětači s ostatními přísadami jako je voda, sůl, prášek do pečiva a podobné. Tento krok se nazývá hnětení. Konzistence takového těsta určuje způsob jeho průchodu výrobní linkou.

Pokud je těsto hutné (zesíťováno proteiny) a vytváří těstové bloky, bude po různé době odpočinku vytvarováno laminačními válci, aby se vytvořily těstové pruhy 1 až 2mm. Potom bude nakrájeno rotujícím válcem s noži na požadovaný tvar a velikost sušenky. Takto jsou získána válcovaná a řezaná těsta.

Pokud není toto těsto kohezivní a podobá se písku, bude slisováno do požadovaného tvaru a velikosti sušenky a rozlisováno rotačním strojem. To jsou rotační těsta.



Pokud není toto těsto kohezivní a je lepkavé, bude použito ve strunovém řezacím zařízení, které nařeže těsto na kousky. To jsou strunou řezaná těsta.

Tato těsta mohou být poté polita plevou a upečena v troubě. Po vyndání z trouby budou sušenky před zabalením ochlazeny.

## 2. Cereální proces pro neutrální nebo slaná těsta

Převažující základní materiály jsou mouka, voda, aktivní látka podle procesu (enzym nebo droždí nebo kypřící látky).

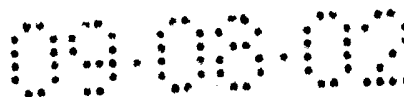
Tyto složky jsou smíchány buď částečně (kynuté suchary) nebo jako celek. Kynutí probíhá v různých časech od 1 do 24 hodin při pokojové teplotě nebo při vysoké teplotě podle procesu. Těsto se vyválcuje a případně upraví do listů, a pak je nařezáno rotačním nožem do požadované velikosti sucharu. Suchary jsou potom upečeny a případně postříkány tukem, ochuceny, poté ochlazeny a zabaleny. To jsou válcovaná nebo válcovaná kynutá a řezaná těsta.

### Příklady provedení vynálezu

Vynález bude ilustrován na následujících příkladech, které se týkají studií, během nichž byly testovány složky kognitivní výkonnosti na zvířecím modelu, které mohou být extrapolovány na lidi.

V příkladu 1 je odkazováno na následující obrázky:

- Obrázek 1 ukazuje různé typy procesů pro výrobu cereálních produktů podle vynálezu.
- Obrázek 2 ukazuje rozlišování mezi aktivní a neaktivní páčkou 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně a po 20 minutách učení (den 1 po familiarizaci) jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 3 ukazuje rozlišování mezi aktivní a neaktivní páčkou 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně a po 20 minutách učení (den 21 familiarizace) jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 4 ukazuje počet periferních kompartmentů navštívených během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 1. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 5 ukazuje počet vzpřímení během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 1. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 6 ukazuje počet vstupů do centrálního kompartmentu během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 1. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.

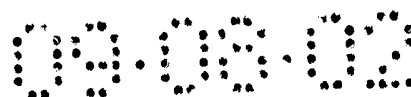


- Obrázek 7 ukazuje trvání nehybnosti během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 1. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 8 ukazuje počet periferních kompartmentů navštívených během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 21. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 9 ukazuje počet vzpřímení během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 21. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 10 ukazuje počet vstupů do centrálního kompartmentu během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 21. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.
- Obrázek 11 ukazuje trvání nehybnosti během 3 minut testu a 2 hodiny a 15 minut po konzumaci snídaně 21. den familiarizace jako funkci typu konzumované snídaně.

#### **Příklad 1: Studie kognitivní výkonnosti cereálních produktů podle vynálezu**

Aby byly zjištěny účinky cereálních produktů použitelných podle vynálezu na kognitivní výkonnost, bylo hodnoceno učení během hodin po konzumaci snídaně složené buď ze sušenek podle této přihlášky nebo z komerčních cereálií hotových k jídlu.

Nutriční složení obou produktů je srovnatelné, jak je ukázáno v tabulce 2. Obsahy Mg a vitamínu C, živin, které se mohou podílet na tonusu u živočichů, jsou také srovnatelné.



**Tabulka 2. Nutriční složení dvou typů snídaní**

	<b>Sušenka</b>	<b>Cereálie</b>
<b>Voda v g/100 g</b>	3,6	2,9
<b>Karbohydráty v g/100 g</b>	63,5	66,7
<b>Škrob v g/100 g</b>	34,0	31,4
<b>Cukry v g/100 g</b>	29,5	35,3
<b>Lipidy v g/100 g</b>	17,7	20,0
<b>Proteiny v g/100 g</b>	6,5	6,5
<b>Vitamín C v mg/100 g</b>	50,0	49,6
<b>Magnézium v mg/100 g</b>	53,0	50,0

Obě tyto cereální potraviny jsou vyráběny z obdobných surovin (mouka, cukr, tuk a podobné) v podobných proporcích.

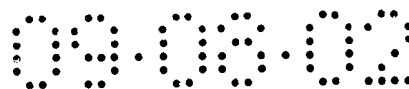
Biodostupnost škrobu v obou potravinách byla měřena Englystovou metodou. Výsledky těchto měření jsou ukázány v následující tabulce 3.

**Tabulka 3. Biodostupnost in vitro (Englystova metoda) karbohydrátů u obou typů snídaně.**

	<b>Pomalů stravitelný škrob/celkový škrob (%)</b>	<b>Pomalů dostupná glukóza/celkové dostupné karbohydráty (%)</b>
<b>Cereálie</b>	2	1
<b>Sušenka</b>	38	23

Dvě skupiny 24 krys byly naučeny konzumovat snídaní představující 25% jejich energetických nároků složenou z jednoho ze dvou produktů a následovaly 2 hodiny a 30 minut půstu. Po půstu je zvířatům umožněn volný přístup k jídlu, takže mohou konzumovat potravu během zbytku dne. Toto umožnilo reprodukovat konzumační návyky používané u lidí. Po zhruba desetidenní familiarizaci byly krysy podrobeny testům učení a měření jejich lokomoční aktivity v čase odpovídajícímu 2 hodiny a 15 minut po jejich snídaní. Tento kritický čas je často popisován jako čas korespondující se snížením pozornosti a „pocitové vyčerpanosti“.

Test učení se skládá z umístění zvířat do osvětleného prostoru se dvěma páčkami (jedna z nich je aktivní, vypíná světlo; druhá je neaktivní bez efektu). Po stisknutí aktivní páčky je světlo vypnuto na 30 sekund, potom se opět zapne. Krysy, které spontánně preferují temnotu, se postupně učí mačkat častěji aktivní páčku než páčku neaktivní. Pro měření lokomoční aktivity je



zvíře umístěno do organizované místnosti sestávající z podlahy a rozdělené do 9 kompartmentů, což umožňuje kvantifikovat lokomoční aktivitu na základě několika kritérií:

- počet navštívených periferních kompartmentů
- počet vzpřímení
- počet vstupů do centrálního kompartmentu
- trvání nehybnosti (variabilně odvozeno z předcházejících tří)

Tak bylo možné zhodnotit učení a lokomoční aktivitu v období, které následuje po konzumaci snídaně složené ze dvou typů karbohydrátových potravin: cereálie k snídani a sušenky. Cílem je ověřit, že sušenka, málo známá karbohydrátová potravina, vede ke stejným výsledkům jako cereálie k snídani, dobře známá karbohydrátová potravina. Toto porovnání bylo provedeno v akutní fázi (v den 1 po familiarizaci) a po 3 týdnech „snídaňového“ režimu s jedním ze dvou produktů (v den 21 po familiarizaci).

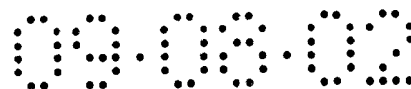
Výsledky byly velmi překvapivé, protože krysy, které konzumovaly sušenky, vykazovaly signifikantně lepší výsledky učení oproti krysám, které konzumovaly cereálie hotové k jídlu. Obrázky 1 a 2 ukazují velmi signifikantní rozdíly pozorované mezi oběma typy podmínek jak v den 1, tak po 3 týdnech režimu (D21). Konzumace sušenky je spojena se signifikantně lepším učením, než je tomu u konzumace cereálií.

Obdobně byly dosažené výsledky lokomoční aktivity také velmi zajímavé, protože existuje velmi signifikantní rozdíl mezi oběma produkty (obrázky 3 až 10).

Krysy, které konzumovaly snídani založenou na sušenkách, byly mnohem klidnější, zatímco krysy, které konzumovaly cereálie hotové k jídlu, byly mnohem aktivnější a vykazovaly známky neklidu (více průchodu centrálním kompartmentem, to značí větší neklid, protože způsob přecházet místnost diagonálně namísto podél stěn je u krys neobvyklý).

Je zřejmé, že pouze biodostupnost škrobu umožňuje vysvětlit tyto rozdíly ve výsledcích.

Sušenky mají signifikantně více pomalu stravitelného škrobu a pomalu dostupné glukózy než cereálie k snídani, což vysvětluje jejich pozitivní účinek na duševní stav pohody a fungování vyjádřené zlepšením učení. Obdobně u cereálií k snídani, které jsou rychle stráveny, se předpokládá rychlé vyvolání rušivého hladu, zvýšení aktivity a neklidu zvířat (ve vztahu s hledáním potravy) a dále se předpokládá snižování jejich pozornosti a tím nižší výsledky při učení. Těžkosti při pokrývání substrátových potřeb mozku při pozření rychle stravitelných cereálií by mohly přispívat k nižším pozorovaným výsledkům učení. Sušenky použité při tomto pokusu mají navíc glykemický index 48+/-6.



## Příklad 2: Porovnání efektu dvou cereálních produktů na přínos pro učení

Krátkodobé účinky požití dvou cereálních produktů s ekvivalentním glykemickým indexem a různými obsahy pomalu stravitelného škrobu se testují pomocí aversive light stimulus avoidance conditioning testu (ALSAT) u dospělých samců Wistar krys.

Produkty jsou na jedné straně sušenky podle přihlášky s nízkým obsahem tuku a glykemickým indexem 83,6 a na druhé straně komerční cereálie hotové k jídlu s glykemickým indexem 81,6, jejichž složení je ukázáno v tabulce 4.

**Tabulka 4. Jednotlivé složení dvou typů snídaně**

Produkty	Analýzy in vitro							
	Voda (w.b)	Celkové cukry **	Celkový škrob	Celkové karbo- hydráty ***	Lipidy	Proteiny	SDS/TS * (%)	Glykemický index
<b>Cereálie</b>	2,8	42,7	38,0	80,7	4,7	5-7	2	83,6±8,8
<b>Sušenka</b>	3,0	24,5	53,3	77,8	5,0	5-7	29	81,6±19,4

\*pomalu stravitelný škrob/celkový škrob

\*\*kombinace jednoduchých cukrů (glukóza, fruktóza, sacharóza a podobné)

\*\*\*=celkové cukry + celkový škrob

Použije se dvacet čtyři samců Wistar krys s hmotností 250 až 340 g. Zvířata se náhodně rozdělí do dvou skupin po 12 krysách. Krysy z jednotlivých skupin se označí a rozdělí do klecí po čtyřech. Zvířata jsou držena v klimatizovaném zvěřinci při teplotě 22 až 24°C s dvanáctihodinovým cyklem světlo-tma (světlo od 23. hodiny do 11 hodin dopoledne).

Dvě skupiny krys konzumují buď snídani složenou ze sušenek podle přihlášky nebo z cereálií.

Použité produkty jsou vyvážené vzhledem k zásobě karbohydrátů.

Krysy jsou na produkty zvykány po 4 dny (D-3 až D0). Pro tento účel se malá množství testovaných produktů nasypou do krmítek, aby došlo k familiarizaci jednotlivých skupin krys na jeden ze dvou testovaných produktů.

Během 11 dnů (D1 až D11) jsou produkty předkládány krysám každý druhý den během snídaně (D1, D3, D5, D7, D9 a D11) alternativně se stejnými kalorickými porcemi založenými na suché potravě (D2, D4, D6, D8 a D10). Toto období umožňuje krysám zvyknout si na dietetický režim mimikující období dočasného půstu mezi snídaní a obědem u lidí, takže zvířata



jsou podrobena půstu po snídani v délce 150 minut po ukončení snídane. Snídane začíná v T0 a trvá maximálně 30 minut (T30) a představuje 20% denních energetických potřeb zvířat (vyjádřeno v Kcal).

Mezi dnem 1 a dnem 10 jsou zvířata podrobena půstu 150 minut po ukončení snídane (T180) a poté jim je dán zbytek jídla ve formě suché potravy po zbytek dne (rytmus snídane). V den D11 po období půstu (T180) se krysy podrobí testu učení trvajícím 20 minut.

#### Experimentální zařízení:

Experimentální zařízení sestává z izolované klece (50 x 40 x 37 cm) silně osvětlené a obsahující dvě páčky: jedna je aktivní, která umožňuje po použití získat 30 s tmy, po kterých se opět rozsvítí, zatímco druhá páčka je neaktivní (nezpůsobuje tmu). Stisknutím aktivní páčky v průběhu tmy nezpůsobuje další časové přidání temnoty. Krysa se umístí do klece na 20 minut a v průběhu experimentu se počítá zmáčknutí každé páčky.

Soubor testů tvořených čtyřmi klimatizovanými zařízeními je plně automatizován a řízen počítačem. V průběhu testu není proto v místnosti přítomen žádný experimentátor.

Tento test se provádí 11. den 180 minut od zahájení snídane, aby se zhodnotil účinek produktů na přínos pro učení v ALSAT přístroji po dobu 20 minut.

#### Zaznamenávané proměnné:

- počet stisknutí aktivní (AL) a neaktivní páčky (IL),
- hladina účinnosti stisknutí  $[(AL/AL + IL) \times 100]$ .

Mann-Whitney test se použije pro porovnání výkonnosti krys ze skupiny pojídající sušenky podle přihlášky a pojídající cereálie. Wilcoxonův test posloužil pro vyhodnocení porovnání rozlišování aktivních stlačení a neaktivních stlačení v každé ze dvou skupin krys.

Data jsou vyjádřena jako střední hodnoty a mezikvartilová rozpětí. Hladina významnosti je stanovena na 5%. Statistická hodnocení byla provedena pomocí softwaru Statview 4.1 (Abacus Concept).

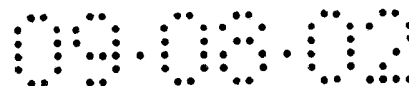
#### Výsledky

##### 1) Účinky produktů na celkový počet stisknutí obou páček

Získané výsledky jsou ukázány v tabulce 5.

**Tabulka 5. Celkový počet stisknutí během testu (střední hodnoty a mezikvartilová rozpětí)**

Produkty	Sušenka (n = 12)	Cereálie (n = 12)
----------	------------------	-------------------



<b>Celkový počet stisknutí</b>		
Medián ( $Q_i - Q_s$ )	38 (32,0 – 42,5)	39 (20,0 – 46)
<b>Mann-Whitney test</b>	U = 69; N.S.	

Mann-Whitney testy neprokázaly signifikantní rozdíly mezi kryсами ze sušenkové a cereální skupiny.

## 2) Účinky produktů na rozlišování mezi aktivní a neaktivní páčkou

Získané výsledky jsou ukázány v tabulce 6.



**Tabulka 6. Rozlišování mezi aktivní a neaktivní páčkou v průběhu testu (střední hodnoty a mezikvartilová rozpětí)**

Čas Produkty	0-5 minut	0-10 minut	0-15 minut	0-20 minut
<b>Sušenka</b> (n = 12)				
AL	4,5 (2-6)	9,5 (5,5-14,5)	16,5 (13,5-20,5)	21,5 (17,5-30,25)
IL	2,5 (2-6)	8,5 (4,5-11)	11,5 (9-15,5)	15 (12,5-19,5)
<b>Wilcoxonův test</b>	z = 1,49; N.S.	z = 1,81; N.S.	z = 2,71; p < 0,01	z = 2,83; p < 0,005
<b>Cereálie</b> (n = 12)				
AL	4,5 (2,5-7)	8,5 (6,5-13,5)	11,5 (10-18)	20 (12-24)
IL	4 (2,5-7)	10 (3,5-13)	11,5 (6,5-17,5)	17 (8,5-23,5)
<b>Wilcoxonův test</b>	Z = 0,09; N.S.	Z = 1,03; N.S.	Z = 1,20; N.S.	Z = 1,61; N.S.

S překvapením je pozorováno, že krysy ze sušenkové skupiny signifikantně rozlišují mezi aktivní a neaktivní páčkou v 15. a 20. minutě testu.

Na druhou stranu krysy z cereální skupiny nerozlišují během testu mezi páčkami.

### 3) Účinky produktů na hladinu účinnosti stisknutí aktivní páčky

Výsledky jsou ukázány v tabulce 7.

**Tabulka 7. Hladina účinnosti stisknutí během testu (AL/AL + IL) x 100 (střední hodnoty a mezikvartilová rozpětí)**

Produkty	0-10 minut	0-20 minut
<b>Sušenka</b> (n = 12)	61,4 (48,2 – 63,4)	62,4 (57,9 – 64,5)
<b>Cereálie</b> (n = 12)	56,3 (45,1 – 64,2)	56,1 (52,5 – 59,6)
<b>Mann-Whitney test</b>	U = 58,5; N.S.	U = 39; p < 0,06



Hladina účinnosti stisknutí není signifikantně rozdílná mezi krysami ze sušenkové a cereální skupiny mezi 0. a 10. minutou testu.

Na druhou stranu je překvapivě pozorováno, že během celého testu měly krysy sušenkové skupiny tendence být jednotlivě účinnější než krysy z cereální skupiny.

#### Závěr

Při aversive light stimulus avoidance conditioning testu se počet celkových stisknutí aktivní a neaktivní páčky signifikantně neliší mezi krysami z cereální a sušenkové skupiny.

Avšak krysy ze sušenkové skupiny signifikantně rozlišovaly mezi aktivní a neaktivní páčkou při 15 a 20 minutách testu, zatímco krysy z cereální skupiny v těchto časech testu nic nevykazovaly.

Rozdíly pozorované mezi krysami ze sušenkové a cereální skupiny by měly být důsledkem kvality karbohydrátů obsažených v jejich snídaních. Ve skutečnosti tyto dva druhy snídaní mají stejný glykemický index a nízký obsah tuku, ale liší se v obsahu pomalu stravitelného škrobu. Proto by mohly blahodárné účinky pozorované díky konzumaci snídaně složené ze sušenek podle přihlášky, tedy dobrá výkonnost při učení, vyplývat z lepší biologické a psychologické rovnováhy.

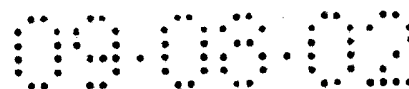
#### **Příklad 3: Porovnání efektu dvou cereálních produktů na přínos pro učení s následným testem fyzického vyčerpání**

Použije se dvacet čtyři samců Wistar krys s hmotností 360 až 450 g. Krysy se označí a rozdělí se do skupin po čtyřech do klecí. Zvířata jsou držena v klimatizovaném zvěřinci při teplotě 22 až 24°C s dvanáctihodinovým cyklem světlo-tma.

Testované produkty jsou sušenky podle přihlášky a komerční cereálie hotové k jídlu.

Nutriční složení obou produktů je relativně shodné, jak je ukázáno v následující tabulce

8.



**Tabulka 8. Nutriční složení dvou typů snídaně**

Produkt	Sušenka	Cereálie
Karbohydráty (g/100 g)	63,5	71,5
Lipidy (g/100 g)	17,7	14,2
Proteiny (g/100 g)	6,5	6,9
Energetický obsah (Kcal/100 g)	439,3	441,4

Obsahy Mg a vitamínu C, živin, které se mohou podílet na tonusu u živočichů, jsou také srovnatelné.

Tyto dvě cereální potraviny se vyrábějí z obdobných složek (mouka, cukr, tuk a podobné) v obdobných poměrech.

Biodostupnost škrobu v obou potravinách byla měřena Englystovou metodou. Výsledky těchto měření jsou ukázány v tabulce 3 u příkladu 1.

Po jednotýdenním zvykání si na laboratorní podmínky byly klece s krysami náhodně rozděleny na dvě skupiny: sušenková a cereální (n = 24 krysy na skupinu), tedy šest klecí na skupinu.

Během následujících 4 dní po období zvykání si se malá množství testovaných produktů nasypou do krmítek, aby došlo k familiarizaci jednotlivých skupin krysy na novou potravu.

Oba produkty jsou předkládány krysám každý druhý den během snídaně po dobu 10 dnů alternativně se stejnými kalorickými porcemi založenými na suché potravě. Porce se připraví a rozdělí zvířatům tak, že mají stejnou kalorickou hodnotu a stejné množství karbohydrátů pro obě skupiny krysy požívající sušenky nebo cereálie. Snídaně trvá 30 minut a představuje 20% denního zkonsumovaného množství potravy (krysa zkonsumuje denně v průměru 21 Kcal/100 g tělesné hmotnosti). Po snídání jsou zvířata podrobena půstu 150 minut a poté jim je dán zbytek jídla ve formě suché potravy po zbytek dne (rytmus snídaně).

**Fyzické vyčerpání krysy nuceným plaváním:**

V den testu D10 40 minut před ukončením půstního období se 12 krysy z každé skupiny podrobí fyzickému vyčerpání nuceným plaváním. Krysy z každé klece se přemístí do čtyř bazénů (průměr 30 cm, výška 36 cm) naplněných vodou do výše 22 cm. Po 10 minutách nuceného plavání se krysy vezmou z bazénu, pečlivě se osuší a vrátí se zpět do jejich klecí a po 30 minutách se podrobí aversive light stimulus avoidance conditioning testu.

**Aversive light stimulus avoidance conditioning test:**



Experimentální zařízení je stejné jako použité v příkladech 1 a 2.

Tento test se provádí 10. den 180 minut po začátku snídani, aby se zhodnotil účinek produktů a vyčerpání na přínos pro učení při aversive light stimulus avoidance conditioning testu po dobu 20 minut.

Zaznamenávané proměnné:

Počet stisknutí aktivní a neaktivní páčky

Statistické analýzy:

Jednofaktorová analýza variance se použije pro prokázání možné heterogenity při manipulační aktivitě s páčkami u krys z různých skupin. Kde je to vhodné, použije se následně nepárový t-test pro srovnání skupin krys v párech. Párový t-test se použije pro srovnání stlačení aktivní páčky a stlačení neaktivní páčky krysami z každé skupiny (studie rozlišování). Statistická hodnocení se provádějí pomocí softwaru Statview 4.1 (Abacus Concept).

Výsledky

1) Účinek produktů na celkový počet stlačení obou páček

Výsledky jsou uspořádány v tabulce 9.

**Tabulka 9. Účinky produktů na celkový počet stlačení (střední hodnoty  $\pm$  SEM)**

SKUPINA	Sušenka (n = 12)	Cereálie (n = 12)
<b><u>SKUPINA 1</u></b> (bez fyzického vyčerpání)	23,33 $\pm$ 5,40	15,25 $\pm$ 2,28
<b><u>SKUPINA 2</u></b> (s fyzickým vyčerpáním)	14,58 $\pm$ 2,61	13,92 $\pm$ 2,90

ANOVA neprokázalo heterogenitu v celkovém počtu stlačení mezi krysami ze sušenkové a cereální skupiny s nebo bez fyzického vyčerpání.

2) Účinek produktů na rozlišování mezi aktivní a neaktivní páčkou

Pro začlenění funkce každé z páček musely krysy zmáčknout aktivní páčku a neaktivní páčku. Aby bylo možné správně odhadnout rozlišování mezi aktivní a neaktivní páčkou, byly krysy, které jednu z obou páček nezmáčkly, vyřazeny ze studie.



a) Rozlišování mezi páčkami během prvních 10 minut testu

Výsledky jsou uspořádány v tabulkách 10 a 11.

**Tabulka 10. Účinky produktů na rozlišování mezi páčkami během prvních 10 minut testu bez fyzického vyčerpání (střední hodnoty  $\pm$  SEM)**

SKUPINA	PÁČKA	Sušenka (n = 10)	Cereálie (n = 10)
Bez fyzického vyčerpání	AL	7,90 $\pm$ 1,97	6,00 $\pm$ 0,70
	IL	5,20 $\pm$ 1,25	4,50 $\pm$ 0,58
Párový t-test (AL vs IL)		t=2,49; p<0,05	t=1,50; N.S.

**Tabulka 11. Účinky produktů na rozlišování mezi páčkami během prvních 10 minut testu s fyzickým vyčerpáním (střední hodnoty  $\pm$  SEM)**

SKUPINA	PÁČKA	Sušenka (n = 10)	Cereálie (n = 9)
S fyzickým vyčerpáním	AL	4,90 $\pm$ 1,06	4,00 $\pm$ 0,70
	IL	4,20 $\pm$ 0,89	4,67 $\pm$ 0,81
Párový t-test (AL vs IL)		t=0,86; N.S.	t=1,21; N.S.

Během prvních 10 minut učení pouze krysy ze sušenkové skupiny, které nebyly vystaveny fyzickému vyčerpání, signifikantně rozlišovaly mezi oběma páčkami.

b) Rozlišování mezi páčkami během 20 minut testu

Výsledky jsou uspořádány v tabulkách 12 a 13.



**Tabulka 12. Účinky produktů na rozlišování mezi páčkami během 20 minut testu bez fyzického vyčerpání (střední hodnoty  $\pm$  SEM)**

SKUPINA	PÁČKA	Sušenka (n = 11)	Cereálie (n = 11)
Bez fyzického vyčerpání	AL	16,73 $\pm$ 4,09	9,27 $\pm$ 1,48
	IL	8,64 $\pm$ 1,76	7,36 $\pm$ 0,86
Párový t-test (AL vs IL)		t=2,62; p<0,05	t=1,38; N.S.

**Tabulka 13. Účinky produktů na rozlišování mezi páčkami během 20 minut testu s fyzickým vyčerpáním (střední hodnoty  $\pm$  SEM)**

SKUPINA	PÁČKA	Sušenka (n = 10)	Cereálie (n = 11)
S fyzickým vyčerpáním	AL	10,30 $\pm$ 1,46	7,64 $\pm$ 1,74
	IL	7,10 $\pm$ 0,95	7,18 $\pm$ 1,39
Párový t-test (AL vs IL)		t=2,71; p<0,05	t=0,51; N.S.

Překvapivě je pozorováno, že během 20 minut učení krysy ze sušenkové skupiny s nebo bez fyzického vyčerpání signifikantně rozlišují mezi oběma páčkami. Tak tomu není v případě krysy z cereální skupiny.

#### Závěr

Celková stiskávací aktivita při Aversive Light Stimulus Avoidance Conditioning testu je statisticky stejná mezi krysami ze sušenkové a cereální skupiny, ať již byly podrobeny testu fyzického vyčerpání v podobě nuceného plavání nebo i jinak.

Krysy ze sušenkové skupiny, které nebyly vystaveny fyzickému vyčerpání, vykazují dobrou výkonnost při učení na konci prvních 10 minut testu. Ty ze sušenkové skupiny, které se podrobily testu fyzického vyčerpání, a ty z obou cereálních skupin testovaných při stejných podmínkách nerozlišovaly mezi oběma páčkami.

Na konci 20 minut testu vykazovaly krysy ze sušenkové skupiny dobrou výkonnost při aversive light stimulus avoidance conditioning testu dokonce i po testu fyzického vyčerpání, zatímco ty z cereálních skupin vykazovaly učební nedostatečnost (s nebo bez fyzického vyčerpání).

Má se za to, že snížení schopnosti rozlišovat mezi páčkami u kryš ze sušenkové skupiny, které byly vystaveny fyzickému vyčerpání, je spojeno s intenzitou testu nuceného plavání, který by vyčerpal část jejich dostupné energie.

Rozdíly pozorované mezi kryšami ze sušenkové a cereální skupiny mohou být připsány pouze kvalitě karbohydrátů obsažených v jejich jednotlivých snídaních. Ve skutečnosti kryšy ze sušenkové skupiny, které během snídaně konzumovaly pomaleji stravitelný škrob a pomalu dostupnou glukózu, mají dostatečné energetické rezervy, aby vydržely nucený půst a test fyzického vyčerpání a k tomu získali dobrou výkonnost při učení v Aversive Light Stimulus Avoidance Conditioning testu.

### Příklady cereálních produktů, které mohou být použity podle vynálezu

Následující příklady sušenek jsou uvedeny v tabulce níže jako ukázky bez omezení.

Verze	LU Petit Déjeuner® Honey Chocolate		Prince petit déjeuner®		LU Petit Déjeuner® Chocolate	
	g/100 g sušiny	% celkové energie	g/100 g sušiny	% celkové energie	g/100 g sušiny	% celkové energie
<b>Proteiny</b>	7	6	6,5	6	7	6
<b>Lipidy</b>	17	34	18	35	17	34
<b>Vláknina</b>	4		4,5		6	
<b>Karbohydráty</b>	68	60	68	59	66	60
<b>Cukry</b>	31		27,8		31	
<b>Škrob</b>	37		40,2		35	
<b>Vitamíny (B1, B2, PP, B6, B9, B12, B5)</b>	25% RDI		30% RDI		25% RDI	
<b>Vápník</b>	25% RDI		30% RDI		25% RDI	
<b>Železo</b>	25% RDI		30% RDI		25% RDI	
<b>Hořčík</b>	15% RDI				15% RDI	
<b>Energie</b>	454		460		445	

Následující složení sladkých sušenek, které mohou být použity podle vynálezu, jsou uvedeny jako ukázky bez omezení.

Složení v % hmotnosti vzhledem k těstu	Formující technologie		
	Válcování	Rotační	Řezání strunou
<b>Mouka</b>	52 až 64	40 až 63	28 až 40
<b>Cukr</b>	13 až 22	12 až 33	14 až 22
<b>Glukózový sirup</b>	0 až 4	0 až 4	0 až 2
<b>Sůl</b>	0,2 až 1	0,2 až 1	0,2 až 0,6
<b>Tuk</b>	3 až 16	5 až 22	14 až 20
<b>Voda</b>	10 až 20	1 až 8	3 až 6
<b>Kypřicí látka</b>	0,1 až 2	0 až 0,6	0,9 až 1,5
<b>Emulgátor</b>	1,5 až 4	0 až 2	0 až 0,5
<b>Deriváty sušeného mléka</b>	0 až 2	0 až 2	0 až 2
<b>Sušená vejce</b>	0 až 2	0 až 2	2 až 4
<b>Náplně (čokoláda, nugát, ovoce)</b>		0 až 15	10 až 20
<b>Kakaový prášek</b>	0 až 8	0 až 8	0 až 30
<b>Recyklované mleté sušenky</b>	0 až 5	0 až 10	0 až 5

Následující složení sucharů, které mohou být použity podle vynálezu, jsou uvedeny jako ukázky bez omezení.

<b>V % hmotnosti vzhledem k těstu</b>	<b>Enzymatické nebo chemické suchary</b>	<b>Kynuté suchary</b>
<b>Mouka</b>	50 až 0	65 až 75
<b>Cukr</b>	0 až 10	0 až 0,2
<b>Glukózový sirup</b>	0 až 5	0 až 2
<b>Sůl</b>	0,1 až 2	0,5 až 2
<b>Tuk</b>	5 až 15	5 až 12
<b>Voda</b>	10 až 20	13 až 20
<b>Kypřicí látka nebo enzym</b>	0,5 až 2	0,1 až 0,2
<b>Biologické droždí</b>	0	0 až 0,5
<b>Deriváty sušeného mléka</b>	0 až 4	0 až 5
<b>Slad</b>	0 až 5	0 až 8
<b>Mleté sušenky</b>	0 až 5	0 až 5

Tato sucharová těsta se potom upečou a popráší tukem a ochucovacími látkami (0 až 20%).

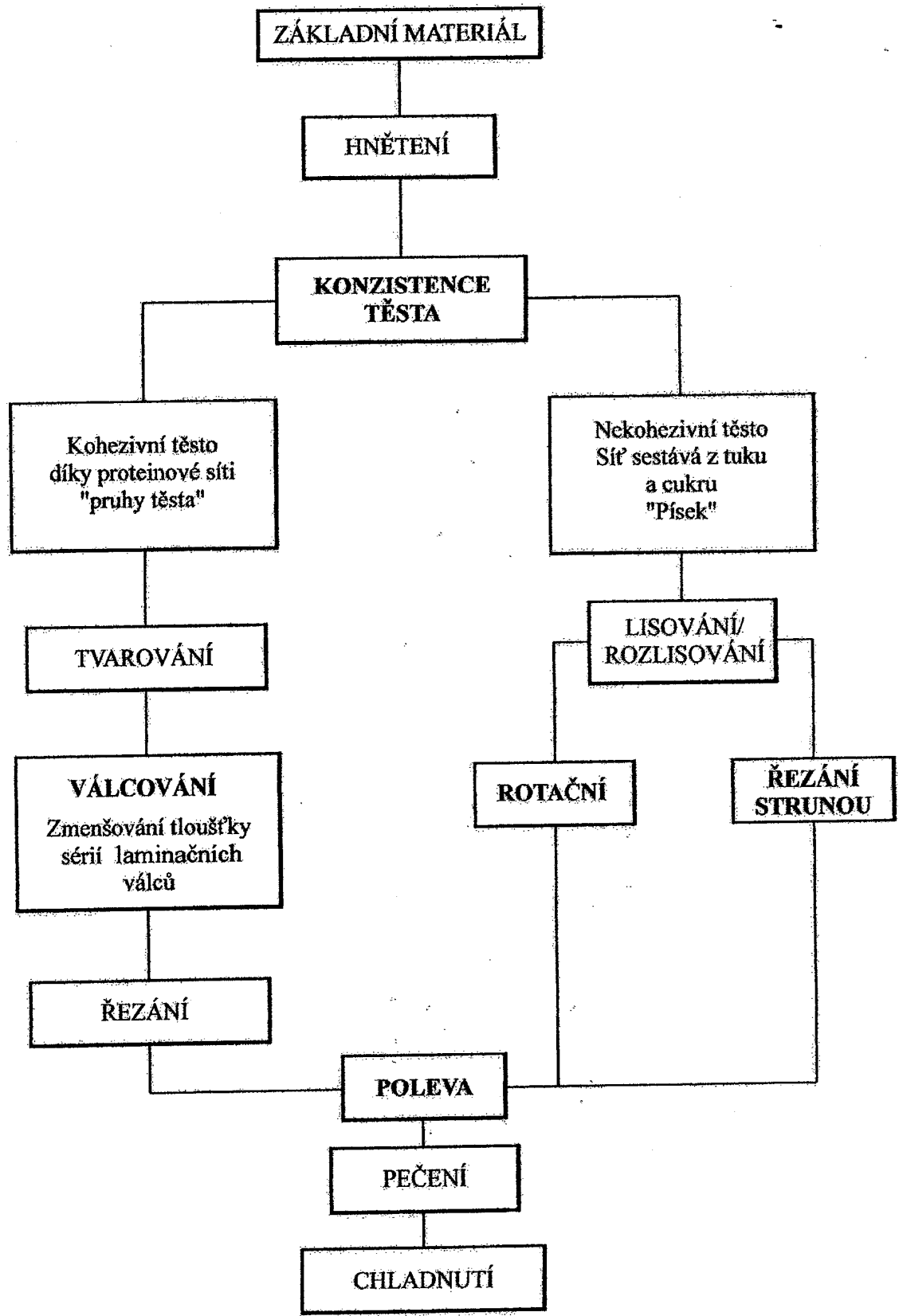
#### Průmyslová využitelnost

Cereální produkty, zvláště sušenky nebo suchary připravené způsobem podle vynálezu jsou použitelné pro zlepšení duševního stavu pohody a/nebo kognitivní výkonnosti, zvláště pamatování, pozornosti, koncentrace a/nebo bdělosti u osoby, zvláště u dítěte a mladistvého.

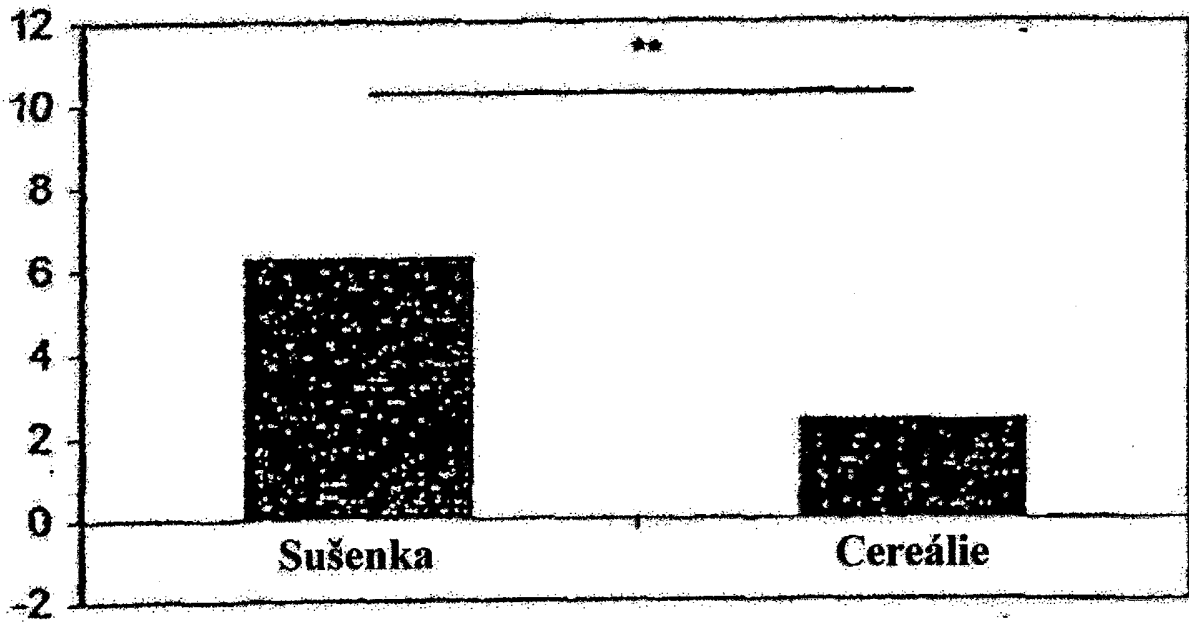
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití cereálního produktu s obsahem pomalu stravitelného škrobu vzhledem k celkovému obsahu škrobu větším než 12 % hmotnosti, s výhodou větším než 20 %, vyznačující se tím, že zlepšuje zapamatování, pozornost, koncentraci, bdělost a/nebo duševní stav pohody u osoby a zvláště u dítěte a dospívajícího.
2. Použití podle nároku 1, vyznačující se tím, že obsah pomalu dostupné glukózy vzhledem k celkovému obsahu karbohydrátů cereálního produktu je větší než 10 % a s výhodou větší než 15 %.
3. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 nebo 2, vyznačující se tím, že obsah cukru v cereálním produktu je od 2 do 40 g na 100 g sušiny.
4. Použití podle nároku 3, vyznačující se tím, že cukr je monosacharid a/nebo disacharid, s výhodou glukóza, sacharóza, fruktóza a/nebo maltóza.
5. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 až 4, vyznačující se tím, že obsah lipidů v cereálním produktu je od 3 do 25 g na 100 g sušiny, s výhodou od 10 do 20 g na 100 g sušiny.
6. Použití podle nároku 5, vyznačující se tím, že obsah lipidů v cereálním produktu je od 14 do 20 g na 100 g sušiny.
7. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 až 6, vyznačující se tím, že obsah škrobu v cereálním produktu je od 30 do 70 g na 100 g sušiny, s výhodou od 34 do 60 g na 100 g.
8. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 až 7, vyznačující se tím, že obsah proteinů v cereálním produktu je od 5 do 11 g na 100 g sušiny.
9. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 až 8, vyznačující se tím, že obsah karbohydrátů v cereálním produktu je od 60 do 90 g na 100 g sušiny.

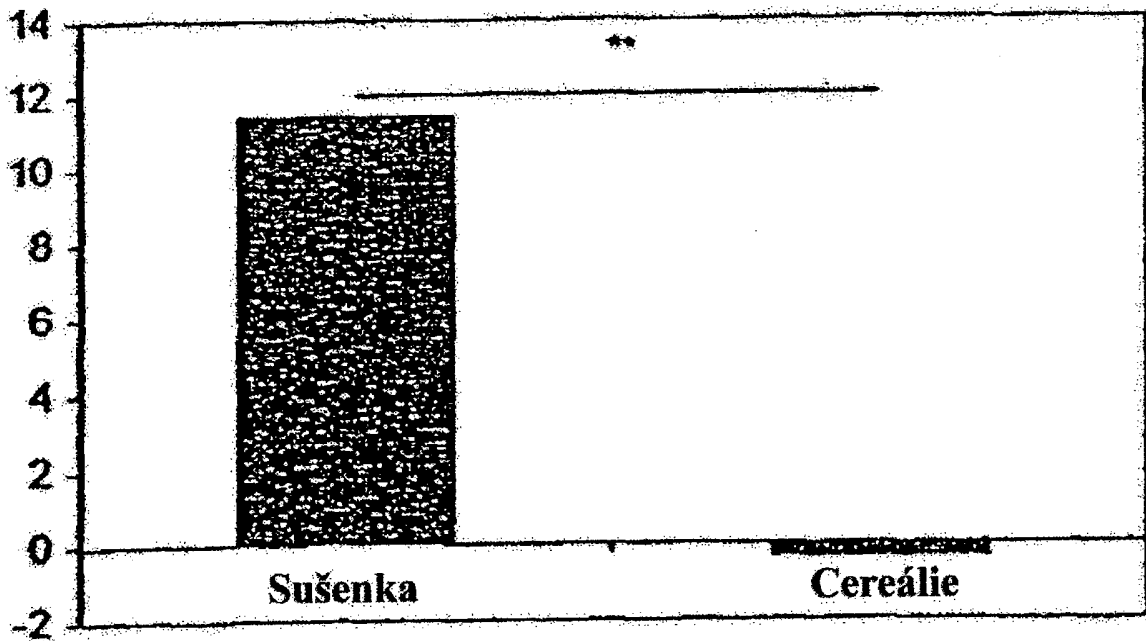
10. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 až 9, vyznačující se tím, že cereální produkt je konzumován k snídani.
11. Použití podle kteréhokoliv předcházejícího nároku 1 až 10, vyznačující se tím, že cereální produkt je typu sušenka nebo suchar.



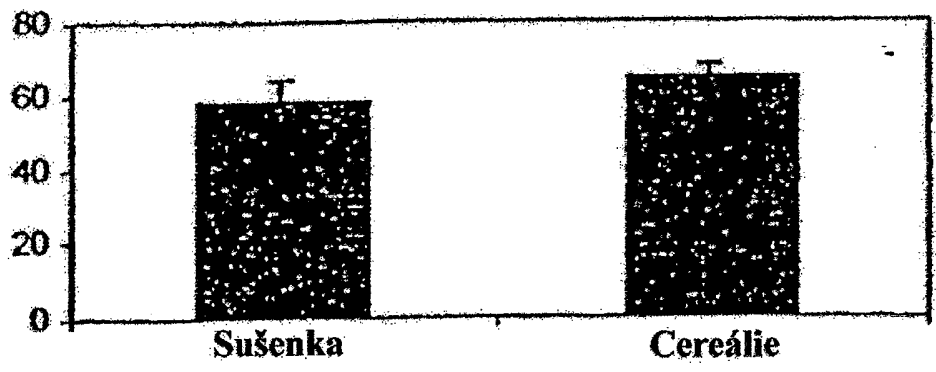
Obr. 1



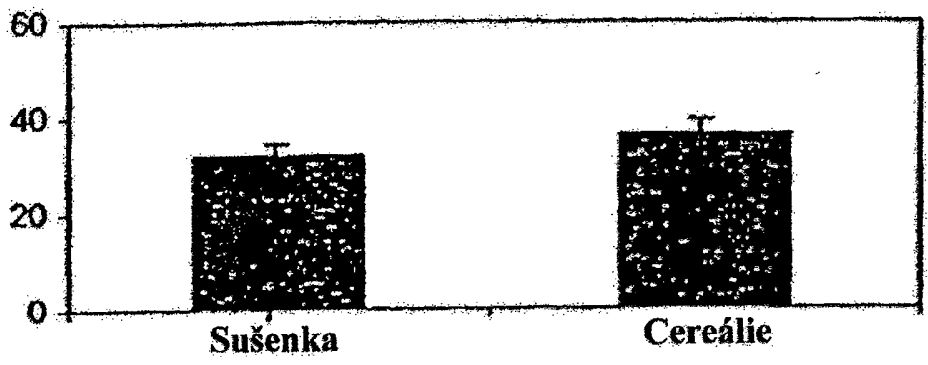
Obr. 2



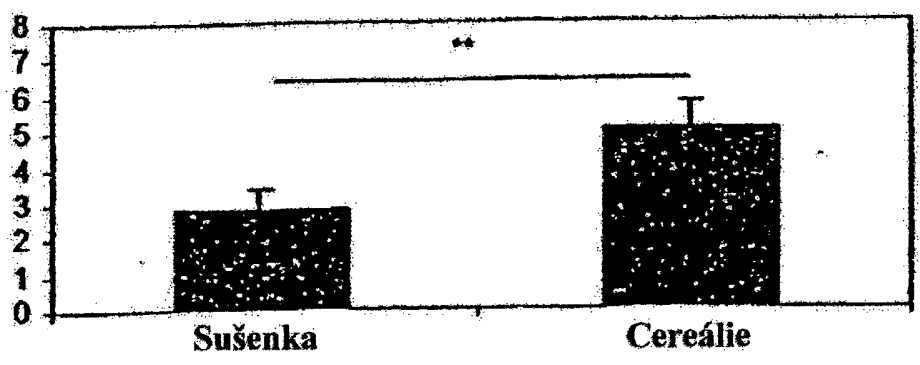
Obr. 3



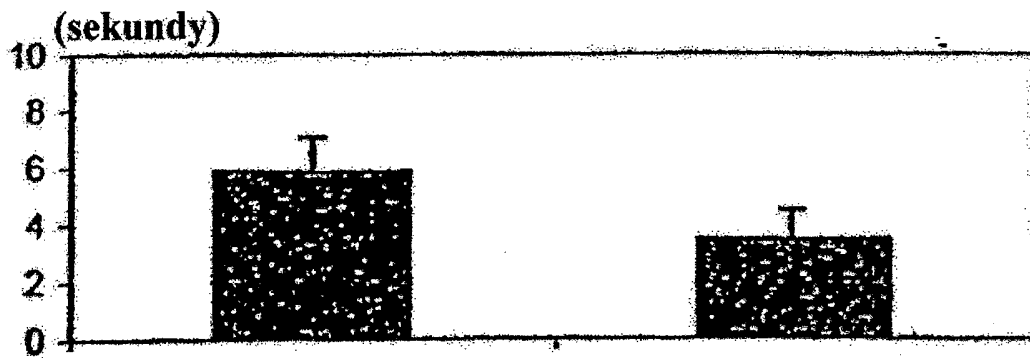
Obr. 4



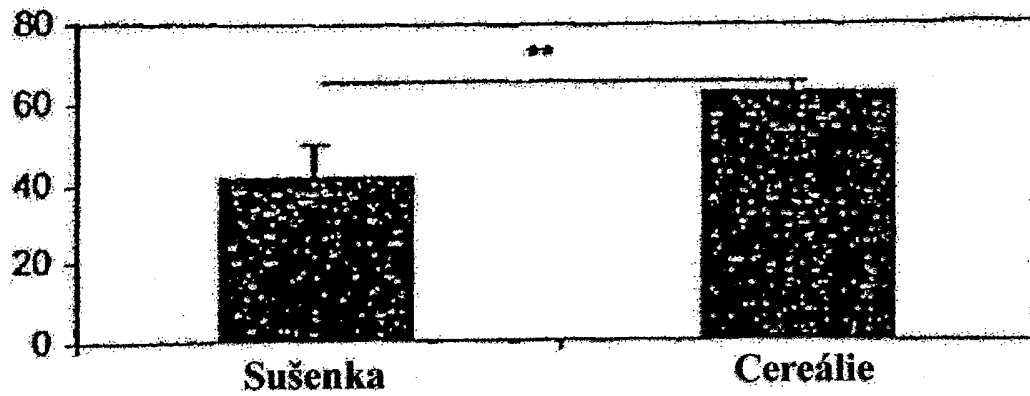
Obr. 5



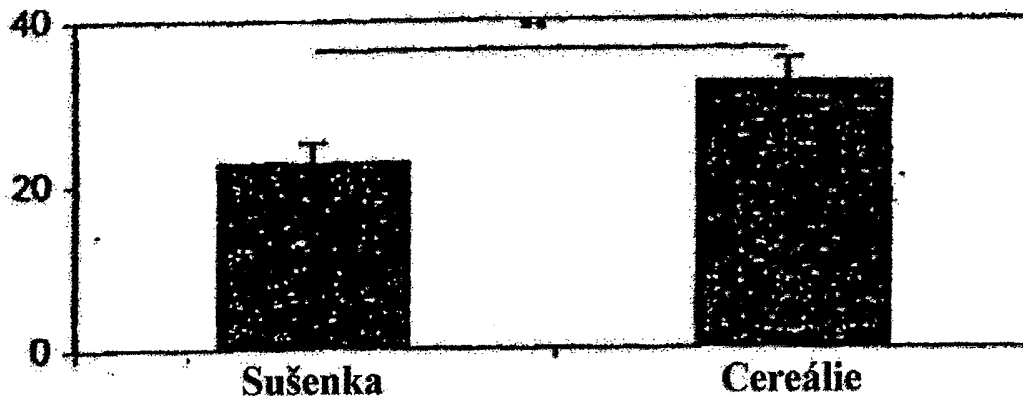
Obr. 6



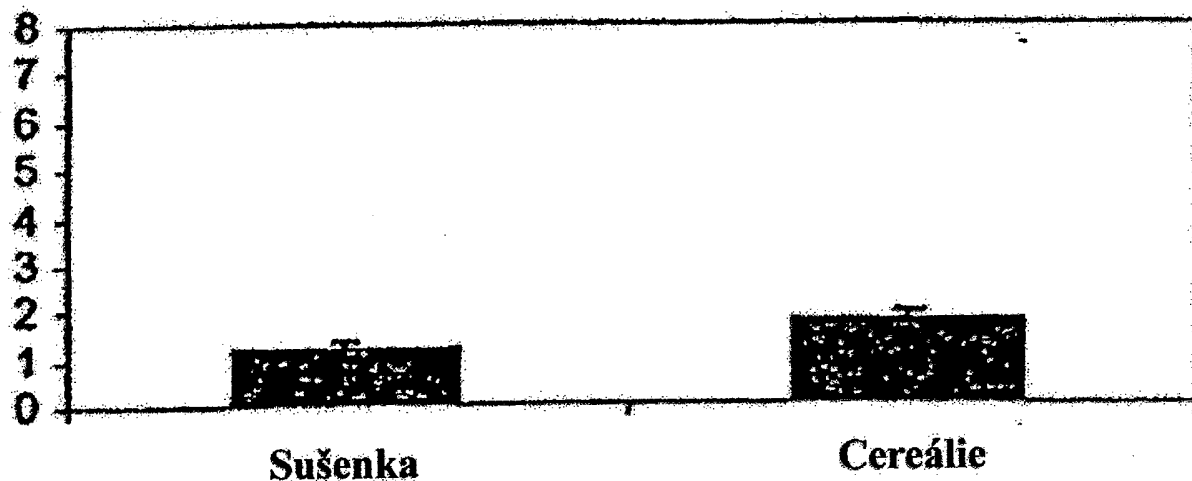
Obr. 7



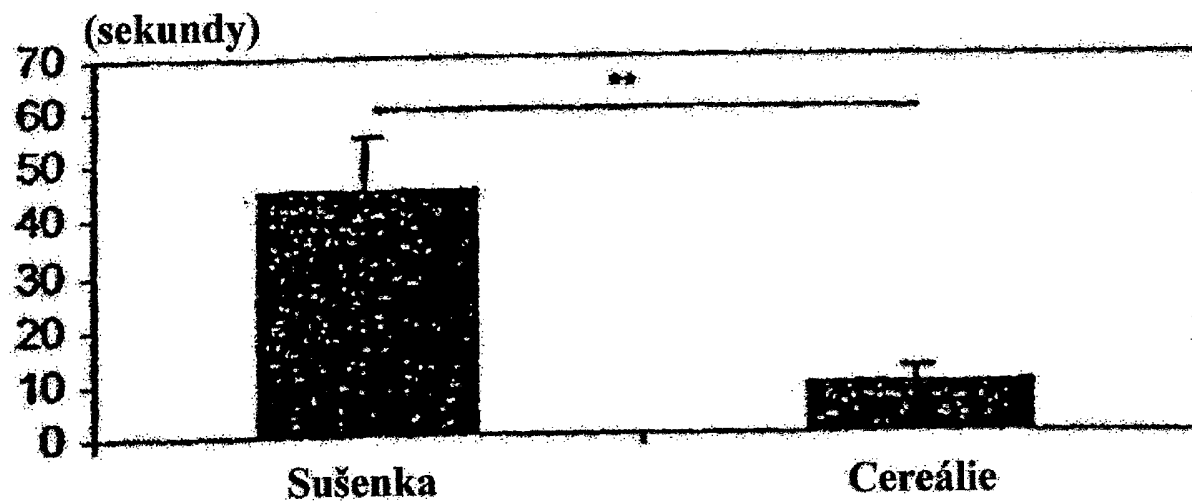
Obr. 8



Obr. 9



Obr. 10



Obr. 11