



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0102541
 (43) 공개일자 2013년09월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/308 (2006.01) *A23K 1/18* (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01) *A61K 35/74* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2013-7004175
 (22) 출원일자(국제) 2011년08월19일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2013년02월19일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2011/048392
 (87) 국제공개번호 WO 2012/027214
 국제공개일자 2012년03월01일
 (30) 우선권주장
 61/376,888 2010년08월25일 미국(US)

(71) 출원인
테이트 앤드 라일 인그리디언츠 어메리카즈 엘엘씨
 미국, 일리노이 60192, 호프만 이스테이즈, 프레리 스톤 파크웨이 5450
 (72) 발명자
알먼트라우트, 리차드 더블유.
 미국, 일리노이 60192, 호프만 이스테이즈, 프레리 스톤 파크웨이 5450
 (74) 대리인
강명구

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **신바이오틱 제품**

(57) 요약

본 발명은 프레바이오틱 탄수화물 및 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아의 배합물 또는 혼합물을 포함하는 신바이오틱 제품 조성물에 관한 것이다. 신바이오틱 제품에 유용한 프레바이오틱 탄수화물의 예에는 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유 및 폴리텍스트로스가 포함된다. 또한, 본 발명은 이러한 신바이오틱 제품을 포함하는 인간 식량 및 동물 사료, 및 신바이오틱 제품의 투여에 의해 포유류의 장관 내에서 포자-형성 박테리아의 타이터를 증가시키는 방법에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1

아라비노자일란(arabinoxylan), 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유, 폴리텍스트로스 및 그들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나의 프레바이오틱(prebiotic) 탄수화물, 및 적어도 하나의 프로바이오틱(probiotic) 포자-형성 바실러스(*Bacillus*) 박테리아를 포함하는 신바이오틱 제품(synbiotic product).

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 프레바이오틱 탄수화물이 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스 및 그들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택되는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 포자-형성 바실러스 박테리아가 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*), 바실러스 코아굴란스(*B. coagulans*), 바실러스 리케니포르미스(*B. licheniformis*), 바실러스 클라우시이(*B. clausii*), 바실러스 푸밀리스(*B. pumilis*) 및 그들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택되는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 신바이오틱 제품을 포함하는 식품(food product).

청구항 5

포유류의 장관 내에서 포자-형성 바실러스 박테리아의 타이터(titer)를 증가시키는 방법으로서, 유효량의 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 신바이오틱 제품을 상기 포유류에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품은 임의의 1일에 상기 프레바이오틱 탄수화물의 양이 약 1g 내지 약 25g 이고, 임의의 1일에 상기 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아의 양이 약 10^4 CFU 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 투여되는 것인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품은 상기 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 10g이고, 상기 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^6 CFU 내지 약 10^8 CFU로 되도록 투여되는 방법.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품이 매일 투여되는 것인 방법.

청구항 9

제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품이 상기 신바이오틱 제품을 포함하는 식품의 섭취를 통하여 투여되는 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 섭취되는 식품이 식량(foodstuff)이고, 포유류가 인간인 것인 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 섭취되는 식품이 동물 사료이고, 포유류가 비-인간 포유류인 것인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 포유류가 말, 소(cattle), 돼지, 양, 염소, 황소(oxen), 라마, 알파카 및 들소(bison)를 포함하는 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 포유류가 고양이 또는 개인 것인 방법.

청구항 14

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 항생제가 비-인간 포유류에게 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 15

프레바이오틱 탄수화물 구성성분(component) 및 프로바이오틱 포자 구성성분을 포함하는 신바이오틱 제품으로서, 상기 프레바이오틱 탄수화물 구성성분이 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유, 폴리텍스트로스 및 그들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물을 포함하며, 상기 프로바이오틱 포자 구성성분이 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아를 포함하는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 프레바이오틱 탄수화물이 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스 및 그들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 포자-형성 바실러스 박테리아가 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아굴란스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 클라우시이, 바실러스 푸밀리스 및 그들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로바이오틱 포자 구성성분이 건조 중량 g당 약 10^{11} 개 이하의 생존가능한 포자를 포함하는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 19

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로바이오틱 포자 구성성분이 건조 중량 g당 약 10^9 내지 약 10^{11} 개의 생존가능한 포자를 포함하는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 20

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 건조 중량 g당 적어도 약 10^5 개의 생존가능한 프로바이오틱 포자를 포함하는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 21

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 건조 중량 g당 약 10^5 내지 약 10^7 개의 생존가능한 프로바이오틱 포자를 포함하는 것인 신바이오틱 제품.

청구항 22

제15항 내지 제21항 중 어느 한 항의 신바이오틱 제품을 포함하는 식품.

청구항 23

포유류의 장관 내에서 포자-형성 바실러스 박테리아의 타이터를 증가시키는 방법으로서, 유효량의 제15항 내지 제21항 중 어느 한 항의 신바이오틱 제품을 상기 포유류에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품은 상기 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 25g 이고, 상기 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 투여되는 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품은 상기 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 10g이고, 상기 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^6 CFU 내지 약 10^8 CFU로 되도록 투여되는 것인 방법.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품이 매일 투여되는 것인 방법.

청구항 27

제23항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신바이오틱 제품이 상기 신바이오틱 제품을 포함하는 식품의 섭취를 통하여 투여되는 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 섭취되는 식품이 식량이고, 포유류가 인간인 것인 방법.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 섭취되는 식품이 동물 사료이고, 포유류가 비-인간 포유류인 것인 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 포유류가 말, 소, 돼지, 양, 염소, 황소, 라마, 알파카 및 들소를 포함하는 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 포유류가 고양이 또는 개인 것인 방법.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 항생제가 비-인간 포유류에게 투여되지 않는 것인 방법.

명세서

기술분야

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 본 명세서에 전문이 참고로 포함되는 미국 가특허 출원 제61/376,888호(출원일: 2010년 8월 25일)에 대한 우선권을 주장한다.

[0003] 연방정부 지원 연구 또는 개발에 관한 언급

[0004] 해당 없음

[0005] 본 발명은 포자-형성 프로바이오틱(probiotic) 박테리아와, 프로바이오틱 박테리아에 영양분을 제공할 수 있고/거나 위장관에 존재하는 유익한 상주(resident) 박테리아, 예컨대 락토바실러스(*Lactobacillus*) 또는 비피도박테리아(*Bifidobacterium*)의 성장을 조장할 수 있는 프레바이오틱(prebiotic) 화합물의 조합물을 포함하는 신규한 신바이오틱 제품에 관한 것이다. 이러한 신바이오틱 제품 조성물은 이러한 신바이오틱 조성물을 함유하는 식품(food product)의 건강상의 이익을 증진시킬 수 있다.

배경 기술

- [0006] 영양분에 더하여 건강상의 이익을 전달하는 인간 및 동물 둘 모두의 섭취를 위한 기능성 식품 성분(ingredient)에 대한 요구가 증가하고 있다. 이러한 건강-관련 식품 성분의 하나의 분류는 "프리바이오틱" 화합물로 알려져 있다. 현재 식품에 사용되는 프리바이오틱 화합물의 대표적인 예에는 매우 다양한 탄수화물, 예컨대 각종 당 및 전분이 포함된다. 칼로리 값을 갖는 많은 탄수화물은 인간 상부 위장관(예컨대, 입, 위 및 소장)에서 단당류 또는 단쇄 올리고당류로 소화되고, 용이하게 혈류 내로 흡수된다. 이러한 용이하게 대사작용되는 탄수화물에 더하여, 일부 탄수화물은 식품에서 식이 "섬유"로 작용한다. 섬유 화합물은 일반적으로 상부 위장관에서 분해되지 않거나 오직 부분적으로만 소화되고, 상당한 양이 상대적으로 온전하게 결장으로 넘어 간다. 섬유의 인간 건강에 대한 이익은 예컨대 미국 정부 식이 권고사항(US government dietary recommendation)에서와 같이, 전세계적으로 영양 과학자에 의해 널리 입증되고, 인지되어 있다. 연구에 의해, 식이 섬유가 풍부한 식이로 심혈관 질환, 암, 위장 문제 및 비만의 위험을 줄일 수 있음이 시사되었다. 문헌[Campos et al., Nutr Hosp. 2005 Jan-Feb;20(1):18-25](대장암의 발병과 저 섬유 식이 간의 관련성을 시사); 문헌[Kendall et al., Curr Atheroscler Rep. 2004 Nov;6(6):492-8](섬유가 풍부한 식이로 LDL 콜레스테롤을 낮출 수 있음을 시사); 문헌[Kendall et al., J AOAC Int. 2004 May-Jun;87(3):769-74](고 섬유 식이로 만성 질환의 위험을 줄일 수 있음을 시사); 문헌[Cernea et al., Acta Diabetol. 2003 40 suppl 2:S389-400](고 섬유 식이로 심혈관 질환의 위험을 줄일 수 있음을 시사)]을 참조한다.
- [0007] 식이 섬유의 많은 건강-증진 효과가 대장 내의 미생물의 복합 컨소시엄(complex consortia of microorganism) (미생물상(microbiota))에 의한 이들 탄수화물의 발효 때문이라는 증거가 증가하고 있다(문헌[Gibson, Glenn, "Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics," Journal Of Nutrition, 80(2):S209-S212 (1998)]). 탄수화물 섬유의 하위-분류인 "프리바이오틱" 탄수화물 화합물은 보통의 인간에서 건강을 증진시키고 유지하는데 특히 유익한 것으로 보고되었다. 프리바이오틱 활성이 입증된 식이 섬유 탄수화물의 대표적인 예에는 인슐린 및 프락토-올리고당류(문헌[Roberfroid, et al., "The Bifidogenic Nature of Chicory Inulin and Its Hydrolysis Products," Journal of Nutrition, 128, 1, 11-19, 1998. Gibson, "Dietary Modulation of the Human Gut Microflora Using the Prebiotics Oligofructose and Inulin," Journal of Nutrition, 129, 7 Suppl, 1438S-1441S, 1999]); 락툴로스(문헌[Tuohy, et al., "A human volunteer study to determine the prebiotic effect of lactulose on human colonic microbiota," Micro. Ecol. Health Disease 14, 165-173 (2002)]); 및 용해성 옥수수 섬유(SCF)(미국 특허 출원 제12/124,364호)가 있다.
- [0008] "프리바이오틱" 성분에 더하여, "프로바이오틱" 박테리아와 함께 포몰레이션된(formulated) 식량(foodstuff) 및 동물 사료에 대한 시장이 증가하고 있다. 예를 들어, 동물용 사료 첨가제로서, 주로 항생제에 대한 가능한 대체물로서 프로바이오틱 유기체의 사용에 대한 관심이 증가하고 있다. 유익한 프로바이오틱 특성을 갖는 것으로 고려되는 많은 박테리아는 건강한 인간 또는 동물 위 미생물총(microflora)에 존재하는 보통의 공생 박테리아이다. 가장 빈번하게 사용되는 인간 프로바이오틱스에는 락토바실러스 및 비피도박테리아가 포함된다. 그러나, 프로바이오틱 식품 또는 사료 첨가제로서의 이들 박테리아 그룹 중 어느 하나의 이용에는 어려움이 따른다. 박테리아는 유익하게 되기 위하여, 생존가능한 세포로서 제조 과정을 견뎌 내야 하며, 안정적인 제품으로 포몰레이션되어야 한다(다시 말하면, 장기간 동안의 저장에서, 때때로는 불리한 조건 하에서 유의미한 생존력의 소실이 없음). 게다가, 박테리아는 강한 산성의 위의 통과 및 상부 소장에서의 담즙염에 대한 노출을 견뎌 내야 한다. 프로바이오틱스의 유익한 효과는 소장 및/또는 결장의 잠시 동안의 콜로니화 때문인 것으로 가정되며, 이는 관강내 내용물 그램당 모두 약 10^7 내지 10^{11} 개의 살아있는 박테리아가 되는 기존의 미생물총과의 성공적인 경쟁을 필요로 한다.
- [0009] 몇몇 유형의 포자-형성 바실러스가 현재 인간 및 동물 응용 둘 모두를 위한 프로바이오틱스로서 시판되고 있다. 예를 들어, 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*)가 다양한 장 문제(문헌[Casula and Cutting (2002), Applied Environmental Microbiology, May 2002, pp. 2344-2352]; 문헌[Green, DH, et al. (1999) Appl. Env. Microbiol. 65, pp. 4288-4291])를 위해, 그리고 설사의 치료(문헌[Mazza, P (1994) Boll. Chim. Farm. 133, pp. 3-18])를 위해 처방전 없이(over-the-counter) 판매되는 것으로 보고되었다. 바실러스 클라우시(*B. clausii*)의 상용의 제제의 연구도 또한 예컨대 마르세글리아(Marseglia) 등(2007) 및 카나니(Canani) 등(2007)에 의해 보고되었다(문헌[Marseglia, GL, et al. (1997) Ther. Clin. Risk Manag. 3, pp. 13-17]; 문헌[Canani, RB, et al. (2007) BMJ, Aug 18, 335(7615): 340]).
- [0010] 가장 길게 인간에서 이용된 전력이 있는 프로바이오틱 균주 중 하나는 바실러스 코아굴란스(*Bacillus*

coagulans)이며, 이는 1930년대에 락토바실러스 스포로게네스(*Lactobacillus sporogenes*)로 처음 기재되었다(문헌[Devechihi, E. and Drago, L. (2006) Int. J. Probiotics Prebiotics 1, pp. 3-10]). 이러한 균주(들)가 특히 흥미로운데, 이는 그 균주가 기체의 생성 없이, 당으로부터 다량의 젖산을 생성하는 잘 연구되어 있지 않은 포자-형성 균주 중 하나이기 때문이다. 바실러스 코아굴란스 프로바이오틱 균주는 단재성 포자(*terminal spore*)를 생성하는 것으로 보고되었으며, 영양 세포(*vegetative cell*)는 통성 혐기성이며, 운동성이 있다(문헌[Devechihi and Drago, 2006]).

[0011] 듀(Duc) 등은 바실러스 포자의 균주로 이루어진 5가지 상용의 제품을 평가하였다. 바실러스 세레우스(*B. cereus*)의 3가지 균주는 마우스의 위장관에서 18일 동안 지속되는 것으로 관찰되었으며, 이는 콜로니화의 증가로 간주된다(문헌[Duc, LH, et al. (2004) Appl. Environ. Microbiol. 70, pp. 2161-2171]). 레서(Leser) 등은 돼지에 대한 바실러스 서브틸리스 및 바실러스 리케니포르미스(*B. licheniformis*) 포자의 급식을 기재하였다(문헌[Leser, TD, et al. (2008) J. Appl. Microbiol. 104, pp. 1025-1033]). 이들 프로바이오틱스의 급식 시작 2주 내에, 포자는 돼지 위장관의 모든 영역에서 관찰되었다. 70 내지 90%의 포자가 발아하는 것으로 추정되며, 위장관 내의 제한적이며 일시적인 영양 성장이 존재하였다.

발명의 내용

[0012] 발명의 요약

[0013] 본 발명은 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물 및 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아를 포함하는 소정의 신바이오틱 제품에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 프레바이오틱 탄수화물을 포함하는 프레바이오틱 탄수화물 구성성분(*component*) 및 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아를 포함하는 프로바이오틱 포자 구성성분을 포함하는 신바이오틱 제품으로 기재될 수 있다. 적절한 프레바이오틱 탄수화물의 대표적인 예에는 아라비노자일란(*arabinoxylan*), 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유 및 폴리텍스트로스가 포함된다. 신바이오틱 제품의 특정 실시형태에서, 프레바이오틱 탄수화물은 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유, 폴리텍스트로스 또는 이들 탄수화물의 혼합물이다. 적절한 포자-형성 바실러스 박테리아의 대표적인 예에는 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아굴란스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 클라우시이 및 바실러스 푸밀리스(*B. pumilis*)가 포함된다. 신바이오틱 제품의 특정 실시형태에서, 포자-형성 바실러스 박테리아는 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아굴란스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 클라우시이, 바실러스 푸밀리스 또는 이들 박테리아의 혼합물이다.

[0014] 본 발명의 신바이오틱 제품은 식품에서 성분 또는 구성성분으로 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 식품은 본 발명의 신바이오틱 제품을 포함한다.

[0015] 또한, 본 발명은 신바이오틱 제품을 투여함으로써 포유류의 위장관 내의 포자-형성 바실러스 박테리아의 타이더(*titer*)를 증가시키는 방법에 관한 것이다. 신바이오틱 제품의 투여에 의해 소정의 건강상의 이익을 제공할 수 있는 것으로 여겨진다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 신바이오틱 제품을 포함하는 식품을 섭취함으로써 투여된다. 특정 실시형태에서, 포유류는 인간이며, 특정 실시형태에서, 포유류는 비-인간 포유류이다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 프레바이오틱 탄수화물 상에서의 4가지 상용의 포자-형성 프로바이오틱 바실러스 균주의 성장을 보여주는 도면; 및

도 2는 아라비노자일란, 자일로스 및 텍스트로스 상에서의 바실러스 코아굴란스 프로바이오틱 균주, 즉, GBI-30의 최대 성장의 비교를 보여주는 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] I. 정의

[0018] 본 명세서에 사용되는 "프레바이오틱" 화합물은 "...미생물상의 조정과 관련된 숙주에서 건강상의 이익을 부여하는 생존가능하지 않은 식품 성분"으로 정의된다(문헌[FAO technical meeting on prebiotics, Sept. 15-16, 2007. Paragraph 3.1. Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)]).

- [0019] 본 명세서에 사용되는 "프로바이오틱" 박테리아는 "...인간(또는 동물)의 건강에 유익하게 영향을 미치는 생존 가능한 미생물 식품(또는 사료) 보조제"이다(문헌[International Life Science Institute Europe, Functional Food Science in Europe project, (FUFOSE), working group on functional foods]).
- [0020] 달리 특정되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 "식품"은 인간 또는 동물 섭취를 위한 음료를 비롯한 식용 제품을 지칭한다. 명시되는 경우, "식량"은 인간 섭취를 위한 것이며, "사료"는 동물 섭취를 위한 것이다.
- [0021] "신바이오틱 제품"은 프레바이오틱 및 프로바이오틱 구성성분의 조합물을 포함하는 조성물이다.
- [0022] 신바이오틱 조성물은 소정의 범위의 탄수화물 구성성분(그램/일)("유효량") 및 프로바이오틱 박테리아의 생존 가능한 박테리아 타이터(CFU/일)의 투여 내에서 유효하다. 제품 중의 생존 가능한 박테리아의 타이터는 CFU/g(탄수화물 투여량)으로 표현될 수 있다.
- [0023] II. 개관
- [0024] 프로바이오틱 포자-형성 박테리아 및 프레바이오틱 화합물의 조합물을 포함하는 신규한 신바이오틱 제품 조성물이 본 명세서에 제공되며, 이는 이러한 신바이오틱 조성물을 함유하는 식품 성분, 식량, 사료 첨가제, 동물 사료 등의 건강상의 이익을 증가시킬 수 있다. 본 발명의 신바이오틱 제품은 프로바이오틱스의 발아, 성장 및 활성을 증진시켜, 숙주의 위장관 내의 포자-형성 프로바이오틱 박테리아의 타이터를 증가시킨다. 이론에 제한되지 않고, 신바이오틱 제품 조성물은 구체적으로, 더 낮은 이환율에 기인한 스트레스 감소, 향상된 면역 상태, 향상된 사료 요구 효율(feed conversion efficiency), 및 용이성이 증가된 식량/사료의 포물레이션, 식량/사료 취급과 보관 및 식량/사료 운반 유통성을 통해 인간 및 동물 건강, 웰빙(well-being) 및 생산성에서 향상된 이익을 제공하는 것으로 여겨진다. 또한, 조성물은 현재 공지되어 있는 프로바이오틱 제품과 비교하여 더 적은 용량에서 유효할 수 있다.
- [0025] III. 프레바이오틱 탄수화물
- [0026] 프레바이오틱 탄수화물, 예컨대 인슐린, 프락토-올리고당류, 락툴로스 및 용해성 옥수수 섬유(SCF)에 더하여, 상부 위장관에서 제한된 소화 또는 흡수를 겪는 많은 추가의 화합물이 하부 위장관으로 넘어가고 상주 미생물상에 의해 발효를 겪을 수 있다는 증거가 있다.
- [0027] 이론에 제한되지 않고, 포자-형성 바실러스 균주의 이익이 제조 과정 및 위의 통과를 견뎌내는 포자로부터 비롯되며, 그들이 장에서 발아하며, 여기서, 그들은 활성이 있으며 유익한 것으로 여겨진다. 이들 바실러스 균주는 시험관 내에서 글루코스 및 아미노산 상에서 영양 성장하나, 생체 내에서는 상부 위장관에서 이들 영양분에 대한 숙주 동물의 요구와 경쟁하는 것이 필요하다. 현재 사용되는 프로바이오틱 포자 분말은 말토텍스트린과 함께 패키징되며(packaged), 말토텍스트린은 숙주 동물이 말토텍스트린도 신속하게 소화시키고 흡수하기 때문에, 상부 장에서 포자를 발아시키기 위한 유력한 식품원으로서 글루코스와 다름없다.
- [0028] 대조적으로, 소정의 식물-유래 탄수화물 화합물, 예컨대 아라비노자일란("AX")(특히, 옥수수 및 옥수수 섬유로부터 유래된 식물 헤미셀룰로스의 형태), 아라비노자일란 올리고당류("AXOS")(고분자량 폴리머가 더 작은 단편으로 절단된 가공된 형태의 AX) 및 자일로스("X")(AX 및 AXOS의 산 또는 효소 가수분해에 의해 유리되는 이들 폴리머의 단당류 치환기 중 하나)가 포자-형성 바실러스 균주와 함께 신바이오틱 제품 조성물에서 프레바이오틱 탄수화물로서 사용하기에 특히 적절할 수 있는 것으로 관찰되었다(실시예 1 및 2).
- [0029] 본 발명의 특정 실시형태에서, 프레바이오틱 탄수화물은 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스 및 그들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 본 발명에 유용한 다른 프레바이오틱 탄수화물은 용해성 섬유 텍스트린(SFD), 용해성 옥수수 섬유(SCF) 및/또는 폴리텍스트로스(PDX)를 포함한다. 특정 실시형태에서, 프레바이오틱 탄수화물 화합물은 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유, 폴리텍스트로스 및 그들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된다. 당업자는 또한 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유 및 폴리텍스트로스(이의 대표적인 예에는 인슐린, 프락토-올리고당류, 락툴로스, 글루코스 및 말토텍스트린이 포함된다)와 병용하기에 적절할 수 있는 수많은 다른 프레바이오틱 탄수화물이 존재함을 인식할 것이다.
- [0030] A. 아라비노자일란(AX)
- [0031] AX는 수성 추출에 의해 옥수수 섬유로부터 가용화될 수 있는 헤미셀룰로스이다.
- [0032] B. 자일로스(X)

- [0033] 자일로스는 옥수수 섬유 헤미셀룰로스 폴리머, 즉, 아라비노자일란의 자일란 폴리머 백분을 구성하는 단당류이다. 이는 헤미셀룰로스의 산 또는 효소 가수분해에 의해 생성된다. 자일로스는 고도의 용해성, 결정질, 건조 분말이다. 이는 일부 국가에서 칼로리가 낮은 감미료로 시판되는 풍부하고, 상대적으로 저렴하며, 단맛이 나는 천연 화합물이다.
- [0034] C. 아라비노자일란 올리고당류(AXOS)
- [0035] AX는 수성 추출에 의해 옥수수 섬유로부터 가용화될 수 있는 헤미셀룰로스이다. AX는 예컨대 엔도-자일라나제(endo-xyylanase)로의 분해에 의하여 올리고당류(AXOS)로 전환될 수 있는 고분자량 폴리머의 집합이다. 고분자량 AX 상에서의 적어도 4개의 알려져 있는 프로바이오틱 바실러스의 제한적이나 양성의 성장 및 자일로스 상에서의 동일한 4개의 균주 중 적어도 2개의 강력한 성장에 기초하여, AXOS가 또한 이들 및 다른 프로바이오틱 바실러스 균주에 의해 대사작용될 것으로 여겨진다.
- [0036] 아라비노자일란, 자일로스 및 아라비노자일란 올리고당류의 수득 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 자일로스 및/또는 아라비노자일란 올리고당류는 목재 및 다른 식물 물질로부터의 헤미셀룰로스의 화학적 및/또는 효소적 처리에 의해 수득될 수 있다. 이들 리그노셀룰로스계 기질은 셀룰로스, 헤미셀룰로스 및 리그닌을 포함한다. 이들 유형의 기질은 스팀 및/또는 약산 또는 알칼리 처리에 의해 가수분해되기 쉽게 만들어질 수 있다. 헤미셀룰로스가 일반적으로 셀룰로스보다 당으로 가수분해되기 더 쉽기 때문에, 먼저 헤미셀룰로스 물질을 사전-가수분해시키고, 불용성 셀룰로스-함유 잔류물로부터 용해성 펜토스 당과 용해성 아라비노자일란 올리고당류를 분리하는 것이 바람직하다. 가수분해는 예컨대 효소(헤미셀룰라제(들)), 또는 화학적 처리(예컨대, 산 처리에 의한) 또는 둘의 조합을 사용하여 행할 수 있다.
- [0037] 예를 들어, 미국 특허 제6,942,754호에 기재된 바와 같이, 자일로올리고당류는 헤미셀룰라제로 효소를 처리하고, 생성된 반응 혼합물을 여과하여 효소-처리된 펄프(pulp)로부터 액체 분획을 분리하고, 분리된 액체 분획을 분리막을 통한 투과 처리로 처리하여, 투과된 분획으로부터 농도가 증가된 자일로올리고당-리그닌 복합체를 함유하는 비-투과 분획을 분리하고, 비-투과 분획을 수집하고, 수집된 비-투과 분획으로부터 자일로올리고당을 분리하고 회수함으로써 리그노셀룰로스 펄프로부터 생성된다.
- [0038] 단자엽 식물의 헤미셀룰로스의 단당류 자일로스 및 아라비노스는 문헌[Shibanuma, K., et al. (1999) J. Appl. Glycosci. 46, 249-56]에 기재된 바와 같이 식물 물질의 약산 가수분해에 의해 수득될 수 있다. 생성된 가수분해물의 용해성 분획을 상술된 방법을 사용하여 분별하여 단당류, 및 아라비노자일란 올리고당의 혼합물을 제공할 수 있다.
- [0039] IV. 프로바이오틱 박테리아
- [0040] 프로바이오틱스는 섭취 시에 인간 및/또는 동물에 유익한 효과를 갖는 살아있는 미생물이다. 현재 인간 식품에서, 락토바실러스 또는 비피도박테리아 중 어느 하나의 프로바이오틱스가 가장 흔한 종이다. 이들 유형의 박테리아 중 어느 것도 포자를 형성하지 않는다. 그러나, 프로바이오틱 특성을 갖는 소정의 미생물에는 내열성이며 극도로 안정적인 포자를 형성할 수 있는 박테리아가 포함된다고 보고되었다. 이러한 포자-형성 박테리아의 대표적인 예에는 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아굴란스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 푸밀리스 및 바실러스 클라우시이를 포함하나 이에 한정되지 않는 다양한 포자-형성 바실러스 종이 포함된다. 많은 경우에, 포자는 100°C 초과 열에 대한 노출을 견뎌낸다. 이러한 내열성은 포자가 더욱 극도의 제조 과정을 견뎌 내게 한다. 일반적으로, 포자는 산업-규모 순수-배양 발효에서 우수한 수율로 생성될 수 있다. 포자는 영양형(vegetative) 박테리아보다 훨씬 더 내열성 및 내산소성인 경향이 있어서, 이에 따라, 포자를 형성하지 않는 박테리아보다 가공 조건을 더 잘 견뎌낸다. 포자는 건조 분말형에서 수십년 동안 생존할 수 있다. 일반적으로, 밀봉된 패키지에서 2년의 기간에 걸쳐 건조 포자 상용 제품에서의 오직 약간의 생존력의 소실만이 존재한다. 바실러스 포자가 위의 통과를 견뎌 낼 수 있으며, 담즙염 노출에 저항성이 있고, 회장에서 발아한다고 보고되었다(문헌[Casula, G, and Cutting, SM (2002) Applied Environmental Microbiology, May 2002, pp. 2344-2352]).
- [0041] 많은 바실러스 균주는 특별한 개조 없이 기존의 장비를 사용하여 잘-이해되어 있는 호기성 발효 조건 하에 저렴한 최소 배지 상에서 잘 성장하며, 효율적으로 포자를 형성한다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 박테리아는 프로바이오틱 효과를 갖는 포자-형성 바실러스 종이다. 특정 실시형태에서, 프로바이오틱 포자-형성 바실러스는 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아굴란스, 바실러스 클라우시이, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 푸밀리스 및 그들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택된다.
- [0042] 본 발명의 포자-형성 프로바이오틱 바실러스 종은 당업자에게 주지되어 있는 것을 넘어서는 어떠한 특별한 생성

방법, 예컨대, 제조, 취급, 패키징 등을 필요로 하지 않는다. 프로바이오틱 포자의 생성 방법은 당업자에게 잘 알려져 있는 발효 및 회수 방법을 사용한다. 예를 들어, 각각의 박테리아 종은 표준 스톡(standard stock)으로부터 반응기 내로 씨딩하고, 사전결정된 CFU/g 농도에 도달하고, 포자 형성이 발생할 때까지 표준화된 배지에서 성장시킨다. 이어서, 반응기로부터 대량의 물질을 빼내고, 다양한 표준 방법 중 하나, 예컨대 분무 건조에 의해 건조시킨다. 이러한 당업계에 알려져 있는 방법의 대표적인 다른 예에는 심부 발효(submerged fermentation), 여과에 의한 회수 및 농축, 및 방습 시스템에서의 패키징이 포함된다.

[0043] V. 신바이오틱 제품

[0044] 본 발명의 신바이오틱 제품은 상승 효과를 달성하는 것으로 여겨지는 살아있는 프로바이오틱 포자-형성 박테리아 및 프레바이오틱 화합물의 신규한 조합물이다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아 및 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물의 조합물이다. 이러한 신바이오틱 제품은 식량 및 동물 사료에서 성분으로 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 바실러스 서브틸리스, 바실러스 코아굴란스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 클라우시이, 바실러스 푸밀리스 및 그들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아를 포함한다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 아라비노자일란("AX"), 아라비노자일란 올리고당류("AXOS"), 자일로스("X"), 용해성 섬유 텍스트린("SFD"), 용해성 옥수수 섬유("SCF"), 폴리텍스트로스("PDX") 및 그들의 혼합물로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물을 포함한다. 또한, 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품이 인슐린, 프락토 올리고당, 락툴로스, 글루코스 및 말토텍스트린도 포함하는 것으로 고려된다. 당업자는 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아 및 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물의 상이한 조합을 포함하는 수많은 실시형태가 존재하며, 이들 모두가 본 명세서에 고려되는 것을 인식할 것이다.

[0045] 특정 실시형태에서, 포자-형성 바실러스 박테리아 및 프레바이오틱 탄수화물의 신바이오틱 제품 조성물은 건조 분말이다. 특정 실시형태에서, 건조 분말은 미국 재료 시험 협회 ASTM 표준 D6128-97 (1998): "제니케(Jenike) 전단 셀을 사용한 벌크 고형물을 위한 표준 전단-시험 방법"에 의해 측정시 유동성(flowable) 분말이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 10% 미만이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 9% 미만이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 8% 미만이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 7% 미만이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 6% 미만이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 5% 미만이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 1% 내지 약 10%이다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 함수량이 약 5% 내지 약 10%이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 함수량은 미국 재료 시험 협회 ASTM 표준 D6869: "칼 피셔(Karl Fisher)" 적정에 의해 측정한다.

[0046] 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아 및 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물의 조합물인 본 발명의 신바이오틱 제품은 또한 프레바이오틱 탄수화물 구성성분 및 프로바이오틱 포자 구성성분을 포함하는 것으로 기재될 수 있으며, 여기서, 프레바이오틱 탄수화물 구성성분은 적어도 하나의 프레바이오틱 탄수화물을 포함하고, 프로바이오틱 포자 구성성분은 적어도 하나의 프로바이오틱 포자-형성 바실러스 박테리아를 포함한다.

[0047] 신바이오틱 제품 조성물은 소정량의 건조 포자 구성성분을 소정량의 건조 프레바이오틱 구성성분과 배합함으로써 제조할 수 있다. 대안적으로, 액체형의 프레바이오틱 구성성분을 액체형의 프로바이오틱 포자 구성성분과 혼합할 수 있으며, 혼합물을 분무 건조에 의해서와 같이 건조시킬 수 있다. 당업자는 상업적인 제조에 통상적인 다른 대안적인 방법이 실현가능하며 유용한 것을 인식할 것이다.

[0048] 식품 및 사료 제품을 위한 것으로 산업에서 알려져 있고 적절한 바와 같은 추가의 성분, 예컨대, 비제한적으로 비활성 충전제, 분산 물질, 보존제, 착색제 및 영양분을 첨가하여, 최종 제품에서 목적하는 제품 특징과, 목적하는 최종 범위의 살아있는 포자를 성취할 수 있다.

[0049] 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품의 프로바이오틱 포자 구성성분은 건조 중량 g당 약 10^{11} 개 이하의 생존가능한 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 프로바이오틱 포자 구성성분은 건조 중량 g당 약 10^9 개 초과와 생존가능한 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 프로바이오틱 포자 구성성분은 건조 중량 g당 약 10^9 내지 약 10^{11} 개의 생존가능한 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 프로바이오틱 포자 구성성분은 건조 중량 g

당 약 10^9 내지 약 10^{10} 개의 생존가능한 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 프로바이오틱 포자 구성성분은 건조 중량 g당 약 10^{10} 내지 약 10^{11} 개의 생존가능한 포자를 함유할 것이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 생존가능한 포자는 통상적으로 사용되는 "주입 평판(pour plate)" 방법을 사용하여 계수하며, 그의 예시적인 예는 실시예 3에 기재되어 있다.

[0050] 특정 실시형태에서, 최종 신바이오틱 제품 조성물은 건조 제품 중량 g당 약 10^5 개 초과와 생존가능한 프로바이오틱 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 최종 신바이오틱 제품 조성물은 건조 제품 중량 g당 약 10^7 개 이하의 생존가능한 프로바이오틱 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 최종 신바이오틱 제품 조성물은 건조 제품 중량 g당 약 10^5 내지 약 10^7 개의 생존가능한 프로바이오틱 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 최종 신바이오틱 제품 조성물은 건조 제품 중량 g당 약 10^5 내지 약 10^6 개의 생존가능한 프로바이오틱 포자를 함유할 것이다. 특정 실시형태에서, 최종 신바이오틱 제품 조성물은 건조 제품 중량 g당 약 10^6 내지 약 10^7 개의 생존가능한 프로바이오틱 포자를 함유할 것이다.

[0051] 예시의 목적을 위하여, 건조 중량 g당 10^9 개의 생존가능한 프로바이오틱 포자의 타이터를 갖는 프로바이오틱 포자 구성성분을 다른 건조 성분과 배합하여, 예를 들어, 건조 포자 구성성분 1g을 프레바이오틱 탄수화물을 비롯한 다른 건조 성분 100g과 배합함으로써, 건조 제품 중량 g당 10^7 개의 생존가능한 포자의 최종 타이터를 달성한다.

[0052] VI. 식품

[0053] 본 발명의 신바이오틱 제품은 식품, 예컨대 인간 식량 또는 동물 사료의 성분 또는 구성성분으로 사용될 수 있다. 이러한 식품은 소정량의 신바이오틱 제품을 함유하여, 유효량의 신바이오틱 제품을 제공하는 양으로 식품이 섭취될 수 있게 한다. 성분의 식품으로의 혼입은 당업계에 공지되어 있으며, 제조되는 식품의 유형에 따라 달라질 것이다. 비록 프레바이오틱스 또는 프로바이오틱스를 함유하는 것으로 소정의 식품이 전통적으로 시판되고 있지만, 본 명세서에서 고려되는 식품의 유형은 특정 식품의 유형에 제한되지 않는다. 신바이오틱 제품을 함유하는 식품의 특정 실시형태의 대표적인 비제한적인 예에는 보조제, 영양 바(nutritional bar), 영구 임상 영양 제제(etermal clinical nutrition preparation), 이유식 및 건조 식량을 위한 코팅, 예컨대 코팅 가루붙이(coating bakery goods) 또는 씹임 검(chewing gum)이 포함된다. 이러한 식량의 예측에는 실시예에 제공된다.

[0054] VII. 포자-형성 바실러스 박테리아의 타이터를 증가시키는 방법

[0055] 본 발명의 특정 실시형태는 포유동물의 장관에서 포자-형성 바실러스 박테리아의 타이터를 증가시키는 방법과 관련 것이다. 유효량의 신바이오틱 제품의 투여는 인간 및 비-인간 포유류에게 소정의 건강상의 이익을 제공하여 그들의 건강이 향상되게 할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0056] 일반적으로, 프로바이오틱스의 섭취가 보통의 건강한 개체에서 위장관의 유지 및 조절에 도움이 되는 것으로 여겨진다. 프로바이오틱스의 섭취는 또한 위장관의 특정 불쾌(ailment), 예컨대 설사를 경감시키는데 도움을 줄 수 있다. 제어된 시험에 의해, 유아 및 아동에서 감염성 설사의 경과를 단축시킬 수 있는 것이 제시되었다. 또한, 프로바이오틱스의 섭취는 크론병 및 과민성 장 증후군이 있는 사람들에게 도움을 줄 수 있다. 일부 연구에 의해, 소정의 프로바이오틱스가 궤양성 대장염의 완화를 유지시키고, 크론병의 재발 및 낭염(pouchitis)(궤양성 대장염을 치료하기 위한 수술의 합병증)의 재발을 예방하는 데 도움을 줄 수 있는 것으로 제시되었다. 또한, 프로바이오틱스는 비뇨생식기의 건강을 유지하는데 유용할 수 있다. 장관과 같이, 질은 정교하게 균형을 이룬 생태계이다. 그러나, 이러한 생태계는 항생제, 살정자제 및 피임약을 비롯한 다수의 인자에 의해 균형이 무너질 수 있다. 미생물총의 균형을 복원시키는 프로바이오틱 치료는 세균성 질염, 효모 감염 및 요로 감염과 같은 통상의 여성 비뇨생식기의 문제에 도움을 줄 수 있다. 프로바이오틱스의 경구 및 질 투여는 세균성 질염 및 요로 감염의 치료에 도움을 줄 수 있는 것으로 고려된다. 동물이 프로바이오틱스를 섭취하면, 유사한 이점을 제공할 수 있고, 항생제를 사용하여 동물을 치료하는 것에 대한 비용 효율적이고, "천연의" 대안으로서 특히 유익할 수 있다.

[0057] 비-인간 포유류의 대표적인 예에는 일반적으로 비제한적으로, 말, 소(cattle), 돼지, 양, 염소, 황소(oxen), 라마, 알파카 및 들소(bison)와 같은 가축으로 고려되는 동물이 포함된다. 또한, 비-인간 포유류의 대표적인 예에는 비제한적으로 마우스, 랫트, 토끼, 햄스터, 게르빌루스쥐 및 기니 피그와 같은 설치류가 포함된다. 또한, 비

-인간 포유류의 대표적인 예에는 비제한적으로 고양이 및 개와 같은 포유류 반려 동물이 포함된다. 항생제는 통상적으로 포유류, 예컨대 가축에게 투여하여, 그들의 건강을 향상시킨다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 신바이오틱 제품의 투여는 이러한 포유류에 대한 항생제의 투여의 부재 하에, 비-인간 포유류에게 건강상의 이익을 제공할 수 있다.

[0058] 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 유효량으로 투여하며, 유효량은 상기 양이 비-소화가능한 탄수화물의 삼투압 효과에 기인한 허용 제한을 크게 넘지 않아야 한다는 제한과 함께 프레바이오틱 및/또는 프로바이오틱 활성을 제공하기에 충분한 양의 프레바이오틱 탄수화물 및 프로바이오틱 박테리아 구성성분을 함유하여, 장관 내에서 포자-형성 바실러스 박테리아의 타이터를 증가시킨다. 인간의 경우, 약 20g/일 초과인 프레바이오틱 탄수화물의 용량은 불쾌한 효과를 가질 수 있다. 동물의 경우, 당업자는 투여되는 신바이오틱 제품의 양을 예컨대 체중에 비례하여 조정하여 프레바이오틱 탄수화물 및/또는 프로바이오틱 박테리아의 유효량을 달성함을 인지할 것이다.

[0059] 신바이오틱 제품은 드물게, 예컨대 1주 또는 1개월에 오직 1일, 또는 수개월 또는 수년마다 등으로 투여할 수 있다. 신바이오틱 제품은 더욱 빈번하게, 예컨대 1주에 2일 내지 6일, 또는 더 긴 기간에 걸쳐 유사한 빈도로 투여할 수 있다. 신바이오틱 제품은 매일 투여할 수 있으며, 이는 적어도 5일의 시간에 걸친 연속적인 날을 의미한다.

[0060] 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 10g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 10g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 5g 내지 약 10g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 5g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 5g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 10g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 10g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다.

[0061] 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^6 CFU 내지 약 10^8 CFU로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU/일 내지 약 10^6 CFU로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 신바이오틱 제품은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU/일 내지 약 10^8 CFU로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 신바이오틱 제품은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^6 CFU/일 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 투여된다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다. 신바이오틱 제품은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^8 CFU/일 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 투여된다. 특정

실시형태에서, 신바이오틱 제품은 이러한 양으로 매일 투여된다.

[0062] 신바이오틱 제품의 구성성분이 위장관 내에서 그들의 이익을 제공하는 것으로 여겨지기 때문에, 신바이오틱 제품의 투여는 신바이오틱 제품이 위장관에 노출되는 투여를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 신바이오틱 제품은 식용가능한 식품, 예컨대 식량 또는 동물 사료의 성분 또는 구성성분이다. 신바이오틱 제품의 투여는 신바이오틱 제품을 포함하는 식품의 섭취를 통해서 이루어진다. 섭취되는 신바이오틱 제품을 포함하는 식품의 양은 유효량의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다.

[0063] 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 10g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 1g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 10g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 5g 내지 약 10g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 2.5g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 5g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 5g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 10g 내지 약 25g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프레바이오틱 탄수화물의 양이 임의의 1일에 약 10g 내지 약 20g의 탄수화물로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다.

[0064] 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^6 CFU 내지 약 10^8 CFU로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU 내지 약 10^6 CFU로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^4 CFU 내지 약 10^8 CFU로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^6 CFU 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다. 특정 실시형태에서, 섭취되는 식품의 양은 프로바이오틱 박테리아의 양이 임의의 1일에 약 10^8 CFU 내지 약 10^{10} CFU로 되도록 하는 양의 신바이오틱 제품을 함유하는 양이다. 특정 실시형태에서, 식품은 이러한 양으로 매일 섭취된다.

[0065] VIII. 실시예

[0066] 하기에 개시된 실시형태는 단지 본 발명을 나타내기 위한 것이며, 다양한 형태로 구체화될 수 있다. 따라서, 하기의 실시예에 개시된 특정 구조, 기능 및 절차의 상세사항은 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0067] 실시예 1: 다양한 프레바이오틱 탄수화물 상에서의 프로바이오틱 바실러스의 성장

[0068] 4가지 상용의 포자-형성 프로바이오틱 바실러스 균주를 10g/ℓ의 프레바이오틱 탄수화물 상에서 성장시켰다(도 1 참조). 4가지 균주는 바실러스 푸밀리스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 서브틸리스 및 바실러스 코아굴란스였다. 프레바이오틱 탄수화물은 고분자량 아라비노자일란(AX), 자일로스(X), 용해성 섬유 텍스트린(왁시(waxy))(SFDw), 용해성 옥수수 섬유(85)(SCF) 및 폴리텍스트로스(PDX)였다. 도 1에 나타난 데이터의 유의성의 척도로서, 표 1에는 바실러스 코아굴란스 데이터에 대한 P 값을 나타내었다.

표 1

**"무첨가"(탄수화물을 첨가하지 않음)에서의
최대 성장에 비한 다양한 프레바이오틱 기질에서의
바실러스 코아굴란스의 최대 성장**

아라비노자일란(고분자량)(AX)	P<0.01
자일로스(X)	P<0.01
용해성 섬유 텍스트린(왁시)(SFDw)	P>0.75
용해성 옥수수 섬유(85)(SCF)	P<0.02
폴리텍스트로스(PDX)	P<0.01

[0069]

[0070] 5가지 프레바이오틱 기질 중 4가지 상에서 바실러스 코아굴란스의 유의미한 성장이 존재하였다. SFDw에서는 유의미한 성장이 관찰되지 않았다. 본 연구에서 프레바이오틱스에 대한 바실러스 코아굴란스의 유의미한 반응은 다른 프로바이오틱 균주에 대한 유의미한 성장을 결정하기 위한 비교를 제공한다.

[0071] 용해성 섬유 텍스트린(SFDw). 엔베라(Envera)(미국 펜실베이니아주 코츠빌 소재)로부터의 3가지 상용 프로바이오틱 바실러스 균주, 즉 바실러스 푸밀리스, 바실러스 리케니포르미스 및 바실러스 서브틸리스는 SFDw 상에서 강력하게 성장하였다. 그러나 바실러스 코아굴란스는 SFDw 상에서 성장하지 않았다.

[0072] 용해성 옥수수 섬유(SCF) 및 폴리텍스트로스(PDX). 바실러스 푸밀리스, 바실러스 리케니포르미스 및 바실러스 서브틸리스는 SCF 및 PDX 상에서 중등으로 내지는 강력하게 성장하였다.

[0073] 아라비노자일란(AX). 시험한 모든 4가지 프로바이오틱 바실러스 균주, 즉 바실러스 푸밀리스, 바실러스 리케니포르미스, 바실러스 서브틸리스 및 바실러스 코아굴란스는 AX 상에서 제한적이나 유의미한 성장을 가졌다. 이론에 제한되지 않고, 이들 균주는 AX로부터 제한된 양의 영양분을 추출할 수 있는 것으로 여겨진다. 바실러스 균주는 영양분으로서의 고분자량 AX 폴리머로부터 당 및/또는 페롤산을 잘라낼 수 있는 β-자일라나제, 아라비노시다제 및 페롤산 에스테라제 활성을 갖는 것으로 보고되었다.

[0074] 자일로스(X). 바실러스 코아굴란스 및 바실러스 서브틸리스는 자일로스 상에서 성장하였다. 바실러스 리케니포르미스는 자일로스 상에서 제한된 성장을 보였다. 바실러스 푸밀리스는 자일로스 상에서 성장할 수 있는 것으로 보이지 않았다.

[0075] 요약. 본 실시예 1은 공지되어 있는 포자-형성 프로바이오틱 박테리아가 프레바이오틱 탄수화물, 예컨대 용해성 섬유 텍스트린, 용해성 옥수수 섬유, 폴리텍스트로스, 고분자량 아라비노자일란 및 자일로스 상에서 성장할 수 있는 것을 보여준다. 프로바이오틱 바실러스 균주 각각은 다소 상이한 기질 선호도를 보였다. 그러나, 아무 것도 시험된 프레바이오틱 후보물질 중 오직 하나의 것에만 제한되는 것으로 나타나지는 않았다.

[0076] 실시예 2. 다양한 탄수화물 상에서의 바실러스 코아굴란스의 최대 성장의 비교

[0077] 프로바이오틱 바실러스 코아굴란스 균주 GBI-30(ATCC 지정 번호 PTA-6086; 미국 특허 제6,849,256호)(미국 오하이오주 베이필드 하이츠 소재의 가네덴 바이오테크 인코포레이티드(Ganeden Biotech, Inc.))의 최대 성장을 약 10g/ℓ에서의 탄수화물 아라비노자일란, 자일로스 및 텍스트로스 상에서, 그리고 탄수화물 무첨가에 대하여 비교하였다(도 2). 결과에 의해, 공지되어 있는 포자-형성 프로바이오틱 박테리아가 프레바이오틱 탄수화물, 예컨

대 자일로스 상에서 강력하게 성장할 수 있음이 입증된다.

[0078] 실시예 3. 생존가능한 포자 계수를 결정하기 위한 주입 평판 방법

[0079] 가능한 오차를 피하기 위하여, 포자가 함께 응집(clumped)되고 침전되는 경향이 있기 때문에, 3개 이상의 포자 농축물 샘플에서 포자 계수를 수행하는 것이 바람직하다. 응집물은 계수를 위해 샘플을 빼내기 전에 철저한 진탕, 예컨대, 웨이킹에 의해 분산시켜야 한다.

[0080] 프로토콜:

[0081] A. 시험대에 8개의 시험 튜브를 놓고, 그들의 번호를 매기고, 9ml의 생리 식염수를 각 튜브에 첨가한다.

[0082] B. 피펫 또는 투베르쿨린 주사기로 튜브 1번에 1ml의 포자 현탁액을 옮긴다.

[0083] C. 새로운 투베르쿨린 주사기 또는 피펫을 사용하여, 처음의 희석액을 수회 혼합하고, 1ml를 다음의 튜브로 옮긴다. 각 희석을 위하여 새로운 주사기 또는 피펫을 사용하여 동일한 방식으로 남아있는 10배 희석을 한다.

[0084] D. 가장 높은 희석으로부터 시작하여, 10^{-8} , 10^{-7} 및 10^{-6} 의 각 희석으로부터 1ml를 페트리 디쉬로 피펫팅한다. 각 희석을 위하여, 10cm 직경의 5개의 페트리 디쉬를 사용한다.

[0085] E. 45°C로 냉각시킨 용융된 영양 한천(nutrient agar) 약 20ml를 각 페트리 디쉬에 붓는다. 플레이트를 흔들어서 접종물을 즉시 한천과 혼합한다. 플레이트를 실온에서 유지하여 한천이 굳게 한다.

[0086] F. 플레이트를 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션시킨다.

[0087] G. 모든 5가지 특정 희석 플레이트에서 콜로니를 계수한다. 플레이트당 평균 개수에 희석 인자를 곱하여, 원래 현탁액 중의 ml당 생존가능한 계수를 획득한다. 10^{-6} 내지 10^{-8} 의 각 희석에 대한 평균 계수를 계산한다. 원래의 스톱 현탁액에서 평균 생존가능한 계수를 획득하기 위하여, 3회 희석의 평균을 취한다.

[0088] 실시예 4. 보조제

[0089] 분말 g당 적어도 10^9 개의 생존가능한 포자를 함유하는 바실러스 코아굴란스(BC) 동결-건조된 포자 분말의 현탁액으로 시작한다. 자일로스 분말(X)은 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)(미국 미주리주 세인트 루이스 소재)로부터 획득할 수 있다. 2가지 분말을 균질한 생성물이 획득될 때까지 100/1의 X/BC 비로 혼합한다. 샷셋(Sachet)을 투여 요법에 따라(예컨대, 1일에 하나의 샷셋에 대하여 5g 또는 1일에 2개의 샷셋에 대하여 3g) 이러한 혼합물 2 내지 5g을 채운다. 하나의 샷셋의 내용물은 예를 들어 한 컵의 오렌지 주스 또는 우유와 혼합시킬 수 있다.

[0090] 실시예 5. 신바이오틱 영양 바

[0091] 23g의 바를 4.0g의 귀리 플레이크, 4.0g의 밀 플레이크, 3.0g의 튀긴 쌀, 1.0g의 분쇄된 헤이즐넛, 0.25g의 꿀, 3.0g의 건포도, 1.5g의 말토덱스트린, 1.0g의 동결 건조된 바실러스 코아굴란스(BC; 분말 g당 10^9 개 초과)의 생존가능한 포자) 및 5.0g의 자일로스 분말로부터 제조한다.

[0092] 실시예 6. 완전 영구 임상 영양물과의 혼합을 위한 신바이오틱 혼합물

[0093] 신바이오틱 제품, 즉 분말 혼합물을 실시예 4의 방법에 따라 제조한다. 5g의 분말 혼합물을 샷셋에 둔다. 이러한 샷셋의 내용물은 표준 영구 임상 영양물에 첨가할 수 있다. 최적의 결과를 위하여, 샷셋의 내용물을 사용전 30분을 넘지 않는 시간에 첨가하는 것이 바람직하다.

[0094] 실시예 7. 이유식을 강화하기 위한 신바이오틱 분말 혼합물

[0095] 신바이오틱 제품, 즉 분말 혼합물을 실시예 4의 방법에 따라 제조한다. 5g의 분말 혼합물을 샷셋에 둔다. 이러한 샷셋의 내용물은 표준 유아용 유동식(baby formula) 또는 이유식에 첨가할 수 있다. 최적의 결과를 위하여, 샷셋의 내용물을 사용전 30분을 넘지 않는 시간에 첨가하는 것이 바람직하다.

[0096] 실시예 8. 건조 식량을 위한 감미 분말 코팅

[0097] 감미 분말 코팅을 예컨대, 가루불이 등을 비롯한 건조 식량을 위한 분말화된 코팅을 위하여 제조할 수 있다.

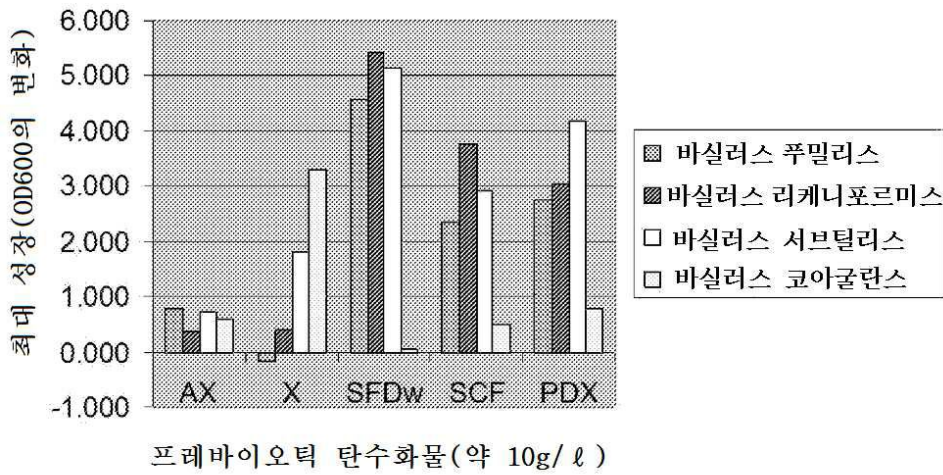
[0098] 다른 예는 실시예 4에 따라 제조되는 분말 혼합물인 신바이오틱 제품과 함께 제조되는 신바이오틱 혼합물의 건조 분말화된 코팅을 갖는 츄잉 껌이다. 약간의 감미의 비-우식원성(non-cariogenic) 분말을 사용하여 츄잉 껌의

스틱(stick)을 코팅한다. 휴잉 검의 스틱은 표준 패키징 방법을 사용하여 개별 포장된(wrapped) 검 스틱으로서, 패키징시킬 수 있다.

도면

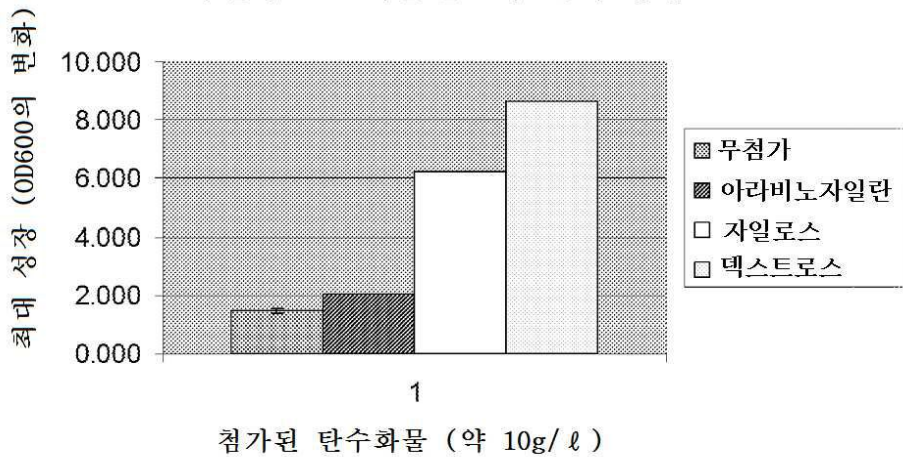
도면1

다양한 프레바이오틱 탄수화물 상에서의 프로바이오틱 바실러스의 성장



도면2

다양한 탄수화물 상에서의 바실러스 코아굴란스의 최대 성장



* "무첨가"(탄수화물을 첨가하지 않음)에 대한 SEM을 보여준다 (4개의 독립적인 실험).