[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580023506.3

[51] Int. Cl.
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 1/38 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23L 1/09 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)
A61K 35/74 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 6 月 20 日

[11] 公开号 CN 1984990A

[22] 申请日 2005.5.16
[21] 申请号 200580023506.3
[30] 优先权
[32] 2004. 5.14 [33] GB [31] 0410785.0
[86] 国际申请 PCT/GB2005/001888 2005.5.16
[87] 国际公布 WO2005/111195 英 2005.11.24
[85] 进入国家阶段日期 2007.1.12
[71] 申请人 格莱克劳吉克有限公司
地址 英国格拉斯哥
[72] 发明人 法拉杰·阿尔－加扎维
理查德·特斯特
[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
代理人 林晓红
权利要求书 6 页 说明书 22 页 附图 6 页

[54] 发明名称

改良的益生素

[57] 摘要

碳水化合物、特别是含有甘露糖的碳水化合物，用作细胞生长的促进剂。特别地，多糖水解产物示出在促进细胞生长、合生素食品(synbiotic foods)、益生素(prebiotics)和含有含甘露糖的碳水化合物和所述多糖水解产物的药物组合物中具有良好作用。

1. 含有甘露糖的碳水化合物在促进细胞生长中的应用。

2. 权利要求 1 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述含有甘露糖的碳水化合物是多糖。

3. 权利要求 1 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述碳水化合物是多糖水解产物。

4. 权利要求 3 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述多糖水解产物是酶水解产物。

5. 权利要求 3 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

6. 权利要求 3－5 中任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述多糖水解产物是甘露聚糖。

7. 权利要求 6 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。

8. 权利要求 7 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖。

9. 权利要求 6 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者任何其它类型的甘露聚糖。

10. 权利要求 6－9 任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是由活的生物体合成的。

11. 权利要求 6－9 任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是合成的。

12. 权利要求 6－11 任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是甘露糖糖浆、粉末或者粉形式。

13. 前述权利要求任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中加入葡萄糖或者任何其它碳水化合物。

14. 前述权利要求任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述细胞是微生物。

15. 前述权利要求任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述细胞是细菌。

16. 权利要求 15 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述细菌是乳酸细菌。

17. 前述权利要求任一项的含有甘露糖的碳水化合物在人和动物消化道中的应用。

18. 权利要求 1－16 任一项的含有甘露糖的碳水化合物在人和动物体腔中的应用。

19. 权利要求 1－16 任一项的含有甘露糖的碳水化合物在人和动物皮肤上的应用。

20. 权利要求 1－16 任一项的含有甘露糖的碳水化合物在阴道中的应用。

21. 权利要求 1－17 任一项的含有甘露糖的碳水化合物在动物和人食品中的应用。

22. 权利要求 21 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述食品是功能性食品。

23. 权利要求 21 或 22 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述食品是发酵中或者已经发酵的产物，如酸奶。

24. 权利要求 21－23 任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述食品/材料促进肠道和体腔中细胞的生长。

25. 权利要求 21－24 任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述食品/材料以消耗病原性生物体来促进消化道有益细胞的生长。

26. 一种包含一或多种益生菌及含有甘露糖的碳水化合物的合生素食品或饲料。

27. 权利要求 26 的合生素食品或饲料，其是益生素。

28. 权利要求 26 的合生素食品或饲料，其是益生菌。

29. 权利要求 26 的合生素食品或饲料，其是益生素和益生菌的混合物。

30. 权利要求 26－29 任一项的合生素食品或者饲料，其中含有甘露糖的碳水化合物是多糖。

31. 权利要求 26－29 任一项的合生素食品或者饲料，其中所述碳水化合物是多糖水解产物。

32. 权利要求 31 的合生素食品或者饲料，其中所述多糖水解产物是酶水解产物。

33. 权利要求 31 的合生素食品或者饲料，其中所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

34. 权利要求 31－33 任一项的合生素食品或者饲料，其中所述多糖水解产物是甘露聚糖。

35. 权利要求 34 的合生素食品或者饲料，其中所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。

36. 权利要求 35 的合生素食品或者饲料，其中所述葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖。

37. 权利要求 34 的合生素食品或者饲料，其中所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者任何其它类型甘露聚糖。

38. 权利要求 26－37 任一项的合生素食品或者饲料，其中所述细胞是微生物。

39. 权利要求 38 的合生素食品或者饲料，其中所述微生物是乳酸细菌。

40. 含有甘露糖的碳水化合物作为碳源在促进人和动物中微生物生长中的应用。

41. 含有甘露糖的碳水化合物作为益生素在促进人和动物中微

生物生长中的应用。

42. 权利要求 40 或 41 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述含有甘露糖的碳水化合物是多糖。

43. 权利要求 40 或 41 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中它们是任何多糖水解产物。

44. 权利要求 43 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述多糖水解产物是酶水解产物。

45. 权利要求 43 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

46. 权利要求 43－45 任一项的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述多糖水解产物是甘露聚糖。

47. 权利要求 46 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。

48. 权利要求 47 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖。

49. 权利要求 46 的含有甘露糖的碳水化合物的应用，其中所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者任何其它类型甘露聚糖。

50. 促进人和动物中微生物生长的益生素，所述益生素包含碳水化合物。

51. 权利要求 50 的益生素，其中所述碳水化合物是含有甘露糖的碳水化合物。

52. 权利要求 50 或 51 的益生素，其中所述碳水化合物是多糖。

53. 权利要求 50 或 51 的益生素，其中所述碳水化合物是多糖水解产物。

54. 权利要求 53 的益生素，其中所述多糖水解产物是酶水解产物。

55. 权利要求 53 的益生素，其中所述多糖水解产物是化学或者

物理水解产物。

56. 权利要求 53－55 任一项的益生素，其中所述多糖水解产物是甘露聚糖。

57. 权利要求 56 的益生素，其中所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。

58. 权利要求 57 的益生素，其中所述葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖。

59. 权利要求 56 的益生素，其中所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者任何其它类型甘露聚糖。

60. 权利要求 50－59 任一项的益生素，其是任何物理形式的阴道栓剂形式。

61. 权利要求 50－59 任一项的益生素，其是乳液形式。

62. 权利要求 50－59 任一项的益生素，其是栓剂形式。

63. 一种包含一或多种益生菌和碳水化合物的药物组合物。

64. 权利要求 63 的药物组合物，其中所述碳水化合物是含有甘露糖的碳水化合物。

65. 权利要求 63 或 64 的药物组合物，其中所述碳水化合物是多糖。

66. 权利要求 63 或 64 的药物组合物，其中所述碳水化合物是多糖水解产物。

67. 权利要求 66 的药物组合物，其中所述多糖水解产物是酶水解产物。

68. 权利要求 66 的药物组合物，其中所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

69. 权利要求 66 或 67 的药物组合物，其中所述多糖水解产物是甘露聚糖。

70. 权利要求 69 的药物组合物，其中所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。

71. 权利要求 70 的药物组合物，其中所述葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖。

72. 权利要求 69 的药物组合物，其中所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者任何其它形式的甘露聚糖。

73. 权利要求 63－72 任一项的药物组合物，其是任何物理形式的阴道栓剂形式。

74. 权利要求 63－72 任一项的药物组合物，其是栓剂形式。

75. 权利要求 63－72 任一项的药物组合物，其是乳液形式。

改良的益生素

本发明涉及益生素（prebiotics），特别涉及用于促进营养平板上某些细菌的生长以及用于食品和饮料、饲料及卫生保健和药物学应用中的改良的益生素。

根据 Jones (2002)所述，功能性食品广义定义为“提供多种营养素的食品；为消费者提供额外的生理学益处”。益生素是一类特殊的功能性食品，根据 Jones (2002)所述，它们可以被定义为“一种不可吸收的食品成分，其通过选择性刺激结肠中一种细菌或者有限数目的细菌的生长或者活性或者这两者而对宿主产生有益影响，因此改善宿主的健康”。例子包括：neosugars，菊糖，大豆水解产物，异麦芽寡糖（isomaltooligosaccharides），半乳寡糖（galactooligosaccharides），木寡糖（xylooligosaccharides），乳果糖，棉子糖，山梨糖醇，木糖醇，palatinose 和乳蔗糖。

益生菌在人体肠道中具有阳性和有益作用。益生菌例子是乳酸杆菌（Lactobacilli spp）和双歧杆菌（Bifidobacteria spp）。更详细的描述可见于最近的综述(Loo et al, 1999；Topping and Clifton, 2001；Tomasik and Tomasik, 2003)。益生素和益生菌食品可以被一起摄入以促进益生菌在肠道中的建群。

葡甘露聚糖是由许多植物产生的中性多糖，它们在植物中作为能量储备，在一些情况中扮演结构角色。在大多数情况中，所述多糖主要包含甘露糖残基，并且以葡萄糖作为第二种糖。所述多糖含有一些乙酰化的残基，并且可以含有一些半乳糖侧链(Khanna, 2003)。葡甘露聚糖的来源示于表 1。

表 1：不同来源的葡甘露聚糖

来源	甘露糖:葡萄糖比率 (MGR)	聚合度（DP）
东部白松 (Pinus strobes)	3.8:1	90
Higanbana (Lycroris radiata)	4.0:1	730
魔芋 (Amorphophallus konjac)	1.6:1	>6000
百合 (Lilium auratum)	2.7:1	220
兰花 (Tubera salep)	3.2:1	600
苎麻 (Boehmeria nivea)	1.8:1	nd
红杉 (Sequois sempervirens)	4.2:1	60
Suisen (Narcissus tazetta)	1.5:1	nd

从表 1 中显然可以看出葡甘露聚糖可以从广泛的不同植物来源中提取，其中分子量及甘露糖与葡萄糖的比率可以变化。

魔芋葡甘露聚糖是从魔芋（Amorphophallus konjac）植物(或者一群植物)中提取的一种多糖，该植物本身是天南星科（Araceae）属的一个成员。魔芋球茎在亚洲作为食品已经种植了几个世纪，其提供了具有非常感兴趣的物理特性的食品来源(Thomas, 1997；Khanna, 2003)。魔芋粉用作胶凝剂和增稠剂，是一种被批准的食品成分(Europe，E425)。魔芋球茎的主要多糖成分是葡甘露聚糖，当其水解时具有极高的膨胀特性。魔芋粉已经在世界范围内用于口香糖中，但是最近由于有 18 个人由于窒息死亡而被禁用(例如欧洲)。魔芋粉的其它营养益处包括降低胆固醇，产生饱腹感而减轻体重，及降低便秘的危险(Khanna, 2003)。除了食品用途之外，魔芋粉还用作成膜材料，药物赋形剂，体疗产品及用作层析基质(Khanna, 2003)。

魔芋粉的商业应用需要不同纯度，最高的葡甘露聚糖含量也伴随着最高的成本。通常经筛分程序和乙醇洗涤而不是经酶(淀粉酶，蛋白酶和脂肪酶处理以除去非葡甘露聚糖成分)处理而进行纯化(Khanna, 2003)。

魔芋葡甘露聚糖是高分子量聚合物，其分子量典型超过 1×10^6D (Khanna, 2003)。所述糖排列为甘露糖与葡萄糖以β-(1-4)连接的模块，在多糖中甘露糖与葡萄糖的比率典型为 1.6:1。这一线性结构在大约每一第 10 个己糖单元的糖残基的 C3 上有分支，在大约每第 19 个残基有一酯化的乙酰基团(Khanna, 2003)。

在人体中，一些多糖被定义为例如“淀粉样（starchy）”、“可消化”或者“可利用”的，而另一些被定义为例如“难以消化的（indigestible）”、“不可消化的（non-digestible）”、“膳食纤维”或者“非淀粉样”的。淀粉样多糖如果是无定形结构则可通过人小肠中的消化酶消化。如果淀粉样聚合物是晶体结构，则其可被运载到大肠中，在此被发酵，并被描述为“抗性淀粉”。非淀粉多糖在人体小肠中不能被消化，总是被运载到大肠中，在此被发酵。非淀粉多糖和抗性淀粉一起形成膳食纤维。这显然是饮食的重要成分，因为其促进食物在肠道中运行，提供膨胀和饱腹感，并且提供在结肠中的发酵基质。这种发酵释放短链脂肪酸，其可被吸收进血液中，据报道它们对对抗肠癌具有有益作用。葡甘露聚糖多糖因此在人的大肠中发酵。关于多糖在肠道中发酵的更详细的描述可见 Topping and Clifton (2001)的综述。

在本申请中，术语水解产物是指与亲代多糖相比具有较低分子量的材料，包括但不限于寡糖和糖。

从多糖中产生水解产物可以通过例如酸或者酶水解而实现。对于甘露聚糖(包括葡甘露聚糖，特别是魔芋葡甘露聚糖)，也可以在适当条件下实现。酸水解趋于随机而酶水解更针对特定的键。魔芋(及非魔芋)葡甘露聚糖可以被酸、甘露聚糖酶和纤维素酶水解(Kato and

Matsuda, 1969； Kato et al, 1970； Shimahara, 1975； Chiu et al, 1991； Ohya et al. , 1994； Behr, 1998； Chiu et al, 1998； Edashige and Ishii, 1998；Kurakake and Komaki, 2001；Cescutti et al, 2002；Chiu et al, 2002； Qi et al, 2003)。因此，纤维素酶及其它酶在魔芋葡甘露聚糖水解中的应用在 1980 年之前已经充分确立。也许 Chiu et al (1991,2002)描述的专利被授权是不同寻常的。这个专利涉及纤维素酶在水解魔芋葡甘露聚糖中的应用及其在食品中作为潜在的不可消化的膨胀剂的应用。

对水溶性魔芋(渗析)提取物已经进行了研究，由 Shimizu Manzo Shoten KK 公司(1974)和 Sugiyama and Shimahara (1976)公布。基于魔芋和淀粉组合的凝胶系统已经由 Tye 等(1990，1994)讨论。Chiu 等(1991，1998，2002)论述了纤维素酶将魔芋葡甘露聚糖转变为寡糖的应用及其作为糖代替品/膨胀剂的应用。King 等(1994)和 Wheatley 等(1996)使用魔芋葡甘露聚糖作为持续释放的赋形剂。含有魔芋同时添加或不添加其它促进健康成分的保健饮料/组合物也已经描述(Zhou, 1995； Vuksan, 2001； Sun, 2003)。

本文揭示了含有甘露糖的碳水化合物、特别是甘露聚糖如葡甘露聚糖和半乳甘露聚糖是细胞和微生物生长的良好促进剂和刺激剂。特别地，本发明发现多糖水解产物、特别是甘露聚糖水解产物在促进细胞生长中具有出乎意料的优异的效力。葡甘露聚糖水解产物(特别是但不限于魔芋葡甘露聚糖)是特别有效的。因此，本发明开发并描述了制备培养物（例如琼脂平板）、功能性和发酵食品(例如酸奶、奶酪和意大利香肠)及保健品/药品中的支持生物体的更商业化的方法。

根据本发明的第一方面，提供了含有甘露糖的碳水化合物在促进细胞生长中的应用。

优选地，所述含有甘露糖的碳水化合物是多糖或者在自然界发现的较低分子量的材料。

更优选地，所述含有甘露糖的碳水化合物是多糖水解产物、衍生

物或者具有低于在自然界发现的多糖的分子量的含有甘露糖的材料。

任选地所述多糖水解产物是酶水解产物。

任选地所述多糖水解产物是化学或者物理性水解产物。

优选地所述多糖水解产物是甘露聚糖。

任选地所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。或者，所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖。或者所述甘露聚糖是其它类型的甘露聚糖。

所述甘露聚糖可以是天然的或者合成的。

所述甘露聚糖可以是甘露糖糖浆、粉末或者粉（flour）形式。

所述葡甘露聚糖任选地是魔芋葡甘露聚糖。

任选地其它碳水化合物也可以加入细胞中。

所述细胞优选是微生物。

所述细胞可以是细菌如乳酸杆菌（Lactobacilli spp）和双歧杆菌（Bifidobacteria spp）。或者所述细胞可以是其它细菌、酵母、霉菌或者真菌。

含有甘露糖的碳水化合物在动物和人的食品中可以用作碳源，以促进产物中的或者摄食后的细胞生长。

所述细胞典型是微生物。

所述细胞可以是细菌如乳酸杆菌和双歧杆菌。或者所述细胞可以是酵母、霉菌或者真菌。

所述动物和人的食品可以是营养或者药物性食品或者饮料、饲料或者产品。

所述食品可以是发酵中或者已经发酵的产品如酸奶。所述食品可以是功能性食品。

含有甘露糖的碳水化合物促进肠道和体腔中细胞的生长。

典型地，含有甘露糖的碳水化合物以消耗病原性生物体来促进肠道有益的细胞的生长。

根据本发明的第二方面，提供了一种合生素（synbiotic）食品或

者饲料，其包含一或多种益生菌和含有甘露糖的碳水化合物。

所述合生素的食品或者饲料可以是益生素（prebiotic）。

所述合生素食品或者饲料可以是益生菌（probiotic）。

所述合生素食品或者饲料可以是益生素和益生菌的混合物。

优选地，所述含有甘露糖的碳水化合物(甘露聚糖)是在自然界发现的多糖或者较低分子量的材料(及其衍生物)。

最优选地，所述碳水化合物是多糖水解产物(包括衍生物) 或者与在自然界发现的多糖相比具有较低分子量的含有甘露糖的材料。

任选地，所述多糖水解产物是酶水解产物。

任选地，所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

优选地，所述多糖水解产物是甘露聚糖。任选地，所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。或者所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者其它类型的甘露聚糖。

所述甘露聚糖可以是天然或者合成的。

所述甘露聚糖可以是甘露糖糖浆、粉末或者粉形式。

所述葡甘露聚糖任选地是魔芋葡甘露聚糖。

可以使用任何合适的益生菌。例子包括乳酸杆菌和双歧杆菌。

本发明的第三方面提供了含有甘露糖的碳水化合物作为碳源在促进人和动物体内微生物生长中的应用。

所述碳源可以促进人和动物肠道中微生物生长。

本发明第四方面提供了含有甘露糖的碳水化合物作为益生素在促进人和动物体内微生物生长中的应用。

所述益生菌可以促进人和动物肠道中微生物生长。

优选地，所述含有甘露糖的碳水化合物是在自然界中发现的多糖或者较低分子量的材料。

最优选地，所述碳水化合物是多糖水解产物、衍生物或者与在自然界中发现的多糖相比具有较低分子量的含有甘露糖的材料。

任选地，所述多糖水解产物是酶水解产物。

任选地，所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

优选地，所述多糖水解产物是甘露聚糖。

任选地，所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。或者所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者其它类型甘露聚糖。

所述甘露聚糖可以是天然或者合成的。

所述甘露聚糖可以是甘露糖糖浆、粉末或者粉形式。

所述葡甘露聚糖任选地是魔芋葡甘露聚糖。

根据本发明的第五方面，提供了促进人和动物体内微生物生长的碳源；包含含有甘露糖的多糖水解产物或者与在自然界发现的含有甘露聚糖的多糖相比具有较低分子量的合成的衍生物的益生素。

所述碳源可以促进人和动物肠道中微生物的生长。

根据本发明的第六方面，提供了促进人和动物体内微生物生长的益生素；即包含含有甘露糖的多糖水解产物或者与在自然界发现的含有甘露聚糖的多糖相比具有较低分子量的合成的衍生物的益生素。

所述碳源可以促进人和动物肠道中微生物生长。

优选地所述含有甘露糖的碳水化合物衍生自多糖但可以是与天然发现的多糖相比具有较低分子量的材料。

最优选地，所述碳水化合物是多糖水解产物、衍生物或者与在自然界中发现的多糖相比具有较低分子量的含有甘露糖的材料。

任选地，所述多糖水解产物是酶水解产物。

任选地，所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

优选地，所述多糖水解产物是甘露聚糖。

任选地，所述甘露聚糖是葡甘露聚糖。或者，所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者任何其它类型甘露聚糖。

所述甘露聚糖可以是天然或者合成的。

所述甘露聚糖可以是甘露糖糖浆、粉末或者粉形式。

所述葡甘露聚糖优选是(但非绝对是)魔芋葡甘露聚糖。

所述益生素或者水解产物可适于局部、口服、阴道内或者经肛门给予。

任选地，所述益生素或者水解产物是任何物理形式的阴道栓剂（pessary），如片剂、胶囊，或者液体如冲洗液。

或者，所述水解产物或益生素是乳液(消费品及卫生保健品)。

或者，所述水解产物或益生素是栓剂(消费品及卫生保健品)。

所述微生物典型是天然微生物菌群。

根据本发明的第七方面，提供了一种药物组合物，该组合物可包含一或多种益生菌和碳水化合物。

所述碳水化合物优选是含有甘露糖的碳水化合物。

优选所述含有甘露糖的碳水化合物是在自然界中发现的多糖或者较低分子量的材料。

最优选地，所述碳水化合物是多糖水解产物、衍生物或者与在自然界发现的多糖相比具有较低分子量的含有甘露糖的材料。

任选地，所述多糖水解产物是酶水解产物。

任选地，所述多糖水解产物是化学或者物理水解产物。

优选地，所述多糖水解产物是甘露聚糖。

任选地，所示甘露聚糖是葡甘露聚糖。或者所述甘露聚糖是半乳甘露聚糖或者其它类型的甘露聚糖。

所述甘露聚糖可以是天然或者合成的。

所述甘露聚糖可以是甘露糖糖浆、粉末或者粉形式。

任选地，所述葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖。

所述药物组合物可以是阴道栓剂、栓剂或者乳液或者任何卫生保健品。

参考下图对本发明进行描述，其中：

图 1 和 2 示出时间、温度和酶浓度对魔芋粉的纤维素酶水解的作

用；

图 3 示出乳酸菌在含有魔芋水解产物的培养基 (底部)和含有菊粉的培养基 (上部) 中的生长对比结果；

图 4 示出乳酸杆菌 (上部)和双歧杆菌 (底部)在含有魔芋水解产物的培养基中(左侧)和在含有菊粉的培养基中(右侧)的生长对比结果；

图 5 示出乳酸菌在含有魔芋水解产物的培养基(上部左侧)、在含有 MRS 琼脂的培养基(上部右侧)、在含有 MRS 和木糖水解产物（xylohydrolysate）的培养基(底部右侧)及在含有 MRS 和果胶水解产物的培养基(底部左侧)中的生长对比结果。

通过下文深入讨论的实验，发现含有甘露糖的碳水化合物、特别是甘露聚糖如葡甘露聚糖和半乳甘露聚糖是细菌生长的优异促进剂。特别地，本申请人揭示了多糖水解产物包括魔芋葡甘露聚糖和半乳甘露聚糖的水解产物是细胞和微生物生长的极佳促进剂，并且与目前已知的益生素相比在促进这种生长方面具有未预料到的优异效力。特别地，葡甘露聚糖水解产物促进肠道有益的细菌如乳酸杆菌和双歧杆菌的生长，可以用于动物和人的食品和饲料中。也已经发现碳水化合物，包括含有甘露糖的碳水化合物，当通过非口服给予时，例如通过阴道、局部或者肛门给予时，是细胞和微生物生长的极佳益生素和促进剂。因此，预期碳水化合物如含有甘露糖的葡甘露聚糖、半乳甘露聚糖及其它类型的甘露聚糖可用于消费品和卫生保健品中，如局部乳液、栓剂、冲洗剂和阴道栓剂。

本申请人预期甘露聚糖特别是甘露聚糖水解产物如葡甘露聚糖和半乳甘露聚糖水解产物具有如下潜在作用：

• 促进细胞(特别但非限于是细菌)在营养平板上生长。这也可以在这些细胞的干燥期间提供冷冻保护剂优势。

• 在饲料、食品和饮料及卫生保健系统中作为佐剂，其中该材料

可以提供非发酵/发酵中/已发酵的食品中生物体的碳源。

•在饲料、食品和饮料及卫生保健系统中作为佐剂，其中该材料可以为运载至并位于肠道中的生物体提供碳源。

•选择性支持饲料、饮料、食品、卫生保健、药物、生物学及其它相关产品中某些微生物优于其它微生物的生长。

本发明提供的商业优势的关键在于所述多糖水解产物可以通过任何合适的方式产生，如化学（酸）、生物化学、酶或者物理水解产物，并且不管分子量或者分布如何均是有效的。

所述甘露聚糖可以是纯甘露聚糖或者组合另一种材料(例如糖)。也可以使用合成的甘露聚糖。

方法 1：魔芋粉的纤维素酶水解

为了确定纤维素酶 13P-C013P (Biocatalysts Ltd. Wales, UK)对魔芋粉(Luxara 5867, Arthur Branwell & Co. Ltd.)的水解能力，使用不同浓度的酶进行实验。将魔芋粉溶解于具有不同浓度纤维素酶的 250ml Duran 玻璃螺旋颈瓶中的乙酸盐缓冲液 (200mM，pH 4.5) 中。将样品在 60℃水浴摇床中保温 2 或 4 小时。该实验也包括无魔芋但有纤维素酶的对照。通过移液管将等份(1 ml)移至干净的螺旋盖的 10ml 试管中，密封，然后置于沸水中 15 分钟以使酶失活。接着，在 3000 rpm (1500×g)离心 15 分钟。通过移液管将等份(1ml)上清移至 250ml 量瓶中。将大约 100ml 去离子水及 10ml 硫酸锌和 6ml 1M 的氢氧化钠加入该瓶中，之后用去离子水加满。将内容物经 Whatman No. 1 滤纸(18.5cm 直径)过滤进 250ml 锥形瓶中。然后将每瓶的澄清过滤物的等份(1ml)通过移液管移至 10ml 螺旋盖的 Pyrex 管中，以确定还原能力(Nelson, 1944)。

对上清级分(～0.25ml)还针对标准糖和水解产物通过薄层层析(TLC)进行分离，以确定链长度。用于 TLC (Whatman KS silica gel 150

° A，Thickness 250um) 的标准糖是葡萄糖 (ACROS Organics-410955000)、甘露糖 (Sigma-M-4625)、纤维二糖 (Fluka-22150)、multotriose (ACROS Organics-225940010) 及 multohexaose (Sigma-M9153)。用于 TLC 板的移动相由丙-2-醇、丙酮和 1M 乳酸(分别为 4:4:2)组成。使用二苯胺 (苯胺、二苯胺和 85%正磷酸，比例分别为 5:5:1) 观测不同的糖。

这种方法的结果示于图 1。酶水解通过增加酶浓度、温度和时间而增加。随着酶浓度、温度或时间的增加，低分子量材料的比例正如所期望地增加。为了达到最佳的水解产物产生，优化如下条件并选择用于大部分工作(尽管非限于此)： 15mg 纤维素酶/ml 缓冲液在 60℃水解 2 小时，固体与缓冲液的比率为 1:10 ，如图 2 所示。

方法 2：魔芋水解产物的提取

魔芋水解产物在希望的条件下以两种不同方式提取：(a)没有糖，其中将上清通过 90%无水乙醇沉淀；或者(b)有糖，其中将上清冻干。对比这两种魔芋水解产物制备级分的功能性(特别是用于微生物生长的底物)。如下是这种对比结果。

一些乳酸菌得自不同来源。这些乳酸菌包括：

干酪乳杆菌干酪亚种（*Lactobacillus casei ssp casei*）	NCFB161
德氏乳杆菌保加利亚亚种（*Lactobacillus delbruckii ssp bulgaricus*）	NCFB1489
嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）	NCFB1748
加氏乳杆菌（*Lactobacillus gasseri*）	NCFB2233
植物乳杆菌（*Lactobacillus plantarum* ）	DSM 12028
Lactococcus lactis ssp lactis	NCIMB6681
青春双歧杆菌（*Bifidobacterium adolescentis*）	NCIMB702204
短双歧杆菌（*Bifidobacterium breve*）	NCIMB702258
双歧双歧杆菌（*Bifidobacterium bifidum*）	NCIMB700795

这些细菌菌株的生长使用所述两种魔芋水解产物制备级分检测。这种检测通过使用 Bactometer (bioMerieux, Basingstoke, Hampshire)进行，其中在无菌去离子水中制备每种生物体的系列稀释液，将 1ml 改良的 MRS 肉汤移至一次性 Bactometer 组件的每个孔中。将 Bactometer 组件中的每个孔接种 0.1ml 每种稀释液等份，然后用无菌矿物质油覆盖以获得厌氧条件。然后将该组件在由 Tektronix 4205 软件(bioMerieux, Basingstoke, Hampshire)驱动的 Bactometer 128 微生物监测系统(bioMerieux, Basingstoke, Hampshire)中在 37℃保温 48 小时。乳酸菌的生长也通过将菌株在改良的 MRS 琼脂平板中生长而检测。

结果示出所有使用的乳酸菌菌株在两种魔芋水解产物制备级分中均能生长。在 Bactometer 中，生长通过在 Bactometer 组件中示出的检测时间(微生物的初始浓度达到 Bactometer 阈值水平需要的时间)证实。也示出了这两种水解产物级分之间无显著差异，因此出于经济方面的原因决定在本应用中使用含有糖的魔芋水解产物，但是也可以在有或无糖的条件下进行应用。

实施例 1：葡甘露聚糖/魔芋水解产物支持细菌在培养基上生长的应用

魔芋水解产物在 Bactometer 中：

产生的魔芋水解产物用作碳源以提供 Bactometer 中一系列乳酸菌的生长。根据原始配方制备 De Man，Rogosa and Sharpe (MRS)肉汤，MRS 改良的肉汤通过将原始配方中的葡萄糖(20mg/ml 葡萄糖)用 100％甘露糖与葡萄糖(1.6:1)、100%的含有糖的可溶的水解产物及 100%的无糖的可溶水解产物替代。在无菌去离子水中制备每种生物体的系列稀释液。为了保温生物体及在微生物监测系统中确定生长速度，将 1ml 肉汤移至一次性 Bactometer 组件(bioMerieux, Basingstoke, Hampshire) 的每个孔中。组件中的每个孔均接种 0.1ml 每种稀释液等

份，然后用无菌矿物质油覆盖以获得厌氧条件。然后将该组件在由 Tektronix 4205 软件(bioMerieux, Basingstoke, Hampshire)驱动的 Bactometer 128 微生物监测系统(bioMerieux, Basingstoke, Hampshire)中在 37℃保温 48 小时。

结果示出检测的所有乳酸菌包括乳酸杆菌和双歧杆菌在所有使用的碳源上均生长。这个结果通过 Bactometer 组件上示出的检测时间(微生物初始浓度达到 Bactometer 阈值水平需要的时间)而证实。

实施例 2：魔芋水解产物及菊粉在 MRS 琼脂中

在含有魔芋水解产物的培养基与含有菊粉（一种确定的益生素）的培养基之间进行乳酸菌生长对比。在这种情况中，将所述碳源混和在 MRS 培养基中，代替原始配方中的葡萄糖(20mg/ml 葡萄糖)。制备无碳源、具有魔芋水解产物和具有菊粉的 MRS 培养基。用最大回收稀释剂制备系列稀释液，使用平板涂布培养技术将每种生物体的每种稀释液的 0.1ml 等份铺板。然后将平板在 5% CO_2 条件下在 37℃保温 48 小时，之后获得菌落形成单位(C.F.U.)。

在两种碳源情况中，菌落数目在相同范围(10^7－10^8)。然而，非常大的菌落(5mm)在含有魔芋水解产物的 MRS 平板上生长。另一方面，在含有菊粉作为碳源的 MRS 平板上获得非常小的菌落(0.5－1mm)。结果示于图 3 和 4。

实施例 3：魔芋水解产物和菊粉水解产物在 MRS 琼脂中

在含有魔芋水解产物的培养基与含有菊粉水解产物的培养基之间对比乳酸菌的生长。分别使用合适浓度的纤维素酶和菊粉酶水解魔芋粉和菊粉。将产生的魔芋水解产物和菊粉水解产物加入 MRS 琼脂中，代替原始配方中的葡萄糖(20mg/ml 葡萄糖)。用最大回收稀释剂制备系列稀释液，将包括 3 种乳酸杆菌和 3 种双歧杆菌的乳酸菌传代

培养并在 5% $C0_2$ 条件下在 37℃保温 48 小时。

表 2：含有魔芋水解产物(KOS)和菊粉水解产物(IOS)的培养基上乳酸菌的菌落形成单位和菌落大小

益生菌菌株	IOS	KOS	菌落大小（mm）	
			IOS	KOS
干酪乳杆菌（*L.casei*）*NCFB 161*	3.9×10^8	2.5×10^8	1	5
德氏乳杆菌（*L. delbruckii*）*NCFB 1489*	3.0×10^8	2.4×10^8	1	5
嗜酸乳杆菌（*L. acidophilus*）*NCFB 1748*	4.4×10^8	3.2×10^8	1	5
青春双歧杆菌（*B. adolescentis*）*NCIMB 702204*	2.9×10^8	4.2×10^8	1	5
短双歧杆菌（*B. breve*）*NCIMB 702258*	3.0×10^8	3.5×10^8	1	5
双歧双歧杆菌（*B. bifidum*）*NCIMB 700795*	8.7×10^7	8.2×10^7	1	5

如表 2 所示，这两种碳源的 C.F.U.均在 $2.4-4.4\times10^8$ 范围，双歧双歧杆菌 NCIMB (700795)除外，其 C.F.U.为 8×10^7。然而，含有魔芋水解产物的培养基上菌落的大小(5mm)比含有菊粉水解产物的培养基上生长的菌落(1mm)大。这提示魔芋水解产物支持乳酸菌的生长，并因此传代时间快于在含有菊粉水解产物的培养基上生长的那些乳酸菌。

实施例 4：魔芋水解产物及果胶水解产物和木聚糖水解产物在 MRS 琼脂中

还在含有魔芋水解产物的培养基和其它含有果胶水解产物和木聚糖水解产物的培养基上对比了乳酸菌的生长，果胶水解产物和木聚糖水解产物是已确定的益生素。分别使用合适浓度的纤维素酶、果胶酶和木聚糖酶水解魔芋粉、果胶和木聚糖。将产生的水解产物加入

MRS 琼脂中，代替原始配方中的葡萄糖。用最大回收稀释剂制备系列稀释液，将乳酸菌传代培养并在 5% CO_2 条件下在 37℃保温 40 小时。

表 3：在 MRS 琼脂、具有魔芋水解产物(KOS)的 MRS、具有果胶水解产物(POS)的 MRS、及具有木聚糖水解产物(XOS)的 MRS 上生长的乳酸杆菌和双歧杆菌的菌落形成单位和菌落大小(mm)

益生菌菌株	MRS	MRS＋KOS	MRS+POS	MRS+XOS
干酪乳杆菌 *NCFB 161*	4.7×10^7 (2.5mm)	3.2×10^7 (3.5mm)	4.8×10^7 (2.0mm)	3.7×10^7 (1.0mm)
德氏乳杆菌 *NCFB 1489*	1.3×10^7 (2.0mm)	1.0×10^7 (3.5mm)	1.1×10^7 (1.5mm)	1.1×10^7 (1.0mm)
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	2.2×10^7 (2.0mm)	1.8×10^7 (4.0mm)	1.6×10^7 (1.5mm)	1.9×10^7 (1.0mm)
青春双歧杆菌 *NCIMB 702204*	3.3×10^7 (2.5mm)	3.1×10^7 (3.5mm)	3.3×10^7 (2.5mm)	4.2×10^7 (1.0mm)
短双歧杆菌 *NCIMB 702258*	8.1×10^7 (2.0mm)	1.0×10^8 (2.5mm)	1.3×10^8 (0.5mm)	6.5×10^7 (1.0mm)
双歧双歧杆菌 *NCIMB 700795*	3.4×10^7 (1.5mm)	3.5×10^7 (1.5mm)	2.1×10^7 (0.25mm)	3.4×10^7 (0.25mm)

如表 3 所示，所有碳源的 C.F.U.均相似，除短双歧杆菌 NCIMB (702258)之外，其在利用魔芋和果胶水解产物的情况中示出较高计数 (1.0×10^8)。然而，含有魔芋水解产物的培养基上菌落的大小大于在 MRS 琼脂、含有果胶水解产物和木聚糖水解产物的培养基上生长的菌落大小，如图 5 所示。

实施例 5：葡甘露聚糖/魔芋水解产物在未发酵的/将要发酵的/已发酵的食品中的应用

魔芋水解产物和菊粉在 UHT 乳中：

对乳酸菌在魔芋水解产物和作为商业水解物的菊粉上的生长进行了对比。购买 UHT 乳并使用掺入的水解产物作为碳源检测乳酸菌的生长。将乳(对照)、具有 2% 魔芋水解产物的乳和具有作为 2%菊

粉的乳的样品在 5% CO_2 条件下在 37℃保温 24 小时。用最大回收稀释剂制备系列稀释液，使用平板涂布培养技术将每种生物体的每种稀释液的 0.1ml 等份铺板。然后将平板在 5% CO_2 条件下在 37℃保温 48 小时，之后获得菌落形成单位(C.F.U.)。

表 4：在 MRS 琼脂上传代培养的乳、具有菊粉的乳和具有魔芋水解产物(KOS)的乳的菌落形成单位(C.F.U.)/ml 的差异

益生菌菌株	乳	乳＋菊粉	乳＋KOS
干酪乳杆菌 *NCFB 161*	6.5×10^7	6.7×10^7	4.3×10^8
德氏乳杆菌 *NCFB 1489*	4.0×10^7	7.4×10^7	4.9×10^8
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	3.2×10^7	3.7×10^7	7.4×10^8
青春双歧杆菌 *NCIMB 702204*	4.6×10^7	5.3×10^7	6.6×10^8
短双歧杆菌 *NCIMB 702258*	4.1×10^8	7.6×10^8	1.5×10^9
双歧双歧杆菌 *NCIMB 700795*	1.3×10^8	2.0×10^8	1.6×10^9

表 4 和图 6 的结果示出在含有魔芋水解产物的乳中菌落形成单位($4.3 \times 10^8 - 1.6 \times 10^9$)高于具有菊粉的乳中的菌落形成单位($3.7 \times 10^7 - 7.6 \times 10^8$)，这与仅有乳的结果非常相似。另外，双歧杆菌的菌落形成单位在所有样品中均高于乳酸杆菌的菌落形成单位。

魔芋水解产物和天然酸奶：

魔芋水解产物对乳酸菌生长的作用通过将该产品应用于酸奶而进一步测试。确定天然酸奶的菌群，随后立即加入 0、1%、2%和 5% 魔芋水解产物，将其在 37℃保温 48 小时。用最大回收稀释剂制备系列稀释液，将每种稀释液的 0.1ml 等份使用平板涂布培养技术铺板。然后将平板在 5% CO_2 条件下在 37℃保温 48 小时，之后获得菌落形成单位(C.F.U.)。

表 5：菌落形成单位(C.F.U.)/g 含有不同浓度的魔芋水解产物的酸奶

加入的魔芋水解产物，%	选择的稀释度	菌落平均数	每克酸奶的菌落形成单位（C.F.U.）
0	10^{-4}	128	1.3×10^7
1	10^{-4}	181	1.8×10^7
2	10^{-4}	204	2.0×10^7
5	10^{-4}	108	1.1×10^7

表 5 所示的结果示出随着魔芋水解产物浓度的提高菌落的数目略有增加(1.3×10^7，1.8×10^7 和 2.0×10^7)，例外的是所述水解产物增加 5%，这种情况下形成太多的酸以致于生长受到限制。

实施例 6：葡甘露聚糖/魔芋水解产物促进微生物在饲料/食品及肠道和体内生长的潜力

进行了一项研究以检测葡甘露聚糖/魔芋水解产物在促进微生物在饲料/食品中生长的潜在作用，及通过抑制其它微生物包括肠道中的病原菌的生长而对人体健康产生有益影响。

如本领域所熟知，鸡肉通常被病原菌如弯曲杆菌和李斯特氏菌所破坏，因此将 25g 鸡胸肉使用 stomacher 匀浆，并将 200μl 接种于在 50ml 锥形瓶中的 20ml Mueller Hinton 肉汤(oxoid)中。将其在轨道摇床中在 37℃保温过夜。在同一天通过将一环过夜保温的益生菌(干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌和青春双歧杆菌)培养物接种于 MRS 琼脂的中心而产生生长点，所述 MRS 培养基中具有魔芋水解产物作为碳源，代替原始配方中的葡萄糖(20mg/ml 葡萄糖)。将平板在 5% CO_2 条件下在 37℃保温过夜。对于每种生物体，将含有鸡肉混合物的 200μl 过夜保温的 Mueller Hinton 肉汤加入 15ml 的 MH 琼脂中。将加入的培养物与熔化的琼脂轻轻混和，然后倒入皮氏培养皿中，使其凝固。然后通过轻轻将其提起将琼脂从平板中无菌除下，并缓慢将其下降于在其它琼脂平板上的益生菌生长点上。将具有夹心琼脂的平板在需氧条件

下在 37℃保温。在过夜保温后，测定在益生菌生长点上无细菌生长的抑制圈，从该图中减去每个菌株的益生菌生长点的直径。将这项实验重复 3 次，获得一致的结果。

将上述程序也用于病原性单核细胞增生李斯特氏菌的两种纯培养物，一种大肠杆菌培养物及一种金黄色葡萄球菌培养物。最初将来自乳的单核细胞增生李斯特氏菌 L85 和来自人的单核细胞增生李斯特氏菌 Scott A 在 TSB 中传代培养，然后研究用益生菌嗜酸性乳酸杆菌 NCFB 1748、植物乳杆菌 DSM 12028、干酪乳杆菌干酪亚种 NCFB 161 和乳酸乳球菌乳酸亚种（Lactococcus lactis ssp lactis）NCIMB 6681 (Hannah Research Institute, Ayr, Scotland)对其的抑制作用。

在 Luria 肉汤中生长大肠杆菌，之后测试益生菌干酪乳杆菌干酪亚种 NCFB 161 和嗜酸性乳酸杆菌 NCFB 1748 在 MRS 和补加葡甘露聚糖的 MRS 上对大肠杆菌的抑制。将金黄色葡萄球菌在 Mueller Hinton 肉汤中生长，之后研究其被嗜酸性乳酸杆菌 NCFB 1748、干酪乳杆菌干酪亚种 NCFB 161、加氏乳杆菌（L. gasseri）NCFB 2233 和乳酸乳球菌乳酸亚种 NCIMB 6681 的抑制情况。

由于本发明的益生素具有独特的特征谱，使其在众多技术中均颇有价值，包括在食品、饲料和卫生保健/药物的应用中，这种益生素作为生物治疗剂，特别是用于控制和治疗念珠菌病和阴道炎，具有极佳益处。因此，使用酵母白色假丝酵母（Candida albicans）进行初步研究。

通过将一环益生菌(嗜酸性乳酸杆菌 NCFB 1748，干酪乳杆菌 NCFB 161，加氏乳杆菌 NCFB 2233，植物乳杆菌 DSM 12028 和乳酸乳球菌乳酸亚种 NCIMB 6681)的过夜保温培养物接种于 MRS 琼脂和补加了魔芋水解产物的 MRS 琼脂的中心，产生生长点。将该平板在 5%CO_2 条件下在 37℃保温过夜。在保持在 50℃的 10ml Sabouraud 右旋糖琼脂 Oxoid (软琼脂，0.7%)中接种 100μl 在 30℃生长过夜的白

色假丝酵母。将加入的量与熔化的琼脂充分混和，然后覆盖在含有益生菌生长点的凝固的琼脂上。将该平板在需氧条件下在 30℃保温，使得酵母生长。在过夜保温之后，测定在益生菌生长点上无酵母生长的抑制圈，从该图中减去每个菌株的益生菌生长点的直径。

结果示出当接种在 MRS 琼脂或者含有魔芋水解产物的改良的 MRS 琼脂上时，乳酸菌对来自鸡肉提取物中的混和培养物产生一个抑制圈。这通过在改良的 MRS 琼脂上，特别是菌株嗜酸性乳酸杆菌示出一个 18mm 的抑制圈而充分证实。其它两个菌株((干酪乳杆菌和青春双歧杆菌)示出 15mm 的抑制圈。然而，在 MRS 琼脂上接种的菌株株仅示出 11mm 的抑制圈。

表 6：在 MRA 培养基上乳酸菌对单核细胞增生李斯特氏菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色假丝酵母的抑菌圈

KOS = 魔芋水解产物

菌株	培养基上的抑菌圈（mm）		
	MRS 琼脂	MRS+KOS (+葡萄糖)	MRS+KOS (－葡萄糖)
单核细胞增生李斯特氏菌 *L850*			
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	11	19	10
植物乳杆菌 *DSM 12028*	11	24	12
干酪乳杆菌干酪亚种 *NCFB 161*	14	—	9
乳酸乳球菌乳酸亚种 *NCIMB6681*	12	21	5
单核细胞增生李斯特氏菌			
Scott A	13	19	10
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	14	24	12
植物乳杆菌 *DSM 12028*	14	—	14
干酪乳杆菌干酪亚种 *NCFB 161*	13	21	5
乳酸乳球菌乳酸亚种 *NCIMB6681*			

大肠杆菌（*Escherichia coli*）			
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	13	—	12
干酪乳杆菌干酪亚种 *NCFB 161*	15	—	14
金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）			
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	21	—	16
干酪乳杆菌干酪亚种 *NCFB 161*	21	—	8
乳酸乳球菌乳酸亚种 *NCIMB6681*	22		4
加氏乳杆菌 NCFB 2233	20		1
白色假丝酵母			
嗜酸乳杆菌 *NCFB 1748*	3	—	6
干酪乳杆菌干酪亚种 *NCFB 161*	4	—	7
乳酸乳球菌乳酸亚种 *NCIMB6681*	5		8
加氏乳杆菌 NCFB 2233	2	—	3
植物乳杆菌	0	—	0

结果(表 6)还示出单核细胞增生李斯特氏菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色假丝酵母在存在葡甘露聚糖水解产物的条件下，以抑菌圈形式被乳酸菌抑制(分别见图 9、10、11 和 12)。看起来这种抑制是益生菌菌株和碳源依赖性的。在存在葡甘露聚糖 (益生素)的条件下乳酸菌对病原体的抑制是非常重要的。特别对于白色假丝酵母，这是发现阴道症状（episodes）治疗方法和重建健康阴道微生物群的重要方法。这种方法使得本发明人可以扩展生物治疗剂的含义及通过给予任何形式的益生素和/或益生菌（如阴道栓剂、乳液或者凝胶）以控制和治疗阴道感染的进一步应用。

本申请人进行的研究揭示了葡甘露聚糖水解产物、特别是魔芋葡甘露聚糖水解产物是优异的益生菌物质，并且在促进细胞生长中具有未预料到的更大的效力。一般地，发现在存在葡甘露聚糖水解产物的

条件下比在存在其它已确定的益生菌物质的条件下，细胞具有更短的传代时间和更迅速的增殖。

在本发明所述范围内可以对本发明进行进一步修改和变化。

参考文献

Behr, W. (1998) Dietetic and pharmaceutical raw material 。www.behrbonn.com/literat/konjacmb.htm

Brandt, L. A. (2001) Prebiotics enhance gut health。www.findarticles.com/cf~dls/m3289/9~170/78576180/print.jh tml

Burrington, K. J. (1999) Inside cookies and crackers。www. foodproductdesign.com/ archive/1999/0799de. html

Cescutti, P. , Campa, C. , Delben, F. and Rizzo, R. (2002) Carbohydrate Research 337,2505-2511。

Chiu, C-W, Jeffcoat, R. , Zallie, J. P. and Henley, M. (1991) EP0457098。

Chiu, C-W, Jeffcoat, R., Zallie, J. P. and Henley, M. (1998) US5811148。

Chiu, C-W, Jeffcoat, R., Zallie, J. P. and Henley, M. (2002) US2002051841。

Edashige, Y. and Ishii, T. (1998) Phytochemistry 49, 1675-1682。

Jones, P. J. (2002) Clinical nutrition: 7. Functional foods - more than just nutrition. Canadian Medical Association Journal 166 (12), 1555-1563。

Kato, K. and Matsuda, K. (1969) Agricultural and Biological Chemistry 33,1446-1453。

Kato, K. , Watanabe, T. and Matsuda, K. (1970) Agricultural and Biological Chemistry 34,532-539。

Khanna, S. (2003) The Chemical, Physical and Nutritional Properties of the Plant Polysaccharide Konjac Glucomannan. PhD Thesis, Glasgow Caledonian University, Glasgow, UK。

King, L. V. , Erkoboni, F. D. and Wheatley, O. T. (1994) W09415643。

Kurakake, M. and Komaki, T. (2001) Current Microbiology 42,377-380。

Ohya, Y. , Ihara, K. , Murata, J. , Sugitou, T. and Ouchi, T. (1994) Carbohydrate Polymers 25,123-130。

Loo, J. V. , Cummings, J. , Delzenne, N. , Englyst, H., Franck, A., Hopkins, M. , Kok, N. , Macfarlane, G. , Newton, D. , Quigley, M. , Roberfroid, M. , van Vliet, T. and van den Heuvel, E. (1999) British Journal of Nutrition 81, 121-132。

Nelson, N. (1944) Journal of Biological Chemistry 153, 375。

Platzman,A.(2000)www.foodproductdesign.com/archive/2000/0100nn.html

Qi, L. , Li, G. J. andZong,-M. H. (200.3) ACTA Polymerica Sinica 5,650-654。

Shimahara, H. , Suzuki, H. , Sugiyama, N. and Nizakawa, K. (1975) Agricultural and Biological Chemistry 39, 293-299。

Sugiyama, N. and Shimahara, H. (1976) US3973008。

Shimizu Manzo Shoten KK (1974) GB1351006。

Sun, G. (2003) US2003138545。

Thomas, W. R. (1997) In Thickening and Gelling Agents for Foods (A. Imeson, Ed), pp 169-179. Blackie: London。

Tomasik, P. J. and Tomasik, P. (2003) Cereal Chemistry 80,113-117。

Topping, D. L. and Clifton, P. M. (2001) Physiological Reviews 81,1031-1064。

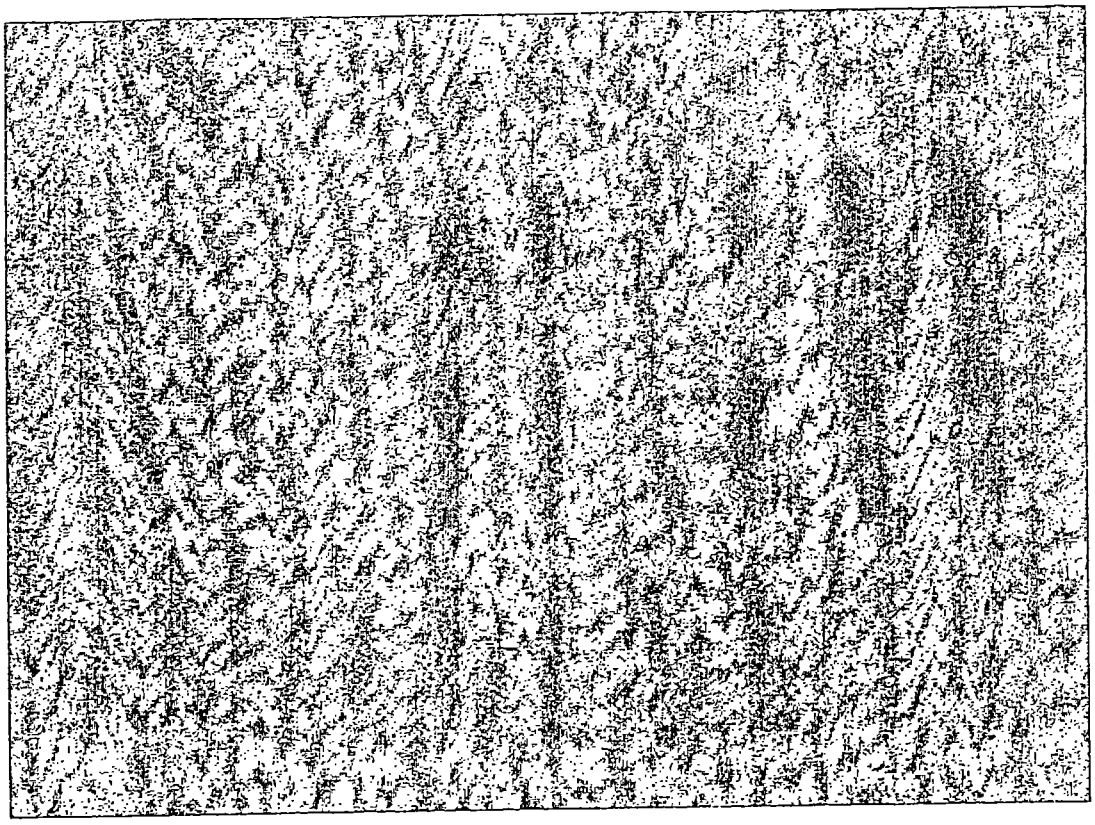
Tye, J. R. , Bullens, C. W. and Llanto, M. G. (1990) WO9015544。

Tye, J. R. , Bullens, C. W. and Llanto, M. G. (1994) US5308636。

Vuksan, V. (2001) CA2410556。

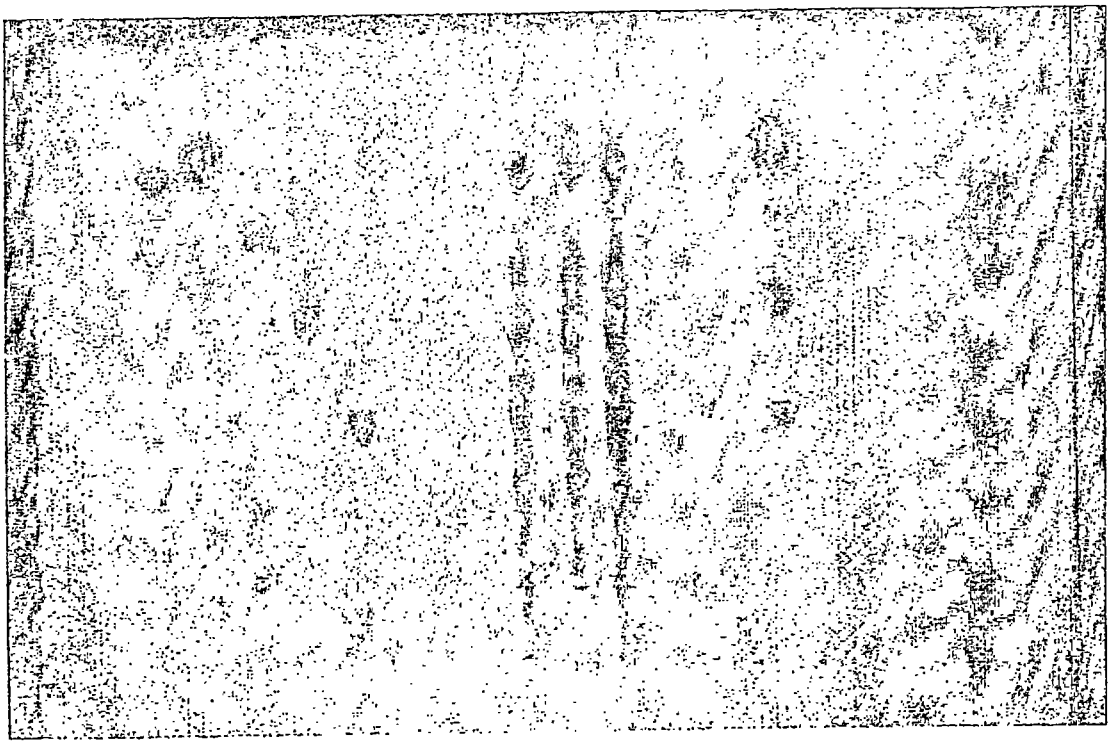
Wheatley, O. T. , King, L. V. and Erkoboni, F. D. (1996) US5486364。

Zhou, W. (1995) CN1097114。



层析谱示出时间、温度和酶浓度的作用。由左至右，标准糖葡萄糖、甘露糖、纤维二糖、麦芽三糖、麦芽己糖， 用 10mg、15mg、20mg 酶/ml 分别温育 2 小时和 4 小时。

图 1



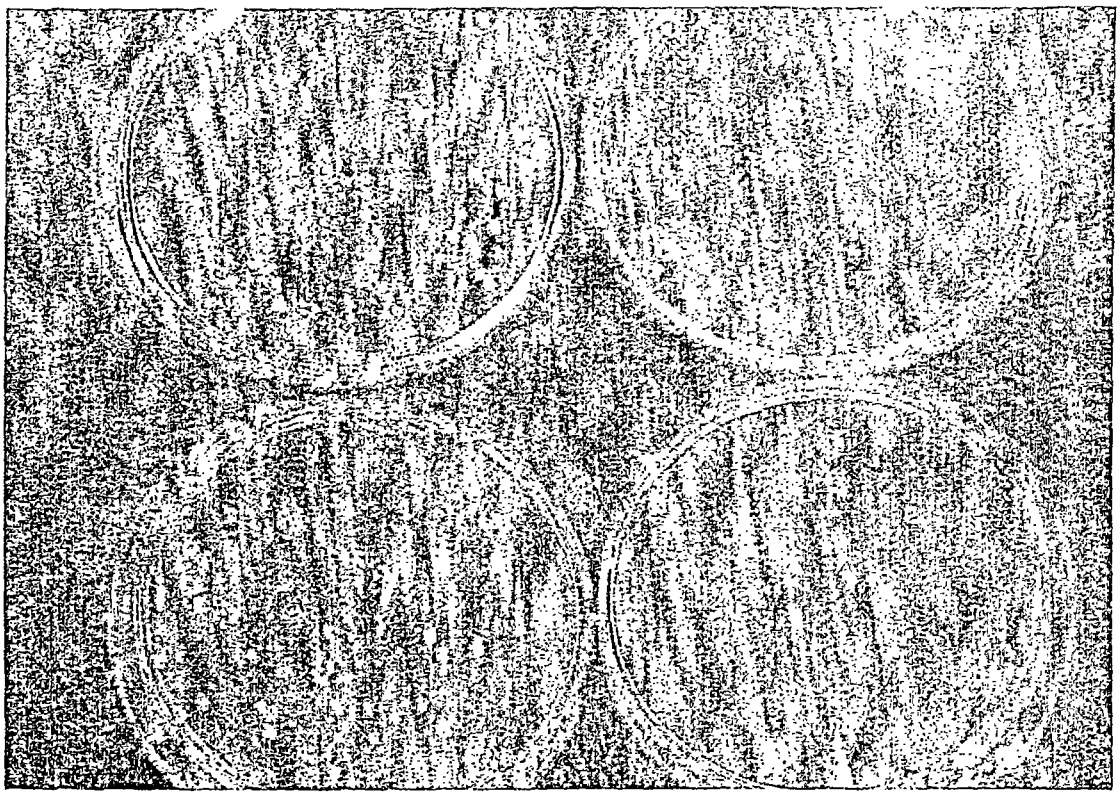
层析谱示出时间和酶浓度的作用。由左至右，标准糖葡萄糖、甘露糖、纤维二糖、麦芽三糖、麦芽己糖，用 10mg、15mg 和 20mg 酶/ml 缓冲液在 60℃分别温育 4 小时、3 小时和 2 小时。

图 2



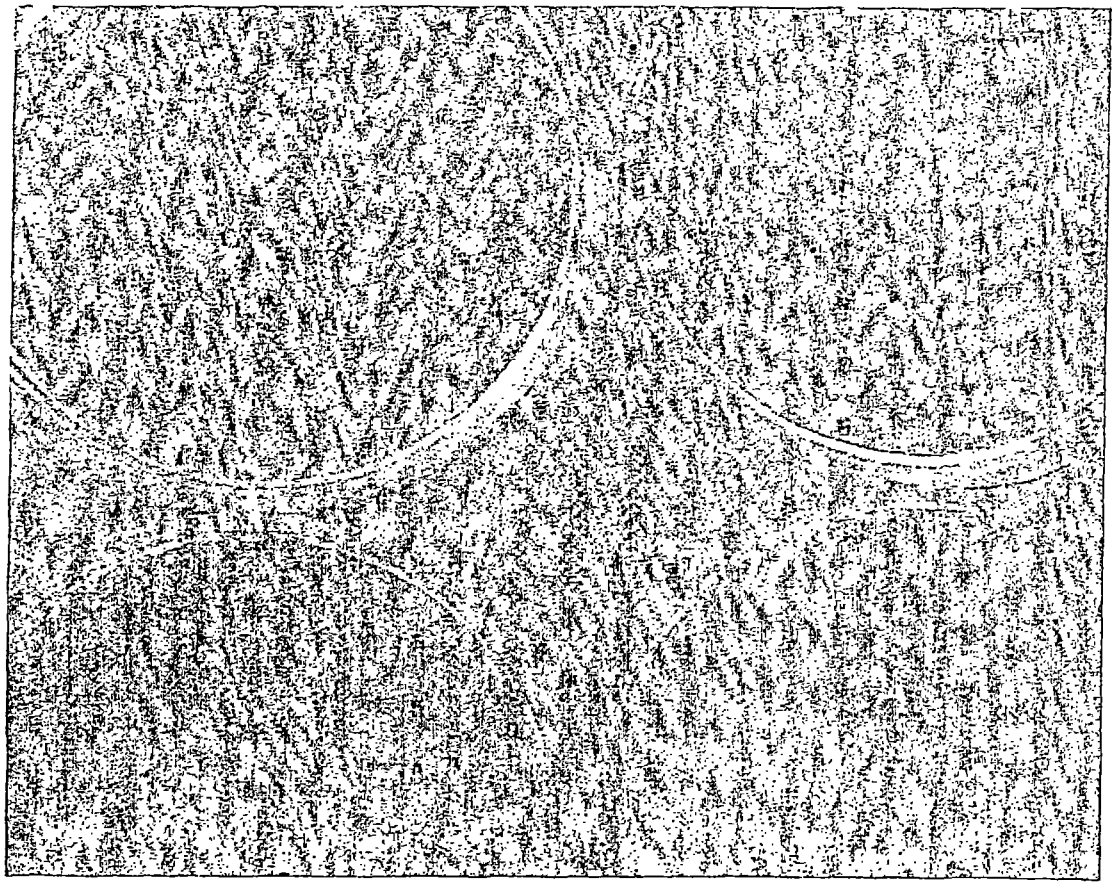
在魔芋水解产物(底部)和菊粉(上部)上嗜酸性乳酸杆菌 NCFB 1748 的生长差异

图 3



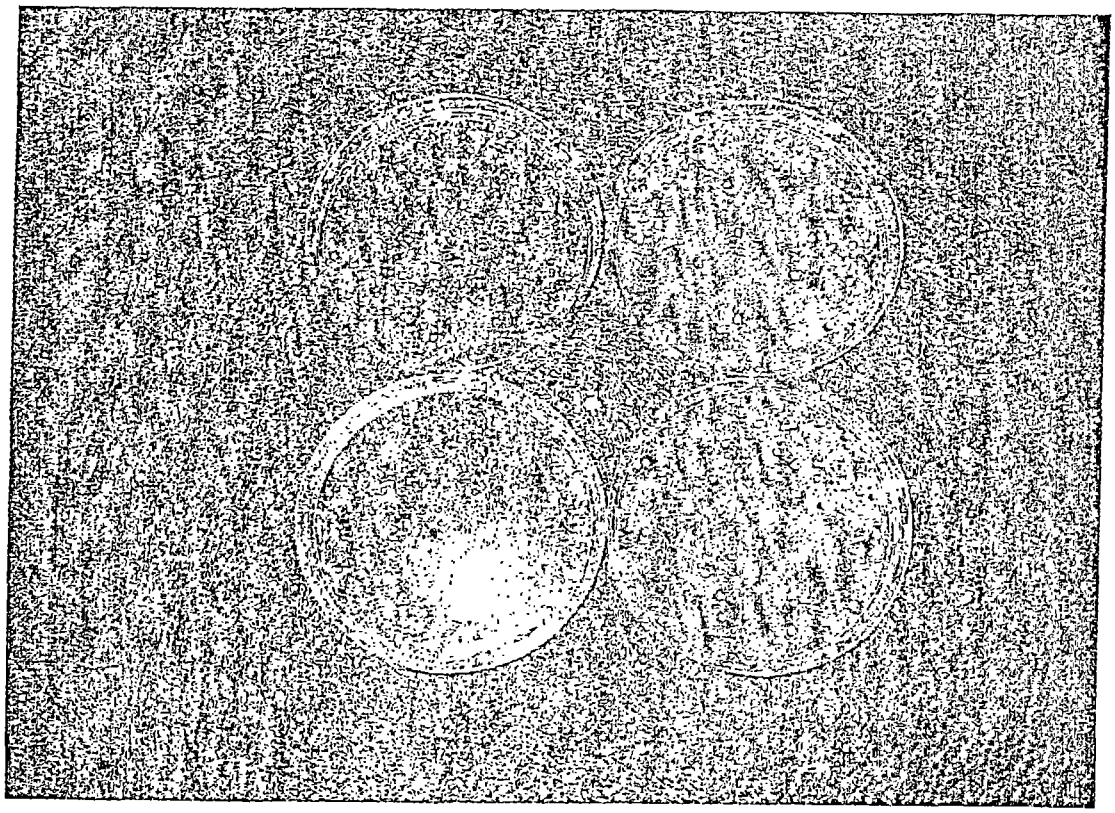
在魔芋水解产物(左侧)和菊粉(右侧)上干酪乳酸杆菌 NCFB 161(上部)和青春双歧杆菌 NCIMB 702204(底部)的生长差异

图 4



生长在含有魔芋水解产物的 MRS、MRS 琼脂、含有木糖寡糖的 MRS 和具有果胶水解产物的 MRS 上（顺时针）的干酪乳酸杆菌 NCFB 161 菌落大小的差异

图 5



在加入牛奶的魔芋水解产物(左侧)和菊粉(右侧)上生长、然后亚培养在 MRS 琼脂上的嗜酸性乳酸杆菌 NCFB 1748 的生长

图 6