



(12) **PATENT**

(19) **NO**

(11) **334366**

(13) **B1**

NORGE

(51) **Int Cl.**

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 1/305 (2006.01)

A23J 3/34 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20074863	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2006.03.17 PCT/US2006/10048
(22)	Inng.dag	2007.09.25	(85)	Videreføringsdag	2007.09.25
(24)	Løpedag	2006.03.17	(30)	Prioritet	2005.06.01, US, 11/142,544
(41)	Alm.tilgj	2007.12.06			
(45)	Meddelt	2014.02.17			
(73)	Innehaver	M.JN U.S. Holdings LLC, 2701 Patriot Boulevard, 4th Floor, US-IL60026 GLENVIEW, USA Nagendra Rangavajla, c/o Bristol-Myers Squibb Co-Mead Johnson, 2400 W. Lloyd Expressway, US-IN47721-0001 EVANSVILLE, USA Win-Chin Chiang, 2400 W Lloyd Expressway, US-IN47721-0001 EVANSVILLE, USA Khaled A Khatib, 2400 W Lloyd Expressway, US-IN47721-0001 EVANSVILLE, USA David A Wynsen, 414 Long Trail, US-OH43061 OSTRANDER, USA Gabor Puski, 5666 Woodlawn Drive, US-IN47630 NEWBURGH, USA Jon Vanderhoof, 2400 W Lloyd Expressway, US-IN47721-0001 EVANSVILLE, USA Robert A Burns, 31 Aynsley Court, US-NJ07045 MONTVILLE, USA			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge			

(54)	Benevnelse	Delvis hydrolysert spedbarnsmat med lavt laktoseinnhold
(56)	Anførte publikasjoner	US 5405637 A WO 93/04593 A1 US 2003/165606 A1
(57)	Sammendrag	

Delvis hydrolysert spedbarnsmat med lavt laktoseinnhold. Karbohydratkomponenten i spedbarnsmaten omfatter mellom 0 og 60 % laktose, og proteinkomponenten i spedbarnsblandingen omfatter delvis hydrolysert myseprotein og kasein, idet proteinkomponenten har en spesiell molekylvekt.

[0001] Foreliggende oppfinnelse vedrører delvis hydrolysert spedbarnsmat med lavt laktoseinnhold.

[0002] Matallergi er en immunologisk mediert klinisk syndrom som utvikles etter inntak av et diettprodukt. Den uheldige reaksjon som ledsager en matallergi er ofte en umiddelbar immunoglobulin E (IgE) mediert reaksjon, ellers kjent som matproteinallergi. Host, A., *et al.*, *Dietary Products Used in Infants for Treatment and Prevention of Food Allergy*, Arch. Dis. Child 81:80-84 (1999). Symptomer på matproteinallergi inkluderer angioødem, urticaria (elveblest), eksem, astma, rinitt, konjunktivitt (øyekatar), oppkast eller anaphylaxi.

[0003] Kumelkallergi er den vanligste matproteinallergi hos små barn og inntreffer hos ca. 2% - 3% av alle spedbarn. Sampson, H.A., *Food Allergy. Part 1: Immunopathogenesis and Clinical Disorders*, J Allergi Clin Immunol. 103:717-728 (1999). Én mulig forklaring for den overveiende grad av kumelkallergi blant spedbarn er at intakt kumelkprotein, som finnes i de fleste konvensjonelle matprodukter for spedbarn, er det tidligste og vanligste mat-allergen som spedbarn eksponeres for. Dessuten kan spedbarn være spesielt mottagelige for kumelkallergi fordi deres tarmslimhinne har større permeabilitet for ufullstendig fordøyde makromolekyler enn hos voksne. Moran R., *Effects of Prolonged Exposure to Partially Hydrolyzed Milk Protein*, J. Pediatr. 121:S90-S4 (1992).

[0004] Selv om det ikke er noen kjent behandling som fullstendig kan helbrede kumelkallergi, kan det være mulig å forhindre eller minske kumelk- og andre allergier hos spedbarn ved fortæring av hydrolyserte proteinblandinger. Det er vist at fortæring av spedbarnsmat med delvis og i stor grad hydrolyserte proteiner istedenfor konvensjonelle blandinger som bare har intakte proteiner, kan redusere risikoen for fremtidige allergier hos spedbarn. *Id.* Hvis derfor et spedbarn har en familiehistorie med allergi, kan fortæring av hydrolyserte proteinblandinger redusere risikoen hos det barn til å utvikle allergi i fremtiden.

[0005] Hydrolysert protein-blandinger kan karakteriseres som uttømmende hydrolysert eller delvis hydrolysert. Uttømmende hydrolyserte proteinholdige spedbarnblandinger (EHF) er basert på kumelk, men proteinene er behandlet med enzymer for nedbrytning av mesteparten av proteinene som forårsaker allergi-relaterte symptomer. Ett eksempel på en kommersielt-tilgjengelig EHF er

Enfamil® Nutramigen®. Det er en kasein-basert hypoallergen spedbarnblanding for terminspedbarn som er ømfintlige overfor intakte proteiner i kumelk og soyablandinger. Delvis hydrolyserte proteinholdige spedbarnblandinger (PHF) er på den annen side, blitt behandlet med enzymer for nedbrytning av bare noen av melkeproteinene.

[0006] Ideelt sett bør enhver spedbarnblanding, inklusive PHF, simulere menneskemelk så nært som mulig. I menneskemelk, er det to hovedproteiner, myseprotein og kasein. Myseprotein er typisk sammensatt av ca. 60% av proteinet i menneskemelk, mens kasein typisk har ca. 40%. Lonnerdal, B., *Biochemistry and Physiological Functions of Human Milk Proteins*, Am. J. Clin. Nutr. 42:1299-1317 (1985).

[0007] I tillegg til å simulere proteininnholdet i menneskemelk bør en PHF ikke forårsake eller forverre vanskelighetene med karbohydratabsorpsjon.

Hovedkarbohydratet i kumelk-basert spedbarnblanding er laktose. Laktose er et disakkarid av glukose og galaktose, og enzymet laktase kreves for at kroppen skal fordøye laktose. Hvis laktase, som er lokalisert på overflatemembranen i epitelceller i tarmen, ikke er til stede i tilstrekkelige mengder, kan kroppen være ute av stand til fullstendig å fordøye laktose. Dette forhold, som er vanlig kjent som laktose-intoleranse, kan føre til slike symptomer som oppsvulming av underlivet, gass, kramper og diaré.

[0008] Én måte å unngå de uønskede bivirkninger av laktoseintoleranse hos spedbarn er å tilveiebringe en spedbarnmatblanding med lavt laktoseinnhold for ernæringsmessig supplering eller erstatning av menneskemelk. En spedbarnblanding med lavt laktoseinnhold har typisk en liten prosent av karbohydrater som omfatter laktose. Det gjenværende karbohydratinnhold stammer fra en annen kilde, for eksempel maissirupfaststoffer.

[0009] Diverse spedbarnblandinger er beskrevet, men ingen tilveiebringer de kombinerte fordeler ved foreliggende oppfinnelse. For eksempel vedrører U.S. Patent nr. 5.405.637 et melkeprotein-partialhydrolysat og en spedbarnblanding som inneholder dette. Patentet beskriver imidlertid ikke en spedbarnblanding med et laktoseinnhold mellom ca. 0% og 60%. Dessuten, selv om referansen beskriver en hydrolysegrad mellom ca. 6 og 9%, så beskrives ikke proteinhydrolysatet i henhold til det nevnte patent å ha den molekylvekt for proteinhydrolysatet som

foreliggende oppfinnelse anvender.

[00010] U.S. Patent nr. 6.777.931 vedrører en spedbarnblanding som har et lavt treonininnhold. Selv om referansen diskuterer anvendelse av myseprotein og kasein, er det myseprotein som anvendes modifisert slik at kaseino-glyo-
makropeptidet (cGMP) er blitt fjernet. Dessuten beskriver referansen ikke en
spedbarnblanding som har et partialhydrolysat med den spesielle molekylvektprofil
som i foreliggende oppfinnelse.

[00011] U.S. Patent nr. 6.162.472 vedrører en spedbarnblanding som er
sammensatt av kasein og myseprotein og som har et laktoseinnhold på mindre
enn 20%, men beskriver ikke en partialhydrolysatblanding.

[00012] U.S. Patent nr. 6.171.621, U.S. Patent nr. 6.863.918 og U.S. Patent nr.
6.194.009 vedrører alle forskjellige spedbarnblandinger og næringsprodukter som
er basert på proteinhydrolysater. Videre beskriver WO 93/04593 en
fremgangsmåte for fremstilling av et hypoallergent myseproteinhydrolysat og US
2003/0165606 beskriver spebarnsmat som har en redusert laktosemengde.
Referansene beskriver imidlertid ikke et supplement eller en blanding som har et
myseprotein:kasein-forhold på mellom ca. 50:50 og 70:30. Dessuten beskriver
partialhydrolysaten i henhold til de forskjellige patenter ikke hydrolysater med den
molekylvekt som anvendes i henhold til foreliggende oppfinnelse.

[00013] Kort sagt er foreliggende oppfinnelse rettet mot en spedbarnblanding
kjennetegnet ved at den omfatter en karbohydratkomponent som er sammensatt
av mellom ca. 0% og 60% laktose, hvor prosentene er basert på den samlede vekt
av karbohydratene som er til stede i blandingen; og en proteinkomponent av delvis
hydrolysert myseprotein og kasein, hvor forholdet mellom myseprotein og kasein
er mellom ca. 50:50 og 70:30, og hvor proteinhydrolysatet har peptidene spredt
over området for molekylvektfordeling, som en funksjon av sin molare masse, slik
det er vist i Tabell 1.

Tabell 1

Molar masse (i dalton)	% Molekylvektfordeling
< 500	11-20
500-1000	25-38
1000-2000	27-30
2000-3000	8-16

3000-5000	3-10
> 5000	2-11

[00014] Blant de flere fordeler som har vist seg å bli oppnådd i og med foreliggende oppfinnelse, har melkeprotein-partialhydrolysatet en proteinsammensetning lik den man finner i melk fra mennesker, en forbedret smak, samt forbedrete emulgeringsegenskaper. Dessuten induserer foreliggende oppfinnelse en mindre primingeffekt for IgG-antistoffrespons enn intakt kumelk gjør. Derfor kan foreliggende oppfinnelse ha et redusert immunogenisk potensiale.

[00015] Det skal nå refereres i detalj til utførelsesformene av oppfinnelsen, idet ett eller flere eksempler er vist nedenunder. Hvert eksempel gis som forklaring på oppfinnelsen.

[00016] Det er således hensikten at foreliggende oppfinnelse dekker slike modifikasjoner og variasjoner som faller inn under omfanget av de medfølgende krav og deres ekvivalenter.

Definisjoner

[00017] Brukt her betyr uttrykket "lavt laktoseinnhold" et laktoseinnhold på mindre enn 100%, inklusive 0% laktose.

[00018] Uttrykkene "hydrolysegrad" betyr hvor sterkt peptidbindingene er brutt ved en enzymatisk hydrolysereaksjon. Målingen viser antall spesifikke peptidbindinger som er brutt i hydrolyse som prosent av totalt antall spesifikke peptidbindinger som er til stede i det intakte protein.

[00019] Betegnelsen "probiotisk" betyr en mikroorganisme som utøver velgjørende effekter på helsen til verten.

[00020] Brukt her betyr betegnelsen "prebiotisk" en ikke-fordøyelig matingrediens som fordelaktig påvirker verten ved selektivt å stimulere veksten og/eller aktiviteten til én eller et begrenset antall bakterier i colon som kan forbedre helsen til verten.

[00021] Betegnelsen "individ" betyr ethvert pattedyr, fortrinnsvis et menneske.

[00022] Brukt her betyr uttrykket "spedbarn" et menneske som er under ca. ett år gammelt.

[00023] Brukt her betyr betegnelsen "spedbarnblanding" et produkt som tilfredsstiller ernæringskravene til et spedbarn ved å være en substitutt for

menneskemelk. I USA er innholdet i en spedbarnblanding diktert av de føderale lover eller vedtekter angitt i 21 C.F.R. Sections 100, 106 og 107. Disse bestemmelser definerer makronæringsmiddel-, vitamin-, mineral- og andre ingrediensnivåer i et forsøk på å stimulere de næringsmessige og andre egenskaper i morsmelk.

[00024] I overensstemmelse med oppfinnelsen er det oppdaget en ny spedbarnblanding. Spedbarnblandingen har lavt laktoseinnhold og omfatter en blanding av delvis hydrolysert kasein og myseprotein. Proteinpartialhydrolysatet i spedbarnblandingen har en spesifikk og unik molekylvektfordeling som resulterer i et produkt som er forskjellig fra teknikkens stand.

[00025] Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer et myseprotein:kaseinforhold som er lik det som finnes i morsmelk. I en spesiell utførelsesform er forholdet myseprotein:kasein mellom ca. 50:50 og 70:30. I en annen utførelsesform er forholdet kasein:myseprotein ca. 60:40.

[00026] Myseproteinet som anvendes i forbindelse med oppfinnelsen kan stamme fra hvilken som helst kilde som er kjent fra teknikkens stand. I én utførelsesform kan myseproteinet komme fra en rå myse oppnådd fra produksjon av fersk ost, fra myseproteinkonsentrat (WPC) som oppnås ved ultrafiltrering (UF-myse), ved ioneveksling og/eller elektroforese (ED-myse) eller fra myse-isolat som er blitt behandlet for å redusere laktoseinnholdet i mysen.

[00027] Det kasein som anvendes i forbindelse med oppfinnelsen kan også stamme fra hvilken som helst kilde som er kjent på fagområdet. For eksempel kan kaseinet enten være surt kasein eller fettfritt melkefaststoff (NFM).

[00028] Både myseproteinet og kaseinet kan være fortynnet eller rekonstituert til løsninger som inneholder mellom ca. 20% og 25% totalt faststoff, og mellom ca. 40% og 50% protein på tørr basis.

[00029] I forbindelse med oppfinnelsen omfatter karbohydratkomponenten mellom ca. 0% og 60% laktose. I en annen utførelsesform av oppfinnelsen, omfatter karbohydratkomponenten mellom ca. 15% og 55% laktose. I enda en annen utførelsesform av oppfinnelsen omfatter karbohydratkomponenten mellom ca. 20% og 30% laktose. I en spesiell utførelsesform av oppfinnelsen, omfatter karbohydratkomponenten mellom ca. 1 og 25% laktose. I disse utførelsesformer kan den gjenværende kilde av karbohydrater være hvilken som helst

karbohydratkilde som er kjent på fagområdet, for eksempel glukose, maissirupfaststoff, maltodekstriner, sukrose, stivelse, rissirupfaststoff og lignende. I en spesiell utførelsesform omfatter karbohydratkomponenten ca. 25% laktose og ca. 75% maissirupfaststoff.

5 **[00030]** Laktosen kan tilsettes spedbarnsblandingen eller kan være til stede naturlig i komponentene i spedbarnsblandingen. I én utførelsesform av oppfinnelsen er laktosen naturlig til stede i det tørkede hydrolysat. I denne utførelsesform kan mellom ca. 30% og 70% av det tørkede hydrolysat utgjøre karbohydrater. I en spesiell utførelsesform utgjør ca. 50% av det tørkede
10 hydrolysat karbohydrat.

[00031] I én utførelsesform av oppfinnelsen kan laktoseinnholdet være 0%. I denne utførelsesform kan hydrolysatet behandles ved anvendelse av hvilken som helst metode som er kjent på fagområdet for fjerning av laktoseinnholdet. Alternativt, kan melkeproteiningredienser som er laktose-frie anvendes for å
15 fremstille spedbarnsblandingen.

[00032] I foreliggende oppfinnelse hydrolyseres proteinene ved anvendelse av et proteolytisk enzym, Protease N. Protease N "Amano" er kommersielt tilgjengelig fra Amano Enzyme U.S.A. Co., Ltd., Elgin, IL. Protease N er et proteolytisk enzympreparat som stammer fra bakteriearten *Bacillus subtilis*.
20 Proteasepulveret er spesifisert som "ikke mindre enn 150,000 enheter/g", hvilket betyr at én enhet av Protease N er den mengde enzym som produserer en aminosyre ekvivalent med 100 mikrogram tyrosin i 60 minutter ved pH på 7,0. For å produsere spedbarnsblandingen i henhold til oppfinnelsen kan Protease N anvendes ved nivåer på ca. 0,5 til ca. 1,0 vekt% av det totale protein som
25 hydrolyseres.

[00033] Proteinhydrolysen ved hjelp av Protease N blir typisk utført ved en temperatur på ca. 50°C til ca. 60°C. Hydrolysen foregår i et tidsrom hvor det oppnås en hydrolysegrad på mellom ca. 4% og 10%. I en spesiell utførelsesform foregår hydrolyse i et tidsrom som gjør at det oppnås en hydrolysegrad på mellom
30 ca. 6% og 9%. I en annen utførelsesform foregår hydrolyse i et tidsrom slik at det oppnås hydrolysegrad på ca. 7,5%. Dette hydrolysenivå kan ta mellom ca. en halv time og ca. 3 timer.

[00034] En konstant pH-verdi må opprettholdes under hydrolyse. Ved

fremgangsmåten i henhold til oppfinnelsen justeres pH-verdien til å holdes på mellom ca. 6,5 og 8. I en spesiell utførelsesform holdes pH-verdien på ca. 7,0.

5 **[00035]** For å opprettholde den optimale pH-verdi til løsningen av myseprotein, kasein, vann og Protease N, kan en kaustisk løsning av natriumhydroksid og/eller kaliumhydroksid anvendes for å justere pH-verdien under hydrolyse. Hvis natriumhydroksid anvendes for å justere pH-verdien, må mengden av natriumhydroksid som tilsettes løsningen reguleres til det nivået hvor den omfatter mindre enn ca. 0,3% av det totale faststoff i det ferdige proteinhydrolysat. En 10% kaliumhydroksid-løsning kan også anvendes for å justere pH-verdien til løsningen 10 til den ønskede verdi, enten før enzymet tilsettes eller under hydrolyseprosessen, slik at den optimale pH-verdi opprettholdes.

[00036] Mengden av kaustisk løsning som tilsettes løsningen under proteinhydrolysen, kan reguleres ved en pH-stat eller ved å tilsette kaustikk-løsningen kontinuerlig og proporsjonalt. Hydrolysatet kan produseres ved 15 standard-satsprosesser eller kontinuerlige prosesser.

[00037] For bedre å sikre jevn kvalitet på proteinpartialhydrolysatet underkastets hydrolysatet enzymdeaktivering for å avslutte hydrolyseprosessen. Enzymdeaktiveringstrinnet kan bestå av eller inkludere en varmebehandling ved en temperatur på ca. 82°C i ca. 10 minutter. Alternativt kan enzymet bli deaktivert 20 ved oppvarmning av løsningen til en temperatur på ca. 92°C i ca. 5 sekunder. Etter at enzymdeaktiveringen er komplett, kan hydrolysatet lagres i flytende tilstand ved en temperatur under 10°C.

[00038] I en utførelsesform av oppfinnelsen kan det flytende partialproteinhydrolysat laget i henhold til de her beskrevne metoder, anvendes 25 som det er og blandes med andre ingredienser for å lage en spedbarnsblanding. Alternativt, kan partialhydrolysatet bli produsert i pulverform ved forstøvningstørking av det flytende hydrolysat. Det forstøvningstørkede hydrolysat kan deretter bli inkorporert i en spedbarnsblanding. I en annen utførelsesform kan det flytende partialhydrolysat bli konsentrert ved fordampning og deretter 30 forstøvningstørket. Igjen kan det forstøvningstørkede hydrolysat bli inkorporert i en spedbarnsblanding. En spedbarnsblanding som har de beskrevne delvis hydrolyserte proteiner kan formuleres ved anvendelse av hvilke som helst av metoder for tillaging av spedbarnsmat som er kjent på fagområdet.

- [00039]** Spedbarnsmat i henhold til foreliggende oppfinnelse kan være ernæringsmessig komplett og inneholder typisk egnede typer og mengder av lipid, karbohydrat, protein, vitaminer og mineraler. Mengden av lipid eller fett kan typisk variere fra ca. 3 til ca. 7 g/100 kcal. Lipidkilder kan være hvilke som helst som er
5 kjent på fagområdet, inklusive vegetabiliske oljer, for eksempel palmeolje, soyabønneolje, palmolein, kokosnøttolje, middelskjedet triglyceridolje, solsikkeolje med høyt oljesyreinnhold, safflorolje med høyt oljesyreinnhold, og lignende. Mengden av protein kan typisk variere fra ca. 1 til ca. 5 g/100 kcal. Mengden av karbohydrat kan typisk variere fra ca. 8 til ca. 12 g/100 kcal.
- 10 **[00040]** Spedbarnsblandingen kan inkludere en probiotisk substans. Enhver probiotisk substans som er kjent på fagområdet vil være akseptabel i denne utførelsesform. I en spesiell utførelsesform velges den probiotiske substans fra gruppen som består av *Lactobacillus* og *Bifidobacterium*.
- [00041]** I en annen utførelsesform av oppfinnelsen kan spedbarnblandingen
15 inneholde én eller flere prebiotiske substanser. Enhver prebiotisk substans som er kjent på området, vil være akseptabel i denne utførelsesform. Prebiotiske substanser i henhold til oppfinnelsen kan inkludere laktulose, galakto-oligosakkarid, frukto-oligosakkarid, isomalto-oligosakkarid, soyabønne-oligosakkarider, lactosukrose, xylo-oligosakkarid og gentio-oligosakkarider.
- 20 **[00042]** I andre utførelsesformer av foreliggende oppfinnelse, kan spedbarnblandingen inneholde andre komponenter, for eksempel langkjedede flerumettede fettsyrer (LCPUFA). Egnete LCPUFA inkluderer α -linolsyre, γ -linolsyre, linolsyre, linolensyre, eikosapentaensyre (EPA), arakidonsyre (ARA) og dokosaheksaensyre (DHA). I en annen utførelsesform inneholder
25 spedbarnblandingen DHA. I en annen utførelsesform inneholder spedbarnblandingen ARA. I enda en annen utførelsesform inneholder spedbarnblandingen i henhold til oppfinnelsen både DHA og ARA.
- [00043]** I én utførelsesform blir både DHA og ARA inkorporert i spedbarnblandingen i henhold til oppfinnelsen. I denne utførelsesform er
30 vektforholdet ARA:DHA typisk fra ca. 1:3 til ca. 9:1. Alternativt kan dette forhold være fra ca. 1:2 til ca. 4:1. I enda et annet alternativ kan forholdet være fra ca. 2:3 til ca. 2:1. I én spesiell utførelsesform er forholdet ca. 2:1.
- [00044]** Den effektive mengde av DHA i en utførelsesform av oppfinnelsen er

typisk fra ca. 3 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 150 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. I én utførelsesform av oppfinnelsen er mengden av DHA fra ca. 6 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 100 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. I enda en utførelsesform er mengden fra ca. 10 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 60 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. I atter en utførelsesform er mengden fra ca. 15 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 30 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag.

[00045] Mengden av DHA i spedbarnblandinger for bruk i forbindelse med oppfinnelsen varierer typisk fra ca. 5 mg/100 kcal til ca. 80 mg/100 kcal. I én utførelsesform av oppfinnelsen varierer mengden av DHA fra ca. 10 mg/100 kcal til ca. 50 mg/100 kcal; og i en annen utførelsesform varierer den fra ca. 15 mg/100 kcal til ca. 20 mg/100 kcal. I en spesiell utførelsesform av oppfinnelsen er mengden av DHA ca. 17 mg/100 kcal.

[00046] Den effektive mengde av ARA i en utførelsesform av oppfinnelsen er typisk fra ca. 5 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 150 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. I én utførelsesform av oppfinnelsen varierer mengden av ARA fra ca. 10 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 120 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. I en annen utførelsesform varierer mengden fra ca. 15 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 90 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. I enda en annen utførelsesform varierer mengden fra ca. 20 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag til ca. 60 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag.

[00047] Mengden av ARA i spedbarnblandinger for anvendelse i forbindelse med oppfinnelsen varierer typisk fra ca. 10 mg/100 kcal til ca. 100 mg/100 kcal. I én utførelsesform av oppfinnelsen varierer mengden av ARA fra ca. 15 mg/100 kcal til ca. 70 mg/100 kcal. I en annen utførelsesform varierer mengden av ARA fra ca. 20 mg/100 kcal til ca. 40 mg/100 kcal. I en spesiell utførelsesform av oppfinnelsen er mengden av ARA ca. 34 mg/100 kcal.

[00048] DHA og ARA kan suppleres inn i foreliggende oppfinnelse ved anvendelse av standard teknikker som er kjent på fagområdet. For eksempel kan DHA og ARA tilsettes supplementet eller blandingen ved å erstatte en ekvivalent mengde av en olje, f.eks. solsikkeolje med høyt oljesyreinnhold, som normalt er til stede i blandingen. Som et annet eksempel kan oljene som inneholder DHA og ARA tilsettes i supplementet eller blandingen ved å erstatte en ekvivalent mengde av resten av hele blandingen som normalt er til stede i blandingen uten DHA og ARA.

[00049] Kilden for DHA og ARA kan være hvilken som helst som er kjent på fagområdet. I en utførelsesform av oppfinnelsen, er kilder for DHA og ARA enkelcelleoljer slik det beskrives i U.S. patenter nr. 5,374,567; 5,550,156; og 5,397,591. Imidlertid er foreliggende oppfinnelse ikke begrenset til bare slike oljer.

5 DHA og ARA kan være i naturlig eller raffinert form.

[00050] I én utførelsesform er kilden for DHA og ARA i alt vesentlig fri for eikosapentaensyre (EPA). For eksempel inneholder, i én utførelsesform av oppfinnelsen, spedbarnblandingen mindre enn ca. 16 mg EPA/100 kcal; i en annen utførelsesform mindre enn ca. 10 mg EPA/100 kcal; og i enda en annen

10 utførelsesform mindre enn ca. 5 mg EPA/100 kcal. Én spesiell utførelsesform inneholder praktisk talt intet EPA. En annen utførelsesform er fri for EPA ved det at selv spormengder av EPA er fraværende fra sammensetningen.

[00051] Spedbarnblandingen i henhold til foreliggende oppfinnelse har en spesiell molekylvektfordeling. Molekylvektfordelingen har demonstrert akseptabel

15 emulgering og smakskvaliteter sammenlignet med andre partialhydrolysater som finnes i teknikkens stand. I tillegg er den spesielle molekylvektfordeling blitt vist å indusere en mindre serum-IgG-antistoffeffekt enn intakt melkeprotein.

[00052] I en utførelsesform av oppfinnelsen kan det partialproteinhydrolysat som er laget i henhold til de her beskrevne fremgangsmåter, bli inkorporert i et

20 næringsriktig supplement. Partialproteinhydrolysatet kan anvendes i flytende form og blandet med andre ingredienser for å lage et flytende næringsriktig supplement. Alternativt kan partialproteinhydrolysatet bli forstøvningstørket og inkorporert i et pulverisert næringsriktig supplement. Et næringsriktig supplement med de

25 beskrevne partielt hydrolyserte proteiner kan settes sammen ved anvendelse av hvilke som helst av de metoder for næringsriktig supplementsammensetning som er kjent på fagområdet.

[00053] Størrelse-ekskluderingskromatografi (SEC) ble anvendt for å bestemme molekylvektfordelingen for hydrolysatpeptidene som er skapt ved den her

30 beskrevne hydrolyseprosess. Spesifikt ble en tilstrekkelig mengde av den pulveriserte spedbarnblanding veid ut for å tilveiebringe 0,5 gram protein i et 50 ml konisk sentrifugerør. Vann ble tilsatt slik at det ble et volum på 45 ml i røret. Blandingen ble anbrakt i en Sarstedt D-5223 Mixer og blandet i én time. Etter blanding ble en 1% protein proteinløsning laget ved tilsetning av en annen 5 ml

vann til røret. En forrådsstandard ble også laget og blandet i 1 time.

[00054] Separat ble 14,91 gram kaliumklorid (KCl) tilsatt i et 1000 ml begerglass. KCl ble oppløst ved å tilsette 700 ml vann til begerglasset. 250 ml acetonitril og 1,0 ml trifluoreddiksyre ble så satt til KCl-løsningen (eluent). pH-verdien ble justert til 3,0 med en 0,2M K_2HPO_4 løsning.

[00055] En HPCL-reagensflaske ble fylt, og flasken ble vasket med eluent, hvilket ga ca. 50 ml for fortynning av prøver og standarder. Hitachi L-6200 A Intelligent Pump ledningene ble renset med eluent, og kolonnene ble ekvilibrert med eluent i én time.

[00056] Etter at prøvene ble blandet i én time, ble 5,0 ml av hver prøve pipettert inn i glassrør med skrukork. 5,0 ml diklormetan ble også pipettert inn i hvert rør. Rørene ble lukket og blandet ved å bli snudd opp ned fire ganger. Prøvene ble deretter sentrifugert i fem minutter ved 200 X G.

[00057] Mens prøvene var i sentrifugen, ble forrådsstandardene 1-5 fortynnet med elueringsmiddel (800 μ l + 3200 μ l). Ca. 1 ml av hver standard ble pipettert inn i to autoprøvetakningsglassbeholdere og lukket.

[00058] Det øvre (vandige) sjikt av de sentrifugerte prøver 1-10 ble fortynnet med elueringsmiddel (100 μ l + 900 μ l). Glassbeholderne ble lagt på autoprøvetakningsbrettet som følger: blindprøve, standard, prøver og standard nr. 2. Brettet ble anbrakt i Hitachi-autoprøvetakeren. Det totale antall glassbeholdere som skal kjøres, ble ført inn i autoprøvetakningsprogrammet ved hjelp av nøklene på fronten av autoprøvetakeren, og prøvene ble kjørt. Resultatene indikerte molekylvektprofilen for proteinet.

[00059] I en utførelsesform har det partielle hydrolysat i henhold til oppfinnelsen en gjennomsnittlig molekylvekt på 2,000 med det området for molekylvektfordeling som er vist i Tabell 1, ovenfor.

[00060] I en annen utførelsesform har det partielle hydrolysat i henhold til oppfinnelsen den molekylvektfordeling som er vist i Tabell 2.

Tabell 2

Molar Masse (i Dalton)	% Molekylvektfordeling
< 500	17

500-1000	35,1
1000-2000	30,9
2000-3000	9,6
3000-5000	4,2
> 5000	2,8

[00061] De følgende eksempler beskriver diverse utførelsesformer av foreliggende oppfinnelse. I eksemplene er alle prosenter gitt på vektbasis, med mindre annet er antydnet.

5

Eksempel 1

[00062] Dette eksemplet illustrerer en fremgangsmåte for å fremstille et partielt proteinhydrolysat. Innledningsvis ble 60,3 kg ikke-melk-faststoff (melkepulver) og 37,4 kg myseproteinkonsentrat (60%) blandet godt sammen i en tank som inneholdt vann ved 54°C. Oppslemmingen hadde totalt faststoffinnhold på mellom 20% og 23%. Oppslemmingens pH-verdi ble deretter målt. Natrium- og kaliumhydroksid ble tilsatt oppslemningen for å justere pH-verdien til oppslemningen til 7,0. Etter justering av pH-verdien ble 0,5 kg Amano N-enzym tilsatt oppslemningen. Etter tilsetningen av Amano N til oppslemningen ble pH-verdien kontinuerlig justert til 7,0 med natriumhydroksid og kaliumhydroksid. Den totale mengden av natriumhydroksid som ble tilsatt i oppslemningen var 0,3 kg. Den totale mengden av kaliumhydroksid som ble tilsatt i oppslemningen var 1,5 kg.

15

[00063] Hydrolysen fikk foregå i 90 minutter, idet tiden startet med tilsetning av Amano N-enzym til oppslemningen. Da de 90 minutter var gått, ble oppslemningen varmebehandlet for å inaktivere enzymet. Varmebehandlingen besto i å heve temperaturen på oppslemningen til 82°C i 10 minutter. Den oppnådde hydrolysegrad i dette eksemplet var mellom 6% og 9%. Oppslemningen ble så avkjølt og forstøvningstørket for oppnåelse av et pulverisert hydrolysat.

20

25

Eksempel 2

[00064] Dette eksemplet illustrerer én utførelsesform med ingredienser som kan anvendes for å fremstille spedbarnsblandingen i henhold til oppfinnelsen.

Tabell 3: Resept på en utførelsesform av hydrolysatet

Ingrediens	Kg pr. 100 kg tørket hydrolysat
Ikke-fett-melkefaststoff	60,3
Myseproteinkonsentrat	37,4
Kaliumhydroksid	1,5
Enzym (Amano N)	0,5
Natriumhydroksid	0,3

[00065] Vitaminer kan tilsettes til ingrediensene i Tabell 3. Eksempler på vitaminer som kan tilsettes blandingen inkluderer vitamin A, vitamin D₃, vitamin E, vitamin K₁, tiamin, riboflavin, vitamin B₆-hydroklorid, vitamin B₁₂, niacinamid, folinsyre, kalsiumpantotenat, biotin og askorbinsyre.

[00066] Mineraler kan også tilsettes til ingrediensene i Tabell 3. Eksempler på mineraler som kan tilsettes blandingen inkluderer kalsiumfosfat, kalsiumglycerofosfat, kalsiumglukonat, natriumcitrat, kaliumklorid, kaliumcitrat, kaliumfosfat, magnesiumfosfat, ferrosulfat, sinksulfat og kuprisulfat.

Eksempel 3

[00067] Dette eksemplet illustrerer priming-effekten for IgG-antistoffrespons for det partielle proteinhydrolysat som ble oppnådd i Eksempel 1. Tre hundre og tjuetre spedbarn ble studert i syv pediatriske praksiser plassert rundt i USA. Individene var friske terminbarn innrullert kort etter fødselen.

[00068] Spedbarn med en mor som indikerte sin hensikt om å gi bryst, ble henført til gruppe A. De spedbarn som hadde mødre som valgte å ikke gi bryst, ble vilkårlig plassert på dobbelt-blindmåte i enten gruppe B eller C. Spedbarna i gruppe B fikk en spedbarnsblanding som omfattet det partielle proteinhydrolysat som ble oppnådd i Eksempel 1. Spedbarn fra gruppe C fikk en kommersielt tilgjengelig, myse-proteindominerende melkebasert blanding (Enfamil, tilgjengelig fra Mead Johnson Co., Evansville, IN). Begge blandinger inneholdt samme mengde protein, karbohydrat og fett.

[00069] Spedbarna ble evaluert med månedlige intervaller opptil 4 måneders alder på alle steder, og ved 6 og 8 måneders alder på tre av de syv steder. Blod ble tappet i henhold til tillatelse, og ved 3, 6 og 8 måneders alder for påvisning av serum-antistoffer til melk. IgE anti-melkeprotein-antistoffer ble kvantifisert ved en biotin-avidin-enzym-bundet immunosorbent-assay; IgG-anti-melkeprotein-

antistoffer ble bestemt ved bruk av enzym-linket immunosorbent-assay beskrevet i Burks, *et al.* Burks, A.W., *et al.*, *Antibody Response to Milk Protein in Patients with Milk Protein Intolerance Documented by Challenge*, J. Allergi Clin. Immunol. 85:921-927 (1990). Ytterligere blod ble tappet for måling av serumnivåer av ferritin og hemoglobin og for å bestemme hematokrit hos spedbarna som ble undersøkt ved 8 måneders alder.

[00070] Den gjennomsnittlige serumkonsentrasjon av IgG-antistoffer til melk var sammenlignbare hos alle grupper på tidspunktet for begynnelsen av studien. Imidlertid var økninger i serum-IgG-antistoffer til melk signifikant større i gruppen av spedbarn som ble matet med blanding C enn dem som fikk brystmelk (gruppe A) eller blanding B. Denne lavere konsentrasjon av IgG-antistoffer til melk i gruppe B indikerer en større priming-effekt av intakt kumelkprotein for IgG-antistoffresponser (gruppe C). Derfor kan det være et redusert immunogenisk potensiale for de partielt hydrolyserte melkeproteiner i gruppe B.

[00071] Ved tidspunktet for innrulling ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller blant de tre grupper i de gjennomsnittlige serumkonsentrasjoner av IgE-antistoffer til melk. Videre var det ingen signifikante forskjeller i IgE-nivåene blant materegimene under studien. De gjennomsnittlige serumverdier av ferritin, hematokrit og hemoglobin var innen det normale området ved 8 måneders alder, og ingen signifikante forskjeller ble funnet blant de tre grupper.

Eksempel 4

[00072] Dette eksemplet illustrerer en spesiell utførelsesform av en spedbarnblanding supplert med det partielle proteinhydrolysat fremstilt ved fremgangsmåten i henhold til foreliggende oppfinnelse. I dette eksemplet utgjør laktose ca. 23,5% av karbohydratkomponenten.

Tabell 4: Næringsstoffinformasjon for spedbarnsblanding

Ingrediens	Pr. 100 kg
Maissirupfaststoff	44,256 kg
Partielt hydrolysert NFM- og WPC-faststoff	26,865 kg
Fettblanding	26,628 kg
Enkeltcelle ARA- og DHA-oljeblanding	0,709 kg
Kalsiumkarbonat	0,400 kg
Kalsiumfosfat, tribasisk	0,200 kg

Ingrediens	Pr. 100 kg
Kaliumklorid	0,200 kg
Kolinklorid	0,134 kg
Magnesiumfosfat	0,100 kg
L-carnitin	0,010 kg
Askorbinsyre	162,900 g
Inositol	39,887 g
Taurin	33,875 g
Tokoferylacetat	25,278 g
Vitamin A	7,871 g
Niacinamid	6,475 g
Vitamin K ₁	5,454 g
Kalsiumpantotenat	3,299 g
Vitamin B ₁₂	2,122 g
Biotin-triturering	1,608 g
Vitamin D3	0,969 g
Riboflavin	0,755 g
Tiamin-HCl	0,601 g
Pyridoxin-HCl	0,518 g
Folinsyre	0,122 g
Ferrosulfat, heptahydrat	49,600 g
Laktose	138,017 g
Sinksulfat	16,422 g
Natriumselenitt	0,018 g
Kuprisulfat	1,688 g
Mangansulfat	0,239 g

[00073] I dette eksemplet er laktose naturlig til stede i den partielt hydrolyserte NFM- og WPC-faststoff. Mer spesifikt utgjør ca. 50% av det partielt hydrolyserte NFM- og WPC-faststoff laktose. Således er mengden av laktose som er til stede i disse NFM- og WPC-faststoffer tilnærmet 13,433 kg. Det er en ytterligere 138,017 g laktose til stede i materialet. Dette utgjør i alt tilnærmet 13,571 kg laktose i spedbarnsblandingen.

[00074] Det er 44,256 kg maissirup-faststoff til stede i spedbarnsblandingen. Det totale karbohydratinnhold er 57,827 kg, idet laktose utgjør bare 13,571 kg av totalen. Derfor utgjør laktose tilnærmet 23,5% av det totale karbohydratinnhold i spedbarnsblandingen.

[00075] Omtalen av referanser som her er nevnt, inklusive uten begrensning, alle avhandlinger, publikasjoner, patenter, patentsøknader, presentasjoner, tekster, rapporter, manuskripter, brosjyrer, bøker, internettpost, avisartikler,

tidsskrifter og lignende er ment utelukkende å oppsummere de påstander som er gjort av forfatterne, og ingen innrømmelser gjøres om at noen referanse utgjør teknikkens stand. Vi forbeholder oss retten til å utfordre nøyaktigheten og relevansen av de nevnte referanser.

- 5 **[00076]** Selv om foretrukne utførelsesformer av oppfinnelsen er blitt beskrevet ved hjelp av spesifikke termer, innretninger og fremgangsmåter, er en slik beskrivelse kun for illustrerende formål.

PATENTKRAV

1. Spedbarnsmat karakterisert ved at den omfatter:
 en karbohydratkomponent som omfatter mellom ca. 0% og 60% laktose,
 basert på den totale vekt av karbohydratene som er til stede i blandingen; og
 en proteinkomponent som er sammensatt av partielt hydrolysert
 myseprotein og kasein, hvor forholdet mellom myseprotein og kasein er mellom
 ca. 50:50 og 70:30 og hvor proteinhydrolysatet har peptidene spredt over det
 følgende området av molekylvektfordeling som en funksjon av molarmassen:

Molarmasse (i dalton)	% Molekylvektfordeling
< 500	11-20
500-1000	25-38
1000-2000	27-30
2000-3000	8-16
3000-5000	3-10
> 5000	2-11

10

2. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor proteinhydrolysatet har
 peptidene spredt over følgende molekylvektfordeling som en funksjon av den
 molare masse:

Molarmasse (i dalton)	% Molekylvektfordeling
< 500	17
500-1000	35,1
1000-2000	30,9
2000-3000	9,6
3000-5000	4,2
> 5000	2,8

15

3. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor forholdet av
 myseprotein:kasein er ca. 60:40.

4. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor karbohydratkomponenten omfatter mellom ca. 15% og 55% laktose.
5. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor karbohydratkomponenten omfatter mellom ca. 20% og 30% laktose.
- 5 6. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor karbohydratkomponenten omfatter ca. 25 vekt-% laktose og ca. 75 vekt-% maissirupfaststoff.
7. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor hydrolysegraden til proteinkomponenten er mellom ca. 4% og 10%.
8. Spedbarnsmat som angitt i krav 6, hvor hydrolysegraden for
10 proteinkomponenten er mellom ca. 6% og 9%.
9. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor blandingen i tillegg omfatter minst én probiotisk substans.
10. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor blandingen i tillegg omfatter minst én prebiotisk substans.
- 15 11. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor blandingen i tillegg omfatter en LCPUFA.
12. Spedbarnsmat som angitt i krav 11, hvor LCPUFA omfatter DHA og ARA.
13. Spedbarnsmat som angitt i krav 10, hvor LCPUFA omfatter DHA og
20 ARA.
14. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor blandingen er i pulverform.
15. Spedbarnsmat som angitt i krav 1, hvor blandingen er i flytende form.