



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월15일

(11) 등록번호 10-2362975

(24) 등록일자 2022년02월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) A23L 7/10 (2016.01)

(52) CPC특허분류
A23L 33/10 (2022.01)
A23L 7/115 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2015-7030354

(22) 출원일자(국제) 2014년03월22일

심사청구일자 2019년03월20일

(85) 번역문제출일자 2015년10월21일

(65) 공개번호 10-2015-0135417

(43) 공개일자 2015년12월02일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/031526

(87) 국제공개번호 WO 2014/153554

국제공개일자 2014년09월25일

(30) 우선권주장

61/804,584 2013년03월22일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

JP2009511506 A*

US20120052152 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

테이트 앤드 라일 인그리디언츠 어메리카즈 엘엘씨

미국, 일리노이 60192, 호프만 이스테이즈, 프래리 스톤 파크웨이 5450

퍼듀 리서치 파운데이션

미국, 인디애나 47906, 웨스트 라파예트 파운드리 드라이브 101

(72) 발명자

위버, 코니, 마리

미국, 인디애나 47906, 웨스트 라파예트, 홈우드 드라이브 4811

나카쓰, 신디, 에이치.

미국, 인디애나 47906, 웨스트 라파예트, 스테이트 로드 26 웨스트 3211

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

강명구, 이경민

전체 청구항 수 : 총 22 항

심사관 : 장은경

(54) 발명의 명칭 **결장 박테리아 집단을 증가시키고 미네랄 흡수를 증가시키기 위한, 가용성 옥수수 섬유질의 용도**

(57) 요약

본 발명은, 가용성 옥수수 섬유질(SCF)과 같은 발효성 가용성 섬유질, 결장 박테리아 집단을 증가시키는 데 있어서의 이의 용도, 및 결장 박테리아 집단을 증가시키는 데 유용한 식용 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/306 (2013.01)

A23V 2200/32 (2013.01)

(72) 발명자

윌리엄슨, 패트리시아

미국, 일리노이 60118, 웨스트 던디, 서머셋 애비
뉴 693

호프만, 앤드류, 조셉

미국, 인디애나 47992, 웨스트 포인트, 6157 에스
950 더블유

샌더스, 리사, 머클

미국, 미시건 49015, 배틀 크릭, 턴베리 레인 127

명세서

청구범위

청구항 1

대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키기 위한 식용 조성물에 있어서, 상기 식용 조성물은 가용성 옥수수 섬유질, 그리고 다음과 같이 구성된 군에서 선택되는 각 속의 하나 이상의 박테리아 집단을 포함하고: 파라박테로이데스(*Parabacteroides*) 속, 부티리키코커스(*Butyricicoccus*) 속, 오실리박터(*Oscillibacter*) 속, 알리스티페스(*Alistipes*) 속 및 아네로코커스(*Anaerococcus*) 속,

여기서 상기 가용성 옥수수 섬유질에서 비-선행 당류 올리고머의 농도는 선행 당류 올리고머의 농도의 최소한 2 배이며, 그리고 중합도가 최소한 3인 비-선행 당류 올리고머의 농도는 건조 고체 기준으로 최소한 50 중량 %이며, 생성 조성물은 잉글리스트 분석법에 의해 측정될 때 최소한 50% 소화 저항성이거나 느리게 소화가능하며, 생성 조성물은 건조 고체 기준으로 50 % 미만의 잔류 단당류를 함유하고, 그리고 여기서 상기 가용성 옥수수 섬유질은 다음 단계를 포함하는 공정에 의해 만들어지는, 식용 조성물:

텍스트로스 시럽 또는 옥수수 전분의 가수분해에 의해 만들어진 시럽인 수성 공급(feed) 조성물을 제공하는 단계, 여기서 상기 수성 공급 조성물은 텍스트로스, 선행 텍스트로스 올리고머 또는 둘 모두를 포함하고, 그리고 최소한 90 중량%의 고체 농도를 가지며; 그리고

최소한 149℃의 온도에서 0.1-15분 범위의 시간 동안 상기 공급 조성물을 비-선행 당류 올리고머의 형성을 유도하기에 충분한 시간 동안 글루코실 결합의 절단 또는 형성 속도를 가속화시키는 최소한 하나의 촉매에 접촉시키는 단계, 여기서 최소한 하나의 촉매는 공급 조성물의 pH를 1.0-2.5로 만드는데 충분한 양으로 공급 조성물에 추가되는 산이며, 여기서 비-선행 당류 올리고머의 농도가 선행 당류 올리고머의 농도에 최소한 2배인 생성 조성물이 형성되고, 그리고 여기서 중합도가 최소한 3인 비-선행 당류 올리고머의 농도는 건조 고체 기준으로 최소한 50 중량 %이며, 상기 생성 조성물은 최소한 50% 소화 저항성이거나 느리게 소화가능하고, 상기 생성 조성물은 건조 고체 기준으로 50 % 미만의 잔류 단당류를 포함하며,

여기서 당류 올리고머는 2 내지 30의 중합도를 가짐.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 부티리키코커스(*Butyricicoccus*) 속 및 오실리박터(*Oscillibacter*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 각 속의 하나 이상의 박테리아 집단을 포함하는, 식용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 박테로이데스(*Bacteroides*) 속 및 디알리스터(*Dialister*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 상이한 각 속의 하나 이상의 박테리아 집단을 추가로 포함하는, 식용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 파라박테로이데스(*Parabacteroides*) 속, 부티리키코커스(*Butyricicoccus*) 속 및 오실리박터(*Oscillibacter*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 각 속의 하나 이상의 박테리아 집단을 포함하는, 식용 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 파라박테로이데스(*Parabacteroides*) 속, 부티리키코커스(*Butyricicoccus*) 속, 오실리박터(*Oscillibacter*) 속 및 디알리스터(*Dialister*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 상이한 각 속의 2개 이상의 박테리아 집단을 포함하는, 식용 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 하나 이상의 박테리아 집단 중 최소한 하나는 *파라박테로이데스*(*Parabacteroides*) 속, *알리스티페스*(*Alistipes*) 속, 그리고 *아내로코커스*(*Anaerococcus*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 속인, 식용 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 하나 이상의 박테리아 집단 중 최소한 하나는 *부티리키코커스*(*Butyricicoccus*) 속인, 식용 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 하나 이상의 박테리아 집단 중 최소한 하나는 *오실리박터*(*Oscillibacter*) 속인, 식용 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, *디알리스터*(*Dialister*) 속의 박테리아 집단을 추가로 포함하는, 식용 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, *비피도박테리움*(*Bifidobacterium*) 속의 박테리아 집단을 추가로 포함하는, 식용 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, *박테로이데스*(*Bacteroides*) 속 또는 *디알리스터*(*Dialister*) 속의 박테리아 집단을 추가로 포함하는, 식용 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 하나 이상의 박테리아 집단 중 최소한 하나는 *파라박테로이데스*(*Parabacteroides*) 속, *오실리박터*(*Oscillibacter*) 속, *알리스티페스*(*Alistipes*) 속, 그리고 *아내로코커스*(*Anaerococcus*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 속(genus)인, 식용 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 조성물은 1 회 제공 당 최소한 2.5g의 가용성 옥수수 섬유질을 포함하는, 식용 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 조성물은 1 회 용량 또는 제공 당 최소한 50mg의 양으로 제공되는 칼슘을 추가로 포함하는, 식용 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 조성물은 구운 음식, 아침용 시리얼, 낙농 제품, 쿵 제품, 당과 제품(confection), 잼 및 젤리, 분말형 또는 액체 형태 음료, 셰이크, 충진제, 요구르트, 케피어(kefir), 압출형 스낵 및 시트형 스낵, 젤라틴 디저트, 스낵 바, 식사 대용물 및 에너지 바, 치즈 및 치즈 소스, 식용 필름 및 수용성 필름, 수프, 시럽, 식탁료 감미제, 영양 보충제, 소스, 드레싱, 크리머(creamer), 아이싱(icing), 아이스크림, 프로스팅(frosting), 글레이즈, 애완동물 사료, 토르티야(tortilla), 육류 및 어류, 건조 과일, 영유아 식품, 그리고 반죽(batter) 및 브레딩(breading)으로부터 선택되는 형태로 제공되는, 식용 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 식용 조성물은 응집 분말, 영양 보충제 또는 약제 형태의 형태인, 식용 조성물.

청구항 19

포유류 대상에서, *파라박테로이데스*(*Parabacteroides*) 속, *부티리키코커스*(*Butyricicoccus*) 속, *오실리박터*(*Oscillibacter*) 속, *알리스티페스*(*Alistipes*) 속, 그리고 *아내로코커스*(*Anaerococcus*) 속으로 구성된 군에서 선택되는 각 속의 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법에 있어서, 청구항 제1항 및 제4항 내지

제18항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 20

삭제

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 결장 박테리아 집단 중 하나 이상은 비-처리 대조군과 비교하여 최소한 10 %만큼 증가되는, 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 배설물의 pH가 최소한 1.5 pH 단위만큼 감소되도록 투여가 수행되는, 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 배설물 pH가 5.5를 넘지 않도록 투여가 수행되는, 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 가용성 옥수수 섬유질은 최소한 2.5 g/일의 속도로 투여되는, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 투여는 최소한 2 주에 걸쳐 수행되는, 방법.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된, 2013년 3월 22일에 출원된 미국 가특허 출원 61/804,584를 우선권으로 주장한다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 일반적으로, 발효성 가용성 섬유질, 예컨대 가용성 옥수수 섬유질(SCF), 및 이의 용도 및 조성물에 관한 것이다. 소정의 측면에서, 본 발명은 대상에서 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 장내 미생물총(gut microflorae)은 숙주 세포 및 영양분과 상호작용하는 복잡한 생태계를 형성한다. 성인의 인체는 10^{14} 개 초과의 살아있는 박테리아 바이오매스 및 400가지가 넘는 상이한 종을 포함하며, 인체에서 가장 광범위하며 집약적이고 가장 다양한 미생물 군집을 나타낸다. 장내 박테리아의 존재는 정상적인 인체 생리학의 일부이며, 장 기능의 발달,식이 탄수화물로부터 에너지를 수합하며, 필수 비타민을 수합하고, 장에서 환경적인 화합물질을 대사하는 데 중요하다. 최근의 연구는 추가로, 장내 박테리아가 지방의 저장에 관여하며 체중 증가 및 감량에 영향을 미칠 수 있음을 제시하였다. 장내 박테리아는 또한, 면역계의 성숙에 관여하며, 면역계와 계속해서 소통하고, 병원체로부터의 보호를 제공한다. 건강 및 안녕(wellness)에서 장내 박테리아의 중요성으로 인해, 유익한 장내 박테리아의 집단을 증강시키기 위한 기능성 식품 성분에 대한 큰 관심이 나타나게 되었다.

[0006] 청소년기는, 미네랄 체류를 최대화하고, 인생 후기에서의 골다공증-관련 골절의 위험성을 예방하기 위한 특별한 기회를 제공하는, 골 건강에 중요한 생명-단계(life-stage)이다. 우유 소비를 줄임으로 인해 칼슘은 식이에서 점점 결핍되게 되기 때문에, 칼슘 이용률을 증강시키는 기능성 식품 성분에 대한 큰 관심이 나타나게 되었다.

발명의 내용

[0007] 하나의 광범위한 측면에서, 본 발명은 대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 가용성 옥수수 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다.

[0008] 일 측면에서, 본 발명은 대상에서 *파라박테로이데스*(*Parabacteroides*) 속(genus), *부티리키코커스*(*Butyricicoccus*) 속, *오실리박터*(*Oscillibacter*) 속 및 *디알리스터*(*Dialister*) 속으로부터 선택되는 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 *파라박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*로부터 선택되는 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 가용성 옥수수 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다.

[0009] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 *박테로이데스*(*Bacteroides*) 속, *부티리키코커스* 속, *오실리박터* 속 및 *디알리스터* 속으로부터 선택되는 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 발효성 가용성 섬유질(예, 가용성 옥수수 섬유질)을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다.

[0010] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 *파라박테로이데스* 속, *비피도박테리움*(*Bifidobacterium*) 속, *알리스티페스*(*Alistipes*) 속, *아내로코커스*(*Anaerococcus*) 속, *카테니박테리움*(*Catenibacterium*) 속, 클로스트리디알레스(*Clostridiales*) 목(order) 내의 속, 및 루미노코카세아(*Ruminococcaceae*) 과(family) 내의 속으로부터 선택되는 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 발효성 가용성 섬유질(예, 가용성 옥수수 섬유질)을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다.

[0011] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 *파라박테로이데스* 속, *디알리스터* 속, *아케르만시아*(*Akkermansia*) 속, 및 라크노스피라세아(*Lachnospiraceae*) 과 내의 속으로부터 선택되는 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 발효성 가용성 섬유질(예, 가용성 옥수수 섬유질)을 포함하는 조성물을 대상

에게 경구 투여하는 단계를 포함한다.

- [0012] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 약 3 g/일 이상, 약 5 g/일 이상, 약 10 g/일 이상, 약 15 g/일 이상, 약 20 g/일 이상, 심지어 약 25 g/일 이상으로 경구 투여하는 단계를 포함한다.
- [0013] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은, 배설물 pH(fecal pH)가 약 5.5 미만의 값으로 감소(예, 약 7에서 약 4.5로의 배설물 pH 감소)하도록, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 감소는 예를 들어, 칼슘의 생체이용률을 증가시킨다.
- [0014] 또 다른 측면에서, 본 발명은 배설물 pH를 약 5.5 이하의 값(예, 약 4.5의 배설물 pH)으로 감소시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다.
- [0015] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 미네랄(예, 칼슘, 철, 아연, 구리, 칼륨 및/또는 마그네슘) 흡수를 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 미네랄은 2가 양이온으로서 흡수된다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 미네랄은 칼슘이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 미네랄은 칼슘 및/또는 마그네슘이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 미네랄은 칼슘 및/또는 철이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 미네랄은 칼슘, 마그네슘 및/또는 철이다.
- [0016] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상에서 미네랄(예, 전술한 바와 같은 칼슘, 철, 아연, 구리, 칼륨 및/또는 마그네슘) 흡수를 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물을 대상에게 약 3 g/일 이상, 약 5 g/일 이상, 약 10 g/일 이상, 약 12 g/일 이상, 약 15 g/일 이상, 약 20 g/일 이상, 또는 심지어 약 25 g/일 이상의 비율로 경구 투여하는 단계를 포함한다.
- [0017] 또 다른 측면에서, 본 발명은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질, 및 *락토바실러스(Lactobacillus)*, *박테로이데스*, *파라박테로이데스*, *알리스티페스*, *비피도박테리움*, *부티리키코커스*, *오실리박터*, *디알리스터* 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 박테리아 집단을 포함하는 식품품을 제공한다.
- [0018] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (예, 각각 상이한 속으로부터 선택되는) *박테로이데스* 속, *부티리키코커스* 속, *오실리박터* 속 및 *디알리스터* 속으로부터 선택되는 하나 이상의(예, 2 이상 또는 3 이상의) 박테리아 집단을 포함하는 식용 조성물을 제공한다. 식용 조성물은 선택적으로 발효성 가용성 섬유질(예, 가용성 옥수수 섬유질)을 포함할 수 있다.
- [0019] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (예, 각각 상이한 속으로부터 선택되는) *파라박테로이데스* 속, *디알리스터* 속, *아케르만시아* 속, 및 *라크노스피라세* 과 내의 속으로부터 선택되는 하나 이상의(예, 2 이상 또는 3 이상의) 박테리아 집단을 포함하는 식용 조성물을 제공한다. 식용 조성물은 선택적으로 발효성 가용성 섬유질(예, 가용성 옥수수 섬유질)을 포함할 수 있다.
- [0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (예, 각각 상이한 속으로부터 선택되는) *파라박테로이데스* 속, *비피도박테리움* 속, *알리스티페스(Alistipes)* 속, *아넬로코커스* 속, *카테니박테리움* 속, *클로스트리디알레스* 목 내의 속; 및 *루미노코카세* 과 내의 속으로부터 선택되는 하나 이상의 (예, 2 이상 또는 3 이상의) 박테리아 집단을 포함하는 식용 조성물을 제공한다. 식용 조성물은 선택적으로 발효성 가용성 섬유질(예, 가용성 옥수수 섬유질)을 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 본원에 나타내는 본 발명은 도면을 참조로 하여 유리하게 이해될 수 있다.

도 1은, 청소년 초기의 남학생과 여학생을 대상으로, 이중 안정 동위원소를 이용한 칼슘 흡수 시험 후 제1일 및 제2일 동안에, 분획 칼슘 흡수(평균 + SEM)에 미치는 SCF의 효과를 도시한 것이다. 각각의 시기(0시간 내지 24시간 및 24시간 내지 48시간) 동안의 처리, 서열 및 단계(phase)를 포함한 일반적인 선형 모델은, SCF에 대한

칼슘 흡수가 24시간 내지 48시간째에는 대조군보다 높았으나($P=0.02$), 0시간 내지 24시간째에는 그렇지 않았음을 가리켰다($P=0.09$).

도 2는 0시간 내지 24시간째 및 24시간 내지 48시간째의 소변 수집에 의해 측정된 분획 칼슘 흡수에서 SCF 처리군과 대조군 간의 비교를 도시한 것이다.

도 3은 임상 기간의 시작(B) 및 종료(E) 시에, 대상들에서 박테리아 과의 평균 상대 비율의 비교를 도시한 것으로서, 여기서, 식이는 가용성 옥수수 섬유질(SCF) 및 대조군(Con)을 포함하였다. 적어도 1회의 처리에서 총 군집 중 1.0% 초과를 나타내는 과들만 도시되어 있다. 오차 막대는 평균의 표준 오차를 나타낸다. 글자는 각각의 과 내의 유의한 차이를 도시한다($p < 0.05$).

도 4는 각각의 SCF 식이 처리의 시작(B) 및 종료(E) 시에, 주요 박테리아 문(phyla)의 평균 비율을 비교한 히스토그램을 도시한 것이다.

도 5는, 상이한 SCF 식이 처리 시, 대상으로부터 시작(B) 및 종료(E) 시에 수집한 배설물 검체로부터 제작된 Chao1 다양성 측정의 희박화 분석(rarefaction analysis)을 도시한 것이다.

도 6은 SCF 처리의 시작(B) 및 종료(E) 시에 수집된 군집 조성물 코디드(coded) SCF 식이 보충 검체의 잭나이프 브레이 커티스 거리(Jackknife Bray Curtis distance)의 주 좌표 분석(Principal Coordinate Analysis; PCoA)을 도시한 것이다.

도 7은 SCF 처리의 시작(B) 및 종료(E) 시에 수집된 군집 조성물 코디드 SCF 식이 보충 검체의 잭나이프 브레이 유클리드 거리의 주 좌표 분석(PCoA)을 도시한 것이다.

도 8은 SCF 처리의 시작(B) 및 종료(E) 시에 대상으로부터 수집된 군집 조성물의 유니프랙 G(Unifrac G) 계통 발생 거리(phylogenetic distance)의 잭나이프 분석의 주 좌표 분석(PCoA)을 도시한 것이다.

도 9는 발효성 가용성 섬유질의 제조 방법의 일례를 나타내는 도식적인 구성도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 개시된 방법 및 물질이 기술되기 전에, 본원에 기술되는 측면들은 특정한 구현예, 방법 또는 조성물로 제한되지 않으며, 그런 만큼 당연히 다양할 수 있음을 이해해야 한다. 또한, 본원에서 사용되는 용어는 단지 특정한 측면을 기술할 목적인 것이며, 본원에서 구체적으로 정의되지 않는 한, 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다.
- [0023] 본 명세서 전체에서, 문맥상 다르게 요구하지 않는 한, 단어 "~을 포함하다(comprise)" 및 "~을 포함시키다(include)" 및 변형(예, "~을 포함한다," "~을 포함하는," "~을 포함시킨다," "~을 포함시키는")은 언급되는 성분, 특징, 요소 혹은 단계, 또는 성분들, 특징들, 요소들 혹은 단계들의 그룹을 포함하나, 임의의 다른 정수 혹은 단계, 또는 정수들 혹은 단계들의 그룹을 배제하지 않음을 함축하는 것으로 이해하게 될 것이다.
- [0024] 명세서 및 첨부되는 청구항에서 사용되는 바와 같이, 단수형("a," "an" 및 "the")은 문맥상 다르게 명시하지 않는 한, 복수형을 포함한다.
- [0025] 범위는 본원에서, "약" 하나의 특정한 값으로부터, 및/또는 "약" 또 다른 특정한 값으로 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현되는 경우, 또 다른 측면은 하나의 특정한 값으로부터, 및/또는 다른 특정한 값을 포함한다. 마찬가지로, 값이 근사치로 표현되는 경우, 선행사 "약"을 사용함으로써, 특정한 값이 또 다른 측면을 형성하는 것으로 이해하게 될 것이다. 나아가, 범위의 각각의 종점은 다른 종점과 관련하여 유의하며, 다른 종점과 무관하게 유의한 것으로도 이해하게 될 것이다.
- [0026] 본 개시내용의 측면에서, 본원에 기술되는 방법 및 조성물은, 원하는 필요성을 충족시키기 위해, 당업자에 의해 구성될 수 있다. 일반적으로, 개시되는 방법 및 조성물은 장내 미생물총을 향상시킨다. 예를 들어, 소정의 측면에서, 본 개시내용의 방법은, 발효 및 단쇄 지방산 생성을 할 수 있는 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시킨다.
- [0027] 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 하나 이상의 결장 박테리아 집단들의 개수를 증가시키며, 각각은 *파라박테로이테스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터* 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 속으로부터 유래된다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *파라박테로이테스*의 집단을 증가시킨다. 본원

에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *부티리키코커스*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *오실리박터*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *디알리스터*의 집단을 증가시킨다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는, *파라박테로이데스* 및 *부티리키코커스*; *파라박테로이데스* 및 *오실리박터*; *파라박테로이데스* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *오실리박터* 및 *디알리스터*; *파라박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *파라박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *파라박테로이데스*, *오실리박터*, 및 *디알리스터*; *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; 또는 *파라박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*의 집단을 증가시킨다. 물론, 다른 박테리아 집단이 추가적으로 증가될 수 있다. 이러한 소정의 구현예에서, 칼슘의 흡수 또한, (예, 후술하는 바와 같이) 증가한다.

[0028] 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 갯수를 증가시키며, 각각은 *박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터* 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 속으로부터 유래된다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *박테로이데스*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *오실리박터*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *디알리스터*의 집단을 증가시킨다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는, *박테로이데스* 및 *부티리키코커스*; *박테로이데스* 및 *오실리박터*; *박테로이데스* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *오실리박터* 및 *디알리스터*; *박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *박테로이데스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; 또는 *박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*의 집단을 증가시킨다. 물론, 다른 박테리아 집단이 추가적으로 증가될 수 있다. 이러한 소정의 구현예에서, 칼슘의 흡수 또한, (예, 후술하는 바와 같이) 증가한다.

[0029] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 갯수를 증가시키며, 각각은 *파라박테로이데스*, *비피도박테리움*, *알리스티페스*, *아내로코커스*, *카테니박테리움*, *클로스트리디알레스* 목 내의 속(예, *클로스트리듐* (*Clostridium*), *아내로푸스티스*(*Anaerofustis*), *아내로코커스*, *코프로코커스*(*Coprococcus*), *펩토스트렙토코카세아*(*Peptostreptococcaceae*), *스포라세티게늄*(*Sporacetigenium*)은 아님); 및 *루미노코카세아* 과 내의 속 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 속으로부터 유래된다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *파라박테로이데스*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *비피도박테리움*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *알리스티페스*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *아내로코커스*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *카테니박테리움*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *루미노코카세아* 과의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *클로스트리디알레스* 목의 집단을 증가시킨다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는, *파라박테로이데스* 및 *비피도박테리움*; *파라박테로이데스* 및 *알리스티페스*; *파라박테로이데스* 및 *아내로코커스*; *파라박테로이데스* 및 *카테니박테리움*; *파라박테로이데스* 및 *루미노코카세아*; *파라박테로이데스* 및 *클로스트리디알레스*; *비피도박테리움* 및 *알리스티페스*; *비피도박테리움*

및 아내로코커스; 비피도박테리움 및 카테니박테리움; 비피도박테리움 및 루미노코카세아; 비피도박테리움 및 클로스트리디알레스; 알리스티페스 및 아내로코커스; 알리스티페스 및 카테니박테리움; 알리스티페스 및 루미노코카세아; 아내로코커스 및 카테니박테리움; 아내로코커스 및 루미노코카세아; 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 루미노코카세아 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움 및 알리스티페스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움 및 아내로코커스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움 및 카테니박테리움; 파라박테로이데스, 비피도박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 알리스티페스 및 아내로코커스; 파라박테로이데스, 알리스티페스 및 카테니박테리움; 파라박테로이데스, 알리스티페스 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 알리스티페스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 파라박테로이데스, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 아내로코커스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 알리스티페스 및 아내로코커스; 비피도박테리움, 알리스티페스 및 카테니박테리움; 비피도박테리움, 알리스티페스 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 알리스티페스 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 비피도박테리움, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 아내로코커스 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 알리스티페스, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 알리스티페스, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 알리스티페스, 아내로코커스 및 루미노코카세아; 알리스티페스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 알리스티페스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 알리스티페스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 아내로코커스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 아내로코커스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 알리스티페스 및 아내로코커스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 알리스티페스 및 카테니박테리움; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 알리스티페스 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 알리스티페스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 아내로코커스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 아내로코커스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 아내로코커스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 파라박테로이데스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 아내로코커스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 비피도박테리움, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 알리스티페스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 알리스티페스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세아; 알리스티페스, 아내로코커스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 알리스티페스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아; 또는 아내로코커스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세아의 집단을 증가시킨다. 물론, 당업자는, 5개, 6개 또는 7개의 결장 박테리아 집단의 임의의 조합이 본원에 기술되는 방법에 의해 증가될 수 있으며, 각각은 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 목 내의 속; 및 루미노코카세아 과 내의 속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 속으로부터 유래됨을 이해할 것이다. 물론, 다른 박테리아 집단이 추가적으로 증가될 수 있다.

[0030] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포

함하는 조성물의 투여는 하나 이상의 결장 박테리아 집단들의 갯수를 증가시키며, 각각은 *파라박테로이데스*, *디알리스터*, *아케르만시아*, 및 *라크노스피래세*에 과 내의 속(예, *라크노스피래*는 아님)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 속으로부터 유래된다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *파라박테로이데스*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *디알리스터*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *아케르만시아*의 집단을 증가시킨다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는 *라크노스피래세*의 집단을 증가시킨다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물의 투여는, *파라박테로이데스* 및 *디알리스터*; *파라박테로이데스* 및 *아케르만시아*; *파라박테로이데스* 및 *라크노스피래세*; *디알리스터* 및 *아케르만시아*; *디알리스터* 및 *라크노스피래세*; *아케르만시아* 및 *라크노스피래세*; *파라박테로이데스*, *디알리스터* 및 *아케르만시아*; *파라박테로이데스*, *디알리스터* 및 *라크노스피래세*; *파라박테로이데스*, *아케르만시아* 및 *라크노스피래세*; *디알리스터*, *아케르만시아* 및 *라크노스피래세*; 또는 *파라박테로이데스*, *디알리스터*, *아케르만시아* 및 *라크노스피래세*의 집단을 증가시킨다. 물론, 다른 박테리아 집단이 추가적으로 증가될 수 있다.

[0031] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 하나 이상의 결장 박테리아 집단(예, 전술한 바와 같음)은 비-처리 대상과 비교해, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 약 35% 이상, 약 40% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 80% 이상, 또는 심지어 약 100% 이상 증가된다. 이러한 소정의 구현예에서, 결장 박테리아 집단은 약 500% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 결장 박테리아 집단은 약 400% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 결장 박테리아 집단은 약 300% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 결장 박테리아 집단은 약 200% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 결장 박테리아 집단은 약 100% 이하 증가된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 하나 이상의 결장 박테리아 집단(예, 전술한 바와 같음)의 각각은 비-처리 대상과 비교해, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 50% 이상, 또는 심지어 약 100% 이상 증가된다. 이는, 이들 박테리아 각각이 서로 독립적으로 상이한 비율로 영향을 받을 수 있는 경우가 있음을 의미한다(예, 하나의 박테리아는 집단에서 50% 증가할 수 있는 반면, 또 다른 박테리아는 단지 25% 증가할 수 있음). 이러한 소정의 구현예에서, 각각의 결장 박테리아 집단은 약 500% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 결장 박테리아 집단은 약 400% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 결장 박테리아 집단은 약 300% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 결장 박테리아 집단은 약 200% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 결장 박테리아 집단은 약 100% 이하 증가된다.

[0032] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 총 결장 박테리아의 백분율로서 하나 이상의 결장 박테리아 집단(예, 전술한 바와 같음)의 비율은 비-처리 대상과 비교해, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 50% 이상, 약 100% 이상, 약 200% 이상, 또는 심지어 약 300% 이상 증가된다. 이러한 소정의 구현예에서, 총 결장 박테리아의 백분율로서 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 비율은 약 700% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 총 결장 박테리아의 백분율로서 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 비율은 약 600% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 총 결장 박테리아의 백분율로서 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 비율은 약 500% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 총 결장 박테리아의 백분율로서 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 비율은 약 400% 이하 증가된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 하나 이상의 결장 박테리아 집단(예, 전술한 바와 같음)의 각각의 비율(즉, 총 결장 박테리아의 백분율로서)은 비-처리 대상과 비교해, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 50% 이상, 약 100% 이상, 약 200% 이상, 또는 심지어 약 300% 이상 증가된다. 이는, 이들 박테리아 각각이 서로 독립적으로 상이한 비율로 영향을 받을 수 있는 경우가 있음을 의미한다(예, 하나의 박테리아는 집단에서 50% 증가할 수 있는 반면, 또 다른 박테리아는 단지 25% 증가할 수 있음). 이러한 소정의 구현예에서, 각각의 비율은 약 500% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 비율은 약 400% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 비율은 약 300% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 비율은 약 200% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 각각의 비율은 약 100% 이하 증가된다.

[0033] 또 다른 구현예에서, 대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키는 방법은, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 소정의 구현예에서, 경구 투여는, 배설물 pH가 감소(예, 후술하는 바와 같이, 약 5.5 이하의 값으로 감소, 예를 들어, 약 7의 pH 값에서 약 4.5의 pH 값으로 감소)하도록 수행된다. 이러한 감소는 예를 들어, 미네랄(예, 전술한 바와 같이 칼슘과 같은

2가 미네랄)의 생체이용률을 증가시킬 수 있다.

- [0034] 또 다른 구현예에서, 본 개시내용의 방법은 또한, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 대상에게 경구 투여함으로써, 대상에서 배설물 pH를 감소시킨다. 예를 들어, 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 배설물 pH는 비-처리 대상과 비교해, 약 1.5 pH 단위 이상, 약 2 pH 단위 이상, 또는 심지어 약 2.5 pH 단위 이상 감소된다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 배설물 pH는 약 5.5 이하, 약 5 이하, 또는 심지어 약 4.5 이하로 감소된다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 배설물 pH는 약 4 내지 약 5.5, 약 4.5 내지 약 5.5, 약 4 내지 약 5, 또는 약 4.5 내지 약 5의 범위 내의 값으로 감소된다. 소정의 구현예에서, 배설물 pH는 약 4.5로, 예를 들어, 약 7에서 약 4.5로 감소된다.
- [0035] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 발효성 가용성 섬유질은 가용성 옥수수 섬유질이다. 가용성 옥수수 섬유질은, 옥수수로부터 제조되며, 내소화성인 올리고당류, 서서히 분해되는 올리고당류 또는 이들의 조합을 포함하는 전분-유래의 가용성 섬유질이다. 가용성 옥수수 섬유질은 옥수수 전분 가수분해를 통해 제조될 수 있으며, 약 70% 초과 섬유질 및 약 20% 미만의 당류 및 이당류 당을 함유한다. 올리고당류의 글루코스 단위는 주로 α -1,4 글리코시드 결합에 의해 연결되지만, α -1,6, α -1,3, 및 α -1,2 결합을 포함할 수도 있다.
- [0036] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질은 섬유질 함량이 약 70% 내지 약 100% (w/w) 범위이다. 또 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질은 섬유질 함량이 약 70% 내지 약 90%, 또는 약 70% 내지 약 95%, 또는 약 70% 내지 약 100%, 약 75% 내지 약 85%, 또는 약 75% 내지 약 90%, 또는 약 75% 내지 약 95%, 또는 약 75% 내지 약 100%, 또는 약 70% 내지 약 85% (w/w) 범위이다. 하나의 구현예에서, 섬유질 함량은 약 70% (w/w)이다. 또 다른 구현예에서, 섬유질 함량은 약 85% (w/w)이다. 당업자는, 섬유질 함량이 해당 기술분야에 공지된 임의의 적합한 방법, 예컨대 효소 중량측정법, 액체 크로마토그래피, 기체-액체 크로마토그래피, 고압 액체 크로마토그래피(HPLC), 펄스 암페로메트릭 검출법이 동반된 고성능 음이온 교환 크로마토그래피(HPAE-PAD) 및 기타 효소적 및 화학적 방법에 의해 측정될 수 있음을 알 것이다. 바람직한 구현예에서, 섬유질 함량은 HPAE-PAD에 의해 측정된다. 예를 들어, 전기화학 검출기 및 기유키용리 펌프가 구비된 Dionex 이온 크로마토그래프, DX500가 사용되어, 용매의 경사 전달을 이용하는 Dionex CarboPac PA1 분석 컬럼 및 가드 컬럼 상에서 분리되며, 4-전위 파형과 함께 골드 전극을 사용하여 검출되고, 물로 희석되며, 분석 전에 Amicon Ultra-4 원심분리 필터 장치를 통과하는 검체를 분석한다.
- [0037] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 당류 및 이당류 함량은 약 20% 미만이다. 예를 들어, 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 당류 및 이당류 함량은 약 15% 미만, 약 10% 미만, 약 5% 미만, 또는 심지어 약 2% 미만이다. 이러한 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 당류 및 이당류 함량은 약 0% 이상, 약 0.001% 이상, 약 0.01% 이상, 또는 심지어 0.1% 이상이다.
- [0038] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 올리고당류는 평균 중합도가 약 5 이상, 약 7 이상 또는 약 9 이상이다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 올리고당류는 평균 중합도가 약 5 내지 약 20, 약 7 내지 약 20, 또는 약 9 내지 약 20이다. 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 올리고당류는 평균 중합도가 약 5 내지 약 15, 약 7 내지 약 15, 또는 약 9 내지 약 15이다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 올리고당류는 평균 중합도가 약 10이다.
- [0039] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질의 올리고당류 부분은 섭취 시, 대상의 위 및 소장에서 실질적으로 소화되지 않은 채 남아 있다.
- [0040] 상업적으로 적합한 가용성 옥수수 섬유질 제품으로, PROMITOR™ Soluble Corn Fiber 70(최소 섬유질 함량 약 70%, 최대 당류 및 이당류 함량 약 20%), 및 PROMITOR™ Soluble Corn Fiber 85(최소 섬유질 함량 약 85%, 최대 당류 및 이당류 함량 약 2%)를 포함하며, 이는 미국 일리노이주 호프만 에스테이즈(Hoffman Estates) 소재의 Tate & Lyle Health & Nutrition Sciences사로부터 입수가 가능하다.
- [0041] 본원에 기술되는 방법 및 조성물에 사용되기에 적합한 소정의 가용성 옥수수 섬유질은 미국 특허 출원 공개 2008/0292766, 2006/0210696 및 2008/0175977에 추가로 기술되어 있으며, 이들은 각각 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함되며, 본 명세서에 부록으로서 첨부된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질은 미국 특허 출원 공개 2008/0292766, 2006/0210696 또는 2008/0175977의 측면 또는

구현예에서 기술된 바와 같다.

- [0042] 물론, 당업자가 알게 되는 바와 같이, 다른 발효성 가용성 섬유질이 본원에 기술된 바와 같은 방법 및 조성물을 시행하는 데 사용될 수 있다. 본원에 기술되는 바와 같은 다른 특정한 구현예에서, 발효성 가용성 섬유질은, 선택적으로 가용성 옥수수 섬유질과 조합하여, 폴리텍스트로스, 가용성 섬유질 텍스트린(즉, 옥수수, 타피오카, 감자 전분), 아라비노자일란, 아라비노자일란 올리고당류, 자일로스, 서서히 소화가능한(내소화성) 탄수화물 및 올리고당류 및 이들의 기능성 조합으로부터 선택된다. 본 발명의 소정의 구현예는 가용성 옥수수 섬유질에 관하여 본원에 기술되어 있지만, 당업자는, 다른 발효성 가용성 섬유질이 본 발명의 소정의 구현예에서 가용성 옥수수 섬유질 대신에 사용될 수 있음을 알 것이다.
- [0043] 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은, 각각 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 기술된 공정에 의해 제조된다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 발효성 가용성 섬유질의 제조 공정은, 적어도 하나의 단당류 또는 선택형 당류 올리고머를 포함하며 고형분 농도가 약 70 중량% 이상인, 수성 공급 조성물의 사용을 포함한다. 공급 조성물은 약 40℃ 이상의 온도로 가열되며, 글루코실 결합의 절단 또는 형성 속도를 가속화하는 적어도 하나의 촉매와, 비-선택형 당류 올리고머의 형성을 유도하기에 충분한 시간 동안 접촉된다. 하나의 특정한 구현예에서, 이 공정은, 적어도 하나의 단당류 또는 선택형 당류 올리고머를 포함하며 고형분 농도가 약 70 중량% 이상인 수성 공급 조성물을 약 40℃ 이상의 온도로 가열하는 단계; 및 공급 조성물을, 글루코실 결합의 절단 또는 형성 속도를 가속화하는 적어도 하나의 촉매와, 비-선택형 당류 올리고머의 형성을 유도하기에 충분한 시간 동안 접촉시키는 단계를 포함하며, 여기서, 생성 조성물은, 선택형 당류 올리고머보다 비-선택형 당류 올리고머를 더 높은 농도로 함유하도록 제조되며; 생성 조성물은, 적어도 3배의 중합도를 가진 비-선택형 당류 올리고머를 건조 고형분을 기준으로 약 20 중량% 이상의 농도로 포함한다. 이러한 소정의 구현예에서, 생성 조성물은 선택형 당류 올리고머보다 비-선택형 당류 올리고머를 더 높은 농도로 함유하도록 제조된다. 본 공정의 하나의 구현예에서, 적어도 하나의 촉매는 글루코실 결합의 절단 또는 형성 속도를 가속화하는 효소이다. 본 공정의 또 다른 구현예에서, 적어도 하나의 촉매는 산이다. 본 공정의 일부 구현예에서, 산 및 효소는 순차적으로 사용될 수 있으며, 공급 조성물이 먼저 효소로 처리된 다음, 후속해서 산으로 처리되거나, 또는 그 반대일 수 있다.
- [0044] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840과 관련하여 기술된 공정의 소정의 구현예에서, 수성 공급 조성물은 적어도 하나의 단당류 및 적어도 하나의 선택형 당류 올리고머를 포함하며, 각각 몇개씩 함유할 수 있다. 다수의 경우, 단당류 및 올리고당류는 공급 조성물의 건조 고형분을 기준으로 약 70 중량% 이상을 구성할 것이다. 원하는 올리고머의 수율을 최대화하기 위해, 출발 물질은, 가능한 한 고농도의 단당류를 가지는 것이 일반적으로 유익하다. 높은 고형분 농도는 가수분해에서 축합(역전)까지 평형을 이루는 경향이 있으며, 이로써 보다 높은 분자량의 생성물이 생성된다. 따라서, 출발 물질의 수분 함량은 바람직하게는 상대적으로 낮다. 예를 들어, 소정의 구현예에서, 공급 조성물은 건조 고형분을 약 75 중량% 이상으로 포함한다. ("건조 고형분"은 본원에서 종종 "ds"로 약칭됨). 일부 경우에서, 공급 조성물은 고형분을 약 75 중량% 내지 약 90 중량%로 포함하며, 이는 일반적으로 실온에서 점성 시럽 또는 축축한 분말의 외양을 제공할 것이다.
- [0045] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 바와 같은 공정에 적합한 출발 물질의 예로는, 전분의 가수분해에 의해 제조된 시럽, 예컨대 텍스트로스 그린 시럽(즉, 텍스트로스 모노하이드레이트 결정화로 형성된 모액의 재순환 스트림), 다른 텍스트로스 시럽, 옥수수 시럽 및 말토텍스트린 용액을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 공급 조성물이 말토텍스트린을 포함하는 경우, 이 공정은 선택적으로, 말토텍스트린을 가수분해하여 가수분해된 당류 용액을 형성하는 단계, 및 가수분해된 당류 용액을 약 70% 이상의 건조 고형분으로 농축시켜 공급 조성물을 형성하는 단계를 포함할 수도 있다. 농축 및 공급물과 촉매의 접촉은 동시에 이루어질 수 있거나, 농축이 먼저 일어난 후, 공급 조성물과 촉매가 접촉될 수 있다.
- [0046] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 바와 같은 공정의 소정의 구현예에서, 공급 조성물은 적어도 하나의 촉매와, 다양한 기간 동안 접촉된다. 일부 경우에서, 접촉 기간은 약 5시간 이상일 것이다. 본 발명의 일부 구현예에서, 공급 조성물은 적어도 하나의 촉매와 약 15시간 내지 약 100시간 동안 접촉된다. 다른 구현예에서, 보다 높은 온도에서는 보다 짧은 접촉 시간이 사용될 수 있으며, 일부 경우에는 심지어 1시간 미만이기도 하다.
- [0047] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 바와 같은 공정의 소정의 구현예에서, 효소적 역전은 비-선택형 올리고당류의 제조에 사용된다. 효소는 예를 들어, 텍스트로스 잔기를 형성하기 위한 알파 1-2, 1-3, 1-4, 또는 1-6 글루코실 결합의 절단 속도를 가속화하는 효소이다. 하나의 적합한 예는 글루코아밀라아제 효소

조성물, 예컨대 글루코아밀라아제로서 지정되는 상업적인 효소 조성물이다. 이러한 조성물은 순수한 글루코아밀라아제가 아닌 효소를 어느 정도의 양으로 함유할 수 있는 것으로 이해되어야 하며, 사실상 그 자체가 비-선형 올리고당류의 원하는 생성을 촉매하는 글루코아밀라아제인 것으로 가정되어서는 안 된다. 따라서, 공급 조성물은 글루코아밀라아제, 또는 텍스트로스 폴리머에 작용하는 임의의 다른 효소와 접촉될 수 있다. 효소의 양은 적합하게는 공급 조성물의 약 0.5 부피% 내지 약 2.5 부피%일 수 있다. 본 공정의 일부 구현예에서, 공급 조성물은 효소와의 접촉 동안 약 55℃ 내지 약 75℃, 또는 일부 경우에 약 60℃ 내지 약 65℃에서 유지된다. 이 온도에서, 수분 함량에 따라, 물질은 액체로 되거나, 액체와 고체의 혼합물로 될 것이다. 선택적으로, 반응 혼합물은 혼합 또는 교반되어, 효소를 분포시킬 수 있다. 반응 혼합물은 원하는 온도에서, 비-선형 올리고머의 역전을 원하는 정도로 달성하는 데 필요한 시간 동안 유지된다. 본 공정의 일부 구현예에서, 공급 조성물은 효소와 약 20시간 내지 약 100시간 동안 접촉된 다음, 효소가 불활성화되거나, 또는 일부 경우에는 약 50시간 내지 약 100시간 동안 접촉된 다음, 불활성화된다. 글루코아밀라아제의 불활성화 기술은 해당 기술분야에 잘 공지되어 있다. 다른 예로, 효소를 불활성화시키는 대신에, 효소를 막여과에 의해 분리한 다음, 재순환시킬 수 있다.

[0048] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 바와 같은 공정의 소정의 구현예에서, 생성되는 조성물은 이소말토스와 같은 비-선형 올리고당류를 고농도로 가진다. 이러한 생성 조성물은 선형 당류 올리고머보다는 비-선형 당류 올리고머를 더 높은 농도로 함유한다. 일부 경우에서, 최종 조성물 내의 비-선형 당류 올리고머의 농도는 선형 당류 올리고머의 농도의 2배 이상이다.

[0049] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 바와 같은 공정의 또 다른 구현예는 단당류의 산 역전을 수반한다. 출발 물질은 이 공정의 효소 역전에 관하여 상기 기술된 바와 동일하다. 염산, 황산, 인산 또는 이들의 조합과 같은 다양한 산들이 사용될 수 있다. 본 공정의 일부 구현예에서, 산은, 공급 조성물의 pH를 약 4 이하로 만들기에 충분한 양으로 공급 조성물에 첨가되거나, 일부 경우에서, 공급 조성물의 pH를 약 1.0 내지 약 2.5, 또는 약 1.5 내지 약 2.0으로 만들기에 충분한 양으로 공급 조성물에 첨가된다. 일부 구현예에서, 공급 조성물의 고형분 농도는 약 70% 내지 약 90%이며, 공급물에 첨가되는 산의 양은 시럽 건조 고형분을 기준으로 약 0.05% 내지 약 0.25% (w/w) 산 고형분이며, 공급 조성물은 산과의 접촉 동안 약 70℃ 내지 약 90℃의 온도에서 유지된다. 본 공정의 효소 역전에서와 같이, 반응 조건은 원하는 올리고머를 생성하기에 충분한 시간 동안 유지되며, 이는 방법의 일부 구현예에서 약 4시간 내지 약 24시간일 것이다.

[0050] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 공정의 하나의 특정한 구현예에서, 공급 조성물의 고형분 농도는 약 80 중량% 이상이며, 산은, 조성물의 pH를 약 1.8로 만들기에 충분한 양으로 공급 조성물에 첨가되며, 공급 조성물은 산과 접촉된 후 약 80℃ 이상의 온도에서 약 4시간 내지 약 24시간 동안 유지된다.

[0051] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 공정의 또 다른 특정한 구현예에서, 공급 조성물의 고형분 농도는 약 90 중량% 내지 약 100 중량%이며, 공급 조성물은 산과 접촉된 후 약 149℃(300°F) 이상의 온도에서 약 0.1분 내지 약 15분 동안 유지된다. 공급물을 처리하는 데 사용되는 산은 인산과 염산의 조합(상기 논의된 것과 동일한 농도에서)일 수 있다. 하나의 특정한 구현예에서, 공급 조성물과 산의 접촉은 반응기를 통해 연속 파이프/유동에서 이루어진다.

[0052] 지금까지, 전분에서 가장 풍부한 글리코시드 연결은 알파-1,4 연결로서, 이는 전분의 산 가수분해 동안에 가장 보편적으로 절단되는 연결이다. 그러나, 산-촉매화된 역전(축합)은 임의의 2개의 하이드록실기 사이에서 이루어지며, 매우 다양한 조합 및 기하학이 이용가능한 경우, 알파-1,4 연결이 형성될 확률은 상대적으로 적다. 인간의 소화계는, 전분 및 옥수수 시럽의 알파-1,4 연결을 쉽게 소화하는 알파 아밀라아제를 함유한다. 이들 연결을, 소화계 효소에 의해 인지되지 않는 연결로 대체하면, 생성물은 대체로 변하지 않은 채 소장을 통과할 수 있게 될 것이다. 산 처리로 인한 당류 분포는 효소 처리로 인한 당류 분포와 다소 차이가 있는 것으로 여겨진다. 이들 산-촉매화된 축합 생성물은 인간의 장에서 효소-생성되는 생성물보다 효소에 의해 덜 인지될 것이며, 따라서 소화가 덜 될 것으로 여겨진다.

[0053] 산 처리는 효소 처리와 상이하게 진행된다. 효소는 선형 올리고머를 신속하게 가수분해하고 비-선형 올리고머를 서서히 형성하는 반면, 산을 사용하는 경우 선형 올리고머의 감소 및 비-선형 올리고머의 증가는 유사한 속도로 이루어진다. 텍스트로스는 올리고머의 효소적 가수분해에 의해 신속하게 형성되며, 비-선형 축합 생성물이 형성되는 대로 서서히 소비되는 반면, 산을 사용하는 경우, 텍스트로스 농도는 서서히 증가한다.

[0054] 선택적으로, 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 방법의 소정의 구현예에서, 효소적 역전 또는 산 역전 후, 수소화가 수행될 수 있다. 수소화된 생성물은 현재 입수가 가능한 수소화된 전분 가수분해물보다 더

낮은 칼로리 함량을 가져야 한다. 하나의 구현예에서, 수소화는, 텍스트로스 증가(DE)를 실질적으로 변화시키지 않으면서, 생성 조성물을 탈색시키는 데 사용될 수 있다. 본 공정의 일 형태에서, 효소 및 산은 임의의 순서로 순차적으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 제1 처리에 사용되는 적어도 하나의 촉매는 효소일 수 있으며, 생성 조성물은 후속해서, 글루코실 결합의 절단 또는 형성 속도를 가속화하는 산과 접촉될 수 있다. 다른 예로, 제1 처리에 사용되는 적어도 하나의 촉매는 산일 수 있으며, 생성 조성물은 후속해서, 글루코실 결합의 절단 또는 형성 속도를 가속화하는 효소와 접촉될 수 있다.

[0055] 산, 효소 또는 둘 다로 처리됨으로써 생성되는 생성 조성물은, 건조 고형분을 기준으로 비-선형 당류 올리고머를 증가된 농도로 가진다. 일부 경우에서, 생성 조성물에서 중합도가 3배(DP3+) 이상인 비-선형 당류 올리고머의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상 또는 약 50 중량% 이상이다. 이러한 소정의 구현예에서, 생성 조성물에서 중합도가 3배(DP3+) 이상인 비-선형 당류 올리고머의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 100% 이하, 또는 약 99% 이하, 또는 약 95% 이하, 또는 약 90 중량%이다. 일부 구현예에서, 생성 조성물 내의 비-선형 당류 올리고머의 농도는 선형 당류 올리고머의 농도의 2배 이상이다.

[0056] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 방법의 하나의 특정한 구현예에서, 생성 조성물 내의 비-선형 당류 올리고머의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 90 중량% 이상이며, 이소말토스의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 70 중량% 이상이다.

[0057] 생성 조성물은 종종 잔여 단당류를 어느 정도의 양(전형적으로 건조 고형분을 기준으로 50 중량% 미만, 때로는 이보다 훨씬 적은 양)으로 함유할 것이다. 선택적으로, 잔여 단당류(및 다른 화학종) 중 적어도 일부는 (예를 들어, 막여과, 크로마토그래피 분리, 또는 발효를 통한 소화에 의해) 올리고머로부터 분리될 수 있으며, 단당류 스트림은 방법 공급물 내로 재순환될 수 있다. 이러한 방식으로, 단당류 시럽은 고가(high-value)의 식품 첨가제로 변환될 수 있다.

[0058] 도 1은, 상기 언급된 역전 기술을 이용할 수 있는 방법의 하나의 구현예를 도시한 것이다. 방법은 전분, 예를 들어 식물성 전분으로 시작할 수 있다. 종래의 옥수수 전분은 하나의 적합한 예이다. 방법은 일반적으로, 시작 전분이 상대적으로 높은 순도를 가지는 경우 보다 효율적으로 작동할 것이다. 하나의 구현예에서, 고 순도의 전분은 단백질을 건조 고형분을 기준으로 0.5% 미만으로 함유한다. 하기의 논의들 중 일부는 옥수수에 초점을 맞추지만, 본 발명은 다른 공급원들, 특히 예컨대 감자 및 밀 유래의 전분에도 적용가능한 것으로 이해되어야 한다.

[0059] 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 방법의 소정의 구현예는 도 9에 도식적으로 예시된다. 도 9에 도시된 바와 같이, 전분(10)은 그것에 첨가되는 산(12)을 가질 수 있으며, 그런 다음, 전분 과립이 스팀과 접촉되는 전분 조리기, 예를 들어 제트 조리기(jet cooker)에서 젤라틴화(14)될 수 있다. 본 공정의 일 형태에서, 황산의 첨가에 의해 표적 pH 3.5로 조정된 전분 슬러리는 제트 조리기에서 스팀과 신속하게 혼합되고, 테일 라인(tail line)에서 149°C 내지 152°C(300°F 내지 305°F)에서 4분 동안 유지된다. 젤라틴화된 전분(16)은 제트 조리 동안에 고온에서 산에 노출됨으로써 가수분해(18)된다. 가수분해는 전분의 분자량을 감소시키며, 조성물 내에 단당류 및 올리고당류의 백분율을 증가시킨다(전술한 바와 같이, 용어 "올리고당류"는 본원에서 적어도 2개의 당류 단위를 포함하는 당류, 예를 들어 중합도(DP)가 약 2 내지 30인 당류를 지칭하는 데 사용됨). 탄산나트륨과 같은 중화제(20)가 첨가되어 산 가수분해를 중단시키며, 그런 다음, 조성물은, 이를 가수분해 효소(22)와 접촉시킴으로써 탈중합(24)될 수 있다. 적합한 효소로는 테르마밀(Termamyl)과 같은 알파 아밀라아제를 포함하며, 이는 Novozymes사로부터 입수가능하다. 이 효소적 가수분해는 조성물에 존재하는 단당류 및 올리고당류의 백분율을 추가로 증가시킨다. 산 및 효소 처리에 의한 가수분해의 전반적인 결과는 전분을 당화시키는 것이다. 당화된 조성물은 이성질체화되어, 단당류 프로파일을 변화시키는데, 예를 들어, 프룩토스의 농도를 증가시킬 수 있다.

[0060] 그런 다음, 당화된 조성물(26)은 예를 들어 크로마토그래피 분획화(28)에 의해 정제될 수 있다. 순차적인 모사 이동상(sequential simulated moving bed; SSMB) 크로마토그래피 절차를 적용하는 하나의 구현예에서, 혼합형 당류의 용액은 수지 비드로 충전된 컬럼을 통해 펌핑된다. 수지의 화학적 성질에 따라, 당류 중 일부는 수지와 보다 강하게 상호작용하여, 수지와 보다 약하게 상호작용하는 당류와 비교해, 수지를 통한 유동이 지연되게 된다. 이러한 분획화는, 텍스트로스 및 프룩토스와 같은 단당류를 고함량으로 가지는 하나의 스트림(30)을 생성할 수 있다. 고 프룩토스 옥수수 시럽은 이러한 스트림의 일례이다. 분획화는 또한, 올리고당류를 상대적으로 높은 농도(예, 건조 고형분을 기준으로(d.s.b.) 약 5% 내지 약 15%의 올리고당류)로 가질 뿐만 아니라 텍스트로스 및 프룩토스와 같은 단당류를 보다 작은 농도로 함유하는 라피네이트(raffinate) 스트림(32)(즉, 수지상을

통해 보다 빠르게 이동하는 성분들)을 생성한다. 용어 "스트림"이 본원에서 공정의 소정의 부분을 기술하는 데 사용되더라도, 본 발명의 공정은 연속적인 작동으로 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 본 공정은 또한, 회분식 또는 준회분식으로 수행될 수 있다.

[0061] 라피네이트(32)는, 선택적으로 회석여과(diafiltration)와 함께, 막여과(34), 예를 들어 나노여과에 의해 추가로 분획화될 수 있다. 예를 들어, 이들 여과 단계는 약 500 psi의 압력 및 40℃ 내지 60℃의 온도에서 Desal DK 나선형-감긴 나노여과 카트리지를 사용하여 수행될 수 있다. 단계(34)에 기술된 분획화는 또한, 순차적인 모사 이동상 크로마토그래피(SSMB)에 의해 달성될 수 있다. 막여과는, 주로 단당류를 포함하는 투과물(36)(즉, 막을 통과하는 성분)과, 주로 올리고당류를 포함하는 체류물(retentate)(38)(즉, 막을 통과하지 못하는 성분)을 생성한다(본원에서 사용되는 바와 같이 "주로"는, 조성물이 열거된 성분을 건조 고형분을 기준으로 임의의 다른 성분보다 더 많이 함유함을 의미함). 투과물(36)은 모노머 스트림(30)(예, 고 프룩토스 옥수수 시럽)과 조합될 수 있다. 투과물은 단당류-풍부한 스트림이며, 체류물은 올리고당류가 풍부한 스트림이다. 즉, 나노여과는, 나노여과 공급물과 비교해, 체류물에 올리고당류를 농축시키며 투과물에 단당류를 농축시킨다.

[0062] 올리고당류 시럽(40)으로서 기술될 수 있는 체류물(38)은 서서히 소화가능한 올리고당류를 충분히 고함량(예, 적어도 약 50 중량% d.s.b., 또는 일부 경우에서 적어도 약 90%)으로 가질 수 있어서, 체류물은 건조되거나 단 순히 증발되어 농축 시럽으로 될 수 있으며, 식품에서 성분으로서 사용될 수 있다. 그러나, 다수의 경우, 이 조성물을 추가로 가공하고 정제하는 것이 유용할 것이다. 이러한 정제는 하기의 단계들 중 하나 이상을 포함할 수 있다(도 9는 대안으로서 4가지의 이러한 정제 단계(42, 44, 46 및 48)를 도시하고 있지만, 이들 단계 중 2 이상이 방법에 사용될 수 있었음이 이해되어야 함).

[0063] 올리고머 시럽(40)은, 프룩토스 및 텍스트로스와 같은 잔여 단당류 중 적어도 일부를 제거하기 위해 또 다른 분 획화(42), 예컨대 막여과, 예를 들어 나노여과로 처리될 수 있다. 적합한 나노여과 조건 및 장비는 전술한 바 와 같다. 이러한 나노여과는 제2의 단당류-풍부한 스트림인 투과물을 생성하며, 이는 모노머 스트림(30)과 조 합될 수 있다. 다른 예로, 추가적인 분획화(42)는 크로마토그래피 분리, 예를 들어 모사 혼합상 크로마토그래 피에 의해 수행될 수 있었다.

[0064] 시럽(41)은, 이를 텍스트로스 이성화효소와 같은 효소와 접촉시킴으로써 이성질체화(44)될 수 있다. 이는 존재 하는 잔여 텍스트로스 중 적어도 일부를 프룩토스로 변환시킬 것이며, 프룩토스는 소정의 상황에서 보다 가치있 을 수 있다.

[0065] 시럽은 효소 또는 산으로 처리되어, 여전히 존재하고 있는 단당류 중 적어도 일부가 다른 단당류 또는 올리고머 당류에 공유 결합되는 역전 또는 재중합(46)을 유발할 수 있으며, 이로써 시럽의 잔여 모노머 함량을 더욱 더 감소시킬 수 있다. 이 단계에 사용되기에 적합한 효소로는, 글루코시다제, 예컨대 아밀라아제, 글루코아밀라아 제, 트랜스글루코시다제 및 풀룰라나제를 포함한다. 셀룰라제 효소는 일부 적용에 가치있는 역전 생성물을 생 성할 수 있다.

[0066] 시럽은 수소화(48)되어, 임의의 잔여 단당류 중 적어도 일부를 상응하는 알코올로 변환(예, 텍스트로스를 소르 비톨로 변환)시킬 수 있다. 수소화가 방법에 포함되는 경우, 이는 전형적으로(그러나 반드시 그럴 필요는 없이), 마지막 정제 단계일 것이다.

[0067] 그런 다음, 하나 이상의 상기 정제 단계들에 의해 생성되는 정제된 올리고머 시럽(49)은 탈색(50)될 수 있다. 탈색은 활성탄으로 처리된 다음 예를 들어, 미세여과에 의해 수행될 수 있다. 연속적인 유동 시스템에서, 시럽 스트림은 과립형 활성탄이 충전된 컬럼을 통해 펌핑되어, 탈색이 달성될 수 있다. 그런 다음, 탈색된 올리고머 시럽은 예를 들어 약 70% 건조 고형분(d.s.) 초과로 증발(52)되어, 올리고당류를 고함량(예, 90 중량% d.s.b. 초과, 일부 경우에 95% 초과)으로 포함하며 단당류를 상응하게 저 함량으로 포함하는 생성물이 수득될 수 있다. 생성물은 인간에 의해 완전히 소화불가능하지 않은 경우 서서히 소화되거나 불완전하게 소화되는 복수의 당류를 포함한다. 이들 당으로는, 중합도가 4 이상인 분지형 올리고머, 이소말토스 및 파노스를 포함할 수 있다.

[0068] 방법 조건은, 모노머가 풍부한 스트림(30, 36) 또는 올리고머 생성물 스트림의 공급물 내에서 대부분의 말토스 를 회수하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 500 psi 미만의 압력에서 작동하는 Desal DL와 같이 약간 더 큰 기 공을 가진 나노여과 막이 사용되어, 모노머가 풍부한 스트림에서 말토스의 양을 증가시킬 수 있다.

[0069] 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 발효성 가용성 섬유질은 식품에 사용하기에 적합한, 서서히 소화가능한 당류 올리고머 조성물이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "서서히 소화가능 한"이란, 하나 이상의 탄수화물이 인간의 위 및 소장에서 전혀 소화되지 않거나, 제한된 범위로만 소화되는 것

을 의미한다. 시험관 내 및 생체 내 시험 둘 다는 인간에서 탄수화물 소화의 속도 및 범위를 추정하기 위해 수행될 수 있다. "잉글리스트 분석법(Englyst Assay)"은, 신속하게 소화가능한 탄수화물 성분, 서서히 소화가능한 탄수화물 성분, 또는 내소화성인 탄수화물 성분의 양을 추정하기 위해 사용될 수 있는 시험관 내 효소 시험이다(유럽 임상 영양학 저널(1992) 46권(부록 2), 페이지 S33-S50). 따라서, 본원에서 "서서히 소화가능한" 물질의 "건조 고형분을 기준으로 약 50 중량% 이상"에 대한 임의의 참조는, 잉글리스트 분석법에 의해 서서히 소화가능한 것으로 분류되거나 내성인 것으로 분류되는 해당 물질의 %의 합이 약 50% 이상에 달한다는 것을 의미한다. 용어 "올리고당류" 및 "당류 올리고머"는 본원에서, 적어도 2개의 당류 단위를 가진 당류, 예를 들어 중합도("DP")가 약 2 내지 30인 당류를 지칭하는 데 사용된다. 예를 들어, 이당류는 DP가 2이다.

[0070] 위장 효소는 탄수화물을 쉽게 인지하고 소화시키며, 여기서, 텍스트로스 단위는 연결된 알파 (1→4)("선형" 연결)이다. 이들 연결을 다른 연결(예를 들어, 알파 (1→3), 알파 (1→6)("비-선형" 연결) 또는 베타 연결)로 대체하면, 탄수화물을 소화시키는 위장 효소의 능력을 크게 감소시킨다. 이는, 탄수화물이 크게 변하지 않은 채 소장 내로 통과하도록 할 수 있을 것이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 잔여 단당류를 최소량(즉, 건조 고형분을 기준으로 50 중량% 미만, 통상적으로 훨씬 더 낮은 농도, 예를 들어, 40 중량% 미만, 30 중량% 미만)으로 포함한다. 본원에 기술되는 바와 같은 일부 구현예에서, 건조 고형분을 기준으로, 약 50 중량% 이상의 생성 조성물이 서서히 소화가능하다. 미국 특허 7,608,436 및 8,057,840에 관하여 기술된 바와 같은 방법은, 잔여 단당류(및 선택적으로 다른 화학종) 중 적어도 일부를 막아과, 크로마토그래피 분획화, 또는 발효를 통한 소화에 의해 생성 조성물로부터 제거하는 부가적인 단계를 포함할 수 있다. 분리된 단당류는 예를 들어 텍스트로스 또는 옥수수 시럽의 제조를 위해, 다른 방법 스트림과 조합될 수 있다. 다른 예로, 분리된 단당류는 공급 조성물 내로 재순환될 수 있다.

[0071] 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 발효성 가용성 섬유질은 선형 당류 올리고머 및 비-선형 당류 올리고머를 건조 고형분을 기준으로 주요량(예, 50% 초과, 약 60% 초과 또는 약 70% 초과)으로 포함하며, 여기서, 비-선형 당류 올리고머의 농도는 선형 당류 올리고머의 농도보다 크며, 중합도가 3배 이상인 비-선형 당류 올리고머의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 20 중량% 이상이다. 예를 들어, 소정의 구현예에서, 조성물 내의 비-선형 당류 올리고머의 농도는 선형 당류 올리고머의 농도의 2배 이상이다. 소정의 구현예에서, 중합도가 3배 이상인 비-선형 당류 올리고머의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 25 중량% 이상이다. 소정의 구현예에서, 중합도가 3배 이상인 비-선형 당류 올리고머의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 30 중량% 이상, 또는 심지어 50 중량% 이상이다. 소정의 구현예에서, 비-선형 당류 올리고머의 농도가 건조 고형분을 기준으로 약 90 중량% 이상이고, 이소말토스의 농도는 건조 고형분을 기준으로 약 70 중량% 이상이다.

[0072] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 3 g/일 이상의 비율로 투여된다. 예를 들어, 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 5 g/일 이상, 약 7 g/일 이상, 약 10 g/일 이상, 약 12 g/일 이상, 약 13 g/일 이상, 약 15 g/일, 또는 심지어 약 20 g/일 이상, 및 약 100 g/일 이하, 또는 75 g/일 이하의 비율로 투여된다. 구체적으로, 임상적으로 관련된 위장 최대 허용량은 12시간에 걸쳐 확산되는 경우(정상적인 식사일) 65 g/일이며, 및/또는 40 g/급성 볼루스 일(acute bolus day)이다. 이들은 둘 다 최대 허용량이 양호한 용량이다. 이에, 이러한 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 12시간 동안 약 65 g 이하, 및/또는 단일 볼루스에서 약 40 g 이하의 비율로 투여된다.

[0073] 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 3 g/일 내지 약 100 g/일의 범위의 비율로 투여된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 10 g/일 내지 약 100 g/일, 또는 약 12 g/일 내지 약 100 g/일의 범위의 비율로 투여된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 5 g/일 내지 약 65 g/일, 약 5 g/일 내지 약 40 g/일, 약 5 g/일 내지 약 30 g/일, 약 5 g/일 내지 약 20 g/일, 약 10 g/일 내지 약 65 g/일, 약 10 g/일 내지 약 40 g/일, 약 10 g/일 내지 약 30 g/일, 약 15 g/일 내지 약 65 g/일, 약 15 g/일 내지 약 40 g/일, 약 15 g/일 내지 약 30 g/일, 약 5 g/일 내지 약 15 g/일, 약 7 g/일 내지 약 15 g/일, 약 9 g/일 내지 약 15 g/일, 또는 약 10 g/일 내지 약 15 g/일, 약 12 g/일 내지 약 20 g/일, 약 13 g/일 내지 약 20 g/일, 약 14 g/일 내지 약 20 g/일, 약 15 g/일 내지 약 20 g/일, 약 16 g/일 내지 약 20 g/일, 약 17 g/일 내지 약 20 g/일, 약 18 g/일 내지 약 20 g/일, 또는 약 19 g/일 내지 약 20 g/일의 범위의 비율로 투여된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 5 g/일, 약 6 g/일, 약 7

g/일, 약 8 g/일, 약 9 g/일, 또는 약 10 g/일의 범위의 비율로 투여된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 11 g/일 내지 약 20 g/일의 범위의 비율로 투여된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 약 11 g/일, 또는 약 12 g/일, 또는 약 13 g/일, 또는 약 14 g/일, 또는 약 15 g/일, 또는 약 16 g/일, 또는 약 17 g/일, 또는 약 18 g/일, 또는 약 19 g/일, 또는 약 20 g/일의 비율로 투여된다.

[0074] 주어진 일자에, 투여는 임의의 횟수의 투약으로 분할될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 하루에 1회 투여된다(예, 단일 1회분(serving)). 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질은 하루에 여러 회 투여되는데, 예를 들어, 하루에 2회 또는 하루에 3회(예, 복수 회분, 예를 들어, 하루에 2회분 또는 하루에 3회분) 투여된다. 복수의 투여 또는 복수 회분이 사용되어야 하는 경우, 상기 기술된 일일 당 양은, 최대 허용량이 양호한(즉, 중증의 복부 팽만감(bloating), 고창(flatulence), 위에서의 소리(stomach noise), 복부 경련, 설사, 메스꺼움, 및/또는 구토를 유발하지 않는) 1회분 당 허용가능한 양을 제공하기 위해, 투여 또는 1회분의 수로 나뉘질 수 있다.

[0075] 또 다른 측면에서, 본 개시내용은 대상에서 미네랄(예, 칼슘, 철, 아연, 구리, 칼륨 및/또는 마그네슘) 흡수를 증가시키는 방법을 제공하며, 여기서, 본 방법은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 소정의 구현예에서, 흡수가 증가되는 미네랄은 예를 들어, 칼슘 및/또는 철과 같은 미네랄이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 미네랄은 2가 양이온으로서 흡수된다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 미네랄은 칼슘이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 미네랄은 칼슘 및/또는 마그네슘이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 미네랄은 칼슘 및/또는 철이다. 본원에 기술되는 바와 같은 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 미네랄은 칼슘, 마그네슘 및/또는 철이다. 소정의 구현예에서, 투여는 본원에서 기술되는 바와 다르게 이루어질 수 있다.

[0076] 또 다른 구현예에서, 본 개시내용은 대상에서 하나 이상의 결장 박테리아 집단을 증가시키고 미네랄(예, 칼슘, 철, 아연, 구리, 칼륨 및/또는 마그네슘) 흡수를 증가시키는 방법을 제공하며, 여기서, 본 방법은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 대상에게 경구 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 구현예에서, 투여는 본원에서 기술되는 바와 다르게 이루어질 수 있다.

[0077] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해 약 3% 이상 증가된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해, 약 5% 이상, 약 6% 이상, 약 7% 이상, 약 8% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 11% 이상, 약 12% 이상, 약 13% 이상, 약 14% 이상, 또는 약 15% 이상 증가된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 다른 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해 약 20% 이상, 또는 약 25% 이상 증가된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해, 약 20% 이상, 약 25% 이상, 약 30% 이상, 또는 약 35% 이상 증가된다. 이러한 소정의 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해 약 200% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해 약 100% 이하 증가된다. 이러한 다른 구현예에서, 칼슘 흡수는 비-처리 대상과 비교해 약 50% 이하 증가된다. 칼슘 흡수에 소요되는 시간은 예를 들어, 24시간 내지 48시간, 예를 들어, 36시간 또는 48시간의 범위일 수 있다.

[0078] 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 대상은 포유류이다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 하나의 구현예에서, 대상은 인간, 예를 들어, 성인이 아닌 인간(예, 약 2세 내지 약 20세의 범위, 또는 약 13세 내지 약 19세의 범위), 또는 나이 든 인간(예, 약 45세 이상, 약 50세 이상, 약 60세 이상, 약 70세 이상, 약 80세 이상 또는 심지어 약 90세 이상, 특히 노인 여성)이다. 이에, 소정의 구현예에서, 본원에 기술되는 방법 및 조성물은 특히, 미네랄(예, 칼슘) 흡수 증가로부터 이득을 얻기 쉬운 대상에게 사용될 수 있다.

[0079] 하나 이상의 결장 박테리아 집단의 증가 및/또는 칼슘 흡수의 증가 효과는 인간 및 동물 모두에 관한 것이므로, 식품 및 동물 사료에 적용될 수 있는 것으로 생각된다. 대표적인 비-인간 동물로는, 말, 닭, 칠면조, 소(cattle), 젖소(cow), 돼지, 양, 염소, 라마 및 들소와 같은 가축, 고양이 및 개, 설치류, 토끼, 햄스터 및 새를 포함한다.

[0080] 투여는 연장된 기간 동안, 예를 들어, 약 1주 이상 동안, 약 2주 이상 동안, 약 3주 이상 동안, 약 4주 이상 동안, 약 7주 이상 동안, 또는 심지어 약 52주 이상 동안 수행될 수 있다. 이러한 장기간 투여에서 당업자는, 투여 일수를 "농칠" 수 있는데; 농치게 되는 일수는 바람직하게는 투여가 수행되는 기간 동안의 총 일수의 약 10%

미만이다.

[0081] 본 발명의 또 다른 구현예는, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 1회분 당 약 2.5 g 이상으로 포함하는 식용 조성물이다. 예를 들어, 본원에 기술되는 바와 같은 식용 조성물의 소정의 구현예는 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 1회분 당 약 3 g 이상, 약 4 g 이상, 약 5 g 이상, 약 6 g 이상, 약 8 g 이상, 약 10 g 이상, 또는 심지어 약 20 g 이상으로 포함한다. 이러한 소정의 구현예에서, 식용 조성물은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 1회분 당 100 g 이하, 약 50 g 이하, 또는 심지어 약 40 g 이하로 포함한다. 식용 조성물은 예를 들어, 후술하는 바와 같이 식품 조성물로서 제공될 수 있다. 다른 구현예에서, 식용 조성물은 영양 보충제로서 제공된다. 이러한 식용 조성물은 본원에 기술되는 방법을 수행하는 데 있어서 유용할 수 있다.

[0082] 본원에 기술되는 바와 같은 조성물의 이러한 소정의 구현예에서, 1회분 양은 예를 들어, 약 75 g 이상, 약 150 g 이상, 또는 심지어 약 200 g 이상일 수 있다. 소정의 구현예에서, 1회분 양은 약 1000 g 이하, 또는 심지어 약 500 g 이하이다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 1회분 양은 약 75 mL 내지 약 1000 mL 범위이다. 소정의 구현예에서, 각각의 1회분은 개별적으로 포장된다. 다른 구현예에서, 복수 회분들은 함께 포장되며, 본원에 기술되는 바와 같이 1회분 양 및/또는 1회분 당 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질의 양에 관한 정보와 함께 제공된다.

[0083] 본 발명의 또 다른 구현예는, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 약 2.5% 이상, 약 3% 이상, 약 5% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 또는 심지어 약 40 중량% 이상의 양으로 포함하는 식용 조성물이다. 그러나, 이러한 소정의 구현예에서, 식용 조성물은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 최대량, 즉, 약 75 중량% 이하, 또는 심지어 약 50 중량% 이하의 양으로 가진다. 식용 조성물은 예를 들어, 후술하는 바와 같은 식품 조성물로서 제공될 수 있다. 식용 조성물은 예를 들어, 본원에 기술되는 바와 같이, 1회분 양 및/또는 1회분 당 가용성 옥수수 섬유질의 양으로 제공될 수 있다.

[0084] 본 발명의 또 다른 구현예는 하나 이상(예, 2 이상, 또는 3 이상)의 박테리아 집단을 포함하는 식용 조성물이며, 각각은 *락토바실러스*, *박테로이데스*, *파라박테로이데스*, *알리스티페스*, *비피도박테리움*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*로 이루어진 군으로부터 선택되는 속, 뿐만 아니라 표 5에서 가용성 옥수수 섬유질 투여로 인해 집단이 증가하는 것으로 나타난 박테리아, 및 표 6에서 칼슘 흡수와 상관관계가 있는 것으로 나타난 박테리아로부터 유래된다. 하나 이상의 박테리아 집단은 예를 들어, 프로바이오틱스(probiotics)로서 작용할 수 있다. 소정의 구현예에서, 본원에 기술되는 식용 조성물은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질을 (예를 들어, 전술한 바와 같은 양으로) 포함한다. 그러나, 다른 구현예에서, 식용 조성물은 발효성 가용성 섬유질을 포함하지 않는다. 이러한 구현예는 예를 들어, 식용 조성물의 박테리아 집단이 발효성 가용성 섬유질과 동일한 때에 결장에 존재하도록, 발효성 가용성 섬유질을 포함하는 조성물에 부가하거나 조성물과 공동-투여하는 데 유용할 수 있다. 이에, 소정의 구현예에서, 대상은, 발효성 가용성 섬유질 및 박테리아 집단을 둘 다 포함하는 단일 조성물을 투여받지 않으면서, 본원에서 동정되는 박테리아 집단과 발효성 가용성 섬유질의 조합으로부터 이득을 얻을 수 있다. 마찬가지로, 본원에서 동정되는 박테리아 집단과 발효성 가용성 섬유질의 조합으로부터 이득을 얻기에 적합한 생성물은, 발효성 가용성 섬유질 및 박테리아 집단을 둘 다 포함하지 않는 것으로 제형화될 수 있다.

[0085] 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 소정의 구현예에서, 식용 조성물은 하나 이상(예, 2 이상, 또는 3 이상)의 박테리아 집단을 포함하며, 각각은 *파라박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터* 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 속으로부터 유래된다(예, 각각은 상이한 속으로부터 유래됨). 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 하나의 구현예는 *파라박테로이데스*의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현예는 *부티리키코커스*의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현예는 *오실리박터*의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현예는 *디알리스터*의 집단을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 소정의 구현예는 *파라박테로이데스* 및 *부티리키코커스*; *파라박테로이데스* 및 *오실리박터*; *파라박테로이데스* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *오실리박터* 및 *디알리스터*; *파라박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *파라박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *파라박테로이데스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; 또는 *파라박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*의 집단을 포함한다.

[0086] 본원에 기술되는 식용 조성물의 다른 구현예에서, 식용 조성물은 하나 이상(예, 2 이상, 또는 3 이상)의 박테리

아 집단을 포함하며, 각각은 *박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터* 및 이들의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 속으로부터 유래된다(예, 각각은 상이한 속으로부터 유래됨). 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 하나의 구현에는 *박테로이데스*의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현에는 *부티리키코커스*의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현에는 *오실리박터*의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현에는 *디알리스터*의 집단을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 소정의 구현에는 *박테로이데스* 및 *부티리키코커스*; *박테로이데스* 및 *오실리박터*; *박테로이데스* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *오실리박터* 및 *디알리스터*; *박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *오실리박터*; *박테로이데스*, *부티리키코커스* 및 *디알리스터*; *파라박테로이데스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*; 또는 *파라박테로이데스*, *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *디알리스터*의 집단을 포함한다.

[illegible]

움, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 카테니박테리움 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 아내로코커스 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 알리스티페스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 파라박테로이데스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 아내로코커스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 파라박테로이데스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스 및 카테니박테리움; 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스 및 루미노코카세에; 비피도박테리움, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 알리스티페스, 카테니박테리움 및 루미노코카세에; 비피도박테리움, 알리스티페스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 비피도박테리움, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 클로스트리디알레스; 비피도박테리움, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세에; 비피도박테리움, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 알리스티페스, 아내로코커스, 카테니박테리움 및 루미노코카세에; 알리스티페스, 아내로코커스, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 알리스티페스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에; 또는 아내로코커스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 및 루미노코카세에의 집단을 포함한다. 물론, 당업자는, 5개, 6개 또는 7개의 결장 박테리아 집단들의 임의의 조합이 본원에 기술되는 식용 조성물에 포함될 있으며, 각각은 파라박테로이데스, 비피도박테리움, 알리스티페스, 아내로코커스, 카테니박테리움, 클로스트리디알레스 목 내의 속; 및 루미노코카세에 과 내의 속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 속으로부터 유래됨을 이해할 것이다.

[0088] 본원에 기술되는 식용 조성물의 다른 구현예에서, 식용 조성물은 하나 이상(예, 2 이상, 또는 3 이상)의 박테리아 집단을 포함하며, 각각은 파라박테로이데스, 디알리스터, 아케르만시아, 및 라크노스피라세에 과 내의 속(예, 라크노스피라세에 아님)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 속으로부터 유래된다(예, 각각은 상이한 속으로부터 유래됨). 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 하나의 구현예는 파라박테로이데스의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현예는 디알리스터의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현예는 아케르만시아의 집단을 포함한다. 본원에 기술되는 식용 조성물의 또 다른 구현예는 라크노스피라세에의 집단을 포함한다. 예를 들어, 본원에 기술되는 식용 조성물의 소정의 구현예는 파라박테로이데스 및 디알리스터; 파라박테로이데스 및 아케르만시아; 파라박테로이데스 및 라크노스피라세에; 디알리스터 및 아케르만시아; 디알리스터 및 라크노스피라세에; 아케르만시아 및 라크노스피라세에; 파라박테로이데스, 디알리스터, 및 아케르만시아; 파라박테로이데스, 디알리스터, 및 라크노스피라세에; 파라박테로이데스, 아케르만시아, 및 라크노스피라세에; 디알리스터, 아케르만시아, 및 라크노스피라세에; 또는 파라박테로이데스, 디알리스터, 아케르만시아, 및 라크노스피라세에의 집단을 포함한다.

[0089] 물론, 당업자가 이해하게 될 바와 같이, 본원에 기술되는 바와 같은 박테리아 집단들의 특정한 조합을 포함하는 식용 조성물은, 본원에서 기술되거나 다르게 기술되는 바와 같이 다른 박테리아 집단을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 비피도박테리움 속 및 락토바실러스 속으로부터 선택되는 하나 이상의 박테리아 집단을 추가로 포함할 수 있다.

[0090] 식용 조성물은 예를 들어, 후술하는 바와 같이 식품 조성물로서 제공될 수 있다. 다른 구현예에서, 식용 조성물은 영양 보충제로서 제공된다. 보다 다른 구현예에서, 식용 조성물은 예를 들어, 가공 또는 조리 동안에, 또는 서빙 또는 섭취 시에 식품 조성물과 혼합되는 성분으로서 제공된다. 식용 조성물은 예를 들어, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질, 농도, 1회분 양 및/또는 본원에서 기술되는 바와 같은 1회분 당 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질의 양이 제공될 수 있다. 조성물에 첨가되는 박테리아 집단의 양은 원하는 필요를 충족시키기 위해 당업자에 의해 조정될 수 있다. 일반적으로, 박테리아 집단 각각은 약 1×10^3 내지 약 1×10^{10} CFU(콜로니-형성 단위)의 양으로 존재할 수 있다. 소정의 구현예에서, 박테리아 집단 각각은 약 1×10^5 내지 약 1×10^{10} CFU, 또는 약 1×10^6 내지 약 1×10^{10} CFU, 또는 약 1×10^7 내지 약 1×10^{10} CFU, 또는 약 1×10^8 내지 약 1×10^{10} CFU, 또는 약 1×10^3 내지 약 1×10^8 CFU, 또는 약 1×10^4 내지 약 1×10^8 CFU, 또는 약 1×10^5 내지 약 1×10^8 CFU, 또는 약 1×10^6 내지 약 1×10^8 CFU, 또는 약 1×10^5

내지 약 1×10^7 CFU, 또는 약 1×10^4 CFU, 또는 약 1×10^5 CFU, 또는 약 1×10^6 CFU, 또는 약 1×10^7 CFU 또는 약 1×10^8 CFU, 또는 약 1×10^9 CFU, 또는 약 1×10^{10} CFU의 양으로 존재한다.

[0091] 본 발명의 또 다른 구현예는, 하나 이상의 미네랄종을 추가로 포함하는 전술한 바와 같은 식용 조성물이다. 각각의 미네랄종은 예를 들어, 2가 미네랄종, 또는 칼슘 화학종, 마그네슘 화학종, 구리 화학종, 칼륨 화학종, 아연 화학종 및 철 화학종으로부터 선택되는 종일 수 있다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 식용 조성물은 칼슘을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 식용 조성물은 칼슘 및/또는 마그네슘을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 식용 조성물은 칼슘, 마그네슘, 및/또는 철을 포함한다. 미네랄종은 예를 들어, 염, 예컨대 카르보네이트 염, 할라이드 염 또는 바이카르보네이트 염으로서 제공될 수 있다. 예를 들어, 칼슘은 예를 들어, 칼슘 카르보네이트 또는 칼슘 글루코네이트로서 제공될 수 있다. 미네랄(예, 칼슘)은 예를 들어, 투약 또는 1회분 당 약 50 mg 이상, 투약 또는 1회분 당 약 100 mg 이상, 투약 또는 1회분 당 약 250 mg 이상, 투약 또는 1회분 당 약 500 mg 이상, 또는 심지어 투약 또는 1회분 당 약 1000 mg 이상의 양으로 제공될 수 있다. 이러한 소정의 구현예에서, 칼슘은 투약 또는 1회분 당 약 2000 mg 미만 또는 심지어 투약 또는 1회분 당 약 1000 mg 미만으로 포함된다. 식용 조성물은 예를 들어, 후술하는 바와 같이 식품 조성물로서 제공될 수 있다. 다른 구현예에서, 식용 조성물은 영양 보충제로서 제공된다. 식용 조성물은 예를 들어, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질, 농도, 1회분 양 및/또는 본원에서 기술되는 바와 같은 1회분 당 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질의 양이 제공될 수 있다.

[0092] 다른 구현예에서, 본 개시내용의 조성물은 전술한 바와 같은 미네랄종을 포함하지 않는다.

[0093] 본 발명의 또 다른 구현예는, 하나 이상의 부가적인 프리바이오틱스(prebiotics)를 추가로 포함하는 전술한 바와 같은 식용 조성물이다. 프리바이오틱스의 예로는, 이눌린, 락툴로스, 프룩토올리고당류, 만노올리고당류, 낙엽송 아라비노갈락탄(larch arabinogalactan), 자일로올리고당류, 폴리텍스트로스 및 타가토스(tagatose)를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 소정의 구현예에서, 본 개시내용은 전술한 바와 같은 식용 조성물을 제공하며, 여기서, 프리바이오틱은 0.025 g 내지 10 g 범위이다. 소정의 구현예에서, 프리바이오틱은 약 0.1 내지 약 10 g, 또는 약 1 내지 약 10 g, 또는 약 0.1 내지 약 5 g, 또는 약 1 내지 약 5 g, 또는 약 5 내지 약 10 g, 또는 약 5 내지 약 8 g, 또는 약 2 내지 약 8 g, 또는 약 2 내지 약 5 g, 또는 약 2 내지 약 8 g, 또는 약 0.05 g, 또는 약 0.1 g, 또는 약 1 g, 또는 약 2 g, 또는 약 5 g, 또는 약 8 g, 또는 약 10 g의 양으로 존재한다.

[0094] 하나의 구현예에서, 본 개시내용의 조성물은 전술한 바와 같은 하나 이상의 부가적인 프리바이오틱스를 포함하지 않는다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 본 개시내용의 조성물은 이눌린, 락툴로스, 프룩토올리고당류, 만노올리고당류, 낙엽송 아라비노갈락탄, 자일로올리고당류, 폴리텍스트로스 및 타가토스로 이루어진 군으로부터 선택되는 프리바이오틱스 중 하나 이상을 포함하지 않는다. 또 다른 구현예에서, 본 개시내용의 조성물은 이눌린을 포함하지 않는다. 보다 다른 구현예에서, 본 개시내용의 조성물은 풀룰란을 포함하지 않는다.

[0095] 선택적으로, 식용 조성물 또는 식품 조성물은 또한, 부가적인 영양성 또는 비-영양성 당류 및/또는 다당류를 포함할 수 있다. 하나의 구현예에서, 식용 조성물은 소르비톨, 풀룰란 또는 이들의 조합을 포함한다. 소르비톨은 당의 단맛 중 약 60%를 식품에 전달하지만, 상당히 감소한 수준(2.6 kcal/g 대 4.0 kcal/g, Livesay)의 칼로리 함량 및 무시할만한 혈당 반응을 가진다. 풀룰란 검은 서서히 소화가능한 탄수화물로서, 신속하게 소화가능한 탄수화물과 비교해 인간에서 약 50%의 상대적 혈당 반응을 일으키지만, 당과 유사한 칼로리 함량을 식품에 전달할 수 있다.

[0096] 하나의 구현예에서, 식품 생산물은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질 약 50% 내지 약 99%, 프룩토스 0% 내지 50%, 풀룰란 0% 내지 33%, 및 소르비톨 0% 내지 33%를 포함하며, 단, 프룩토스, 풀룰란 또는 소르비톨 중 적어도 하나의 농도는 1% 이상이다(이들 %는 모두 중량%임). 또 다른 구현예에서, 식품 생산물은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질 약 60% 내지 약 80%, 프룩토스 1% 내지 20%, 풀룰란 0% 내지 20%, 및 소르비톨 0% 내지 20%를 포함한다. 보다 다른 구현예에서, 식품 생산물은 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질 약 65% 내지 약 75%, 프룩토스 5% 내지 15%, 풀룰란 5% 내지 15%, 및 소르비톨 5% 내지 15%를 포함한다. 고 강도의 감미제를 포함하는 구현예에서, 해당 성분의 농도는 약 0.001% 내지 0.5%일 수 있다.

[0097] 식용 조성물 또는 식품 조성물은 선택적으로, 저항성 전분 또는 다른 섬유질 공급원을 함유할 수도 있다.

[0098] 당업자가 이해하게 될 바와 같이, 본원에 기술되는 조성물은 본원 어디에나 기술된 방법을 시행하는 데 사용될

수 있다.

- [0099] 용어 "식용" 및 "식용 조성물"은 본원에서 광범위한 의미로, 인간이 섭취할 수 있는 다양한 성분들, 예컨대 음식, 음료, 및 의학적 보충제 및 영양 보충제 제형, 예컨대 시럽, 분말, 캡슐 또는 정제를 포함하는 데 사용된다. 용어 "식품" 및 "식품 조성물"은 보다 협소하게, 식품과 음료 및 이들의 성분을 의미하는 데 사용된다. 적합한 식품 조성물은, 구운 음식, 아침용 시리얼, 낙농 제품, 콩 제품, 당과 제품(confection), 잼 및 젤리, 음료(분말형 및/또는 액체), 셰이크, 충전제, 요구르트(낙농 요구르트 및 비-낙농 요구르트), 케피어(kefir), 압출형 스낵 및 시트형 스낵, 젤라틴 디저트, 스낵 바, 식사 대용물 및 에너지 바, 치즈 및 치즈 공급원(낙농 치즈 및 비-낙농 치즈), 식용 필름 및 수용성 필름, 수프, 시럽, 식탁료 감미제, 영양 보충제, 소스, 드레싱, 크리머(creamer), 아이싱(icing), 아이스크림, 프로스팅(frosting), 글레이즈, 애완동물 사료, 토르티야(tortilla), 육류 및 어류, 건조 과일, 영유아 식품, 및 반죽(batter) 및 브레딩(breading)을 포함하지만 이들로 한정되지 않는 다양한 형태들일 수 있다.
- [0100] 식품 조성물에서 풍미 증강제로서 사용되기에 적합한 식품 생산물을 제조하기 위해, 많은 경우, 천연 향료 및 인공 향료를 포함하는 것이 또한 바람직할 것이다. 이러한 향료의 적합한 예로는, 사과, 시트러스, 포도, 오렌지, 체리, 레몬, 라임, 바닐라, 복숭아, 땅콩 버터, 과인애플, 석류, 블루베리, 라즈베리, 블랙베리, 자스민, 라벤더, 민트, 딸기, 바나나, 망고, 패션 프루트(passion fruit), 드래곤 프루트, 키위, 초콜렛, 메이플, 럼, 버터 및 이들의 조합을 포함한다.
- [0101] 소정의 구현예에서, 식용 조성물은 예를 들어, 분말형 음료 및 영양 보충제를 제조하는 데 사용되는 것들과 같은 응집된 분말 형태이다.
- [0102] 식품에서 감미제 조성물로서 사용되기에 적합한 식품 생산물을 제조하기 위해, 많은 경우, 비-영양성 고 강도의 감미제를 포함하는 것이 또한 바람직할 것이다. 이러한 비-영양성 고 강도의 감미제의 적합한 예로는, 수크랄로스(sucralose), 아세설팜 칼륨, 아스파탐(aspartame), 몽크프루트(monkfruit), 스테비아(Stevia) 및 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.
- [0103] 당업자는, 가용성 옥수수 섬유질과 같은 발효성 가용성 섬유질이 분말, 응집된 분말, 시럽 또는 농축된 시럽 고형분과 같은 몇몇 상이한 물리적 형태들 중 임의의 형태로 제공될 수 있음을 알 것이다. 하나의 구현예에서, 가용성 섬유질은 미립자 형태이다. 미립자는 결합제, 예컨대 주요량의 말토덱스트린을 포함하는 결합제 조성물에 의해 함께 고정될 수 있다. 미립자의 응집은 용해 및 분산 속도의 면에서 이점을 가질 수 있다. 이는, 혼합의 보다 신속한 용해 및 보다 낮은 전단 속도(shear rate)가 중요한 적용, 예컨대 테이블 탑 당 대체물(table top sugar replacement), 테이블 탑 섬유질 보충제(table top fiber supplementation), 및 온-더-고우 건조 분말 음료 믹스 제품(on-the-go dry powder drink mix product)과 같은 적용에 유용할 수 있다.
- [0104] 본원에 기술되는 바와 같은 식용 조성물에 사용되기에 적합한 부가적인 측면들은 그 전체가 원용에 의해 본 명세서에 포함된 미국 특허 출원 공개 2008/0292766, 2006/0210696 및 2008/0175977에 추가로 기술되어 있으며, 본 명세서에 부록으로서 첨부된다. 본원에 기술되는 방법 및 조성물의 소정의 구현예에서, 식용 조성물은 미국 특허 출원 공개 2008/0292766, 2006/0210696 또는 2008/0175977의 측면 또는 구현예에 기술된 바와 같은 형태이며 그에 기술된 부가적인 성분을 사용한다.
- [0105] 본 발명의 소정의 측면들은 하기 기술되는 실험적 연구에 관해 추가로 기술된다.
- [0106] **실시예 1**
- [0107] **대상 및 방법**
- [0108] **대상**
- [0109] 13세 내지 15세의 소년 15명 및 12세 내지 14세의 소녀 9명이 이들 대사 연구에 참여하였다. 스크리닝 질문지를 사용하여, 간단한 의학적 이력, 성숙 연령, 신체적 활성, 및 6일간의 식이 기록으로 평가한 습관적인 식이 섭취를 토대로 적격성을 확인하였다. 배제 범주는, 비정상적인 간 또는 신장 기능, 흡수불량 장애, 빈혈, 흡연, 칼슘 대사에 영향을 미치는 약제(스테로이드, 티아자이드 이뇨제)의 이력, 연령별 5세 내지 95세 BMI 백분위 밖의 체중, 불법 약물, 비-처방 약물 또는 임의의 종류의 피임제의 정기적인 소비, 및 임신을 포함하였다. 대상들에게, 이들 연구에 참여하는 동안 영양 보충제의 섭취를 허용하지 않았으며, 캠프에 들어오기 전에 사용을 중단할 것을 요구하였다.

- [0110] 연구 설계
- [0111] 여름 캠프 환경을 가지도록 설계된 이 연구는, 7일간의 세척 기간(washout period)에 의해 분리된 2번의 3주간 밸런스 연구로 구성되었다. 이 실험은, 참가자들이 12 g 가용성 옥수수 섬유질 또는 플라시보의 2가지 처리를 무작위 순서로 받는, 이중 맹검의, 교차 설계를 이용하였다.
- [0112] 식이
- [0113] 조절된 식이는 두 캠프 기간 전체 동안에 제공되었으며, 스파게티, 햄버거, 샌드위치 및 감자칩과 같이 청소년들이 전형적으로 섭취하는 식품을 함유하였다. 대상을, 해리스-베네딕트 방정식(Harris-Benedict equation)을 이용하여 계산한 추정된 에너지 요구량을 토대로 5개의 에너지 수준들(1750, 2100, 2400, 2700 및 3000 킬로칼로리) 중 하나로 배정하였다. 식이는 체중을 유지하고 주요 영양분을 일정한 수준으로 함유하도록 설계하였다. 조절된 식이는 매일 3회의 식사 및 2회의 간식으로 구성된 4일간의 사이클 메뉴로서 제공하였다. 평균적으로, 식이는 단백질 14%, 지방 33%, 탄수화물 53%, 비타민 D 200 IU, 인 1100 mg, 나트륨 2300 mg 및 칼슘 600 mg을 함유하였다. 섬유질 15 g을 기본 식이에 포함시켰으며, 개입은 부가적인 0 또는 12 g의 SCF를 첨가하였다. 이로써, 대조군 및 SCF 처리군 각각에 대해 총 식이 섬유질 함량을 15 g 및 27 g으로 제공하였다. SCF는 WELCH'S® 과일 스낵으로서 제공하였으며, 점심 식사와 저녁 식사에 제공되는 2개의 0 g 또는 6 g 용량으로 분할하였다. Tate & Lyle Health & Nutrition Sciences사(미국 일리노이주 호프만 에스테이즈 소재)에 의해 제공되는 SCF는, 대략적인 중량-평균 중합도가 10이며 α -1,4, α -1,6, α -1,3 및 α -1,2 결합을 가진 가용성 식이 섬유질을 70% 초과로 함유하였다.
- [0114] 인체 측정법(anthropometrics) 및 골 측정
- [0115] 중량, 앉은 키, 대퇴돌기사이 폭(bitrochanteric width), 허리 둘레 및 엉덩이 둘레를 비롯한 인체 측정을 캠프 제1 기간 동안에 수행하였다. 벽에 세워진 스타디오미터(stadiometer)를 사용하여 선 키(standing height)를 제1 기간 시작 시에 측정하였으며, 체중을 전자 디지털 저울을 사용하여 매일 아침에 모니터링하여, 전기간 동안에 체중이 안정한 채로 유지되었음을 확인하였다. 골 미네랄 함량(BMC) 및 골 미네랄 밀도(BMD)를 하나의 밸런스 기간 동안에 이중 에너지 방사선 흡수계측법(DXA)(미국 위스콘신주 매디슨 소재의 GE Lunar)에 의해 측정하였다. 골 측정은 전신, 척추, 전완 및 양쪽 엉덩이에서 측정하였다.
- [0116] 골 대사의 호르몬 및 생화학적 마커
- [0117] 일반적인 혈액 화학을 확인하기 위해 단식 상태의 기준선 혈액의 채혈을, 캠프 첫날에 수행하여, 참가자의 임상적인 프로파일 및 건강을 입증하였다. 제2의 단식 검체를 캠프 종료 시에 취하여, 골 동역학의 생화학적 마커 및 칼슘과 비타민 D 대사와 관련된 호르몬을 측정하였다.
- [0118] 검체 수집 및 분석
- [0119] 모든 소변 및 배설물 검체를 각각의 밸런스 기간의 제1일부터 제21일까지 수집하였으며, 24시간 수집으로서 폴링하였다. 식이, 배설물 및 소변 검체의 칼슘 함량을 유도 결합 플라즈마 광학 방출 분광계(Optima 4300 DV, Perkin Elmer Instrument)를 사용하여 이전에 기술된 바와 같이 측정하였다. 모든 배설물 검체를 냉동시키고, 칼슘을 얻기 위해 이후에 처리하였다. 소변을 냉장보관하고, 마찬가지로 총 칼슘 함량에 대해 이후에 분석하였다.
- [0120] 순응도
- [0121] 훈련된 카운슬러들이 매일 24시간 동안 활동, 식사 및 검체 수집 동안에 참가자들을 감독하였다. 식사 시, 소비되지 않은 음식물을 수집하고 기록하였다. 효소적 색체계측 분석(colorimetric assay)(COBAS Integra, Roche Diagnostics)에 의해 소변에서 배출되는 크레아티닌을 측정함으로써 소변 수집 순응도를 평가하였다. 배설물에서 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 회수에 의해 배설물 수집 순응도를 평가하였다. 각각의 참가자들은 아침 식사, 점심 식사 및 저녁 식사 시 1 g의 용량으로 나눈, 3 g 폴리에틸렌 글리콜(PEG)(E3350; 미국 미시건주 미드랜드 소재의 Dow Chemical Co.)을 제공받았다. PEG 회수를 탁도 분석법에 의해 24시간 배설물 수집에서 측정하였으며, 불량한 순응도의 경우 대상의 데이터를 배제하기 위한 기준으로서 사용하였다.
- [0122] 위장 증상
- [0123] 대상들에서 위에서의 소리, 고창, 팽만감 및 복통의 존재를 짧은 질문지를 사용하여 매일 평가하였다. 위장 증상의 중증도를 제2 캠프 기간 동안 18일 동안 1 내지 10(0은 없음, 10은 매우 중증임)의 척도를 사용하여 자가-

보고에 의해 매일 평가하였다.

[0124] 분획 칼슘 흡수 시험

[0125] 각각의 기간의 마지막 주 동안에, 밤새 단식한 후, 대상들은 칼슘 흡수 시험에 참가하였다. 시험날 아침에, 사혈 전문의사(phlebotomist)가 카테터를 삽입하고, 10 ml의 기준선 정맥 검체를 채혈하였다. 채혈 직후, 참가자들은 잉글리쉬 머핀, 스크램블드 에그, 버터 및 잼으로 이루어진 아침 식사를 하였다. 식사는 2% 우유로부터의 150 mg 칼슘(Ca)과 안정한 비-방사성 동위원소인 15 mg ^{44}Ca 을 함유하였다. 경구 동위원소를 우유에 첨가된 액체(CaCl_2)로서 투여하고, 밤새 평형화하도록 방지하였다. 아침 식사 후, 참가자들은 어떠한 음식물의 소비도 허용되지 않았으나, 탈이온수는 자유자재로 섭취하도록 허용되었다. 제2의 안정한 동위원소인 ^{43}Ca (3.5 mg)를 또한 염화칼슘으로서, 아침 식사 및 경구 동위원소 소비 후 1시간째에 정맥내로 투여하였다. 정맥내 투여 후 3 시간째에 마지막 채혈을 수행한 다음, 카테터를 제거하고 대상들에게 점심 식사를 제공하였다.

[0126] 흡수 및 체류 계산

[0127] 2개의 24시간 소변 폴을 사용하여, 칼슘 동위원소 투여 후 48시간 동안 분획 칼슘 흡수의 변화를 측정하였다. 흡수 시험을 수행한 후, 2일 동안 24시간 폴(0-24시간 및 24-48시간)에서 수집한 소변 검체는 고 해상도 유도 결합 플라즈마 질량 분광계(ICP-MS, Finnegan Element2, Thermo Scientific)에 의해 ^{44}Ca 및 ^{43}Ca 농화에 대해 분석하였다. 칼슘 흡수(방정식 1)를 농화값을 이용하여 계산하여, ^{44}Ca 에 대한 Δ 잉여량 및 ^{43}Ca 에 대한 Δ 잉여량을 기준선으로 나눈, 기준선으로부터의 0시간 내지 24시간 및 24시간 내지 48시간 검체의 차이로서 계산하였다. 그런 다음, 이들 잉여량 값을 이들의 자연적인 풍부도를 기준으로 경구 용량(mg)으로 나눈 정맥내 용량의 양(mg)을 곱한 $^{44}\text{Ca}/^{43}\text{Ca}$ 의 비율로서 표현하였다.

방정식 1:

$$\text{분획 Ca 흡수} = \left(\left(\frac{^{44}\text{Ca } \Delta \text{ 잉여량}}{^{43}\text{Ca } \Delta \text{ 잉여량}} \right) * \left(\frac{0.02083}{0.00135} \right) \right) * \left[\frac{\text{정맥내 용량}}{\text{경구 용량}} \right]$$

[0128]

[0129] 밸런스 데이터틀을 사용하여, 24시간 식이 칼슘 섭취로부터 소변 및 배설물 내의 24시간 칼슘 배출을 제한으로써, 칼슘 체류(방정식 2)를 계산하였다. 각각의 3주간 연구의 첫 7일을, 참가자들이 칼슘 섭취 및 섬유질 처리에 순응하게 되는 평형 기간으로서 간주하였으며, 한편, 남은 2주는 실험 기간으로서 작용하였다. 배설물 검체를 채취한 날에 계산이 시작 및 종료될 수 있도록 하는 한, 밸런스는 가능한 한 실험 부분에서 14일을 기준으로 계산하였다. 대변 간의 기간을 적절한 일수로 나누었다. 밸런스 계산에 사용된 매일의 소변 칼슘 배출 값을, 매일의 크레아티닌 배출에 대해 24시간의 소변 칼슘을 조정함으로써 수집 및 불완전 수집 시의 변화에 대해 보정하였다(방정식 3). 칼슘 체류를 소변 칼슘 배출에 대한 비보정된 값과 보정된 값 둘 다를 사용하여 계산하였다. 겉보기 칼슘 흡수(방정식 4)를, 칼슘 섭취 및 배설물 칼슘 배출 사이의 차이로서 확인하였으며, 한편, 순(net) 칼슘 흡수 효율(방정식 5)을 섭취 - 배설물 배출로서 계산하였다.

방정식 2:

$$\text{칼슘 체류율} = \text{식이 Ca 섭취} - \text{소변 Ca} - \text{배설물 Ca}$$

[0130]

방정식 3:

$$\text{보정된 24h 소변 Ca 배출} = \frac{24\text{h 소변 Ca (mg)}}{\left[\frac{24\text{h 크레아티닌 (mg)}}{\text{밸런스 기간 동안 평균 24h 크레아티닌 배출 (mg)}} \right]}$$

[0131]

방정식 4 :

$$\text{겉보기 Ca 흡수} = \text{식이 Ca 섭취} - \text{배설물 Ca 배출}$$

[0132]

방정식 5 :

$$\text{순 Ca 흡수 효율} = \frac{\text{식이 Ca 섭취 (mg)} - \text{배설물 Ca (mg)}}{\text{식이 Ca 섭취}} * 100$$

[0133]

[0134]

통계학적 분석

[0135]

통계학적 분석을 SAS(버전 9.2; 미국 노스캐롤라이나주 케리 소재의 SAS Institute)를 사용하여 수행하였다. 여성 및 남성의 기준선 특징을 t-테스트를 사용하여 비교하였다. 윌콕슨 순위합 테스트(Wilcoxon's rank-sum test)를 사용하여, 비모수적(nonparametric) 위장 증상에서의 차이를 평가하였다. 피어슨 상관관계(Pearson's correlation)를 사용하여, 24시간 내지 48시간째의 소변에서 분획 Ca 흡수의 변화(SCF에 대한 흡수 - 대조군에 대한 흡수)와, 칼슘 밸런스 및 비타민 D 상태, 기준선 인체 측정법, 및 골 밀도와 강도의 측정값의 차이 간의 잠재적인 연관성을 검사하였다. 일반적인 선형 모델을 사용하여, 분획 칼슘 흡수에 대한 SCF의 효과를 평가하였다. 모델은, 무작위 효과 변수로서 서열 내의 id를 네스팅(nesting)함으로서 교차 설계를 설명하고, 처리 상(제1의 3주간 캠프 기간 대 제2의 3주간 캠프 기간) 및 서열에 대해 조절하였다. 데이터를 각 기간(0시간 내지 24시간 및 24시간 내지 48시간)에 대해 개별적으로 분석하였다. 유사한 분석을 칼슘 밸런스에 대해 수행하였다. 청소년에서 보고된 분획 칼슘 흡수에 대한 공개된 평균 및 표준 편차를 사용하여, 24의 표본 크기는 칼슘 흡수에서 5.9%의 차이를 보이기에 충분한 검증력(80%)을 제공할 것으로 확인되었으며, 이는 0.05의 알파 오차 및 $2.9 \pm 9.6\%$ 의 표준 편차를 가정한다. 0.05 미만의 P-값은 모든 통계학적 시험에 대해 통계학적으로 유의한 것으로 간주되었다.

[0136]

결과

[0137]

총 24명의 대상(9명의 소녀 및 15명의 소년)이 이 연구에 참가하였다. 3명의 대상들은 두 기간에서 분획 칼슘 흡수 시험에 참가하지 않았다. 따라서, 분획 칼슘 흡수를 21명의 대상에 대해 분석하였다. 모든 다른 분석들은 모든 이용가능한 데이터 값들을 포함하였다. 이 연구에서 평가한 참가자들은 인종적으로 다양하였는데, 11명은 아시아계이고, 6명은 히스패닉계였으며, 1명은 흑인이고 6명은 다인종의 10대(기타 인종)였다. 연령, 인체 측정법, 신체적 특징 및 골 측정을 비롯한 대상의 특징은, 소녀 및 소년에 대해 개별적으로 평균 및 표준 편차를 제시한 표 1에 제공된다. 소녀 및 소년은 유사한 신체적 특징을 가졌으며; 이 코호트에서 체지방%(소녀는 소년보다 더 낮은 값을 가짐, $P=0.009$) 및 체지방%(소녀는 소년보다 더 높은 값을 가짐, $P=0.01$)에서만 통계학적으로 유의한 차이가 있었다. 칼슘 및 식이 섬유질의 습관적 섭취의 평균은 각각 768 ± 403 mg/d 및 12 ± 4 g/d였다.

표 1

표 1. 기준선 대상 특징

	여성 (n=9)	남성 (n=15)
연령(y)	13.3 ± 1.0	13.5 ± 0.9
체중(kg)	59.9 ± 13.2	61.1 ± 11.8
키(cm) *	157.3 ± 4.9	164.9 ± 8.2
BMI (kg/m ²)	24.1 ± 4.0	22.4 ± 3.1
BMI 백분위수 (%)	80.0 ± 16.4	74.7 ± 19.2
태너 점수 평균 **	3.8 ± 0.7	2.4 ± 0.9
제지방 (%) **	61.2 ± 5.2	71.1 ± 9.5
체지방(%)*	35.1 ± 5.6	25.1 ± 10.0
총 신체 BMD (g/cm ²)	1.07 ± 0.11	1.04 ± 0.11
총 신체 BMC (g)	2115 ± 329	2316 ± 424
총 척추 BMD (g/cm ²)	1.09 ± 0.13	1.04 ± 0.14
대퇴골 경부 BMD (g/cm ²)	1.03 ± 0.18	1.05 ± 0.15

t-테스트; 평균 ± SD

* 소년과 소녀 사이에 유의미한 차이 (p < 0.05)

** 소년과 소녀 사이에 유의미한 차이 (p < 0.01)

[0138]

[0139] 위장 증상

[0140] 팽만감, 고창, 복부 경련 및 위에서의 소리를 비롯한 위장 증상의 중증도에서 유의한 차이는 18일간의 관찰 기간 동안에 SCF 처리군과 대조군 사이에 관찰되지 않았다(표 2).

표 2

표2. SCF 소비에 대해 18일간 매일 자가-보고된 위장관 증상 평균

	가용성 옥수수 섬유질	대조군
팽만감	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.8
고창	0.6 ± 0.8	1.1 ± 1.7
복부 경련	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.7
위에서의 소리	0.2 ± 0.7	0.3 ± 0.9

윌콕슨 순위합 테스트; 평균 ± SD

N=23

모든 파라미터들에 대해 P > 0.05

점수는 10점 척도를 기준으로 할당되었음: 0은 없음, 1은 매우 약함, 및 10은 매우 중증임.

[0141]

[0142] 분획 칼슘 흡수, 칼슘 밸런스 및 골 바이오마커

[0143] 분획 칼슘 흡수는, 동위원소 투여 후 0시간 내지 24시간 및 24시간 내지 48시간 사이에 수집한 소변에서 배출되는 동위원소의 분석을 토대로 하였다(도 1). 대조군과 비교하여, 평균 분획 칼슘 흡수는 처음 24시간 동안 차이가 나지 않았지만, SCF로 처리한 후 24시간 내지 48시간째에 상당히 더 높았다(각각 0.595 ± 0.142 vs.

0.664 ± 0.129; $P=0.02$). 0.069의 평균 분획 칼슘 흡수의 차이는 SCF 처리 시 흡수의 11.6% 증가를 나타낸다. 일반적인 선형 모델(도 2)은, 분획 칼슘 흡수에 대해 24시간 내지 48시간째에는 처리의 상당한 효과를 확인하였지만($P=0.02$), 0시간 내지 24시간($P=0.09$)째에는 그렇지 않았다. 처리는 순 칼슘 흡수, 순 흡수 효율, 배설물 칼슘 배출 또는 칼슘 체류에는 상당한 효과를 나타내지 않았다(표 3). 소변 또는 배설물 칼슘 배출 중 어느 것도, 분획 칼슘 흡수와 상관관계가 있지 않았다. 골 턴오버 마커 농도는 표 4에 보고된다. 혈청 알칼리 포스파타제, 인, 칼슘, 부갑상선 호르몬, 렙틴, 인슐린-유사 성장 인자(IGF)-1, IGF-결합 단백질-3, 스크레로스틴(sclerostin), 및 소변 n-텔로펩타이드 교차 결합, 칼슘 및 인 에서 차이가 없는 것은 SCF 소비로 인한 것이었다.

표 3

표 3. 23명의 청소년 소년 및 소녀에서 칼슘 흡수 및 체류에 미치는, 가용성 옥수수 섬유질 처리의 효과

	SCF	대조군	P-값
안정한 동위원소 분석			
분획 칼슘 흡수, 0-24h	0.522 ± 0.110	0.497 ± 0.108	0.09
분획 칼슘 흡수, 24-48h	0.664 ± 0.129	0.595 ± 0.142	0.02
밸런스			
칼슘 섭취 (mg/d)	606 ± 29	604 ± 25	0.69
소변 칼슘 (mg/d)	77 ± 56	65 ± 36	0.11
배설물 칼슘 (mg/d)	318 ± 108	312 ± 106	0.77
순 흡수 효율 (%)	47 ± 18	48 ± 17	0.75
체류 (mg/d)	212 ± 117	227 ± 101	0.42
처리, 서열 및 단계(phase)를 포함하는 일반적인 선형 모델			
평균 ± SD			
분획 칼슘 흡수 값에 대해 N=21			

[0144]

표 4

표 4. 기준선에서와, 0 g SCF 및 12 g SCF로 처리한 후, 혈청 및 소변 골 턴오버 마커 농도

골 바이오마커	SCF	대조군	P-값
혈청			
알칼리 포스파타제, U/L	235.57 ± 135.45	235.00 ± 132.5	0.92
칼슘, ng/dl	10.23 ± 0.40	10.24 ± 0.40	0.72
크레아티닌, ng/dl	0.85 ± 0.12	0.85 ± 0.12	0.88
인, ng/dl	4.76 ± 0.59	4.76 ± 0.58	0.21
부갑상선 호르몬, pg/ml	21.23 ± 11.27	21.23 ± 11.02	0.82
렙틴, ng/ml	8.65 ± 7.61	8.46 ± 7.50	0.89
IGF-1,	266.81 ± 52.30	269.59 ± 52.93	0.87
IGF-결합 단백질 3	3648.99 ± 572.71	3651.26 ± 560.23	0.46
스클레로스틴, ng/ml	0.41 ± 0.17	0.41 ± 0.17	0.47
소변			
N-텔로펩타이드 교차결합, nm BCE	5378.81 ± 4632.47	5323.75 ± 4538.67	0.63
칼슘, mg/dl	3.43 ± 2.51	3.37 ± 2.47	0.69
인, mg/dl	77.85 ± 39.97	76.69 ± 39.51	0.66
크레아티닌, mg/dl	90.297 ± 45.721	90.67 ± 44.75	0.56
평균 ± SD			

[0145]

[0146] 비타민 D 상태 및 칼슘 흡수

[0147] SCF 및 대조군 처리 후, 평균 비타민 D 상태는 각각 65.2 ± 18.8 nM 및 59.1 ± 15.9 nM이었으며, 이는 통계학적으로 유의하게 상이하지 않았다. 25-하이드록시비타민 D 및 분획 칼슘 흡수(24시간 내지 48시간) 또는 순

흡수 효율 차이들 간의 통계학적으로 유의한 연관성은 관찰되지 않았다.

[0148] 칼슘 흡수에 대한 SCF의 효과의 예측인자

[0149] 24시간 내지 48시간 소변 수집 시, SCF 및 대조군 처리 간의 분획 칼슘 흡수의 차이는 키($r = 0.112$, $P = 0.63$), 체표면적($r = 0.012$, $P = 0.96$), 체중($r = -0.022$, $P = 0.92$), 습관적인 식이 섬유질($r = 0.150$, $P = 0.54$) 및 칼슘 ($r = 0.012$, $P = 0.96$) 섭취, 태너 단계(Tanner stage)($r = -0.131$, $P = 0.57$) 또는 BMI($r = -0.074$, $P = 0.75$)와 상관관계가 있지 않았다.

[0150] **실시예 2**

[0151] 배설물 처리 및 DNA 추출

[0152] 배설물 내의 미생물 군집 구성 및 구조를, 실시예 1의 각 대상에 대해 각각의 기간의 시작 시와 종료 시에 수집한 검체에서 확인하였다. 냉동한 배설물 검체를 칭량하고, 4℃에서 해동한 다음, 멸균된 이중 증류수(배설물 검체의 중량의 2배)를 첨가하고, 검체를 스토마커(stomacher)에서 균질화하였다. 배설물 슬러리물, DNA를 추출할 때까지, -20℃에서 보관하였다. DNA를 소일(Soil)용 FastDNA[®] SPIN 키트(미국 캘리포니아주 어바인 소재의 MP Biochemicals)를 사용하여 배설물 물질 50 mg 내지 100 mg으로부터 추출하였다. DNA 품질을 0.7% 아가로스 겔 및 Nanodrop 1000 분광광도계(미국 델라웨어주 월밍턴 소재의 Thermo Scientific)를 사용하여 체크한 다음, Nanodrop 3300 형광광도계(fluorospectrometer)(Thermo Scientific)를 사용하여 정량화하였다.

[0153] 파이로시퀀싱을 이용한 미생물 군집 구성

[0154] 박테리아 군집의 계통발생 다양성을, 454 FLX 티타늄 화학 및 Roche 게놈 시퀀서(미국 코네티컷주 브랜포드 소재의 454 Life Sciences-Roche) 및 16S rRNA 유전자의 V3 영역 내지 V5 영역을 증폭시키는 프라이머를 사용하여 수득된 16S rRNA 유전자 서열을 사용하여 확인하였다. 복수의 검체들을 진행시켰으며, 10-bp 태깅된 정방향 프라이머를 사용하여 차별화하였다. 배설물 검체 추출물 유래의 초기의 PCR을 하이 피델리티 퓨전 DNA 폴리머라제(high fidelity Phusion DNA Polymerase)(NEB)를 사용하여 수행하였으며, 앰플리콘(amplicon)을 겔 정제하였다(QIAEX II Gel Extraction Kit, Qiagen). Purdue Genomics 설비에서, 정제된 앰플리콘을 PicoGreen DNA 분석법 키트 및 qPCR을 이용하여 염색 후 형광정량법에 의해 정량화하고, 등물량을 454 FLX 티타늄 화학 시퀀싱에 사용하였다.

[0155] 통계학적 분석

[0156] 파이로시퀀싱 분석의 관독을 우선 소프트웨어를 사용하여 전처리하여, 프라이머 태그를 제거하고, 저 품질의 서열을 제거하였다. 서열 품질은, 길이가 400 bp 미만인 경우 또는 정방향 프라이머 서열에 미스매치 또는 모호성이 존재하는 경우, 낮은 것으로 간주하였다. 서열은, 조작 분류 단위(Operational Taxonomic Unit; OTU) 및 분류 배정(taxonomic assignment)뿐만 아니라 다수의 상이한 베타 및 알파 다양성 측정을 허용하는 다수의 공급원들로부터의 소프트웨어를 포함하는 QIIME 파이프라인을 사용하여 분석하였다. 키머슬레이어(Chimeraslayer)를 사용하여 키메라 서열을 제거하였다. OTU 배정은, 유클러스터(ucrust) 방법, 및 97% 서열 유사성 역치를 가진 가장 먼 이웃 클러스터링을 사용하여 이루어졌다. 대표적인 OTU 서열은, PyNast 및 Greengenes 코어 세트를 사용한 서열 정렬 후 수득하였다. 분류 배정은 80% 신뢰구간에서 RDP 클래시피카이어(classifier)를 사용하여 이루어졌다. 회귀화 분석을 이용하여, 군집의 서열 커버리지의 추정값을 수득하였다. 알파 생물다양성 추정값(예, Shannon 및 Chao1 지표)을 계산하여, 대상을 비교하였으며, 단, 16S rRNA 유전자를 표적으로 하기 위해 PCR을 사용하며, 결과는 편향되었을 것이며, 게놈 당 서열 복사본의 차이는 상대적인 수에 영향을 미칠 것이다. 군집 조성물 비교는 OTU 및 계통발생 데이터세트 둘 다의 "Fast UniFrac" 분석을 이용하여 이루어졌다.

[0157] 피어슨 상관관계 분석을 이용하여, 처리들 간의 분획 칼슘 흡수의 차이(24시간 내지 48시간)와, 각각의 처리 후 박테리아 속의 존재의 차이 간의 연관성을 확인하였다. 이들 상관관계에 사용된 박테리아는 속 평균이 0.001 (= 0.1%) 이상인 박테리아, 또는 t-테스트를 토대로 종료 시 검체에서 상당히 차이가 있는 분류군 비율을 가진 박테리아로, 하기의 박테리아 분류군을 포함하였다:

[0158] *비피도박테리움*, 다른 *코리오박테리아세*에, *박테로이데스*, *바르네시엘라(Barnesiella)*, *부티리키모나스(Butyricimonas)*, *파라박테로이데스*, *프레보텔라(Prevotella)*, *알리스티페스*, 다른 *리케넬라세*에(*Rikenellaceae*), *엘테로코커스*, *락토바실러스*, 다른 *락토바실라세*에(*Lactobacillaceae*), *스트렙토코커스*, *클로스트리듐*, *유박테리움(Eubacterium)*, *모기박테리움(Mogibacterium)*, *블라우티아(Blautia)*, *아나로스티페스*, *코프로코커스*, *도레아(Dorea)*, 다른 *라크노스피라세*에, *로세부리아(Roseburia)*, 다른 *클로스트리디알레스*, 다른

웹토스트렙토코카세에, 스포라세티게눔, 아세티비브리오(*Acetivibrio*), 부티리키코커스, 패칼리박테리움(*Faecalibacterium*), 오실리박터(*Oscillibacter*), 다른 루미노코카세에, 루미노코커스(*Ruminococcus*), 숭도리그라눌룸(*Subdoligranulum*), 디알리스터, 다른 클로스트리디아(*Clostridia*), 카테니박테리움, 코프로바실러스(*Coprobaillus*), 다른 에리시펠로트리카세에(*Erysipelotrichaceae*), 투리시박터(*Turicibacter*), 다른 피르미쿠테스(*Firmicutes*), 다른 박테리아, 에스케리키아/시겔라(*Escherichia/Shigella*), 슈도모나스, 액티노마이세스(*Actinomyces*), 다른 스트렙토코카세에(*Streptococcaceae*), 아네로푸스티스 및 아네로코커스(*Anaerococcus*).

[0159] **결과**

[0160] 박테리아 군집 조성물의 변화

[0161] 총 1,793,821개의 서열을 454-티타늄 파이로시퀀싱(미국 코네티컷주 브랜포드 소재의 Roche Applied Science)을 이용하여 수득하였으며, 평균은 검체 당 19498개 서열(± 7126)이었으며, 범위는 검체 당 8211개 내지 41212개 서열이었다. 처리($P > 0.05$) 또는 수집 시(기준선 대 종료 시 검체)($P > 0.05$)에 의해 비교한 경우, 각각의 대상에 대해 수득된 서열의 수는 상당한 차이가 있지 않았다. 23명의 대상의 미생물 군집에서 대표되는 10개의 문인 액티노박테리아, 박테로이데테스(*Bacteroidetes*), 피르미쿠테스(*Firmicutes*), 프로테오박테리아, 시아노박테리아, 푸소박테리아, TM7, 베루코미크로비아(*Verrucomicrobia*), 스피로캐테스(*Spirochaetes*) 및 시너지스테테스(*Synergistetes*)가 있었다. 그러나, 모든 검체들에서, 서열의 99% 초과는 4개의 문으로부터 유래되었으며; 피르미쿠테스는 평균 89.4%의 가장 지배적인 문이었으며, 후속해서 박테로이데테스(5.1%), 액티노박테리아(4.9%) 및 프로테오박테리아(0.5%)가 있었다.

[0162] 문 수준에서, 임상적 식이에 SCF가 포함되는지와는 무관하게, 박테로이데테스의 평균 상대 비율은 상당히 증가하였으며, 피르미쿠테스는 각각의 기간 종료 시 감소하였다. SCF 및 대조군 처리군에 대한 대상의 군집은 과수준에서 상당히 차이가 있었다(도 3). SCF 식이 후 포르피로모나다세에(*Porphyromonadaceae*)($P = 0.02$) 및 다른 클로스트리디알레스($P = 0.009$)는 보다 높은 비율로 존재하였으며, 웹토스트렙토코카세에($P = 0.04$)는 보다 낮은 비율로 존재하였다. 2가지 처리의 시작 시에, 코리네박타리아세에(*Corynebacteriaceae*) 과 내의 상대 집단 비율은 상당히 차이가 있었다($P = 0.02$). 이들 서열에 대한 최저 수준의 해상도에서, SCF 처리군 대 대조군 처리군 후 상당히 차이가 있는($P < 0.1$) 평균 비율을 가진 9개의 속 및 4개의 "다른" 군이 있었다(표 5). SCF 식이 후 상당한 증가는 파라박테로이데스 속($P < 0.003$), 다른 클로스트리디알레스($P = 0.04$) 및 다른 루미노코카세에($P < 0.03$)에 있었지만, 상당한 감소는 엔테로코커스($P < 0.03$), 아네로푸스티스($P < 0.05$), 코프로코커스($P < 0.03$) 및 다른 웹토스트렙토코카세에($P < 0.002$)에서 관찰되었다. 또한, 비피도박테리움, 알리스티페스, 아네로코커스, 카테니박테리움 및 다른 클로스트리디아에서 증가가 존재하였으나, 증가는 상당하지 않았다. 마찬가지로, 로티아, 다른 스트렙토코카세에, 클로스트리듐, 스포라세티게눔, 투리시박터(*Turicibacter*) 및 다른 TM7 속 인서태 세디스(*incertae sedis*)에서의 감소는 SCF 소비와 더불어 발생하였으나, CON을 포함하는 군집 비율의 차이는 상당하지 않았다.

표 5

표 5. 대조군 식이와 비교해, 가용성 옥수수 섬유질 보충 종료 시, 대상의 배설물 검체 내 박테리아 분류군의 평균 (±SEM) 비율의 비교

분류군*	SCF	대조군	P-값
문: 액티노박테리아			
강: 액티노박테리아; 목: 액티노마이세탈레스; 과: 마이크로코카세아			
속: 로티아	0.001±0.002%	0.016±0.061%	0.065
강: 액티노박테리아 목: 비피도박테리알레스; 과: 비피도박테리아세아			
속: 비피도박테리움	5.26±1.18%	4.38±1.03%	0.095
문: 박테로이데테스			
강: 박테로이디아; 목: 박테로이다레스; 과: 포르피로모나다세아			
속: 파라박테로이데스	3.58±1.18%	0.83±0.32%	0.003
강: 박테로이디아; 목: 박테로이다레스; 과: 리케넬라세아			
속: 알리스티페스	1.77±0.62%	0.57±0.19%	0.060
강: 다른 박테로이데테스	0.01±0.005%	0.037±0.145%	0.063
문: 피르미쿠테스			
강: 바실라; 목: 락토바실랄레스; 과: 엔테로코카세아			
속: 엔테로코커스	0.012±0.037%	0.590±2.100%	0.027
강: 바실라; 목: 락토바실랄레스			
과: 다른 스트렙토코카세아	0.001±0.003%	0.004±0.008%	0.078
강: 클로스트리디아; 목: 클로스트리디알레스; 과: 클로스트리디아세아			
속: 클로스트리디움	1.012±2.234%	1.960±2.778%	0.077
강: 클로스트리디아; 목: 클로스트리디알레스; 과: 유박테리아세아			
속: 아넬로푸스티스	0.006±0.002%	0.012±0.004%	0.048
강: 클로스트리디아; 목: 클로스트리디알레스; 과: iincertae sedis XI			
속: 아넬로코커스	0.017±0.007%	0.003±0.002%	0.064
강: 클로스트리디아; 목: 클로스트리디알레스; 과: 라흐노스피라세아			
속: 코프로코커스	0.68±0.13%	1.15±0.25%	0.027

[0163]

분류군*	SCF	대조군	P-값
강: <i>클로스트리디아</i> ;			
목: <i>다른 클로스트리디알레스</i>	14.64±1.63%	9.61±0.69%	0.013
강: <i>클로스트리디아</i> ; 목: <i>클로스트리디알레스</i> ;			
과: <i>다른 펙토스트렙토코카세</i>	0.42±0.10%	1.00±0.18%	0.001
강: <i>클로스트리디아</i> ; 목: <i>클로스트리디알레스</i> ; 과: <i>펙토스트렙토코카세</i>			
속: <i>스포라아세티게니움</i>	5.46±1.18%	9.38±1.92%	0.083
강: <i>클로스트리디아</i> ; 목: <i>클로스트리디알레스</i>			
과: <i>다른 루미노코카세</i>	4.07±1.02%	1.93±0.45%	0.030
강: <i>다른 클로스트리디아</i>	0.225±0.413%	0.124±0.266%	0.064
강: <i>에리시펠로트리치</i> ; 목: <i>에리시펠로트리찰레스</i> ; 과: <i>에리시펠로트리차세</i>			
속: <i>카테니박테리움</i>	2.297±6.656%	0.438±1.155%	0.094
강: <i>에리시펠로트리치</i> ; 목: <i>에리시펠로트리찰레스</i> ; 과: <i>에리시펠로트리차세</i>			
속: <i>투리시박터</i>	0.308±0.630%	0.855±1.817%	0.083
문: TM7			
강: <i>다른 TM7_속_incertae-sedis</i>	0.001±0.003%	0.005±0.012%	0.078

*종료 시 비율이 유의미하게 차이(대응표본 t-테스트, p-값 < 0.1)가 난 분류군만 열거되어 있음.

[0164]

[0165]

잭나이프 분석을 동반한 신속한 UniFrac은, 상이한 분류 범주(예, OTU 대 계통발생)를 사용하여 데이터를 공정함에도 불구하고, 식이로 인한 군집 구조의 차이는 없었음을 보여주었다. OTU의 가중화된 Unifrac의 주 좌표 분석은, 임상 기간의 시작과 종료 시 검체들 간에 다소의 분리를 보여주었으나, 2개의 처리군은 분리되지 않았다.

[0166]

박테리아 속과 분획 칼슘 흡수 간의 상관관계

[0167]

24시간 내지 48시간 소변에서 측정된 분획 Ca 흡수의 변화(SCF 처리군 - 대조군)는 *액티노마이세스*, *액티노박테리아* 문 유래의 *슈도모나스*, 및 *피르미쿠테스* 문 유래의 다른 *에리시펠로트리카세*와 음의 상관관계가 있었다(SCF를 이용한 칼슘 흡수가 증가함에 따라 박테리아 속이 감소함). 역으로, 분획 Ca 흡수의 변화는 박테로이테스 일원 *박테로이테스*뿐만 아니라 *부티리키코커스*, *오실리박터* 및 *피르미쿠테스* 문 유래의 *디알리스터*와 양의 상관관계가 있었다(SCF를 이용한 칼슘 흡수가 증가함에 따라 박테리아 속이 증가함).

표 6

표6 . 하부(lower) 장 기제/메카니즘 에 영향을 줄 수 있는 박테리아 속과 칼슘 흡수 간의 상관관계

각각의 처리 종료 시, 속 차이(genera difference)	24-48시간째에 Ca 흡수의 차이	
	계수	P-값
<i>박테로이데스</i>	0.483	0.027
<i>액티노마이세스</i>	-0.553	0.009
<i>슈도모나스</i>	-0.473	0.03
<i>부티리키코커스</i>	0.454	0.039
<i>오실리박터</i>	0.565	0.008
<i>디알리스터</i>	0.619	0.003
<i>다른 에리시펠로트리차세아</i>	-0.463	0.034

피어슨 상관관계

N=21

[0168]

[0169]

상기 결과는, 청소년기의 소녀 및 소년을 대상으로 21일 동안 12 g 가용성 옥수수 섬유질을 매일 소비하면, 분획 칼슘 흡수를 -12% 증가시켰음을 가리킨다. 이러한 분획 칼슘 흡수의 증가는, 적절한 칼슘 동위원소를 수여 받은 후 제2의 24시간 소변 풀(24시간 내지 48시간)을 측정하는 것에 의해 효과가 두드러지기 때문에 24시간 내지 48시간에 발생하였으며, 처음 24시간 동안에 수집한 소변에서 동위원소 농화의 상당한 차이는 관찰되지 않았다. 이는, 동위원소를 수여한 후 24시간까지 미생물 향상 및 보다 낮은 장 흡수가 포착되지 않음을 제시하는 문헌에 의해 지지된다.

[0170]

이 연구에서 관찰된 칼슘 흡수의 증가는, 칼슘 체류에서는 효과가 관찰되지 않았기 때문에, 골 미네랄 침착을 초래하였는지 언급하는 것은 어렵다. 배설물 칼슘 측정값은 매우 다양하며; 34의 검체 크기는 알파 오차가 0.05, 검정력이 80% 및 참가자들 사이에서 차이의 표준 편차가 122 mg/d로 체류하는 칼슘에서 61 mg의 차이를 확인하는 데 필요할 것이다. 처리는 골 강도에 효과를 끌어내는 것이 가능하다. 2가지 방법은 SD%에서 큰 차이를 가지는데, 즉, 힘을 절단하는 데에는 9.1% 및 칼슘 체류에 대해서는 41.3%이다. SCF를 이용한 칼슘 흡수의 증가가 유지(보다 민감한 이중 동위원소 방법에 의해 측정됨)된다고 가정한다면, 이 연구로부터의 데이터는, SCF를 이용한 처리가 70 mg/d의 부가적인 칼슘 체류를 초래할 것임을 암시한다. 성인의 골격은 900 g의 칼슘을 가지는 것으로 가정하면, 1년 동안, 이는, 부가적인 25 g의 칼슘 또는 전신 칼슘의 2.8%로 설명될 것이다.

[0171]

결론적으로, 12 g/d SCF의 소비는 청소년기의 소녀 및 소년에서 칼슘 흡수에 긍정적인 영향을 미쳤다. SCF-유도성 흡수는 24시간 후에 발생하였으며, 이는 장의 연관성이 보다 낮음을 가리킬 수 있다. 상당한 증가는, 저항성 전분의 발효제인 비피도박테리아 및 박테로이데테스의 일원의 비율에서 관찰되었다.

[0172]

실시예 3

[0173]

대상 및 방법

[0174]

방법

[0175]

SCF 식이 처리를 수반(10 g/일 용량 ("D10") 및 20 g/일 용량 ("D20"))하거나 수반하지 않는(0 g/일 용량 ("D0")) 대표적인 검체에서 장내 미생물총 조성물을 454개의 파이로시퀀싱 대신에 Illumina MiSeq 고 처리량 시퀀싱을 이용하여 확인하였다. 데이터를 이용하여, 식이 보충의 차이와 연관있는 집단에서 비율적인 증가 또는 감소를 확인한다. 수행한 장내 미생물 군집 분석을 위해서는 5개의 단계가 존재한다: (1) 각각 무작위로 할당된 식이 SCF 보충의 시작과 종료 시에 수집한 배설물 검체를 DNA 추출용 조제물에서 균질화하였다(D0 시작 시 배설물 검체를 제출하지 않은 103명의 대상을 제외하고 대상 당 총 6개의 검체); (2) 총 배설물 DNA를 Fast DNA™ Soil Spin 키트 및 FastPrep™ 시스템을 이용하여 추출하였다; (3) 추출된 DNA를, 박테리아 16S rRNA 유전

자를 표적으로 하는 프라이머를 사용하여 PCR로 처리하였다; (4) PCR 생성물을 Illumina MiSeq를 사용하여 시퀀싱하였다; (5) 서열을 QIIME 파이프라인을 사용하여 분석하여, 가용성 옥수수 섬유질 처리로 인한 미생물 군집 일원의 정량적 변화를 확인하였다.

[0176] 배설물 처리 및 DNA 추출

[0177] 동결된 배설물 검체를 처리하고, DNA를 실시예 2에 제공된 바와 같이 추출하였다.

[0178] 미생물 군집 구성

[0179] 박테리아 군집의 계통발생 다양성을 고 처리량 페어드 엔드 MiSeq 기술(Illumina)로부터 획득되는 16S rRNA 유전자 서열을 사용하여 확인하였고, 16S rRNA 유전자의 V3-V4 영역을 증폭시키는 프라이머를 사용하였다. 복수의 검체를 진행시키고, 2개의 PCR 진행을 사용하는 스텝 아웃 프로토콜을 이용하여 8-bp 태깅된 정방향 프라이머와 8-bp 태깅된 역방향 프라이머의 조합을 사용하여 차별화하였다. 제1 PCR은 구체적으로, 배설물 검체 추출물 유래의 16S rRNA 유전자를 증폭시킨다. 비혼입 프라이머 및 뉴클레오타이드를 Agencourt AMPURE XP 키트(Becker)를 사용하여 PCR 앰플리콘으로부터 분리하였다. 제2 PCR을 이용하여, Illumina 시퀀싱에 요구되는 앰플리콘(제1 진행 유래임)에 bitag를 첨가하였으며, Agencourt AMPURE XP 키트를 사용하여 다시 정제하였다. 모든 PCR들을 Q5[®] High Fidelity DNA 폴리머라제(New England Biolabs)를 사용하여 수행하여, 중합 동안의 오차를 최소화하였다. 정제된 앰플리콘을, PicoGreen DNA 분석법 키트를 사용하여 염색한 후 유세포분석에 의해 정량화하였다. 각각의 검체의 앰플리콘을 MiSeq 장비(Illumina)를 사용하여 서열화된 등량으로 조합하였다.

[0180] 서열 분석

[0181] 서열을 전처리하여, 프라이머 태그 및 저 품질의 서열을 제거한 다음, QIIME 파이프라인을 사용하여 분석하였다. 16S rRNA 유전자 단편의 MiSeq Illumina 서열을 OTU-기재의 계통수 및 분류학 기재의 계통수 둘 다를 사용하여 분석하였다. OTU는 엄격하게 서열 유사성을 토대로 한 그룹으로서 정의되었지만, 공지된 분류학에 할당되지 않았다. 서열을 우선 예비여과한 다음, OTU 할당을, 유클리드 방법 및 60% 역치 값을 이용하는 Greengenes 코어 서열(QIIME 개발업자에 의해 권고된 바와 같이)을 이용하여 수행하였다. 대표적인 OTU 서열을, PyNast를 사용한 서열 정렬 후에 획득하였으며, Greengenes 코어 서열과 정렬되지 않은 서열을 여과해 내었다. 분류 배정은 80% 신뢰구간에서 RDP 클래스파이어 및 Greengenes 데이터베이스를 사용하여 이루어졌다. 회박화 분석을 이용하여, 군집의 서열 커버리지의 추정값을 획득하였다. 알파 생물다양성 추정값을 계산하여, 특정한 SCF 처리 하의 대상들 내에서의 미생물총 다양성을 비교하였다. 군집들 간의 베타 다양성 비교를, 계통발생 거리의 "Fast UniFrac" 분석뿐만 아니라 유클리드 거리(Euclidean distance)를 사용한 비-계통 발생 거리 분석을 이용하여 수행하였다. 모든 알파 및 베타 다양성 측정값은, 복수의 회박화 분석 결과(10회의 반복)를 사용하여 무작위로 선택된 등가수의 분류군(단일 검체로부터 획득되는 서열의 최저수를 토대로 함)을 사용하여 이루어졌다.

[0182] 통계학적 분석

[0183] 프리드만 분석(ANOVA에 비모수적 등가)을 각각의 SCF 처리의 시작(B) 및 종료(E) 시에 대상들의 속의 평균 비율을 전반적으로 비교하는 데 사용하였다. 그런 다음, 윌콕슨 사인드 순위 테스트를 이용하여, 각각의 처리기의 시작과 종료 시의 검체뿐만 아니라 종료 시의 검체들 간의 유의미한 차이 페어와이즈 비교를 확인하였다. 스튜던츠 T-테스트를 이용하여, 알파 다양성 측정값들 간의 유의미한 차이를 확인하였다. 군집들 간의 베타 다양성의 유의미한 차이는, Paleontological Statistics 패키지 버전 2.16(PAST 소프트웨어, <http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>)에서 이용가능한 perMANOVA 비모수적 다변량 통계학적 툴을 이용하여 확인하였다. 본페로니 보정(Bonferroni correction)을 모든 통계학적 시험들에 적용하였다.

[0184] 결과

[0185] 28명의 대상에 대해 분석한 배설물 검체의 수는 167개였으며, 0 g-식이 보충 실험 동안 시작 시 검체를 제공하지 않은 1명의 대상을 제외하고는 개인 당 6개의 검체를 수집하였다(표 7). 이러한 이유로, 이 보고서에서 제시되는 통계학적 결과는 오로지 27명의 대상들로부터 유래된 데이터를 토대로 한다. 대상들에게는 10 g/일의 SCF(D10), 20 g/일의 SCF(D20), 및 무-SCF(D0)를 투여하였다.

[0186] 서열의 수

[0187] 총 12,979,388개의 고 품질의 통합된 서열을, 검체 당 평균 77,720.9개 서열($\pm 28,401$)을 이용하는 MiSeq

Illumina 시퀀싱을 이용하여 수득하였으며, 검체 당 28,854개 내지 262,312개 서열 범위였다(표 7). 수득된 서열 중 최저 수는 28,854였으며, 따라서 모든 후속적인 분석들은 검체 당 28,800개 서열에 대해 희박화 분석하였다. 희박화 분석된 데이터셋을 수득하기 위해, 각각의 데이터셋으로부터 28,800개의 서열을 무작위로 선택하는 것을 10회 수행한 다음, 데이터셋을 통합하여, 각각의 검체를 대표하는 28,800개의 서열 셋을 수득하였다.

표 7

표 7. 수집한 각각의 배설물 검체로부터의 미생물 군집 분석 및 서열의 수에 포함되는 대상

대상 ID	B-D10*	E-D10	B-D20	E-D20	B-D0	E-D0	평균
101	35648	95561	28854	81110	39956	127868	68166
102	32756	88022	53025	79399	39773	102533	65918
103**	46731	83639	62571	57150	ND	114458	72910
105	71802	87419	77341	97803	78244	135063	91279
106	47326	78151	33267	92006	43006	98303	65343
107	41246	84315	34342	77309	37403	107778	63732
108	69813	71916	104705	58411	76103	70721	75278
109	48771	90250	32212	59657	39759	64715	55894
110	104086	80540	70670	87591	81174	102184	87708
111	40890	74227	39385	86600	39783	84159	60841
112	37436	83953	38347	65681	42727	79281	57904
113	44561	73287	41348	67915	30805	53853	51962
대상 ID	B-D10*	E-D10	B-D20	E-D20	B-D0	E-D0	평균
114	82124	100597	70023	99104	67147	93323	85386
115	42685	85418	48484	85940	54404	93652	68431
116	55328	104198	62443	99053	38824	99359	76534
117	45551	70450	66727	119448	40043	78325	70091
118	70595	86264	85866	96618	83459	98271	86846
119	46358	80466	47594	106314	46887	98310	70988
120	57301	96805	66532	101655	52993	124090	83229
121	53277	72966	53345	76849	66119	137385	76657
122	76244	105777	88763	119395	71736	81078	90499
124	86440	112472	73716	94871	112156	79607	93210
125	92836	90916	83968	81214	69313	98037	86047
126	101758	127714	87905	89984	110822	101913	103349
127	108740	88143	85892	94263	103970	59492	90083
128	93626	95191	56287	77558	68134	89239	80006
129	81034	93014	81428	75555	56459	48613	72684
130	262312	66058	87767	116323	95907	118085	124409

*B- 시작 검체를 지칭하며, E- 종료 검체를 지칭함.

** 손실된(missing) 검체로 인해 통계학적 분석에서 배제됨.

[0188]

[0189]

서열 데이터에서 나타나는 문의 비교

[0190]

28명의 대상의 미생물 군집에서 발견된 13개의 문, 액티노박테리아, 박테로이데테스, 피르미쿠테스, 프로테오박테리아, 클로플렉시(*Chloroflexi*), 시아노박테리아, 푸소박테리아, 렌티스페라(*Lentisphaerae*), 시너지스테테스, TM7, 테네리쿠테스(*Tenericutes*), [테르미(*Thermi*)] 및 베루코미크로비아(*Verrucomicrobia*)가 존재하였다. 또한, 프라이머는 현재 분류될 수 없는 고세균 도메인 및 다른 박테리아 유래의 일부 서열들을 증폭시켰다. 그러나, 서열 중 99% 초과는 4개의 문, 액티노박테리아, 박테로이데테스, 피르미쿠테스 및 프로테오박테리아로부터 유래되었다. 모든 대상들의 모든 검체들에 대해, 피르미쿠테스가 평균 65.8%의 지배적인 문이었으며, 후속해서 박테로이데테스(26.0%), 액티노박테리아(6.2%) 및 프로테오박테리아(1.8%)가 있었다(도 1). SCF 시험 처리군의 시작 시 검체와 종료 시 검체 간의 문의 비율에서 상당한 차이는 존재하지 않았다. 분류학 분류의 강(class) 및 목 수준에서 또한, 상당한 차이는 확인되지 않았다. 고세균은, 미래에 모니터링되어야 하

는 중요한 그룹이지만, 프라이머를 이 연구에 사용하지 않았기 때문에, 본 발명자들의 평가에서 이들의 존재(또는 부재)를 이용하는 것이 적절한 것으로 생각하지 않는다는 결론을 도출하지 않았다.

[0191] 서열 데이터에서 나타나는 과의 비교

[0192] 과 수준에서의 분류군의 ANOVA는, 박테로이데테스 문 내에서만 상당한 차이가 존재하였음을 가리켰다. 박테로이데테스는, *박테로이다세아(Bacteroidaceae)*, *포르피로모나다세아(Porphyromonadaceae)*, *프레보텔라세아(Prevotellaceae)* 및 *리케넬라세아(Rikenellaceae)* 과 및 잠정적인(tentative) 새로운 과 [*바르네시엘라세아*], [*오도리박테라세아*], [*파라프레보텔라세아*], [*비크셀라세아*], RF16, S24-7 및 3개의 다른 과를 포함하였다. [잠정적인] 것으로서 열거된 과 및 "다른" 과들은, 아직 공식적으로 분류되지는 않았는데, 주로, 이들 그룹이 분류 배정에 사용되는 대표성을 가지고 있지 않는 분자적 분석을 토대로 최근에 발견된 것이기 때문이다. ANOVA는 본페로니 보정($p < 0.0001$)에 의해 지지된 *포르피로모나다세아(Porphyromonadaceae)*에서 상당한 차이가 있었음을 가리켰다.

[0193] 서열 데이터에서 나타나는 속의 비교

[0194] 추가적인 분석을 위해, 동일한 비교를 비모수적 통계분석을 이용하여 계통발생 분류의 속 수준에서 수행하였다. 서열화된 모든 대상의 검체들의 분석에서 동정된 235개의 속 (또는 속 등가물)에서, 오로지 24개의 속의 서브셋만이 적어도 하나의 검체에서 군집을 1% 초과로 포함하였으며, 군집의 약 90%를 나타내었다(결과는 도시되지 않음). 일부 속들이 군집의 소 부분을 구성하였지만, 이들은 상당히 차이가 있었다. 상당히 차이가 있던 속들은 본페로니 보정을 수반하는 프리드만 분석(ANOVA에 등가인 비모수적 분석)을 토대로, *파라박테로이데스*, *박테로이데스*, *도레이*, *라크노스피라*, 비분류화된 *루미노코커스*, 비분류화된 *라크노스피라세아* 및 "다른" 박테리아 (표 8) 속이었다.

표 8

표 8. 각각의 SCF 처리(10 g/일, 20 g/일 및 0 g/일)의 시작(B) 및 종료(E) 시에 개체에서, 속*의 평균 비율에 대한 프리드만 분석(ANOVA에 대한 비모수적 등가)

	B-D10 (%)	E-D10 (%)	B-D20 (%)	E-D20 (%)	B-D0 (%)	E-D0 (%)	P	본페로니 보정된 P
<i>파라박테로이데스</i>	0.90	2.11	1.12	3.01	0.99	1.06	0.0000	0.0000
미분류								
<i>라크노스피라세아</i>	6.35	11.39	6.04	13.08	5.87	6.32	0.0000	0.0000
재분류화된								
[<i>루미노코커스</i>]	3.75	2.38	2.48	1.89	3.58	3.74	0.0000	0.0000
<i>도레이</i>	1.08	1.04	1.22	0.70	1.14	1.26	0.0000	0.0015
다른_박테리아	0.07	0.05	0.12	0.06	0.11	0.04	0.0000	0.0016
<i>라크노스피라</i>	1.14	0.67	1.43	0.66	1.26	0.94	0.0000	0.0067
<i>박테로이데스</i>	14.75	11.09	16.18	9.62	15.64	13.74	0.0001	0.0216
<i>투리시박터</i>	0.22	0.12	0.12	0.13	0.15	0.27	0.0011	0.2545
<i>디알리스터</i>	0.64	0.86	0.74	1.17	0.55	0.46	0.0016	0.3796
SMB53	2.46	1.92	1.89	1.38	2.08	1.93	0.0026	0.6035
<i>루미노코커스</i>	5.12	7.15	5.89	7.70	5.00	5.94	0.0041	0.9555

[0195]

	B-D10 (%)	E-D10 (%)	B-D20 (%)	E-D20 (%)	B-D0 (%)	E-D0 (%)	<i>P</i>	본페로니 보정된 <i>P</i>
스트렙토코커스	0.39	0.18	0.19	0.46	0.37	0.22	0.0048	1
아들레르크레오티아	0.06	0.05	0.06	0.04	0.06	0.06	0.0057	1
부티리키모나스	0.13	0.10	0.17	0.16	0.17	0.18	0.0089	1
포르피로모나스	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.0094	1
다른_클로스트리 디아세애	0.32	0.09	0.30	0.11	0.25	0.26	0.0151	1
푸소박테리움	0.000	0.001	0.001	0.000	0.000	0.001	0.0156	1
비분류 알칼리게나세애	0.001	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001	0.0162	1
프레보텔라	5.73	6.35	6.30	4.72	6.70	6.64	0.0168	1
바리바쿨룸	0.000	0.001	0.002	0.001	0.000	0.001	0.0170	1
비분류 에리시펠로트리차세애	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.0231	1
아케르만시아	0.000	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001	0.0232	1
캄필로박터	0.001	0.001	0.002	0.001	0.000	0.001	0.0233	1
그라놀리카텔라	0.003	0.001	0.001	0.001	0.003	0.002	0.0241	1
수테렐라	0.80	0.79	1.01	0.93	1.10	1.06	0.0245	1
비분류 엔테로박테리아세애	0.22	0.36	0.26	0.15	0.24	0.47	0.0255	1
코리넨박테리움	0.00	0.00	0.00	0.01	0.06	0.00	0.0297	1
엑시다미노코커스	0.10	0.12	0.05	0.15	0.07	0.10	0.0301	1
오도리박터	0.39	0.29	0.45	0.88	0.36	0.50	0.0304	1
WAL_1855D	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0312	1
아내로스티페스	0.22	0.14	0.18	0.13	0.33	0.22	0.0344	1
아비오토로피아	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0423	1

*유의미하게 차이($p<0.05$)가 있는 속만 표에 포함됨.

"미분류화(미분류화된)" 지정은, 아직 기술된 적이 없지만 새로운 속의 식별을 지지하는 충분한 정보가 있는 새로운 속에 속한서열을 가리킴.

"다른"지정은, 미분류 분류군이지만, 보다 높은 분류학상 수준, 즉, 강, 목 또는 과에 있음을 지칭함.

[0196]

[0197]

SCF 처리 내에 수집한 시작 시 검체 및 종료 시 검체에서 모든 속들의 비례 평균의 페어와이즈 비교(본페로니 보정을 수반한 월콕슨 사인드 순위 테스트)를 수행하여, 이들 분류군이 상당히 차이가 있는 처리를 확인하였다. 파라박테로이테스 및 미분류화된 라크노스피라세애(표 8)의 비율은 시작 시와 비교했을 때보다 식이 D10 및 D20의 종료 시가 상당히 더 컸다. 또한, 식이 D10의 종료 시에, 아케르만시아는 상당히 증가하였으며, 재분류화된 [루미노코커스]는 감소하였다. 식이 D20의 종료 시, 박테로이테스 및 라크노스피라세애는 상당히 감소하였다. 식이 D0의 종료 시에, "다른" 박테리아에서 상당한 감소가 있었지만, 이는 단일의 분류 그룹이 아니다. 따라서, 다른 2가지 식이 처리와는 달리, 식이 D0을 소비한 후, 대상에서 분류군의 상당한 차이가 없었다.

[0198] [표 8]

표 8: 각각의 SCF 처리(10 g/일, 20 g/일 및 0 g/일)의 시작(B) 및 종료(E) 간에, 유의미하게 차이가 있는(본페로니 보정 후 월콕슨 사인드 순위 테스트, $p < 0.05$) 대상에서, 속의 평균 비율(%)에 대한 비교

문/속	B-D10	E-D10	p	B-D20	E-D20	p	B-D0	E-D0	p
박테로이데테스									
<i>박테로이데테스</i>	14.7	11.1	ns	16.2	9.6	0.011	15.6	13.7	ns
<i>파라박테로이데테스</i>	0.9	2.1	0.002	1.1	3.0	0.001	1.0	1.1	ns
피르미쿠테스									
<i>라크노스피라</i>	1.1	0.7	ns	1.4	0.7	0.002	1.3	0.9	ns
비분류화된									
<i>라크노스피라세</i>	6.4	11.4	0.001	6.0	13.1	0.0003	5.9	6.3	ns
재분류화된									
<i>루미노코커스</i>	3.7	2.4	0.011	2.5	1.9	ns	3.6	3.7	ns
베루코미크로비아									
<i>아케르만시아</i>	0.000	0.003	0.020	0.001	0.001	ns	0.001	0.001	ns
다른 박테리아	0.07	0.05	ns	0.12	0.06	ns	0.11	0.04	0.001

[0199]

[0200]

더욱이, 식이 D10, D20 및 D0 종료 검체의 페어와이즈 비교는 군집의 차이를 확고히 하였다(표 9). *파라박테로이데테스*에 대한 잠재적인 유전자량 효과가 존재하였으며, 이는, D10과 비교했을 때, 식이 D0 후보다 식이 D20 후에 상당히 더 큰 비율로 나타났다. 동일한 경향은 비분류화된 *라크노스피라세* 및 *디알리스터*에서도 확인되었으며, 이들은 D0과 비교했을 때 식이 D10 및 D20의 종료 시에 상당히 더 컸지만, 식이 D10 및 D20은 상당히 상이하지 않았다. 또한, *비피도박테리움*의 비율은 D0과 비교했을 때 식이 D20의 종료 시에 상당히 더 컸다. *아나로스티페스*, *도레아*, 재분류화된 [*루미노코커스*], 및 비분류화된 *에리시펠로트리카세*의 비율은 식이 D10 및/또는 D20의 종료 시에 D0와 비교했을 때 상당히 더 낮았다. SCF 식이 처리의 시작 시에도, 재분류화된 [*루미노코커스*], 엔테로코커스 및 *캠필로박터*의 비율이 상당히 차이가 있었다. 식이 D20의 시작 시 재분류화된 [*루미노코커스*]의 상당히 더 큰 비율은, 이 분류의 시작 시의 검체와 종료 시의 검체의 비교에서 상당한 차이를 발견하게 하는 잠재적인 인자들이었다.

표 9

표 9a: 각각의 SCF 처리(10 g/일, 20 g/일 및 0 g/일)의 시작(B) 시, 본페로니 보정된 윌콕슨 순위합 테스트(비모수적)를 사용하여, 유의미하게 차이가 있는, 속*의 평균 비율에 대한 비교

문	속	B-D10 (%)	B-D20 (%)	B-D0 (%)
피르미쿠테스	재분류화된 루미노코커스	3.75	2.48	3.58
피르미쿠테스	엔테로코커스	0.001	0.027	0.009
프로테오박테리아	캄필로박터	0.001	0.002	0.000

표 9b: 각각의 SCF 처리(10 g/일, 20 g/일 및 0 g/일)의 종료(E) 시, 본페로니 보정된 윌콕슨 순위합 테스트(비모수적)를 사용하여, 유의미하게 차이가 있는, 속*의 평균 비율에 대한 비교

문	속	E-D10 (%)	E-D20 (%)	E-D0 (%)
액티노박테리아	비피도박테리움	4.23	5.06	3.24
박테로이데테스	파라박테로이데스	2.11	3.01	1.06
피르미쿠테스	아내로스티페스	0.13	0.13	0.22
피르미쿠테스	도레아	1.04	0.70	1.26
피르미쿠테스	재분류화된 루미노코커스	2.38	1.89	3.74
피르미쿠테스	비분류화된 라크노스피라세아	11.39	13.08	6.32
피르미쿠테스	디알리스터	0.86	1.17	0.46
피르미쿠테스	비분류화된 에리시펠로트리차세아	0.006	0.004	0.008

[0201]

[0202]

특정한 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, 식이 D10 및 D20 후의 파라박테로이데스, 비분류화된 라크노스피라세아 및 디알리스터의 비율 증가는, 이들 미생물이 SCF 발효에 관여함을 제시한다.

[0203]

알파 다양성의 비교

[0204]

각각의 SCF 식이 하에 시작 시와 종료 시 군집들 간에 알파 다양성 측정값에서 상당한 차이($p < 0.05$)가 있었다 (표 10). 알파 다양성은 처리 내의 다양성에 대한 메트릭을 제공한다. Chao1 측정을 사용하여, 이들 차이는 SCF 식이 D10 및 D20 둘 다에서는 확인되었지만 D0에서는 그렇지 않았다(표 10, 도 5). 반면, 관찰된 화학종을 사용하여 차이는 식이 D20에서만 유의미하였다. PD 호울 트리(Whole Tree)에 대해서는 상당한 차이가 확인되지 않았다(표 10a). 종료 검체에서 다양성의 페어와이즈 비교는, 모든 Chao1 값들 간에, 그리고 D10 및 D20의 종료 대 D0 간에 유의미한 차이가 있었음을 가리켰다. 시험된 다양성 지표들 중에서 유의성의 차이는, 이들 알파 다양성 측정값들 각각에 대한 알고리즘이 상이한 범주에 대한 강조와 상당히 차이가 있기 때문이다. 예를 들어, PD 호울 트리는 계통발생 측정값인 반면, 다른 2개는 그렇지 않다. Chao1은, 화학종의 풍부도의 측정값 및 독특한 OTU의 수 이하의 관찰된 화학종의 합계이다. 특정한 이론으로 결부시키고자 하는 것은 아니지만, SCF 식이는 검체에서 분류군의 수를 증가시켰던 것으로 생각된다.

표 10

표 10a: 알파 다양성 값의 평균 \pm 표준 편차의 비교. 각각의 처리 내에 시작과 종료 간의 유의미한 차이.

	B-D10	E-D10	B-D20	E-D20	B-D0	E-D0
Chao 1	1141 \pm 155	1282 \pm 192	1146 \pm 154	1402 \pm 276	1152 \pm 186	1104 \pm 126
PD 호울 트리	30.8 \pm 4.2	31.2 \pm 4.2	31.2 \pm 4.1	31.7 \pm 3.7	30.8 \pm 4.2	29.8 \pm 4.4
관찰된 종	624.8 \pm 82.3	634.5 \pm 83.8	619.6 \pm 91.4	649.6 \pm 75.5	615.1 \pm 83.4	601.4 \pm 83.5

표 10b: 각각의 처리 내에 시작과 종료 검체 간의 유의미한 차이.

	B-D10	E-D10	B-D20	E-D20	B-D0	E-D0
Chao 1	1141 \pm 155	1146 \pm 154	1152 \pm 186	1282 \pm 192	1402 \pm 276	1104 \pm 126 ^c
PD 호울 트리	30.8 \pm 4.2	31.2 \pm 4.1	30.8 \pm 4.2	31.2 \pm 4.2	31.7 \pm 3.7	29.8 \pm 4.4
관찰된 종	624.8 \pm 82.3	619.6 \pm 91.4	615.1 \pm 83.4	634.5 \pm 83.8	649.6 \pm 75.5	601.4 \pm 83.5

[0205]

[0206]

베타 다양성을 이용한 군집 비교

[0207]

군집들 간의 비교(베타 다양성)는, 일부 군집의 분리가 사용된 거리 측정값에 따라 달랐음을 보여주었다. 비-계통발생적 유클리드 거리(Binary Euclidean 및 Bray Curtis), 및 잭나이프를 수반하는 계통 발생 거리(Unifrac G, Unifrac 가중 및 Unifrac 비가중)를 시험하여, 검체들 간의 군집 구조에서의 차이를 확인하고, 이들 차이에 기여할 수 있는 인자들을 확인하였다. 비-계통발생적 유클리드 거리의 주 좌표 분석(PCoA) 클러스터링은, D0의 종료 시와 분리되는 SCF 처리 D10 및 D20의 종료 시 군집, 및 모든 시작 시 검체를 가리켰다(도 6 및 7). 분리는 바이너리 유클리드 거리를 사용하여 가장 명백하였다(도 7). 분리는, 12.11%의 편차를 설명하는 제1 PCoA 축을 가로질러 확인될 수 있으며, 어느 정도는 9.48%의 편차를 설명하는 제2 PCoA 축을 가로질러 확인될 수 있다. 반면, 임의의 Unifrac 계통 발생 거리를 사용하여 검체의 클러스터링은 처리에 의한 것보다 대상에 의해 더 났았다(예, Unifrac G, 도 8). 이는, 군집의 계통발생 구성이 대상들 간에서보다 대상안에서 더 유사함을 가리킨다. 이는, 인간의 장내 미생물총들 간의 높은 편차에 관한 이전의 보고들과 유사하다. 이들 유클리드 및 계통 발생 거리는, 장내 미생물총 군집의 차이에 기여하는 인자들에 대한 이해를 제공하는 상이한 범주들을 사용하여 계산된다. 예를 들어, 유클리드 거리는 각각의 군집에서 모든 OTU(조작 분류 단위)의 존재 또는 부재를 토대로 한다. 이는, 특정한 분류군의 존재 또는 부재는 군집에서의 차이에 기여함을 가리킨다.

[0208]

비모수적 치환 다변량 ANOVA

[0209]

본페로니 보정 후 비모수적 치환 다변량 ANOVA(perMANOVA)은, 베타 다양성 분석의 주 좌표(PCoA) 산란플롯에서 클러스터로서 관찰된 처리들 간의 상당한 차이를 나타내었다. 상당한 차이는, 식이 D10 및 D20의 시작 시 검체 및 종료 시 검체 유래의 검체에서 군집들 간에 확인되었으며, 이들의 각각의 시작 시 검체는 유클리드 거리(Bray Curtis, binary Euclidean)를 측정하여 이용하였지만, 계통분석 측정(Unifrac distances)은 이용하지 않았다(표 11, 결과는 또한, 도 6 내지 도 8에 도시된 것임). 또한, 종료 D0와 비교해 식이 D20의 종료 시 검체들 간의 유클리드 및 브레이 커티스 거리의 상당한 차이가 있었다. 식이 D10 및 D0의 각각의 검체는 또한, 유클리드 거리를 사용한 경우에만 상당히 차이가 있었다. Unifrac G 거리에서도 차이가 있었지만, 차이는 또한 시작 시 검체들 간에도 확인되었으며, 이는 SCF 처리의 결과가 아닐 수 있다. 본페로니 보정 전에, 보다 상당한 차이가 있었으나(표 11), 보다 엄격한 컷오프에 초점을 맞추었다. 그러나, 데이터는, 본페로니의 엄격성이 거짓 음성을 포함할 수 있기 때문에, 보고에 포함되고 있다. 무관하게는, 이들 결과는, SCF 식이 처리 D20 종료 시 대상들의 미생물 군집은 가장 상이함을 나타냈으며, 이는 대상에 주어진 최고 SCF 용량을 코딩하는 것임을 제시하였다.

표 11

표 11. 각각의 SCF 처리(10 g/일, 20 g/일 및 0 g/일)의 시작(B) 및 종료(E) 간에, 군집의 다양한 베타 거리 측정을 사용한 per MANOVA에 대한 요약

거리 측정	B-D10 v E-D10	B-D20 v E-D20	B-D0 v E-D0	B-D10 v B-D20	B-D10 v B-D0	B-D20 v B-D0	E-D10 v E-D20	E-D10 v E-D0	E-D20 v E-D0
Bray-Curtis	0.0003	0.0000	1.0000	0.9999	1.0000	0.9999	0.9994	0.0038	0.0000
Euclidean	0.0000	0.0000	0.9999	0.9998	1.0000	0.9985	0.9778	0.0004	0.0000
Unifrac g	0.3002	0.2936	0.0056	0.0106	0.0115	0.0020	0.0311	0.0000	0.0000
Unifrac 비가중	0.4507	0.0360	0.8434	1.0000	1.0000	0.9984	0.9999	0.9538	0.3064
Unifrac 가중	0.3544	0.0133	0.9876	0.9030	0.9863	0.9878	0.8203	0.3676	0.0468

[0210]

본페로니 보정 수반

거리 측정	B-D10 v E-D10	B-D20 v E-D20	B-D0 v E-D0	B-D10 v B-D20	B-D10 v B-D0	B-D20 v B-D0	E-D10 v E-D20	E-D10 v E-D0	E-D20 v E-D0
Bray-Curtis	0.0051	0.0002	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0575	0.0003
Euclidean	0.0003	0.0002	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0054	0.0002
Unifrac g	1.0000	1.0000	0.0846	0.1590	0.1727	0.0303	0.4670	0.0003	0.0002
Unifrac 비가중	1.0000	0.5400	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
Unifrac 가중	1.0000	0.1992	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.7026

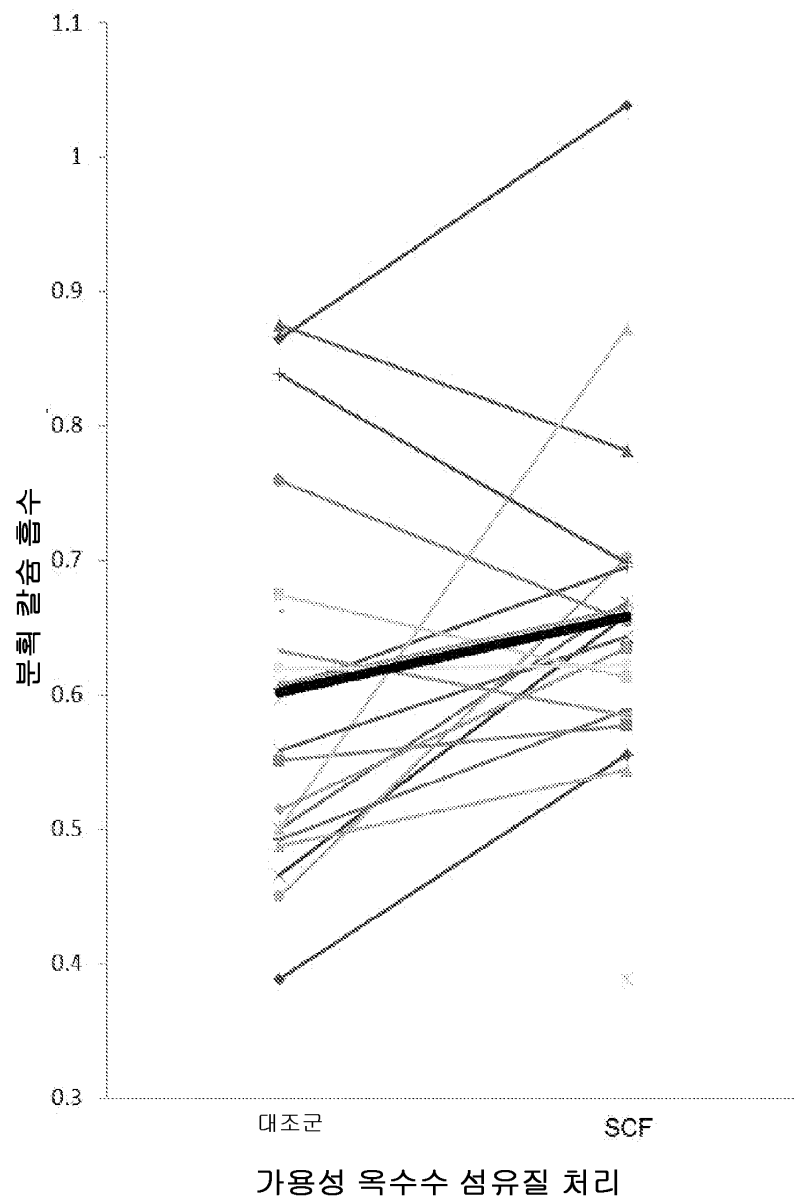
[0211]

[0212]

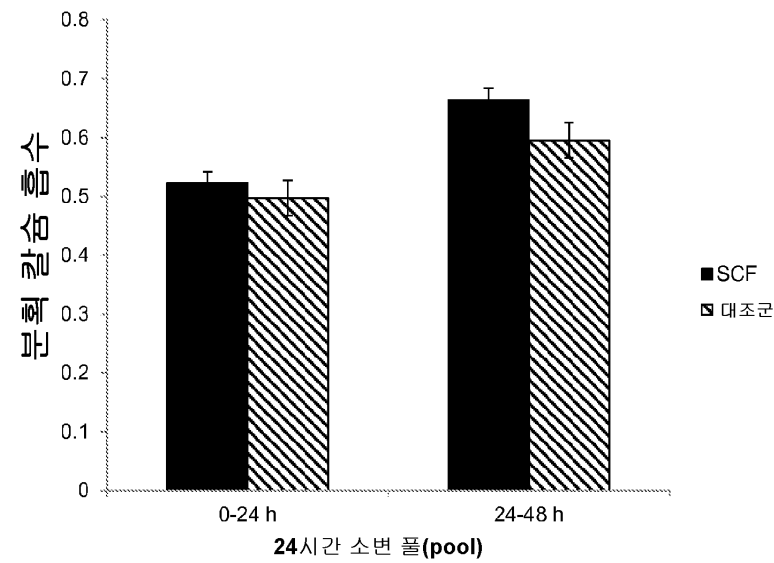
본 발명의 구현예에 대한 상기 설명은 예시 및 설명을 위해서 제시된 것이다. 완전한 것으로 의도되거나, 본 발명을 개시된 정확한 형태들로 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 당업자는, 상기 교시의 면에서 다수의 변형 및 변화가 가능함을 인지할 것이다. 당업자는, 다양한 변형 및 변화가 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 본 발명에 대해 이루어질 수 있음을 명백히 알 것이다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 변형 및 변화가 청구항 및 이들의 등가물의 범위에 속하는 한, 본 발명의 변형 및 변화를 망라하는 것으로 의도된다.

도면

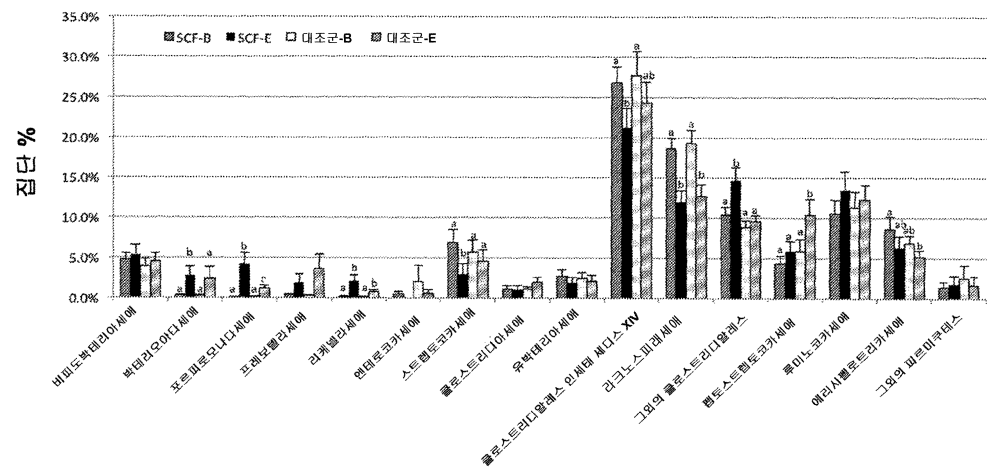
도면1



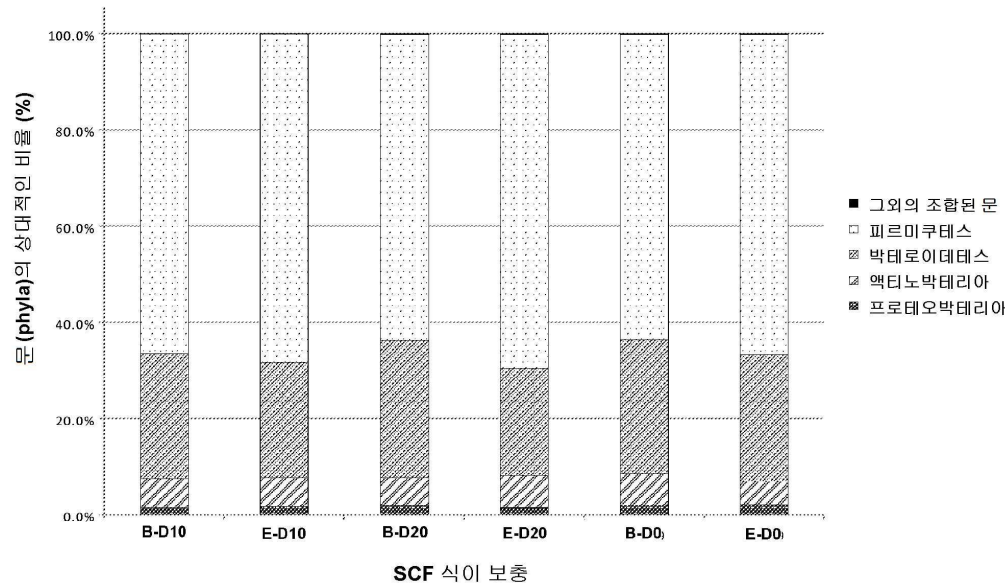
도면2



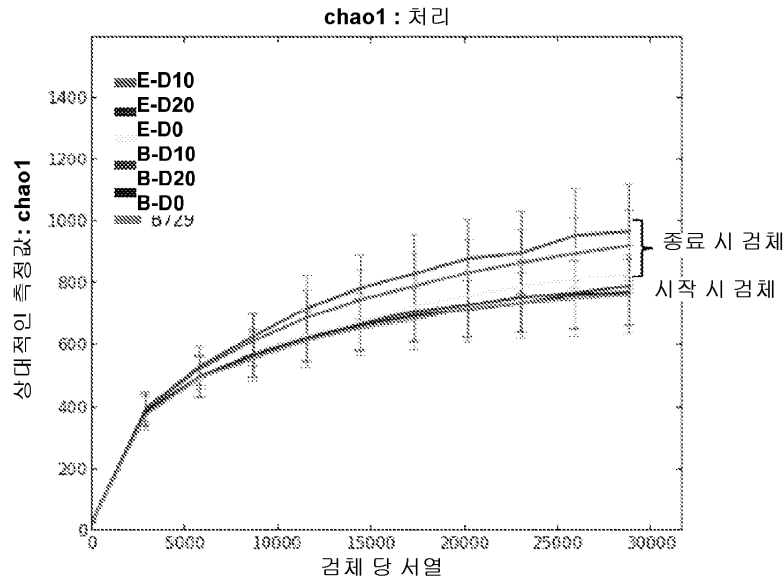
도면3



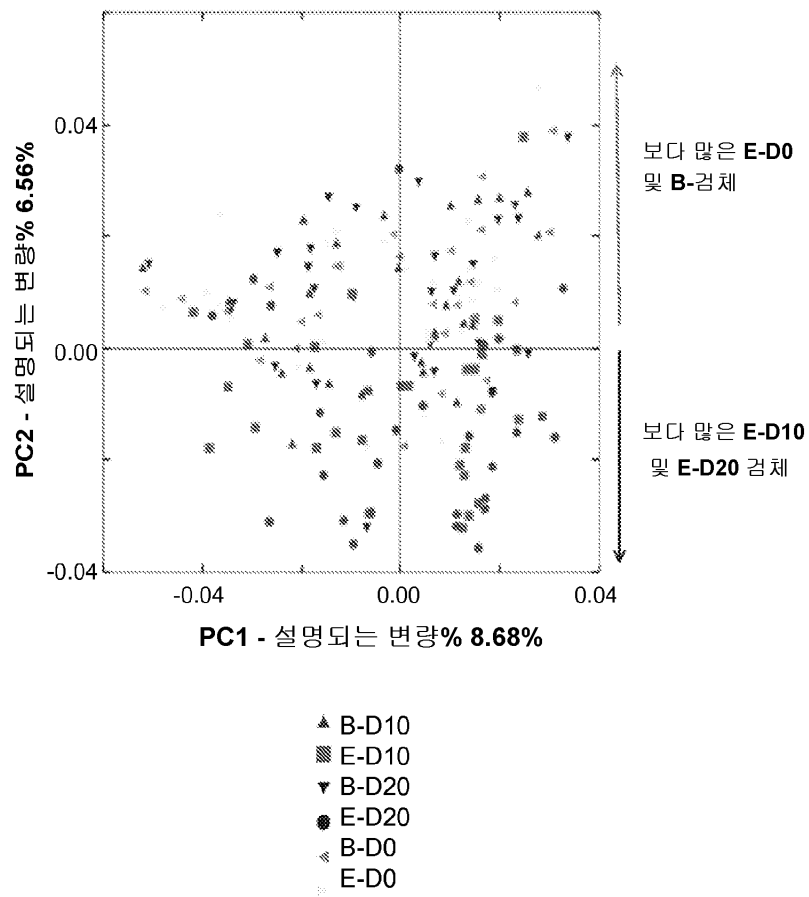
도면4



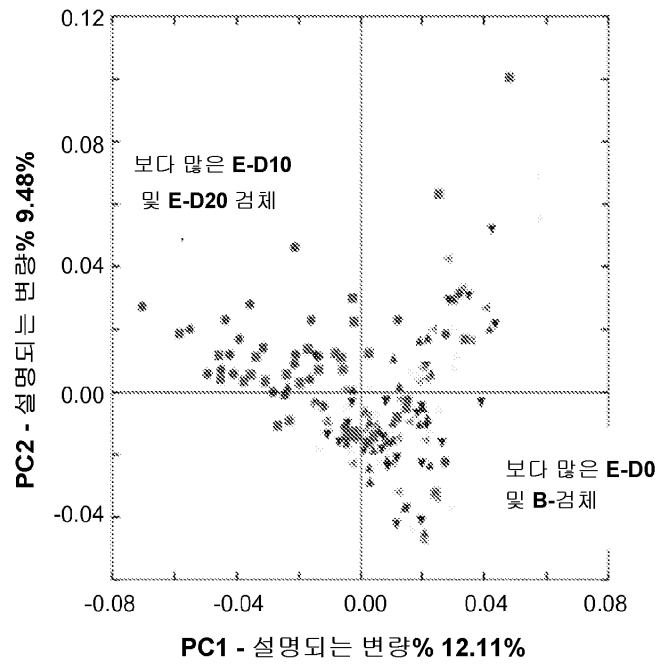
도면5



도면6

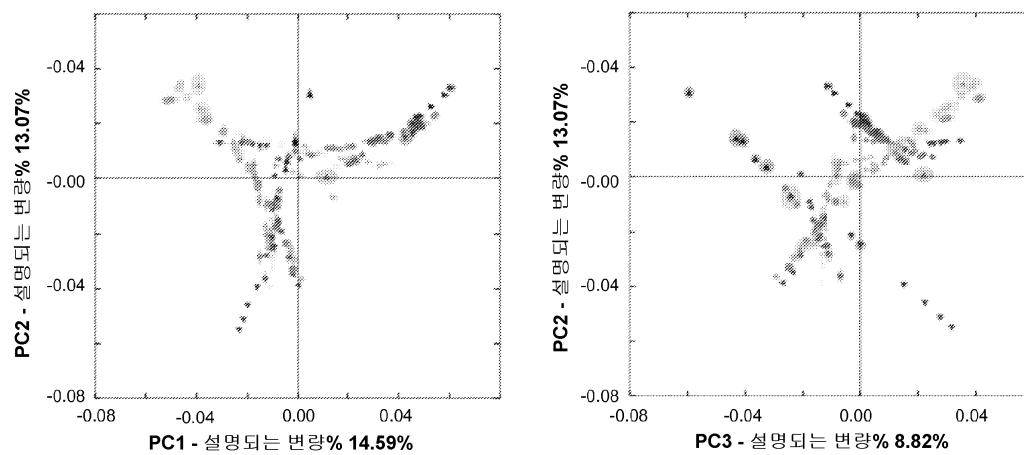


도면7



- ▲ B-D10
- E-D10
- ▼ B-D20
- E-D20
- ▲ B-D0
- ▼ E-D0

도면8



도면9

