



(51) МПК
A61K 31/715 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)
A23C 9/152 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2007144333/15**, **23.03.2006**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.03.2006

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
01.06.2005 US 60/686,390
30.06.2005 US 11/172,123

(43) Дата публикации заявки: **20.07.2009** Бюл. № 20

(45) Опубликовано: **10.04.2011** Бюл. № 10

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 2003/0157146 A1**, **21.08.2003. RU 97101663 A**, **27.04.1999. US 2004/0191295 A1**, **30.09.2004. THE MERCK MANUAL. РУКОВОДСТВО ПО МЕДИЦИНЕ. М.: Мир, 1997, т.2, с.290-293.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **09.01.2008**

(86) Заявка РСТ:
US 2006/010608 (23.03.2006)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2006/130205 (07.12.2006)

Адрес для переписки:
119034, Москва, Пречистенский пер., д.14, стр. 1, 4 этаж, "Гоулингз Интернэшнл ИНК.", В.Н.Дементьеву

(72) Автор(ы):

**ПЕТСКОУ Брион В. (US),
 МКМАХОН Роберт Дж. (US),
 ГИБСОН Гленн Р. (GB),
 РАСТОЛЛ Роберт А. (GB),
 ГЕММЕЛЛ Риния (GB),
 СААРЕЛА Мария (FI),
 АУРА Анна-Марья (FI)**

(73) Патентообладатель(и):

**МИД ДЖОНСОН НУТРИШЕН
 КОМПАНИ (US)**

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИДЕКСТРОЗЫ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ МОЛОЧНЫХ СМЕСЕЙ ДЛЯ ДЕТЕЙ НА ИСКУССТВЕННОМ ВСКАРМЛИВАНИИ

(57) Реферат:

Предложено применение полидекстрозы (PDX) для приготовления молочной смеси для детей на искусственном вскармливании, при котором SCFA профиль включает увеличение продукции ацетата и уменьшение продукции бутирата, причем смесь включает терапевтически эффективное количество PDX, которое составляет от 1,0 г/л до 10,0 г/л и вводится ежедневно, и

соответствующие молочные смеси, содержащие полидекстрозу и галакто-олигосахарид, причем количество полидекстрозы в молочной смеси составляет 2,0 г/л, и количество галакто-олигосахаридов - 1,32 г/л; или количество полидекстрозы в молочной смеси составляет 4,0 г/л и количество галакто-олигосахаридов - 2,64 г/л (варианты). Изобретение обеспечивает увеличение продукции ацетата, уменьшение продукции бутирата, увеличение и улучшение

видового состава популяции благотворных бактерий, а также замедление скорости ферментации пребиотиков в кишечнике ребенка

на искусственном вскармливании. 4 н. и 7 з.п. ф-лы, 17 ил., 7 табл.

R U 2 4 1 5 6 7 4 C 2

R U 2 4 1 5 6 7 4 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 31/715 (2006.01)**A23L 1/308** (2006.01)**A23C 9/152** (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2007144333/15, 23.03.2006**(24) Effective date for property rights:
23.03.2006

Priority:

(30) Priority:

01.06.2005 US 60/686,390**30.06.2005 US 11/172,123**(43) Application published: **20.07.2009 Bull. 20**(45) Date of publication: **10.04.2011 Bull. 10**(85) Commencement of national phase: **09.01.2008**

(86) PCT application:

US 2006/010608 (23.03.2006)

(87) PCT publication:

WO 2006/130205 (07.12.2006)

Mail address:

**119034, Moskva, Prechistsenskij per., d.14, str. 1, 4
ehtazh, "Goulingz Internehshnl INK.",
V.N.Dement'evu**

(72) Inventor(s):

PETSKOU Brion V. (US),**MKMAKKhON Robert Dzh. (US),****GIBSON Glenn R. (GB),****RASTOLL Robert A. (GB),****GEMMELL Rinia (GB),****SAARELA Marija (FI),****AURA Anna-Mar'ja (FI)**

(73) Proprietor(s):

MID DZhONSON NUTRISHEN KOMPANI (US)(54) **APPLICATION OF POLYDEXTROSE FOR PREPARING MILK MIXTURES FOR CHILDREN ON ARTIFICIAL FEEDING**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: claimed is application of polydextrose (PDX) for preparing milk mixtures for children on artificial feeding, in which SCFA profile includes increase of acetate production and reduction of butyrate production, and mixture includes therapeutically effective quantity of PDX, which constitute from 1.0 g/l to 10,0 g/l and is introduced daily, and respective milk mixtures, which contain polydextrose and galacto-oligosaccharide, and quantity of polydextrose in milk mixture constitutes

2.0 g/l, and quantity of galacto-oligosaccharide - 1.32 g/l; or quantity of polydextrose in milk mixture constitutes 4.0 g/l, and quantity of galacto-oligosaccharide - 2.64 g/l (versions).

EFFECT: invention insures increase of acetate production, reduction of butyrate production, increase and improvement of specific composition of beneficial bacteria population, as well as slowing of fermentation of prebiotics in intestine of a child on artificial feeding.

11 cl, 17 dwg, 7 tbl, 10 ex

Область техники

Настоящее изобретение относится к использованию полидекстрозы в качестве аналога олигосахаридов человеческого грудного молока у детей на искусственном вскармливании.

Уровень техники

Кишечная микрофлора ребенка начинает быстро развиваться в течение первых нескольких недель после рождения. Природа колонизации кишечника первично определяется как ранним воздействием окружающей среды, так и общим состоянием здоровья ребенка. На бактериальную популяцию кишечника значительное влияние оказывает также тип вскармливания грудного ребенка, искусственное или грудное вскармливание.

Например, у детей на грудном вскармливании среди кишечных бактерий доминируют бактерии рода *Bifidobacterium* spp., меньшая доля приходится на бактерии рода *Streptococcus* spp. and *Lactobacillus* spp. В противоположность этому, кишечная микрофлора детей на искусственном вскармливании более разнообразна и включает бактерии рода *Bifidobacterium* spp. and *Bacteroides* spp., а также различные более патогенные бактерии, такие как *Staphylococcus*, *Escherichia coli* и *Clostridia*. Род бактерий вида *Bifidobacterium* также различается у детей на грудном и искусственном вскармливании.

Бифидобактерии (*Bifidobacterium*) считаются "благоприятными" микроорганизмами, известно, что они защищают кишечник от колонизации патогенных бактерий. Этот процесс обусловлен конкуренцией за рецепторы на поверхности клеток, конкуренцией за необходимые питательные вещества, продукцией антимикробных агентов и продукцией ингибирующих соединений, таких как жирные кислоты с короткой цепью (SCFA), которые обладают способностью понижать pH фекалий и ингибировать потенциально патогенные бактерии. Бифидобактерии также ассоциируются с резистентностью желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей к различным инфекциям, а также с повышенной иммунной функцией у детей и подростков. Таким образом, поддержание и создание определенной кишечной биологической среды, где доминируют Бифидобактерии, и является целью при создании питательных смесей для детей на искусственном вскармливании.

Человеческое молоко (НМ) содержит ряд факторов, которые оказывают благоприятное влияние и способствуют росту и развитию Бифидобактерий в кишечнике грудных детей. Среди указанных факторов необходимо отметить комплексную смесь более чем 130 различных олигосахаридов, уровень которых в грудном молоке достигает 8-12 г/л, а то и выше в грудном переходном молоке и зрелом грудном молоке. Kunz, et al., *Oligosaccharides in Human Milk: Structure, Functional and Metabolic Aspects*, *Ann. Rev. Nutr.* 20: 699-722 (2000). Указанные олигосахариды являются устойчивыми к ферментативному расщеплению в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, поэтому достигают толстой кишки, где они выполняют функцию субстратов для ферментов толстого кишечника.

Считается, что олигосахариды грудного молока обладают способностью увеличивать количество Бифидобактерий в кишечной микрофлоре и уменьшать количество патогенных микроорганизмов. Kunz, et al., *Oligosaccharides in Human Milk: Structure, Functional and Metabolic Aspects*, *Ann. Rev. Nutr.* 20: 699-722 (2000); Newburg, *Do the Binding Properties of Oligosaccharides in Milk Protect Human Infants from Gastrointestinal Bacteria?*, *J. Nutr.* 217: S980-S984 (1997). Один из возможных механизмов, при помощи которого НМ олигосахариды увеличивают количество

Бифидобактерии и уменьшают количество патогенных бактерий, заключается в том, что указанные олигосахариды функционируют как конкурирующие рецепторы и ингибируют связывание патогенов с клеточной поверхностью Rivero-Urgell, et al., *Oligosaccharides: Application in Infant Food, Early Hum. Dev.* 65 (S): 43-52 (2001).

Помимо того, что олигосахариды НМ уменьшают число патогенных бактерий и способствуют развитию бифидобактерий, при их ферментации образуются SCFAs, такие как уксусная, пропионовая и масляная кислоты. Считается, что SCFAs обладают энергетической ценностью, являются основным источником энергии для кишечного эпителия, стимулируют абсорбцию натрия и воды в толстом кишечнике, а также улучшает пищеварение и абсорбцию в тонком кишечнике. Кроме того, считается, что SCFAs в целом оказывают благоприятное воздействие на состояние кишечника, модулируют развитие желудочно-кишечного тракта и иммунную функцию.

Ферментация НМ олигосахаридов также уменьшает концентрацию аммиака, амина и фенола в фекалиях, которые являются основными соединениями, обеспечивающими неприятный запах фекалий. Cummings & Macfarlane, *The Control and Consequences of Bacterial Fermentation in the Human Colon, J. Appl. Bacteriol.* 70:443-459(1991); Miner & Hazen, *Ammonia and Amines: Components of Objectionable Components in Piggery Wastes and the Possibility of Applying Indicator Components for Studying Odour Development, Argic. Environ.* 5:241-260 (1980); O'Neill & Phillips, *A Review of the Control of Odor Nuisance from Livestock Buildings: Part 3. Properties of the Odorous Substances which have been Identified in Livestock Wastes or in the Air Around them J. Argic. Eng. Res.* 53:23-50(1992).

Именно за счет олигосахаридов человеческого грудного молока профиль SCFA у детей на естественном вскармливании сильно отличается от такового у детей на искусственном вскармливании. Например, у детей на грудном вскармливании практически не образуются бутираты, а ацетаты составляют приблизительно 96% от общего содержания SCFA. Lifschitz, et al. *Characterization of Carbohydrate Fermentation in Feces of Formula-Fed and Breast-Fed Infants, Pediatr. Res.* 27: 165-169 (1990); Siigur, et al., *Faecal Short-Chain Fatty Acids in Breast-Fed and Bottle-Fed Infants. Acta. Paediatr.* 82: 536-538 (1993); Edwards, et al., *Faecal Short-Chain Fatty Acids in Breast-Fed and Formula-Fed Babies, Acta. Paediatr.* 72: 459-462 (1994); Parrett & Edwards, *In Vitro Fermentation of Carbohydrates by Breast Fed and Formula Fed Infants, Arch. Dis. Child.* 76: 249-253 (1997). Альтернативно, у детей на искусственном вскармливании в фекалиях преобладают ацетаты (74%), также содержится значительное количество пропионатов (23%), а бутураты присутствуют в незначительном количестве (3%). Указанные различия профиля SCFA у детей на искусственном и грудном вскармливании могут влиять на энергию, пищеварение и общее состояние здоровья детей на искусственном вскармливании.

Поскольку коровье молоко и коммерчески доступные молочные смеси, основанные на коровьем молоке, содержат только следовые количества олигосахаридов, для диетической поддержки детей на искусственном вскармливании обычно применяются пребиотики. Под пребиотиками понимаются «нерасщепляемые пищевые ингредиенты, которые благоприятно влияют на организм хозяина путем селективного стимулирования роста и/или активности одной или ограниченного числа бактерий в колонии, которые могут оказывать благоприятное воздействие на здоровье хозяина». Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B., *Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota-Introducing the Concept of Probiotics, J. Nutr.* 125: 1401-1412 (1995). К

общеизвестным пребиотикам относятся фрукто-олигосахарид, глико-олигосахарид, галакто-олигосахарид, изомальто-олигосахарид, ксило-олигосахарид и лактулоза.

Также в литературе раскрывается включение различных пребиотиков в молочные смеси. Например, в заявке на патент США No. 20030072865, Bindels, et al.,

раскрывается молочная смесь с улучшенным белковым составом, содержащая, по крайней мере, один пребиотик. Пребиотический компонент может включать лакто-N-тетаозу, лакто-N-фуко-пентаозу, лактулозу (LOS), лактосукрозу, раффинозу, галакто-олигосахарид (GOS), фрукто-олигосахарид (FOS), олигосахариды, выделенные из полиолигосахаридов соевых бобов, олигосахариды на основе маннозы, арабино-олигосахариды, ксило-олигосахариды, изомальто-олиго-сахариды, глюканы, сиалил-олигосахариды и фуко-олигосахариды.

Аналогично, заявка на патент США №20040191234, (Haschke), раскрывается способ усиления иммунного ответа, который заключается во введении, по крайней мере, одного пребиотика. Пребиотиком может быть олигосахарид, полученный из глюкозы, галактозы, ксилозы, мальтозы, сукрозы, лактозы, крахмала, ксилана, гемицеллюлозы, инулина или их смеси. Пребиотик может присутствовать в злаковых культурах, предназначенных для детей.

К сожалению, существует множество недостатков употребления описанных выше пребиотиков у детей на искусственном вскармливании. Несмотря на то, что они благоприятно воздействуют на популяцию пробиотиков в кишечнике, они не обеспечивают SCFA профиль, аналогичный SCFA профилю у детей на грудном вскармливании. Кроме того, ферментация многих указанных пребиотических соединений происходит очень быстро, а это обычно сопровождается избыточным газообразованием, растяжением и вздутием кишечника и диареей. Таким образом, выбор пребиотического соединения для включения в молочную смесь должен быть сделан таким образом, чтобы свести к минимуму неблагоприятные побочные эффекты и обеспечить максимальную пользу.

Таким образом, необходимо разработать пребиотическое соединение, которое обладает функциональными характеристиками олигосахаридов человеческого грудного молока, в частности обладает способностью увеличивать популяцию благотворных бактерий в кишечнике грудных детей и обеспечивают SCFA профиль, аналогичный таковому у детей на грудном вскармливании. Кроме того, указанная пребиотическая субстанция должна восприниматься организмом ребенка и не приводить к избыточному газообразованию, растяжению и вздутию кишечника и диарее.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к новому использованию полидекстрозы (PDX) для создания лекарственного средства, имеющего функциональные особенности, аналогичные олигосахаридам человеческого молока, у детей на искусственном вскармливании.

Настоящее изобретение также относится к новому варианту использования PDX для создания лекарственного средства, предназначенного для увеличения популяции и улучшения видового состава благотворных бактерий в кишечнике у детей на искусственном вскармливании.

Настоящее изобретение также относится к новому использованию полидекстрозы (PDX) для создания лекарственного средства, предназначенного для создания SCFA профиля (профиля жирных кислот с короткой цепью) у детей на искусственном вскармливании, который аналогичен профилю у детей на грудном

вскармливания. Специфически, PDX может способствовать созданию SCFA профиля с повышенным содержанием ацетата и пониженным уровнем бутирата.

Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение относится к новому использованию PDX для создания лекарственного средства, предназначенного для уменьшения степени и продолжительности ферментации пребиотиков в кишечнике детей на искусственном вскармливании. В частности, настоящее изобретение способствует уменьшению общего газообразования, а также продукции углекислого газа в кишечнике грудного ребенка.

Настоящее изобретение имеет множество преимуществ, среди которых необходимо упомянуть то, что оно хорошо переносится грудными детьми, обладает функциональными характеристиками олигосахаридов грудного молока, а именно увеличивает популяцию и улучшает видовой состав благотворных бактерий в кишечнике грудного ребенка, оптимизирует характеристики стула, и обеспечивает SCFA профиль, аналогичный профилю у детей на грудном вскармливании.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

Для более полного понимания сущности настоящего изобретения ниже представлено более детальное его описание с ссылками на сопроводительные фигуры. На Фигуре 1 представлена общая продукция SCFA во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 2 представлены изменения pH во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 3 представлены относительные пропорции продукции уксусной кислоты во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 4 представлены относительные пропорции продукции пропионовой кислоты во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 5 представлены относительные пропорции продукции масляной кислоты во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 6 представлены относительные пропорции продукции уксусной, пропионовой и масляной кислот и общая продукция SCFA во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 7 показана общая продукция SCFA во время ферментации различных комбинаций пребиотических углеводов.

На Фигуре 8 показаны изменения pH во время ферментации различных комбинаций пребиотических углеводов.

На Фигуре 9 показана общая продукция SCFA во время ферментации различных комбинаций PDX и GOS.

На Фигуре 10 показана концентрация уксусной кислоты, образующейся во время ферментации различных комбинаций PDX и GOS.

На Фигуре 11 показана концентрация пропионовой кислоты, образующейся во время ферментации различных комбинаций PDX и GOS.

На Фигуре 12 показана концентрация масляной кислоты, образующейся во время ферментации различных комбинаций PDX и GOS.

На Фигуре 13 показано общее газообразование во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 14 показано общее газообразование, выраженное через концентрацию углекислого газа, во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 15 показано общее газообразование, выраженное через концентрацию

водорода, во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

На Фигуре 16 показано общее газообразование, выраженное через концентрацию дисульфида водорода, во время ферментации GOS, LOS, PDX2 и FOS.

5 На Фигуре 17 показан суммарный пребиотический эффект человеческого грудного молока, FOS, LOS, GOS, PDX и их различных комбинаций на фекальную микрофлору.

ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

10 Далее представлено подробное описание наиболее предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения, которые проиллюстрированы одним или несколькими примерами. Каждый из указанных примеров представлен с целью объяснения вариантов осуществления настоящего изобретения и ни в коем случае не ограничивает его сущность. В действительности, любому специалисту в данной
15 области очевидно, что могут быть внесены различные изменения и модификации заявленного изобретения в пределах представленной ниже формулы изобретения. В частности, свойства и особенности одного варианта осуществления настоящего изобретения могут использоваться для описания или иллюстрации другого варианта осуществления настоящего изобретения.

20 Следовательно, подразумевается, что настоящее изобретение включает такие свои варианты и модификации, которые попадают под представленную ниже формулу изобретения. Другие объекты, характерные особенности и аспекты настоящего изобретения рассматриваются далее, либо являются очевидными из представленного
25 ниже детального описания. Любому специалисту в данной области очевидно, что настоящее обсуждение представляет собой лишь описание примерных вариантов осуществления настоящего изобретения без ограничения всей широты его сущности.

Определения

30 Используемый термин «пребиотик» означает «нерасщепляемый пищевой ингредиент, который благоприятно влияет на организм хозяина путем селективного стимулирования роста и/или активности одной или ограниченного числа бактерий в колонии, которые могут оказывать благоприятное воздействие на
здоровье хозяина».

35 Используемый термин «пробиотик» относится к непатогенному микроорганизму или микроорганизму с низкой патогенностью, который оказывает благоприятное воздействие на здоровье хозяина,

40 Используемый термин «грудной ребенок» относится к ребенку, возраст которого меньше 1 года.

Термин «терапевтически эффективное количество», используемый здесь, относится к количеству, которое оказывает пребиотический эффект на организм хозяина.

45 Термин «имитация», используемый здесь, обозначает наличие или принятие формы или характеристик чего-либо или же симптоматическую аналогию чему-либо.

50 Термин «функциональные особенности» относится к присущим качествам или свойствам, которые способствуют совершению чего-либо. Примерами указанных функциональных особенностей олигосахаридов человеческого грудного молока, заявленных в соответствии с настоящим изобретением, является увеличение популяции и улучшение видового состава благотворных бактерий, обеспечение определенного профиля SCFA с высоким содержанием уксусной кислоты и низким содержанием масляной кислоты, а также обеспечение небольшой скорости и

продолжительности ферментации пребиотиков в кишечнике.

Используемый термин «молочная смесь» относится к композиции, которая полностью удовлетворяет питательные потребности ребенка и представляет собой заменитель женского молока. В США состав молочных смесей регламентируется постановлениями федерального агентства 21 C.F.R., Разделы 100, 106 и 107. Указанные постановления регулируют макронутриентный, витаминный, минеральный состав молочной смеси, а также уровни других компонентов для того, чтобы наилучшим образом воспроизвести свойства женского грудного молока.

Изобретение

Настоящее изобретение относится к новому использованию PDX для создания лекарственного средства, предназначенного для имитации функциональных особенностей олигосахаридов человеческого грудного молока у детей на искусственном вскармливании. Введение PDX оказывает благоприятный эффект на популяцию и видовой состав пробиотиков, обеспечивает SCFA профиль, аналогичный профилю у детей на грудном вскармливании, и физически хорошо переносится грудными детьми.

PDX представляет собой нерасщепляемый углеводород, который образуется при случайном перекрестном связывании глюкозы и сорбитола. Он не расщепляется в верхних отделах желудочно-кишечного тракта и только частично ферментируется в его нижних отделах, что делает его полезным ингредиентом для пищеварения. К физиологическим преимуществам PDX необходимо отнести увеличение объема фекалий, уменьшение времени прохождения каловых масс по кишечнику, низкий pH фекалий и пониженную концентрацию гнилостных соединений в толстом кишечнике. Было показано, что применение PDX у взрослых способствует росту и развитию благотворных бактерий в кишечнике и продукции SCFAs.

PDX признана пребиотическим соединением для взрослых на основании ее функций в желудочно-кишечном тракте. Например, заявка на патент США №20040062758 (Mauga-Makinen et al.), относится к композиции, включающей пребиотик или несколько пребиотиков, при этом пребиотиком может быть GOS, палатиносеолигосахарид, олигосахарид соевых бобов, гентиолигосахарид, ксилоолигомеры, нерасщепляемый крахмал, лактосахароза, LOS, лактитол, мальтитол или PDX. Аналогично, патент США No. 4859488 (Kan et al.) относится к жидкому пищевому продукту, содержащему PDX и олигосахариды, которые полезны для лечения запоров.

Однако до настоящего времени не было доказано, что PDX является пребиотиком, который оказывает благоприятное воздействие на пищеварение у грудных детей и обладает преимуществами, описанными в настоящем изобретении. Известно, что микрофлора грудных детей развивается не так быстро, как микрофлора взрослых людей. В то время как микрофлора кишечника взрослого человека включает более 10^3 микроорганизмов и приблизительно 500 видов, кишечная микрофлора грудных детей включает только часть указанных микроорганизмов как по абсолютному количеству, так и по видовому составу.

Поскольку бактериальные популяции и их видовой состав сильно отличаются у детей и у взрослых, нельзя делать заключение о том, что пребиотическое соединение, оказывающее благоприятный эффект у взрослых, будет также полезным для детей.

Было показано, что применение PDX у взрослых способствует увеличению продукции ацетата и бутирата. Поскольку не было отмечено высокое количество бутирата у детей на грудном вскармливании и он ассоциируется с неблагоприятным

воздействием на кишечник ребенка в случае его избыточной продукции, нельзя считать, что PDX будет полезным для пищеварения у детей, основываясь на его эффектах в организме взрослых людей. Таким образом, открытие, что PDX в действительности метаболизируется главным образом до ацетата и пропионата, с невысокой продукцией бутирата, оказалось неожиданным. Следовательно, PDX не только оказывает благоприятное воздействие на популяцию и видовой состав благотворных бактерий в желудочно-кишечном тракте ребенка, но и обеспечивает SCFA профиль, аналогичный профилю детей на грудном вскармливании, поэтому хорошо переносится детьми.

Только одна определенная ссылка, которая относится к PDX и возможности ее применения у детей, соотносится с настоящим изобретением. В патенте США №20030157146 (Rautonen et al.) раскрывается, что PDX может оказывать стимулирующее воздействие на иммунную систему детей. В указанной заявке, однако, заявитель раскрывает, что PDX в действительности уменьшает популяцию Бифидобактерий в кишечнике ребенка (Rautonen App., para. 0074). Заявитель доказывает этот результат, ссылаясь на факт, что "избыток бифидобактерий может также вызывать неблагоприятные физиологические эффекты, такие как кишечные бактериальные инфекции и иммуносупрессия" (Rautonen App., para.0069).

Поскольку в указанной ссылке говорится о том, что PDX в действительности уменьшает популяцию Бифидобактерий в кишечнике ребенка, она противоречит открытиям в настоящей заявке. Кроме того, в ссылке нет указаний на то, что PDX увеличивает продукцию ацетата и уменьшает продукцию бутирата, а также уменьшает скорость ферментации пребиотиков в кишечнике детей.

Согласно настоящему изобретению терапевтически эффективное количество PDX вводится ребенку для того, чтобы имитировать функциональные особенности олигосахаридов человеческого грудного молока. Терапевтически эффективное количество PDX может составлять от 1.0 г/л и 10.0 г/л и вводиться ежедневно. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX может составлять от 2.0 г/л до 8.0 г/л и вводиться ежедневно.

PDX является коммерчески доступной и поставляется многими компаниями. Например, STA-LITE® PDX поставляется в 5 фунтовых пакетах компанией Honeyville Grain, Inc., расположенной в Солт-Лейк-Сити, УТ. Альтернативно, Litesse® Ultra™ PDX поставляется компанией Danisco Sweeteners, Ltd., Великобритания.

PDX подходит для включения в молочные смеси, поскольку содержит только 1 ккал/г по сравнению с 4 ккал/1 г обычных пребиотиков. Она также является хорошо растворимой и обладает нейтральным вкусом. Поэтому при включении в молочную смесь она не будет изменять физических и вкусовых свойств композиции.

Способ введения PDX не является принципиальным, если вводится ее терапевтически эффективное количество. Обычно PDX включают в молочную смесь, которой потом кормят ребенка.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения молочная смесь, используемая в соответствии с настоящим изобретением, является сбалансированной по питательным веществам и содержит подходящие типы жиров, углеводов, белков, витаминов и минералов в нужных количествах. Количество липидов или жиров может варьировать от 3 до 7 г/100 ккал. Количество белков обычно варьирует от 1 до 5 г/100 ккал. Количество углеводов обычно варьирует

от 8 до 12 г/100 ккал. Источниками протеинов могут быть любые известные источники, например обезжиренное молоко, молочная сыворотка, казеин, соевый белок, гидролизированный белок, аминокислоты и т.п. Источниками углеводов могут быть любые известные источники, например лактоза, глюкоза, кукурузный сироп, мальтодекстрины, сахароза, крахмал, рисовый сироп и т.п. Источниками липидов могут быть любые известные источники, включая овощные масла, такие как пальмовое масло, соевое масло, пальмоелин, кокосовое масло, масло триглицеридов средних цепей, высокоолеиновое подсолнечное масло, высокоолеиновое сафлоровое масло и т.п.

Обычно используются коммерчески доступные детские молочные смеси. Например, Enfamil®, Enfamil® Premature Foremula, Enfamil® с железом, Lactofree®, Nutramigen®, Pregestimil® и ProSobee® (производимые компанией Mead Johnson & Company, Evansville, IN, U.S.A) могут быть обогащены LGG в подходящем количестве для реализации способа, заявленного в соответствии с настоящим изобретением.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения PDX может вводиться в комбинации с другими пребиотиками. Пребиотиком может быть любой известный пребиотик. Примерами таких пребиотиков являются, без ограничений указанными, FOS, инулин, глико-олигосахарид, GOS, изомальто-олигосахарид, ксило-олигосахарид, олигосахариды соевых бобов, хито-олигосахарид, гентио-олигосахарид, манно-олигосахарид, LOS, лактосахароза, раффиноза, арибино-олигосахарид, гликаны, сиалил-олигосахарид и фуко-олигосахарид.

Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения PDX вводится в комбинации с GOS. GOS представляет собой смесь олигосахаридов, включающих D-глюкозу и D-галактозу. Иногда он обозначается термином транс-галакто-олигосахарид. Его получают из D-лактозы при помощи фермента β -галактозидазы, который может быть выделен из грибов рода *Aspergillus oryzae*. Предполагается, что GOS увеличивает абсорбцию кальция и препятствует потере костной ткани у взрослых. В заявке на патент США №20030072865 (Bindles) GOS описывается как пребиотик, полезный для введения детям.

В данном варианте осуществления настоящего изобретения PDX и GOS могут вводиться в соотношении PDX:GOS, приблизительно, от 9:1 до 1:9. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:GOS находится в пределах от 5:1 до 1:5. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:GOS находится в пределах, приблизительно, от 1:3 до 3:1. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:GOS составляет, приблизительно, 5:5. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:GOS составляет, приблизительно, 8:2.

Терапевтически эффективное количество комбинации PDX:GOS составляет, приблизительно, от 1.0 г/л до 10.0 г/л и вводится ежедневно. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX:GOS составляет, приблизительно, от 2.0 г/л до 8.0 г/л и вводится ежедневно. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество комбинации PDX:GOS может составлять 2 г/л PDX и 2 г/л GOS и вводится ежедневно.

Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения PDX вводится в комбинации с LOS. LOS представляет собой полусинтетический

олигосахарид, сформированный D-галактозой и D-фруктозой, которые соединены β-гликозидной связью. Он устойчив к гидролизу пищеварительными ферментами человека, но ферментируется в тонком кишечнике. Он является высокорастворимым и обладает сладким вкусом. В заявке на патент США №20030072865 (Bindles) LOS описывается как пребиотик, полезный для введения детям. LOS является коммерчески доступным и поставляется различными компаниями.

Согласно данному варианту осуществления настоящего изобретения PDX и LOS могут вводиться в соотношении PDX:LOS, приблизительно, от 9:1 до 1:9. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения, соотношение PDX:LOS находится в пределах от 5:1 до 1:5. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:LOS находится в пределах, приблизительно, от 1:3 до 3:1. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:LOS составляет, приблизительно, 5:5. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:LOS составляет, приблизительно, 8:2.

Терапевтически эффективное количество комбинации PDX:LOS составляет, приблизительно, от 1.0 г/л до 10.0 г/л и вводится ежедневно. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX:LOS составляет, приблизительно, от 2.0 г/л до 8.0 г/л и вводится ежедневно. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество комбинации PDX:LOS может составлять 2 г/л PDX и 2 г/л LOS и вводится ежедневно.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения PDX вводится в комбинации с GOS и LOS. Согласно данному варианту осуществления настоящего изобретения комбинация PDX:GOS:LOS может вводиться в соотношении приблизительно 50:33:17. Альтернативно, соотношение PDX:GOS:LOS может составлять 1:1:1. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение PDX:GOS:LOS может составлять 1:1.5:1.

Терапевтически эффективное количество PDX:GOS:LOS комбинации может составлять, приблизительно, от 1.0 г/л до 10.0 г/л и вводится ежедневно. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX:GOS:LOS комбинации может составлять, приблизительно, от 2.0 г/л до 8.0 г/л и вводится ежедневно. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX:GOS:LOS комбинации может составлять, приблизительно, 2 г/л PDX, 2 г/л GOS и 2 г/л LOS и вводится ежедневно. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX:GOS:LOS комбинации может составлять, приблизительно, 2 г/л PDX, 1.32 г/л GOS и 2.6 г/л LOS и вводится ежедневно. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения терапевтически эффективное количество PDX:GOS:LOS комбинации может составлять, приблизительно, 4 г/л PDX, 2.64 г/л GOS и 3.6 г/л LOS и вводится ежедневно.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения PDX может вводиться грудному ребенку в комбинации с одним или несколькими пробиотиками. Согласно данному варианту осуществления настоящего изобретения может использоваться любой известный пробиотик. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения пробиотик выбран из группы, включающей *Bifidobacterium spp.* или *Lactobacillus spp.* Согласно одному варианту

осуществления настоящего изобретения пробиотиком является *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG). Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения пробиотиком является *Bifidobacterium lactis*. Согласно специфическому варианту осуществления настоящего изобретения пробиотиком является *Bifidobacterium lactis* Bb-12, предоставляемый компанией Chr. Hansen. Biosystems, расположенной Милуоки, WI.

Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения молочная смесь может содержать другие активные ингредиенты, такие как длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты (LCPUFA). К подходящим LCPUFAs относятся, без ограничений указанными, α -линолевая кислота, γ -линолевая кислота, линолевая кислота, линолеиновая кислота, эйкозапентаеновая кислота (EPA), арахидоновая кислота (ARA) и докозагексаеновая кислота (DHA). Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения PDX вводится в комбинации с DHA.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения PDX вводится в комбинации с ARA. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения PDX вводится в комбинации с DHA и ARA. Коммерчески доступные молочные смеси, содержащие DHA, ARA или их комбинации, могут быть обогащены PDX и использоваться в соответствии с настоящим изобретением. Например, молочная смесь Enfamil® LIPIL®, которая содержит эффективное количество DHA и ARA, является коммерчески доступной и может быть обогащена LGG и использоваться в соответствии с настоящим изобретением.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения в комбинации с PDX вводится как DHA, так и ARA. В таком случае весовое соотношение ARA:DHA обычно составляет от 1:3 до 9:1. Альтернативно, указанное соотношение может составлять от 1:2 до, приблизительно, 4:1. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения соотношение может составлять от 2:3 до 2:1. Согласно одному определенному варианту осуществления настоящего изобретения указанное соотношение составляет 2:1.

Эффективное количество DHA, согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения, составляет от 3 мг на 1 кг массы тела в день до, приблизительно, 150 мг на 1 кг массы тела в день. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения указанное количество находится в пределах от 6 мг на 1 кг массы тела в день до 100 мг на 1 кг массы тела в день. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения указанное количество варьирует от 10 мг на 1 кг массы тела в день до приблизительно 60 мг на 1 кг массы тела в день. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения указанное количество составляет от 15 мг на 1 кг массы тела до 30 мг на 1 кг массы тела в день.

Эффективное количество ARA, согласно одному из вариантов осуществления настоящего изобретения, составляет, обычно, от 5 мг на 1 кг массы тела в день до 150 мг на 1 кг массы тела в день. Согласно одному варианту осуществления данного изобретения данное количество варьирует от 10 мг на 1 кг массы тела в день до 120 мг на 1 кг массы тела в день. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения указанное количество находится в пределах от 15 мг на 1 кг массы тела в день до 90 мг на 1 кг массы тела в день. Согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения данное количество составляет от 20 мг на 1 кг массы тела в день до 60 мг на 1 кг массы тела в день.

Количество DHA в молочных смесях, используемых в соответствии с настоящим

изобретением, обычно варьирует от 5 мг/100 ккал до 80 мг/100 ккал. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения оно составляет от 10 мг/100 ккал до, приблизительно, 50 мг/100 ккал; согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения оно варьирует от 15 мг/100 ккал до 20 мг/100 ккал. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения количество ДНА составляет приблизительно 17 мг/100 ккал.

Количество АРА в молочных смесях, используемых в соответствии с настоящим изобретением, обычно варьирует от 10 мг/100 ккал до, приблизительно, 100 мг/100 ккал. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения количество АРА варьирует от 15 мг/100 ккал до, приблизительно, 70 мг/100 ккал. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения количество АРА составляет от 20 мг/100 ккал до, приблизительно, 40 мг/100 ккал. Согласно определенному варианту осуществления настоящего изобретения количество АРА составляет, приблизительно, 34 мг/100 ккал.

Молочная смесь, обогащенная маслами, содержащими ДНА и АРА, используемая в соответствии с настоящим изобретением, может быть получена с помощью стандартных технологий, хорошо известных специалистам в данной области.

Например, указанные соединения могут быть добавлены в формулу путем замещения эквивалентного количества масла, такого как подсолнечное масло с высоким содержанием олеиновых кислот, обычно присутствующее в такой смеси. Или же, например, масла, содержащие ДНА и АРА, могут быть добавлены в формулу путем замещения эквивалентного количества всех оставшихся жиров, которые обычно присутствуют в смесях, не включающих ДНА и АРА.

Источниками ДНА и АРА могут быть любые известные источники. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения источниками ДНА и АРА являются одноцепочечные масла, как описано в патентах США номер 5374567, 5550156 и 5397591, которые включены в настоящее изобретение в качестве ссылок. Однако настоящее изобретение не ограничивается только указанными маслами. ДНА и АРА могут быть природными или синтетическими.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения источник почти полностью очищен от ЕРА. Например, согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения молочная смесь содержит менее 16 мг ЕРА/100 ккал; согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения - менее 10 мг ЕРА/100 ккал; согласно еще одному варианту осуществления настоящего изобретения - менее 5 мг ЕРА/100 ккал. Согласно одному особенному варианту осуществления настоящего изобретения молочная смесь не содержит ЕРА. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения молочная смесь не содержит ЕРА, даже в следовых количествах.

Молочные смеси, заявленные в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены при помощи стандартных технологий, хорошо известных специалистам в данной области. Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения используют PDX в форме порошка. Указанный порошок может быть смешан с водой и с другими ингредиентами молочной смеси в специальном резервуаре. GOS и/или LOS для включения в молочные смеси могут быть как в жидкой форме, так и в форме порошка. Смесь может быть пастеризована, гомогенизирована и высушена распылением для получения конечного порошка или же законсервирована для получения жидкости.

Альтернативно, пребиотик, заявленный в соответствии с настоящим

изобретением, может вводиться в качестве дополнительной пищевой добавки, а не в составе молочной смеси, а отдельно. Например, PDX может входить в состав таблеток, пилюль, капсул, порошка, раствора или геля. Согласно данному варианту осуществления настоящего изобретения PDX в составе пищевых добавок может
5 вводиться в комбинации с другими питательными веществами, такими как витамины, или в комбинации с LCPUFA, такими как DHA или ARA.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения PDX, заявленная в соответствии с настоящим изобретением, также может быть
10 представлена в форме, подходящей для детей, такой как усовершенствованная пищевая форма, напиток, молоко, йогурт, фруктовый сок, фруктовый напиток, жевательная таблетка, печенье или их комбинация.

В соответствии с настоящим изобретением грудной ребенок находится на искусственном вскармливании. В соответствии с одним вариантом осуществления
15 настоящего изобретения ребенок находится на искусственном вскармливании с рождения. Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения грудной ребенок находится на грудном вскармливании с момента рождения до возраста менее года, после чего переводится на искусственное вскармливание
20 молочными смесями, обогащенными PDX.

Олигосахариды грудного молока могут увеличивать популяцию и улучшать видовой состав благотворных бактерий в кишечнике, создавать SCFA профиль с высоким содержанием ацетата и низким содержанием бутирата, при этом они
медленно ферментируются, что позволяет избежать избыточного газообразования.

В представленных ниже примерах показано, что введение PDX, отдельно или в комбинации с другими пребиотиками, может использоваться для увеличения популяции и улучшения видового состава благотворных бактерий в кишечнике
25 детей, позволяет сдвинуть SCFA профиль в сторону образования ацетата и пропионата, ограничить образование бутирата и замедлить скорость ферментации в
30 кишечнике, снизить избыточное газообразование и свести к минимуму ощущение дискомфорта у грудного ребенка. Следовательно, введение PDX, отдельно или в комбинации с одним или более пробиотиком, позволяет сымитировать
35 функциональные особенности олигосахаридов человеческого грудного молока у детей на искусственном вскармливании.

В представленных ниже примерах описаны некоторые варианты осуществления настоящего изобретения. Другие варианты осуществления настоящего изобретения, в пределах представленной ниже формулы изобретения, будут очевидны
40 специалистам в данной области. Подразумевается, что специфические варианты осуществления настоящего изобретения, а также примеры их реализации, представлены исключительно с целью иллюстрации и лучшего понимания
настоящего изобретения и находятся в пределах представленной ниже формулы изобретения без ограничения его объема и сущности. Во всех представленных ниже
45 примерах, если дополнительно не оговаривается иное, все данные выражены в процентах от массы.

Пример 1

В данном примере описывается *in vitro* модель фекальной ферментации, которая
50 используется в настоящем изобретении. Указанная *in vitro* модель фекальной ферментации имитирует функцию кишечной микрофлоры у детей. Во время ферментации происходит расщепление углеводов и образование SCFA и газов. После ферментации может быть осуществлен анализ влияния пребиотиков на

популяцию и видовой состав микроорганизмов.

Отдельные углеводы, которые изучались в данном примере, представлены ниже в Таблице 1.

Отдельные углеводороды		Таблица 1
5	GOS: Vivinal GOS: Deb. No. 00026961 Borculo Domo Ingredients; полученный 09/17/02; степень очистки 95.1%	
	LOS: Morinaga ангидрид лактулозы: MLC-A(F), Lot. No. FRDL020926; Morinaga Milk Industry Co. Ltd; полученный 10/4/02, степень очистки 97%	
10	PDX: Sta-Lite III PDX: Lot. No. DZ2K0351913; A.E. Staley	
	FOS: Raftilose P95 Фрукто-олигосахариды: Lot. No. PCAB022B02; Raffinerie Notre-Dame/Orafti	
	SA; полученный 9/6/02; степень очистки 95.1%	
	PDX2: Litessef@Ultra™ PDX: полимер с высокой молекулярной массой, max 22 000 MW; Danisco; Lot. No. V360201	
	INU: Raftiline® HP: длинноцепочечный инулин DP> 23 (Lot no: hptohl lohl; Orafti B.V.; полученный в октябре 2002; D.S. 96.9%, инулин 99.9%, Сахароза + Фруктоза + Глюкоза 0.1%)	

15 Образцы фекалий собирают у здоровых детей в возрасте 2.5-13 месяцев. Создают пять экспериментальных групп с использованием различных комбинаций пребиотических углеводов в каждой группе. Двенадцать детей формируют Группу 1 и 2, 17 детей отбирают для Группы 3, 19 детей - для Группы 4 и 23 малыша для Группы 5. В группах 1-3 только от пяти детей удалось получить подходящие образцы. Возраст детей, отобранных в Группу 1 для изучения ферментации, составлял 4, 4, 4, 6, 6, 6, 8, 8, 9, 9, 9 и 10 месяцев, в Группу 2 - 3, 4, 6, 6, 6, 7, 8, 9, 10, 10, 12 и 13 месяцев, в Группу 3 - 2, 2.5, 3, 4, 4, 4, 4.5, 5, 5, 5, 6, 6, 6, 9, 9, 10, 10 и 11 месяцев. Возраст детей, образцы фекалий которых использовались в исследовании, в Группе 1 составлял: 6, 8, 9, 9, 9 месяцев; в Группе 2 - 4, 8, 10, 12 и 13 месяцев; и в Группе 3 - 2.5, 5, 6, 10, 11 месяцев. В Группе 4 только от 10 детей (у каждого берут образцы дважды) удалось получить подходящие образцы. Возраст детей в Группе 4 составлял 2, 2.5, 4, 5, 7, 9, 9, 10, 11 и 15 месяцев. В Группе 5 образцы удалось 20 25 30 35

получить от двенадцати детей, при этом были отобраны самые маленькие дети. Таким образом, возраст малышей составил 5, 6, 6.5 и 6.5 месяцев. Ферментацию фекалий *in vitro* осуществляют при помощи способа, описанного у Karppinen, ссылка включена в настоящее изобретение во всей своей полноте. Karppinen S., et al., In Vitro Fermentation of Polysaccharides of Rye, Wheat, and Oat Brans and Inulin by Human Faecal Bacteria, J. Sci. Food Agric. 80: 1469-76 (2000).

В данном исследовании, 100 мг образцов углевода отвешивают в 50 мл колбы и гидратируют при помощи 2 мл углеводно-фосфатного буфера при pH 6.9. Образцы содержат в анаэробных условиях при 5°C в течение ночи до получения прививочного материала. Фекальную массу (12.5% вес/объем) получают в строгих анаэробных условиях в том же буфере, обрабатывая свежие фекалии ребенка. Отмеряют восемь миллилитров суспензии для получения образцов, колбы закрывают и помещают в анаэробную камеру до получения конечной концентрации фекальной смеси 10% (вес/объем). Образцы инкубируют при 37°C в течение 1, 2, 4, 8 или 24 часов. 0-часовые образцы приготавливают аналогично в пробирках для центрифугирования и быстро замораживают при помощи жидкого азота. Образцы фекалий без добавления углеводов также изучают в каждый этап исследования.

Ферментацию завершают, удаляя колбы с водяной бани и помещая их на лед, непосредственно перед измерением количества газа, затем образцы переносят в комнатную температуру для немедленного отбора образцов. Измеряют объем газа и образец газа (5 мл) переносят в содержащую азот колбу. Колбу помещают на лед после отбора образцов. Ферментационный образец переносят в пробирку для

центрифугирования, измеряют рН и аликвоту (2 мл), из смеси отбирают для SCFA анализа и быстро замораживают жидким азотом.

Пример 2

В данном примере иллюстрируются материалы и методы, необходимые для определения эффективности полидекстрозы как пребиотика у детей на искусственном вскармливании. Специфически, в данном примере описываются материалы и методы, необходимые для анализа SCFAs и газов.

SCFAs экстрагируют диэтиловым эфиром и анализируют при помощи газовой хроматографии, как описано у Karppinen, et al., данный источник включен в настоящее изобретение в качестве ссылки. Karppinen S., et al., *In Vitro Fermentation of Polysaccharides of Rye, Wheat, and Oat Brans and Inulin by Human Faecal Bacteria*, J. Sci. Food. Agric. 80: 1469-76 (2000). Газы (водород, углекислый газ, метан, дисульфид водорода и кислород, как количественный контроль) анализируют изотермически при 30°C с использованием статического пространства над жидкостью и газовой хроматографии по методике Karppinen, et al. Id.

Пример 3

В данном примере иллюстрируется эффект PDX на *in vitro* SCFA профиль, создаваемый микрофлорой кишечника грудного ребенка. На фиг.1 и 2 показано, что скорость ферментации различается для различных пребиотиков. Общая продукция SCFA (суммарно для уксусной, пропионовой и масляной кислот) показана на фиг.1. Уменьшение рН, показанное на фиг.2, также является индикатором продукции SCFA.

Как показано на фигурах, PDX2 является медленно ферментируемым углеводом, в то время как FOS, GOS и LOS ферментируются быстро и полностью. Скорость ферментации PDX2 сравнима со скоростью ферментации диетических злаковых волокон. PDX2 не только ферментируется с низкой первичной скоростью, но и продолжительность ее ферментации незначительно превышает продолжительность ферментации образца фекалий. Альтернативно, скорость ферментации FOS настолько высока, что он практически полностью потребляется в течение первого этапа отбора образцов и при его расщеплении выделяется наибольшее количество SCFAs по сравнению с другими пребиотиками.

Как показано на фиг.3-5, ферментация PDX2 сопровождается наибольшей продукцией пропионата и наименьшей продукцией бутирата через 24 часа. Продукция ацетата также остается на самом высоком уровне во время ферментации PDX, хотя первичная скорость его продукции гораздо ниже, чем у других субстратов. Первичная скорость продукции пропионата при ферментации PDX2 аналогична скорости продукции других субстратов, однако на момент завершения ферментации его количество оказывается наибольшим. В противоположность этому, при ферментации FOS, GOS и LOS образуются высокие концентрации ацетата и бутирата и незначительное количество пропионата. В результате комбинированная объединенная пропорция ацетата и пропионата для PDX2 существенно выше, чем для FOS, LOS или GOS. Эти результаты показаны на фиг.6. Данные результаты показывают, что при ферментации PDX образуется наименьшее количество бутирата, кроме того, это единственный субстрат, позволяющий увеличить относительную пропорцию пропионата.

Полученные результаты соответствуют результатам *in vitro* исследования, проведенного Wang, X. & Gibson, G.R., *Effects of the In Vitro Fermentation of Oligofructose and Inulin by Bacteria Growing in the Human Large Intestine*, J. Appl. Bacteriol.

75: 373-380 (1993), в котором фекальные массы взрослых доноров используют для изучения ферментации различных углеводов. Однако высокая продукция пропионата при ферментации PDX *in vitro* не была подтверждена в *in vivo* клиническом исследовании на взрослых китайцах, Jie, Z., et al., Studies on the Effects of Polydextrose Intake on Physiological Functions in Chinese People, Am. J. Clin. Nutr. 72: 1503-09 (2000), в котором было показано, что PDX в трех различных концентрациях может увеличивать уровни бутирата и ацетата, но не пропорциональное содержание пропионата. Также было показано, что у крыс, которым вводили фекальную микрофлору человека, наблюдается высокая продукция бутирата из GOS (Djouzi, Z., et al., Compared Effects of Three Oligosaccharides on Metabolism of Intestinal Microflora in Rats Inoculated with a Human Faecal Flora, Br. J. Nutr. 78:313-24 (1997).

Пример 4

В данном примере иллюстрируется эффект различных комбинаций пребиотиков на скорость ферментации кишечной микрофлорой ребенка *in vitro*. Различные комбинации пребиотических углеводов выбирают для того, чтобы достичь желаемой скорости микробной ферментации *in vitro*. В данном примере сравнивается скорость ферментации (общая продукция SCFA) и изменения pH различных субстратных комбинаций, как показано на фиг.7-8.

Добавление PDX к композиции GOS замедляет скорость ферментации, что подтверждается измерением общей продукции SCFA (фиг.7). Аналогично, добавление PDX к композиции LOS также замедляет скорость ферментации комбинации. Добавление PDX к LOS или GOS также приводит к более умеренному понижению pH, как показано на фиг.8. Такая замедленная скорость окисления стула может приводить к меньшему раздражению слизистой толстого кишечника или прямой кишки, улучшая толерантность грудного ребенка. Более медленное понижение pH за счет PDX не противоречит более медленной продукции SCFA и общей скорости ферментации *in vitro* по сравнению с GOS и LOS. Полученные результаты показывают, что PDX может использоваться для уменьшения скорости ферментации смеси PDX и традиционных пребиотиков, таких как GOS и LOS.

Также изучают эффект соотношения PDX: GOS в смеси на общую продукцию SCFA, ацетата, пропионата и бутирата (фиг.9-12). На фиг.9 показано, комбинация PDX и GOS в соотношении 8:2 приводит к более выраженному замедлению скорости продукции SCFA, чем указанная комбинация в соотношении 5:5 или 1:9. Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что более высокое содержание PDX в смеси PDX:GOS приводит к замедлению скорости ферментации *in vitro*. Добавление PDX к GOS также способствует увеличению продукции ацетата и бутирата, однако, оказывает незначительное влияние на общую скорость продукции пропионата и его конечное количество.

Пример 5

В данном примере иллюстрируется эффект PDX на продукцию газа кишечной микрофлорой ребенка *in vitro*. Общая продукция газа, измеренная как общий его объем в колбе для ферментации, была примерно эквивалентна для GOS, LOS и FOS, как показано на фиг.13. В противоположность этому, использование PDX приводит к продукции меньшего количества газа в целом во время ферментации кишечной бактериальной микрофлорой ребенка. Меньшая продукция газа, которая наблюдается при использовании PDX, также свидетельствует о более медленной скорости ферментации PDX по сравнению с другими пребиотиками.

Помимо общего газообразования продукция углекислого газа является важным

показателем, определяющим толерантность грудных детей к диетическим пребиотикам. Для всех тестируемых пребиотиков основным изучаемым побочным продуктом является углекислый газ. Он образуется в количестве в 3 - и 44-76 раз

5 В целом, образование углекислого газа при ферментации PDX было наименьшим, по сравнению с FOS, GOS и LOS (фиг.14). Углекислый газ является основным газом, который образуется при ферментации FOS, GOS и LOS, максимальное его количество находится в пределах 320-380 мкмоль. В противоположность этому, при

10 ферментации PDX образуется меньшее количество углекислого газа (220 мкмоль). Количество водорода, образующегося при ферментации PDX кишечной микрофлорой ребенка, было меньше (приблизительно на одну треть), чем количество образующегося углекислого газа, и существенно меньше, чем количество водорода, образующееся при ферментации FOS, GOS и LOS (фиг.15).

15 Продукция дисульфида водорода при ферментации PDX составляла 1:44 по сравнению с продукцией углекислого газа, а максимальная продукция дисульфида водорода оставалась на одном уровне для всех тестируемых пребиотиков (фиг.16). Наибольшая продукция углекислого газа по сравнению с продукцией

20 водорода (1000-кратная) и метана (10-кратная) также была показана в экспериментах Wang и Gibson. Wang & Gibson, G.R., Effects of the In Vitro Fermentation of Oligofructose and Inulin by Bacteria Growing in the Human Large Intestine, J. Appl. Bacterial. 75: 373-380 (1993). Поскольку в настоящем исследовании не была отмечена продукция метана, дисульфид водорода образуется, по видимому, из первичного

25 водорода. Levitt, et al., Gas Metabolism in the Large Intestine, CRC Press, Boca Raton 131-154 (1995). Возможно, водород не определяется по причине его дополнительного метаболизма во вторичный газ, дисульфид водорода, на более поздних этапах анализа.

30 Пример 6

В данном примере иллюстрируются материалы и методы, необходимые для определения эффекта PDX на популяцию и видовой состав микроорганизмов в толстом кишечнике грудного ребенка. Вкратце, в данном примере используется модель кишечника ребенка для изучения определенных пребиотических соединений.

35 Используемая *in vitro* модель кишечника грудного ребенка, созданная на основе модели кишечника взрослого человека, состоит из двух стеклянных сосудов объемом 100 мл, расположенных в такой последовательности, которая воспроизводит проксимальный и дистальный отделы кишечника. Пассажи пищи

40 поддерживают на скорости, которая соответствует наименьшему времени прохождения пищи по кишечнику грудного ребенка, по сравнению с кишечником взрослого человека. В *in vivo* модели рН различается в разных отделах кишечника, рН в сосуде 1 (V1) поддерживают на уровне 5.2, а в сосуде 2 (V2) поддерживают на уровне 6.7. Температуру поддерживают на уровне 37°C при помощи циркулирующей

45 водяной бани. Сосуды, содержащие пищу и культуру, перемешивают магнитной мешалкой и содержат в анаэробной атмосфере с притоком азота, свободного от кислорода (15 мл/мин).

После введения в систему фекальной массы ребенка два сосуда оставляют на 24

50 часа в периодическом режиме. Это позволяет популяции бактерий адаптироваться к окружающим условиям и увеличить свою плотность. Затем включают подачу пищевых субстратов, а ферментер включают и поддерживают режим постоянной культуры в течение всего оставшегося периода эксперимента. В данном

исследовании ферментеры работали в течение 12 дней, в течение первых 6 дней вводили молочную смесь Enfalac (Mead Johnson Nutritionals, Evansville, IN), в течение оставшихся 6 дней вводили указанную смесь и дополнительный пребиотик или комбинацию пребиотиков.

Затем из сосудов V1 и V2 в асептических условиях отбирают по 5 мл образцов для последующей процедуры независимого подсчета микробных культур при помощи флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), а также для процедуры микроскопии для идентификации и подсчета специфических бактериальных видов. Использование FISH позволяет точно определить влияние пребиотиков на популяцию специфических бактерий в проксимальном и дистальном отделах кишечника грудного ребенка.

Пребиотики добавляют в пищевую смесь по отдельности или в комбинации, до общей концентрации 7.5 г/л (0.75% вес./об). В эксперименте используют следующие олигосахариды:

Исследуемые пребиотики		
Пребиотик	Тип	Производитель
Лактулоза (LOS)	Сироп	Morinaga, Milk Ind. Co. Ltd., Japan
Галакто-олигосахарид (GOS)	E0002, порошок	Supplied by Mead Johnson
Полидекстроза (PDX)	порошок, 'Litesse Ultra'	Danisco
Фрукто-олигосахарид	порошок, Raftilose® P95	Orafti

Доноров отбирают очень тщательно, предпочтительно, ими являются здоровые грудные дети в возрасте 2-4 месяцев на искусственном вскармливании (по возможности исключительно на искусственном вскармливании), не получавшие недавно антибиотики. Возраст 2 месяцев является предпочтительным, поскольку именно в этот период времени устанавливается кишечная микрофлора.

Информация о донорах			
Код донора	Возраст	Вскармливание	Режим ферментации
KB	16 недель	SMA Gold	F1
JS	13 недель	Cow & Gate	F2
F	19 недель	SMA Gold и грудное вскармливание	F3
AE	9 ^{1/2} недель	Грудное вскармливание	F4
AE	14 недель	Грудное вскармливание	F5

Микрофлору из кишечника ребенка для тестирования ферментации получают из свежесобраных фекалий грудного ребенка. Обычно требуется образец фекалий весом, по крайней мере, 3.5 г. Образец фекалий сохраняют на пленке, которую, сразу после того как ребенок сходит в туалет, помещают в анаэробный бак с открытым анаэробным газовым контейнером. Образцы собирают и обрабатывают как можно раньше (обычно в пределах одного часа).

В лаборатории фекалии удаляют с пленок и взвешивают. 10% от фекальной массы (вес./об.) гомогенизируют в бескислородном и предварительно нагретом (в течение ночи в анаэробной камере) 1х растворе PBS, при помощи гомогенизатора при средней скорости в течение 120 секунд.

В каждый ферментационный сосуд вводят 5 мл 10% вес./об. фекальной суспензии. Аликвотное количество фекальной суспензии (образец S) также отбирают для анализа.

Для подсчета бактерий при помощи FISH требуется два образца фекальной

суспензии объемом 375 мкл (образец S) и два образца из каждого ферментационного сосуда. Каждый образец фиксируют при помощи тщательного перемешивания в 1.125 мл ледяном, фильтрованном 4% (вес./объем) растворе параформальдегида в PBS pH 7.2 и хранят при 4°C в течение ночи (или в течение, по крайней мере, 4 часов).

Фиксированный образец центрифугируют при 13000 оборотах в течение 5 минут, после чего удаляют супернатант. Планшет дважды отмывают путем ресуспендирования в 1 мл ледяного, фильтрованного 1xPBS, каждый раз клетки осаждают центрифугированием и удаляют супернатант. В конце планшет тщательно ресуспендируют в 150 мкл фильтрованного PBS; 150 мкл 96% (об/об) этанола затем добавляют в лунки. Препарат клеток хранят при -20°C в течение, по крайней мере, 1 часа перед дальнейшей обработкой.

На этапе гибридизации 16 мкл клеточного препарата (доведенного до температуры окружающей среды) смешивают с 200 мкл фильтрованного, предварительно нагретого 2x буфера для гибридизации (30.3 mM Tris-HCl pH 7.2, 1.4 mM NaCl), содержащего 15.1 мл/л 10% (вес./об.) SDS. Полученную смесь затем нагревают до необходимой для гибридизации температуры, после чего перемешивают с пробой (50 нг/мкл) в соотношении 9:1, соответственно. Гибридизационный препарат затем снова помещают в печь для гибридизации и инкубируют в течение ночи.

В итоге гибридизованные клеточные препараты собирают в 0.2 мкм фильтры для микроскопического исследования. В зависимости от плотности клеток, от 5 мкл до 100 мкл клеточного препарата добавляют к фильтрованному, предварительно нагретому (до температуры гибридизации) отмывающему буферу (5-7 мл 20 mM Tris-HCl pH 7.2, 0.9 NaCl). 20 мкл DAPI (4', 6-диамидино-2-фенилиндол) также добавляют к смеси для окрашивания всех клеток и получения общего числа клеток в каждом образце. Полученную смесь затем фильтруют через вакуумный 0.2 м поликарбонатный фильтр и помещают на предметное стекло. Чтобы избежать выцветания флуоресцентного красителя, каплю раствора SlowFade™ (Molecular Probes) помещают на фильтр, которые затем покрывают защитной пленкой; стекла затем хранят в темноте при 4°C. Бактерии, меченные Cy3 флуоресцентным зондом, подсчитывают при помощи флуоресцентной микроскопии (Leitz, Wetzlar, Germany) при 550 нм; для подсчета бактерий, окрашенных DAPI, используют ультрафиолетовое облучение. Бактерии подсчитывают, по крайней мере, в 15 полях, выбранных случайно, среднее полученное число используют для определения количества клеток на мл в исходных образцах. Осуществляют 4 сравнительных тестов ферментации, как показано ниже.

Таблица 4		
Циклы ферментации		
Циклы ферментации	Тестируемые соединения	
F1	FOS	
F2	Человеческое грудное молоко	PDX
F3	GOS	
F4	1:1 LOS:GOS	1:1 PDX:LOS
F5	LOS	1:1 PDX:GOS

Пример 7

В данном примере демонстрируется влияние PDX на популяцию и видовой состав бактерий в кишечнике ребенка. В первом цикле ферментации (F1) FOS добавляют к

молочной смеси и полученную смесь помещают в ферментационную систему. Добавление FOS, который традиционно считается хорошим пребиотическим агентом, приводит к увеличению бактерий рода *Bifidobacteria* и *Clostridia* и уменьшению бактерий рода *Lactobacilli* и *Bacteroides* в V1. Добавление FOS к
5 молочной смеси не влияет на количество бактерий рода *Bifidobacteria* и *Lactobacilli*, но увеличивает количество бактерий *Clostridia* и *Bacteroides* в V2.

Во время второго цикла F2, PDX и грудное молоко ферментируют в двух параллельных ферментационных системах. Образцы грудного молока получают от
10 кормящих женщин и хранят замороженными. Они представляют собой образцы раннего молока различного объема от нескольких доноров. Грудное молоко прогоняют в системе без разведения и дополнительного добавления лактозы, для того, чтобы поддерживать сравнимые уровни олигосахаридов и других питательных веществ. Для того, чтобы осуществлять цикл ферментации в течение 12 дней,
15 параллельно с PDX, имевшегося количества молока было недостаточно. Следовательно, образцы молока берут чаще, на 0, 4, 6 и 8 день. Для сравнительных целей, дополнительные образцы из PDX-ферментера на 8 и 11 день.

Как и ожидалось, грудное молоко обеспечивает хороший рост благотворных
20 бактерий, как *Bifidobacteria*, так и *Lactobacilli*, понижает уровень *Clostridia*, как показано на фиг.17. Популяции *Bifidobacteria* и *Lactobacilli* явно увеличивались в обоих сосудах. Уровень *Bacteroides* оставался неизменным в течение всего процесса ферментации.

Результаты добавления PDX к молочной смеси также оказались благоприятными,
25 со значительным увеличением количества бактерий рода *Lactobacilli* и уменьшением количества бактерий рода *Clostridia* и *Bacteroides* в обоих сосудах (фиг.17).

В третьем цикле F3 к молочной смеси добавляют GOS и пропускают через ферментационную систему. Добавление GOS к молочной смеси оказывает
30 незначительный эффект на популяцию бактерий рода *Lactobacilli* в каждом сосуде, но увеличивает популяцию бактерий рода *Bifidobacteria* в V1 и V2 и уменьшает количество бактерий рода *Clostridia* и *Bacteroides* в V1, но не в V2.

Комбинацию LOS:GOS (1:1) пропускают через ферментационную систему параллельно с комбинацией PDX:LOS в цикле F4. Комбинация LOS:GOS эффективно
35 увеличивает количество *Lactobacilli* в обоих сосудах, а *Bifidobacteria* в V1, и уменьшает популяцию *Bacteroides* в V1. Количество бактерий рода *Clostridia* уменьшалось в V2, но увеличивалось в V1.

Обогащение молочной смеси комбинацией PDX:LOS в соотношении 1:1 приводит
40 к увеличению популяции *Lactobacilli* в V1, но к незначительному уменьшению популяции *Bifidobacteria* в каждом сосуде. Отмечалась тенденция к уменьшению количества *Clostridia* в обоих сосудах, при этом количество *Bacteroides* уменьшалось только в V2.

В цикле F5 молочную смесь обогащают LOS и пропускают в ферментационной
45 системе параллельно с комбинацией PDX:GOS в соотношении 1:1. Добавление LOS к молочной смеси приводит к увеличению *Lactobacilli* в обоих сосудах. Однако отмечалось также увеличение *Clostridia* в V2 и уменьшение *Bifidobacteria* в обоих сосудах. Несмотря на уменьшения количества *Bacteroides* в V1, этого не наблюдалось
50 в V2. Добавление комбинации PDX: GOS к молочной смеси приводит к увеличению популяции *Bifidobacteria* и *Lactobacilli* в обоих сосудах и к уменьшению популяции *Clostridia*. Уровень *Bacteroides* увеличивался только в V2.

В целом, популяция *Bifidobacteria* увеличивалась пропорционально увеличению

общей бактериальной популяции в V1 при добавлении грудного молока, GOS, FOS, PDX и комбинации PDX:GOS. В V2 добавление GOS, комбинации PDX:GOS и комбинации LOS:GOS привело к уменьшению популяции Bifidobacteria. Количество бактерий рода Clostridia уменьшалось пропорционально с уменьшением общей бактериальной популяции в V1 при добавлении грудного молока, GOS и PDX, а в V2 при добавлении грудного молока, PDX и комбинации LOS:GOS.

В V1 отмечалось увеличение популяции Lactobacilli после обогащения LOS, PDX, грудного молока или PDX комбинаций, а в V2 увеличение популяции Lactobacilli отмечалось после добавления LOS, PDX, грудного молока и комбинаций GOS. Особенное увеличение процентного содержания Lactobacilli отмечалось при добавлении PDX и комбинации PDX:GOS и комбинации LOS:GOS в V2.

Таким образом, PDX эффективно увеличивает популяцию Lactobacilli и уменьшает количество Clostridia и Bacteroides, незначительно увеличивает популяцию Bacteroides в V1. Комбинация PDX:GOS также является благоприятной для Bifidobacteria, чья популяция увеличивалась среди общего бактериального состава (хотя и не в проценте от всех четырех групп), уменьшает количество Lactobacilli при pH 5.2, но оказывает неблагоприятное воздействие на увеличение числа Bacteroides.

При изучении грудного молока в системе, созданной авторами настоящего изобретения, было отмечено увеличение числа Bifidobacteria и Lactobacilli и уменьшение числа Clostridia. Этот эффект повторяется и при введении PDX, GOS как по отдельности, так и в комбинации с LOS или PDX. FOS, углевод, который часто используется в различных молочных смесях, также изучался в экспериментах, но его введение не приводило к желаемым эффектам.

Пример 8

В данном варианте иллюстрируется один возможный вариант молочной смеси, заявленной в соответствии с настоящим изобретением.

Питательный состав молочной смеси		Таблица 5
Ингредиент	На 10000 литров	
Деминерализованная сухая молочная сыворотка	534.337 кг	
Смесь жиров	339.695 кг	
Обезжиренное сухое молоко	191.234 кг	
Лактоза	136.321 кг	
Галакто-олигосахарид, густой сироп	35.096 кг	
Полидекстроза	22.222 кг	
Цитрат калия	7.797 кг	
Моно и диглицериды	7.233 кг	
Одноклеточное масло арахидоновой кислоты	6.486 кг	
Фосфат кальция, трехосновной	4.185 кг	
Аскорбиновая кислота	1.403.323 г	
Аскорбат натрия	1.168.402 г	
Инозитол	407.029 г	
Таурин	402.962 г	
Сухая кукурузная патока	188.300 г	
Ниацинамид	89.857 г	
Пантотенат кальция	42.443 г	
Витамин B12	23.613 г	
Биотин, порошок	23.613 г	
Тиамин HCl	8.022 г	
Пиридоксин HCl	6.176 г	
Фолиевая кислота	2.260 г	

	Концентрат лецитина	3.694 кг
	Одноклеточное масло докозагексаеновой кислоты	3.243 кг
	Каррагенан	2.826 кг
	Хлорид кальция	2.650 кг
5	Хлорид натрия	1.410 кг
	Мальтодекстрин	484.199 г
	СМР, свободная кислота	151.951 г
	АМР, свободная кислота	33.944 г
	GMP, динатриевая соль	18.347 г
10	УМР, динатриевая соль	7.559 г
	Сульфат железа	0.620 кг
	Цитрат натрия	0.455 кг
	Токоферола ацетат, DL-альфа	160.882 г
	Соевое масло	139.612 г
	Витамин А, пальмитат	17.253 г
15	Холекальциферола концентрат	5.715 г
	Витамин К, жидкий фитонадион	0.538 г
	Сульфат цинка	214.225 г
	Селенит натрия	51.112 г
	Сульфат меди	22.885 г
20	Лактоза	12.659 г
	Сульфат марганца	3.119 г
	Вода, обезфторенная	10.311.900 кг

LOS синтезируется при нагревании лактозы до высокой температуры. Таким образом, в данном примере продукт содержит эндогенный LOS. Количество эндогенного LOS в продукте составляет приблизительно 2 г/л.

Пример 9

В данном примере иллюстрируется другой возможный вариант молочной смеси, заявленной в соответствии с настоящим изобретением.

Питательный состав молочной смеси		Таблица 6
Ингредиент	На 10000 литров	
	Деминерализованная сухая молочная сыворотка	534.337 кг
35	Смесь жиров	339.695 кг
	Обезжиренное сухое молоко	191.234 кг
	Лактоза	142.000 кг
	Галакто-олигосахарид густой сироп	23.164 кг
	Полидекстроза	22.222 кг
40	Лактулоза, густой сироп	10.353 кг
	Цитрат калия	7.797 кг
	Моно и диглицериды	7.233 кг
	Одноклеточное масло арахидоновой кислоты	6.486 кг
	Фосфат кальция, трехосновной	4.185 кг
	Аскорбиновая кислота	1.403.323 г
45	Аскорбат натрия	1.168.402 г
	Инозитол	407.029 г
	Таурин	402.962 г
	Сухая кукурузная патока	188.300 г
	Ниацинамид	89.857 г
50	Пантотенат кальция	42.443 г
	Витамин В12	23.613 г
	Биотин, порошок	23.613 г
	Тиамин НС1	8.022 г
	Пиридоксин НС1	6.176 г

	Фолиевая кислота	2.260 г
	Концентрат лецитина	3.694 кг
	Одноклеточное масло докозагексаеновой кислоты	3.243 кг
	Каррагенан	2.826 кг
5	Хлорид кальция	2.650 кг
	Хлорид натрия	1.410 кг
	Мальтодекстрин	484.199 г
	СМР, свободная кислота	151.951 г
	АМР, свободная кислота	33.944 г
10	GMP, динатриевая соль	18.347 г
	УМР, динатриевая соль	7.559 г
	Сульфат железа	0.620 кг
	Цитрат натрия	0.455 кг
	Токоферола ацетат, DL-альфа	160.882 г
	Соевое масло	139.612 г
15	Витамин А, пальмитат	17.253 г
	Холекальциферола концентрат	5.715 г
	Витамин К, жидкий фитонадион	0.538 г
	Сульфат цинка	214.225 г
	Селенит натрия	51.112 г
20	Сульфат меди	22.885 г
	Лактоза	12.659 г
	Сульфат марганца	3.119 г
	Вода, обезфторенная	10.311.900 кг

25 LOS синтезируется при нагревании лактозы до высокой температуры. Таким образом, в данном примере продукт содержит эндогенный LOS дополнительно добавленный LOS. Количество LOS как эндогенного, так и экзогенного в продукте составляет приблизительно 2.6 г/л.

Пример 10

30 В данном примере иллюстрируется еще один возможный вариант молочной смеси, заявленной в соответствии с настоящим изобретением.

Ингредиент	На 10000 литров	
35	Деминерализованная сухая молочная сыворотка	534.337 кг
	Смесь жиров	339.695 кг
	Обезжиренное сухое молоко	191.234 кг
	Лактоза	119.321 кг
	Галакто-олигосахарид густой сироп	46.327 кг
	Полидекстроза	44.444 кг
40	Лактулоза, густой сироп	20.706 кг
	Цитрат калия	7.797 кг
	Моно и диглицериды	7.233 кг
	Одноклеточное масло арахидоновой кислоты	6.486 кг
	Фосфат кальция, трехосновной	4.185 кг
45	Аскорбиновая кислота	1.403.323 г
	Аскорбат натрия	1.168.402 г
	Инозитол	407.029 г
	Таурин	402.962 г
	Сухая кукурузная патока	188.300 г
	Ниацинамид	89.857 г
50	Пантотенат кальция	42.443 г
	Витамин В12	23.613 г
	Биотин, порошок	23.613 г
	Тиамин HCl	8.022 г
	Пиридоксин HCl	6.176 г

	Фолиевая кислота	2.260 г
	Концентрат лецитина	3.694 кг
	Одноклеточное масло докозагексаеновой кислоты	3.243 кг
	Каррагенан	2.826 кг
5	Хлорид кальция	2.650 кг
	Хлорид натрия	1.410 кг
	Мальтодекстрин	484.199 г
	СМР, свободная кислота	151.951 г
	АМР, свободная кислота	33.944 г
10	GMP, динатриевая соль	18.347 г
	UMP, динатриевая соль	7.559 г
	Сульфат железа	0.620 кг
	Цитрат натрия	0.455 кг
	Токоферола ацетат, DL-альфа	160.882 г
	Соевое масло	139.612 г
15	Витамин А, пальмитат	17.253 г
	Холекальциферола концентрат	5.715 г
	Витамин К, жидкий фитонадион	0.538 г
	Сульфат цинка	214.225 г
	Селенит натрия	51.112 г
20	Сульфат меди	22.885 г
	Лактоза	12.659 г
	Сульфат марганца	3.119 г
	Вода, обезфторенная	10.325.600 кг

25 LOS синтезируется при нагревании лактозы до высокой температуры. Таким образом, в данном примере продукт содержит эндогенный LOS дополнительно добавленный LOS. Количество LOS как эндогенного, так и экзогенного в продукте составляет приблизительно 3.6 г/л.

30 Все ссылки, приведенные в данном описании, в том числе на публикации, патенты, патентные заявки, отчеты, обзоры, рукописи, тезисы, брошюры, книги, сайты Интернета, журнальные статьи, периодические издания и т.д., включены в описание исключительно в качестве цитируемого материала. Обсуждение ссылок имеет целью просуммировать утверждения авторов указанных публикаций и здесь не делается
35 каких-либо допущений по поводу их вхождения в уровень техники. Заявителю оставляют право оспорить точность и достоверность цитируемых источников информации. Раскрытые в описании и другие модификации и варианты настоящего изобретения могут быть осуществлены специалистом в данной области знаний без
40 выхода за пределы объема изобретения, который отражен в формуле. Кроме того, должно быть понятно, что различные аспекты и воплощения изобретения могут быть частично или полностью изменены без изменения его сущности. Специалисту в данной области также ясно, что приведенное в данной заявке описание изобретения служит исключительно иллюстративным целям и ни в коей мере не ограничивает
45 объем изобретения, сущность которого выражена в формуле. Таким образом, содержание и широта притязаний формулы изобретения не ограничивается описанием, которое характеризует предпочтительные воплощения изобретения.

Формула изобретения

50 1. Применение полидекстрозы (PDX) для приготовления молочной смеси для детей на искусственном вскармливании, при котором профиль жирных кислот с короткой цепью (SCFA профиль) включает увеличение продукции ацетата и уменьшение продукции бутирата, причем смесь включает терапевтически

эффективное количество PDX, которое составляет от 1,0 до 10,0 г/л и вводится ежедневно.

2. Применение по п.1, при котором количество PDX в молочной смеси достаточно для обеспечения поступления приблизительно от 2,0 до 8,0 г/л PDX в организм грудного ребенка ежедневно.

3. Применение по п.1, при котором молочная смесь дополнительно содержит галакто-олигосахарид (GOS).

4. Применение по п.3, при котором соотношение PDX:GOS составляет приблизительно от 9:1 до 1:9.

5. Применение по п.3, при котором соотношение PDX:GOS составляет приблизительно от 5:1 до 1:5.

6. Применение по п.3, при котором соотношение PDX:GOS составляет приблизительно от 3:1 до 1:3.

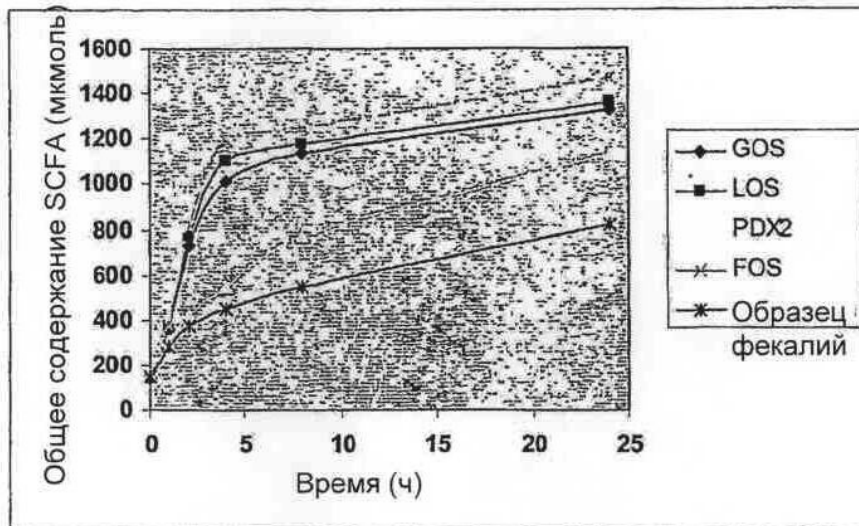
7. Применение по п.3, при котором соотношение PDX:GOS составляет приблизительно 5:5.

8. Применение по п.3, при котором соотношение PDX:GOS составляет приблизительно 8:2.

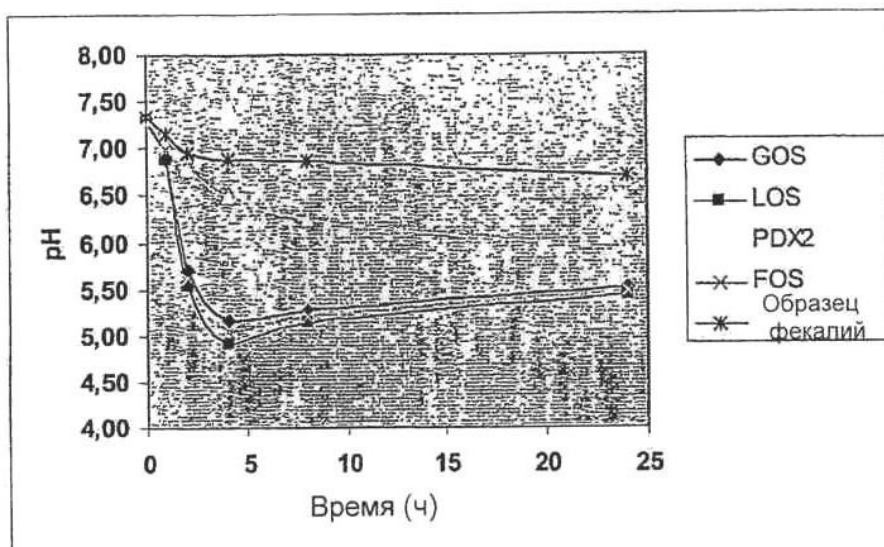
9. Молочная смесь, содержащая полидекстрозу и галакто-олигосахарид, причем количество полидекстрозы в молочной смеси составляет приблизительно 2,0 г/л и количество галакто-олигосахаида в молочной смеси составляет приблизительно 2,0 г/л.

10. Молочная смесь, содержащая полидекстрозу и галакто-олигосахарид, причем количество полидекстрозы в молочной смеси составляет приблизительно 2,0 г/л, а количество галакто-олигосахаида составляет приблизительно 1,32 г/л.

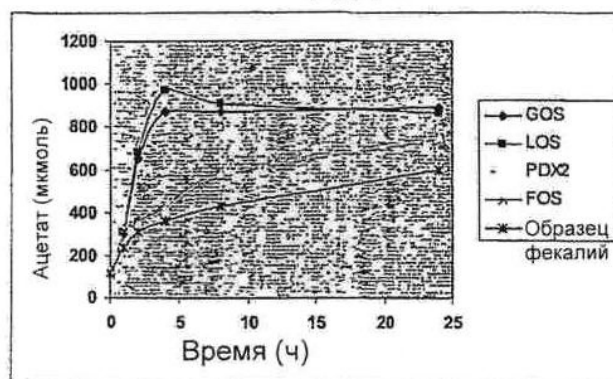
11. Молочная смесь, содержащая полидекстрозу и галакто-олигосахарид, в которой количество полидекстрозы составляет приблизительно 4,0 г/л и количество галакто-олигосахаида в молочной смеси составляет приблизительно 2,64 г/л.



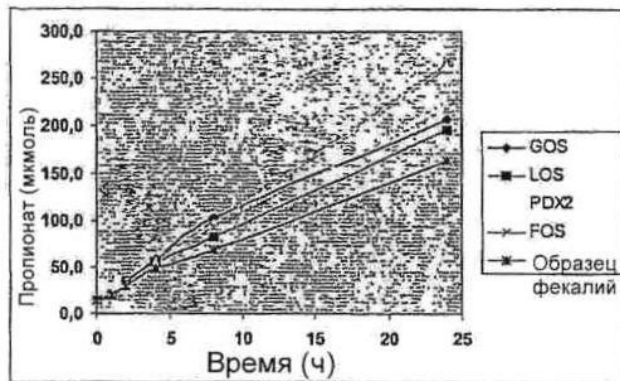
ФИГ. 1



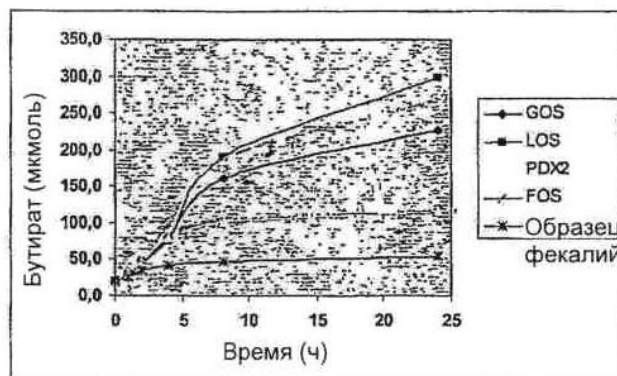
ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4

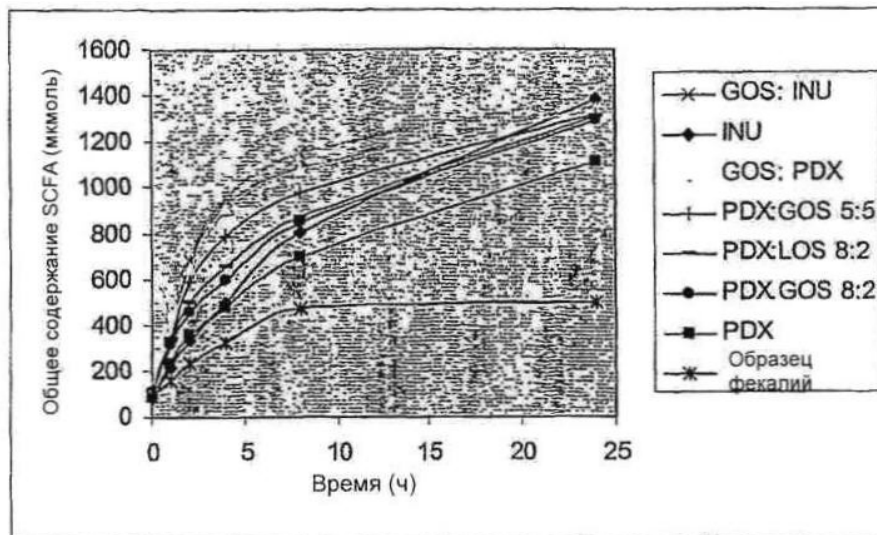


ФИГ. 5

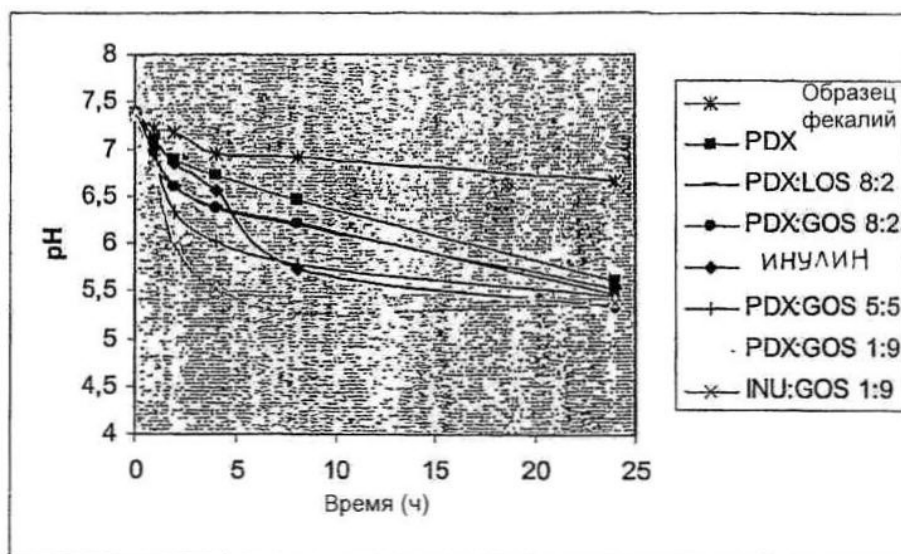
Относительное пропорциональное соотношение уксусной кислоты, пропионовой кислоты и масляной кислоты и общая продукция SCFA (средняя и стандартное отклонение) при ферментации субстратов Группы 3

	Уксусная кислота %	Пропионовая кислота %	Масляная кислота %	SCFA . мкмоль Среднее
Время (ч) GOS				
0	79.3	8.6	12.1	144
1	86.5	5.6	7.8	354
2	89.5	4.6	5.9	727
4	86.3	5.7	8.0	1010
8	76.87	9.0	14.2	1134
24	67.1	15.7	17.2	1325
Время (ч) LOS				
0	76.7	9.6	13.7	143
1	85.9	6.0	8.1	365
2	89.2	4.7	6.1	770
4	88.0	5.0	7.0	1104
8	77.0	7.0	16.1	1181
24	63.7	14.5	21.9	1359
Время (ч) PDX2				
0	77.8	9.2	13.1	156
1	83.1	7.1	9.8	303
2	81.2	7.6	11.2	426
4	75.7	9.9	14.4	550
8	74.3	12.5	13.2	775
24	66.5	23.3	10.2	1128
Время (ч) FOS				
0	78.4	9.0	12.7	143
1	86.4	5.8	7.8	376
2	89.7	4.4	5.9	816
4	86.8	5.0	8.3	1195
8	77.7	7.4	15.0	1254
24	66.9	14.9	18.2	1470
Время (ч) Образец фекалий				
0	78.3	9.0	12.7	151
1	83.3	7.3	9.3	280
2	82.7	8.1	9.2	373
4	80.1	10.7	9.2	450
8	78.8	12.5	8.8	548
24	73.4	20.0	6.6	817

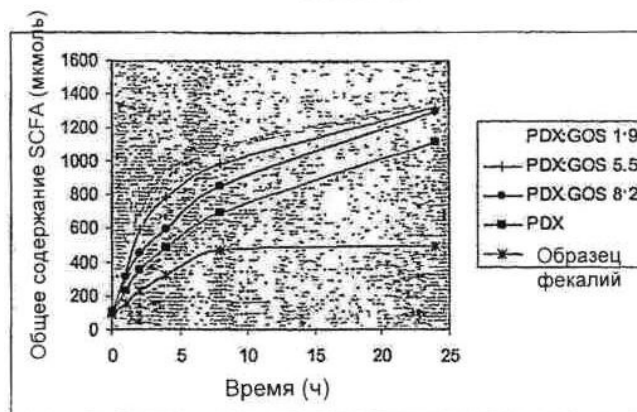
Фиг. 6



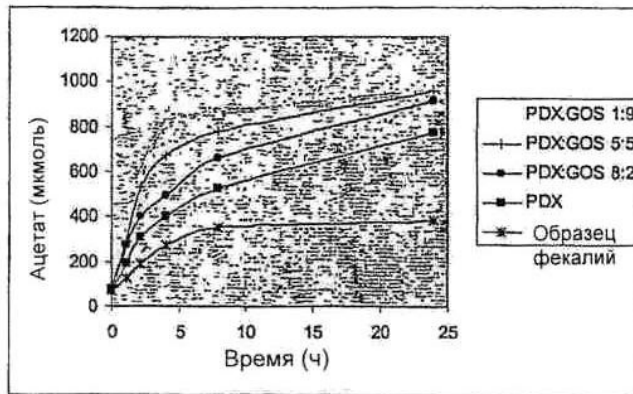
ФИГ. 7



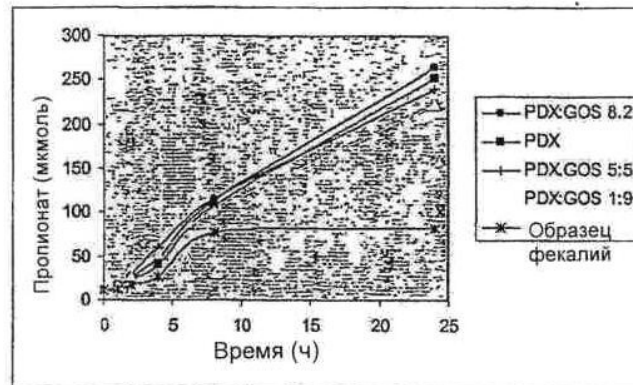
ФИГ. 8



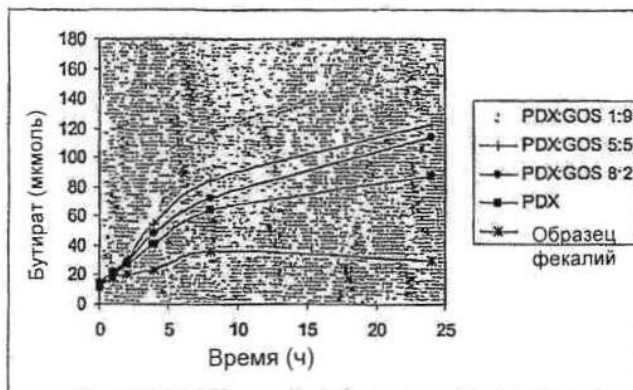
ФИГ. 9



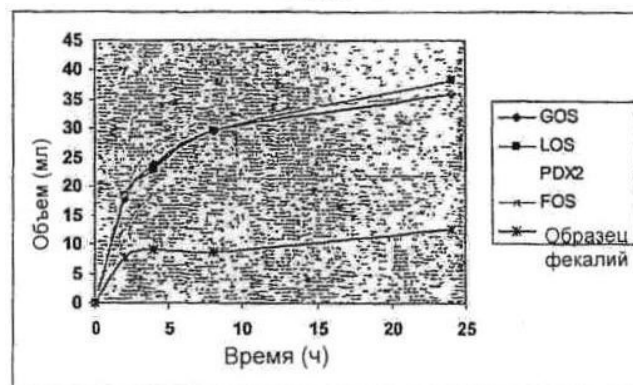
ФИГ. 10



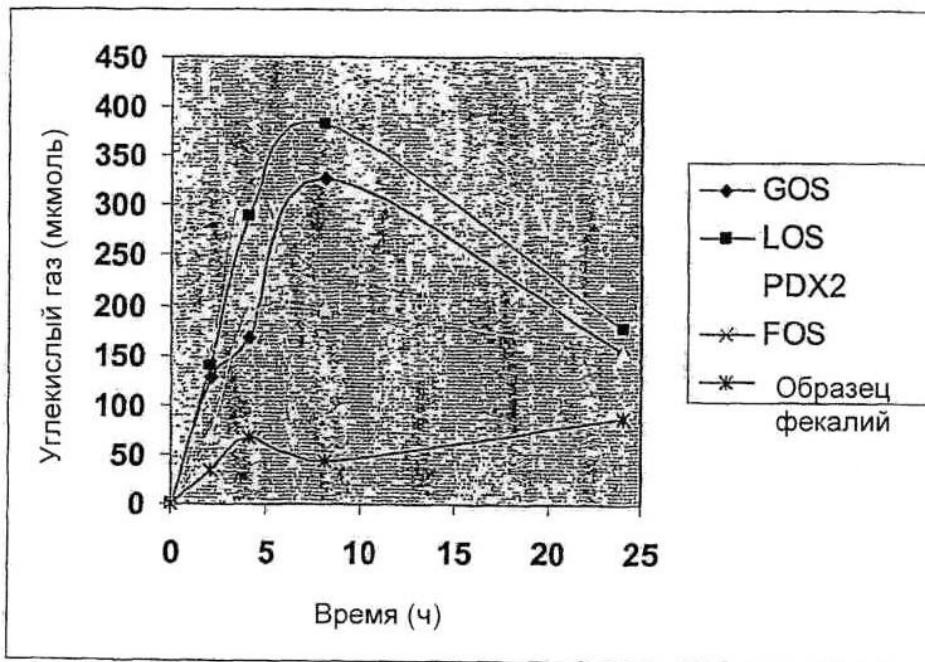
ФИГ. 11



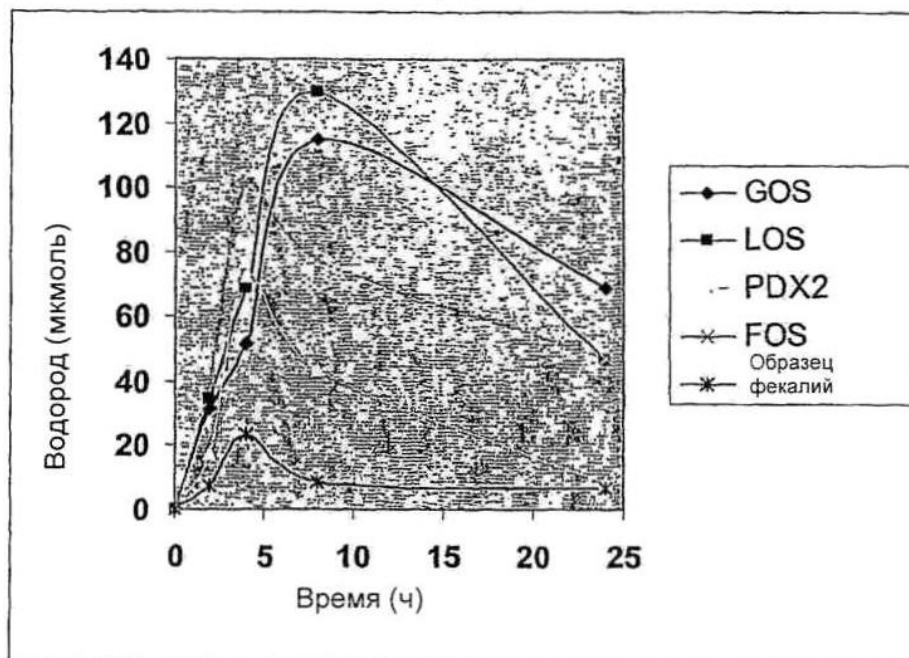
ФИГ. 12



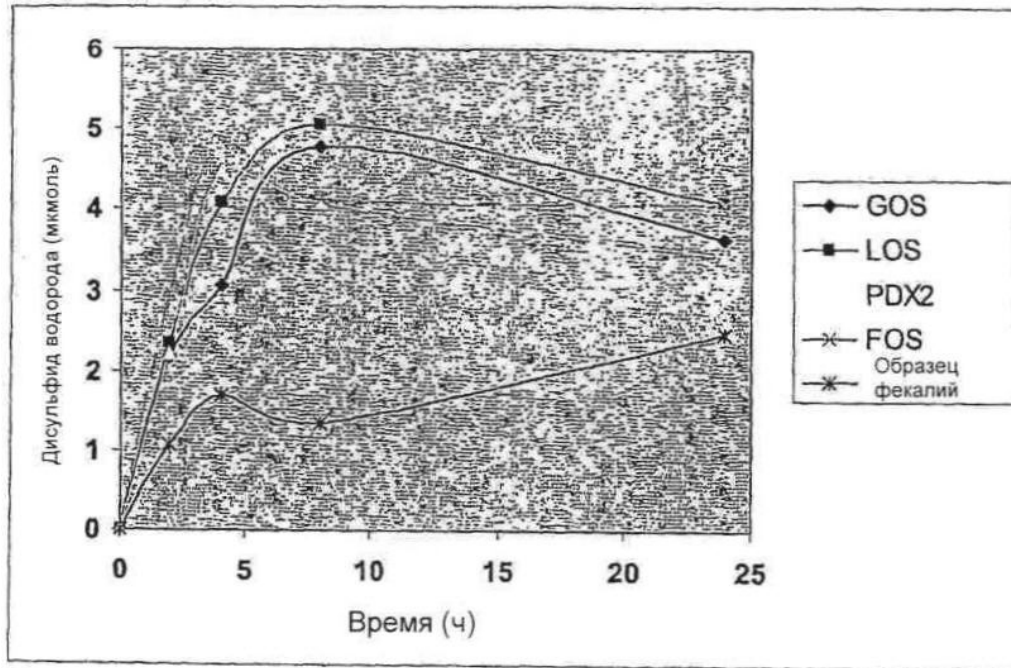
ФИГ. 13



ФИГ. 14



ФИГ. 15



Фиг. 16

Суммарный эффект пребиотиков на кишечную микрофлору

Тестируемый пребиотик	Log10 увеличение при использовании пребиотика (T12-T6)							
	Bifidobacteria		Lactobacilli		Clostridia		Bacteroides	
	V1	V2	V1	V2	V1	V2	V1	V2
Грудное молоко	1.34	2.13	1.66	1.87	-1.00	-2.55	0.09	-0.12
FOS	1.55	0.05	-1.26	0.26	1.14	0.71	-0.48	0.97
LOS	-0.50	-0.28	0.70	1.19	0.11	1.22	-0.59	0.20
GOS	0.33	0.75	0.00	0.00	-1.31	-0.15	-0.85	0.03
PDX	0.23	-0.17	1.35	0.55	-1.79	-0.88	-1.64	-1.79
1:1 PDX:GOS	0.58	0.47	1.21	0.81	0.91	0.43	0.00	0.74
1:1 PDX:LOS	-0.32	-0.33	0.57	-0.25	-0.22	-0.10	0.12	-0.41
1:1 PDX:GOS	0.14	0.53	0.21	1.53	0.48	-1.63	-1.60	2.04

Прим.: V1 ферментация при pH = 5.2; V2 ферментация при pH = 6.7

Фиг. 17