



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01804902.8

[45] 授权公告日 2005 年 10 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 1221182C

[22] 申请日 2001.2.14 [21] 申请号 01804902.8

[30] 优先权

[32] 2000.2.15 [33] EP [31] 00103056.8

[86] 国际申请 PCT/EP2001/001600 2001.2.14

[87] 国际公布 WO2001/060176 英 2001.8.23

[85] 进入国家阶段日期 2002.8.12

[71] 专利权人 蒂西苏克拉菲纳德里有限公司

地址 比利时布鲁塞尔

[72] 发明人 简·范鲁 安妮·弗里皮亚特

审查员 何 炜

[74] 专利代理机构 上海智信专利代理有限公司

代理人 薛 琦

权利要求书 3 页 说明书 25 页 附图 1 页

[54] 发明名称 具有改进营养特性的菊糖产品

[57] 摘要

本发明涉及新的菊糖产品和混合物、及其用于改变和调节细菌菌群和菊糖在人、哺乳动物或其它脊椎动物的大肠中的发酵方式，及其用于提供改进的，与菊糖相关的营养效果/益处及用于生产消费品和混合物为健康的，失去功能的和患病的人、哺乳动物和其它脊椎动物提供所述的效果/益处。新的菊糖产品由易发酵的菊糖(EFI)组分和难发酵的菊糖(HFI)组分的特定的混合物组成。营养效果/益处包括纤维效果，改进的矿物质吸收，尤其是钙和镁，增加骨矿物质密度，减少骨矿物质密度的丧失，调节脂代谢，刺激免疫系统和抗癌效果。新的菊糖产品尤其适用于生产一种混合物或一种药物用于防止、延缓和/或治疗人，尤其是绝经后的妇女和老人的骨质疏松症。

ISSN 1008-4274

1、由易发酵菊糖组分和难发酵菊糖组分组成的菊糖产品，其特征在于易发酵菊糖/难发酵菊糖重量比为 10/90-70/30，易发酵菊糖组分没有龙舌兰菊糖，由具有聚合度  $DP < 10$  的短链菊糖组成，难发酵菊糖组分由具有平均聚合度  $\overline{DP} \geq 20$  的长链菊糖组成；具有  $DP=9$  和  $DP=10$  的菊糖总含量最大为 5%，%是占总菊糖的重量百分比，用气液色谱法测定。

2、由易发酵菊糖组分和难发酵菊糖组分组成的菊糖产品，其特征在于易发酵菊糖/难发酵菊糖重量比为 10/90-70/30，易发酵菊糖组分由龙舌兰菊糖或具有  $DP < 10$  的短链菊糖的龙舌兰菊糖的任何混和物组成，难发酵菊糖组分是具有  $\overline{DP} \geq 20$  的长链菊糖，具有  $DP=9$  和  $DP=10$  的菊糖总含量最大为 5%，%是占总菊糖的重量百分比，用气液色谱法测定。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的菊糖产品，其特征在于具有  $DP=9$  和  $DP=10$  的总菊糖含量最大为 2%。

4、根据权利要求 1 或 2 所述的菊糖产品，其特征在于具有  $DP=9$  和  $DP=10$  的总菊糖含量最大为 1%。

5、根据权利要求 1 或 2 所述的菊糖产品，其特征在于易发酵菊糖/难发酵菊糖组分的重量比为 35/65-65/35。

6、根据权利要求 1 或 2 所述的菊糖产品，其特征在于难发酵菊糖组分由长链菊苣菊糖组成。

7、根据权利要求 1 或 2 所述的菊糖产品，其特征在于由易发酵菊糖和难发酵菊糖组成，其中易发酵菊糖由含葡萄糖、果糖和蔗糖最大总量为 20% 的工业级菊糖的混合物或工业级龙舌兰菊糖或寡果糖和龙舌兰菊糖的混合物组成，%是占总碳水化合物的重量百分比，而难发酵菊糖组分由工业级长链菊糖组成，其中有效短链菊糖/有效长链菊糖的重量比包括在所述的工业级组分中，已在权利要求 1、2 或 5 的任何一个权利要求中明确表示。

8、根据权利要求 7 所述的菊糖产品，其特征在于难发酵菊糖组分是工业级长链菊苣菊糖。

9、根据权利要求 7 所述的菊糖产品，其特征在于短链菊糖是含葡萄糖、果糖和蔗糖最大总量为 8%的工业级寡果糖，%是占总碳水化合物的百分比重量。

10、制备在权利要求 1 或 2 中确定的菊糖产品的方法，包括以特定的重量比干燥混合易发酵菊糖组分和难发酵菊糖组分或包括以特定的重量比湿混合易发酵菊糖组分和难发酵菊糖组分，可选择以干燥形式分离得到的菊糖产品，所述的分离步骤包括喷雾干燥步骤。

11、含有在权利要求 1 或 2 中确定的菊糖产品和一种或多种可食用的或药学上可接受的组分的混合物。

12、根据权利要求 11 所述的混合物，其特征在于一种或多种可食用的或药学上可接受的组分从以下物质中选择：糖类、多元醇、氢化的葡萄糖糖浆、麦芽糊精，甜味剂、食品成分、饲料成分、食品添加剂、饲料添加剂、食品中间体、饲料中间体、食物产品、饲料产品、可食用的液体、饮料、生物利用源的矿物质、药学上可接受的赋形剂、药用活性物质、治疗用活性物质、药物级混合物和药物。

13、根据权利要求 12 所述的混合物，其特征在于生物利用源的矿物质含钙源和/或镁源和/或铁源。

14、根据权利要求 11 所述的混合物，其特征在于其是食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药物成分或药物。

15、制备在权利要求 11 中确定的一种混合物的方法，包括混合在权利要求 1 至 9 中确定的菊糖产品，或以权利要求 1、2 或 5 中明确的重量比混合在权利要求 1 至 9 中确定的易发酵菊糖和难发酵菊糖组分，至少是在权利要求 11 至 13 中确定的一个其它组分，继之以产生所需形状的混合物。

16、在权利要求 1 或 2 中确定的菊糖产品或在权利要求 11 中确定的混合物，其特征在于用作功能性食品、功能性饲料、药剂或药物。

17、在权利要求 1 或 2 中确定的菊糖产品或在权利要求 11 中确定的混合物的用途，其特征在于用于生产混合物、食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂、药物或中间体。

18、根据权利要求 17 所述的用途，其特征在于用于生产改变或调解人、哺乳动物或其他脊椎动物的大肠或大肠末端部分中细菌菌群的组成的混合物、食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂或药物。

19、根据权利要求 17 所述的用途，其特征在于用于生产改变或调节人、哺乳动物或其它脊椎动物的大肠或大肠末端部分中菊糖的发酵方式的混合物、食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂或药物。

20、根据权利要求 17 所述的用途，其特征在于用于生产为人、哺乳动物或其它脊椎动物提供一种或多种改进的、与菊糖相关的营养效果/益处的混合物、食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂或药物。

21、根据权利要求 20 所述的用途，其特征在于改进的、与菊糖相关的营养效果/益处包括膳食纤维效果、调节肠功能、前生物作用和/或益生作用、增加矿物质吸收、增加钙和/或镁吸收和/或铁吸收、增加骨矿物质密度、增加骨矿物质含量、增加最大骨量、改进骨结构、减少骨矿物质密度的丧失、减少骨结构的丧失、调节脂代谢、刺激免疫系统、防止或减少癌症的危险，防止或减少结肠癌的危险及防止或减少乳房癌的危险。

22、根据权利要求 21 所述的用途，其特征在于用于生产用来改进健康人中的钙和/或镁的吸收的混合物、食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂或药物。

23、根据权利要求 17 所述的用途，其特征在于用于生产预防或减少骨去矿化作用或骨质疏松症的危险，或治疗人的骨质疏松症的药剂或药物。

24、根据权利要求 23 所述的用途，其特征在于人是指绝经后的妇女或老人。

25、根据权利要求 17 所述的用途，其特征在于用于生产防止癌症，减少癌症的危险，或用于治疗癌症的药剂或药物。

## 具有改进营养特性的菊糖产品

### 技术领域

本发明涉及新的菊糖产物及其混合物和生产方法，用于改变和调节人、哺乳动物和其它脊椎动物中的细菌菌群组成及菊糖发酵形式，用于提供改进的菊糖相关的营养效果/益处，用于生产一种混合物、一种消费品、一种药剂或药物，为人、哺乳动物和其它脊椎动物提供所述的效果/益处。

### 背景技术

菊糖系一种果聚糖类碳水化合物，主要由在许多植物中作为一种储备成份的碳水化合物而出现的果糖单元组成。菊糖可由某些细菌合成，也可在体外以酶法由蔗糖生产。菊糖碳水化合物分子的多分散型的混合物天然存在，其果糖基单位主要或专一性地通过  $\beta(2, 1)$  键互相连接。大部分直链可能带有一个或多个侧链，在分支点果糖基以  $\beta(2, 6)$  连接，从而形成具有果糖基-果糖基键的支链菊糖分子。植物来源的菊糖分子大部分含有一个末端葡萄糖基。因此菊糖分子可用通式  $GF_n$  或  $F_m$  表示，G 代表末端葡萄糖基，F 代表果糖基，n 和 m 代表通过  $\beta(2, 1)$  和/或  $\beta(2, 6)$  键相互连接的果糖基数目。n+1, 及 m 表示菊糖分子的聚合度 (DP)。菊糖的聚合度通常采用平均聚合度 ( $\overline{DP}$ ) 来表征。 $\overline{DP}$  即特定的菊糖样品中糖类单位 (G 和 F 单位) 的总数除以菊糖分子的总数所得的值，而不考虑样品中可能存在的单糖，如葡萄糖 (G)、果糖 (F) 及双糖蔗糖 (GF)，通常采用 De Leenheer 等 (De Leenheer L. et al., Starch/Stärke, 46, (5), 193-196, (1994) and Carbohydrates as Organic Raw Materials, Ed. H. Van Bekkum et al. For CRF, Wageningen, The Netherlands, Vol. III, 67-74, (1996)) 描述的方法测定平均聚合度 ( $\overline{DP}$ )。

植物来源的天然菊糖(即植物中存在的菊糖)是以聚合度(DP)约为 2-100

的直链多糖链的多分散型混合物而出现的，而细菌来源的菊糖分子通常带有支链，一般有较高的（DP）值，甚至达到约 115.000。植物菊糖的（ $\overline{DP}$ ）大多取决于植物来源、采集、储存和加工条件。天然（或标准级）菊糖指直接从植物来源提取、纯化和分离的菊糖，而不采用可以减少或增加其（ $\overline{DP}$ ）的其它方法，其（ $\overline{DP}$ ）通常比相应的天然菊糖的（ $\overline{DP}$ ）约低 1 个单位。

通常将（DP）<10 的低聚合度的菊糖分子命名为菊聚糖、果聚糖或低聚糖。这些术语包括（DP）<10 的直链和具有支链菊糖也可交替使用。寡果糖还称为短链菊糖。

通常，植物来源的菊糖，主要由菊苣（*Cichorium intybus*）的根、耶路撒冷蓟（*Helianthus tuberosus*）的块茎和龙舌兰（Blue Agave）植物的头来生产获取。在这些植物中，菊糖存在的浓度可以达到 20%（重量百分比）。按照常规技术易从这些植物中提取和纯化菊糖。

来源于菊苣和耶路撒冷蓟的天然菊糖一般是以带有少量支链（分别小于 2%和小于 1%的典型支链）的一种多分散型混合物出现的，其 DP 范围分别为约 2-70 和约 2-40。

天然（标准级）菊苣菊糖的平均聚合度（ $\overline{DP}$ ）约为 10，天然（标准级）耶路撒冷蓟的平均聚合度（ $\overline{DP}$ ）约为 6。

来源于龙舌兰的天然菊糖是一种具有高支链度的多分散混合物，其（ $\overline{DP}$ ）一般约为 14-17。在工业上，菊苣菊糖的工艺是这样的。即切碎的菊苣根用热水提取，产生粗的菊糖溶液，然后经净化（用石灰处理，继以碳酸盐化和过滤），再经精炼（包括用离子交换剂、活性炭处理和过滤），由纯化和精炼的溶液经喷雾干燥得到标准级菊糖。从纯化和精炼的溶液中可以择性地除去单糖和双糖（例如 EP 0670850 中描述的柱层析分离），经喷雾干燥产生具有（ $\overline{DP}$ ）约为 10 的标准级菊糖不含单糖和双糖。纯化的精炼的溶液可分级除去单糖和双糖及寡果糖（例如 EP 0769026 中描述的直接结晶），然后级分菊糖，经喷雾干燥得到颗粒状物。

根据生产工艺的不同，可得到具有（ $\overline{DP}$ ）约为 10（标准级）-30 甚至

平均聚合度更高的菊苣菊糖。同样的方法可以在工业上生产龙舌兰菊糖，其工艺为：压榨或用水提取切碎的龙舌兰的头或浆，再用常规的纯化、精制和分离菊糖的方法，经喷雾干燥得到菊糖。具有  $(\overline{DP}) \geq 20$  的菊糖（包括直链和支链菊糖）被称为长链菊糖，而具有  $(\overline{DP}) 10 < 20$  的直链和支链菊糖则被称为中链菊糖。

菊苣菊糖可在市场上购得，例如比利时 ORAFTI 公司生产的各种级别的菊苣菊糖，商品名 RAFTILINE®。典型的级别是 RAFTILINE® ST（具有  $(\overline{DP})$  约为 10，含 8%（重量比）葡萄糖、果糖和蔗糖）和 RAFTILINE® HP（具有  $(\overline{DP})$  至少 20，一般具有  $(\overline{DP})$  约为 23-25，且基本上没有葡萄糖、果糖和蔗糖）。

市场上可购得的龙舌兰菊糖，工业级龙舌兰菊糖如墨西哥 Industrias Colibri Azul S.A. de C.V.公司生产的 GAVEDIET® PR，其  $(\overline{DP})$  为 14-16，含 5%（重量比）的葡萄糖和果糖。

按照现有技术可得到寡果糖，包括如 US 5, 314, 810 中描述的由酶催化转化蔗糖体外合成；EP 0917588 中描述的菊糖的部分水解。

由菊苣菊糖的酶水解制备的寡菊糖有各种级别的商品，比利时 ORAFTI 公司的 RAFTILOSE®，如 RAFTILOSE® L95（液体状）或 RAFTILOSE® P95（粉末状），两者约含 95%寡糖（%是占总碳水化合物的百分比重量），具有  $(DP)$  为 2-9，一般其  $(DP)$  为 2-7， $(\overline{DP})$  约为 4.5，含 5%（重量比）葡萄糖、果糖和蔗糖，RAFTILOSE® L85（液体状）的寡果糖含量约 85%（%是占总碳水化合物的百分比重量），具有  $(DP)$  为 2-9，一般为 2-7， $(\overline{DP})$  约为 3.5，含 15%（最大时为 20%，重量比）的葡萄糖、果糖和蔗糖。

除非另有说明，这里采用的术语菊糖指直链及支链菊糖，且包括具有  $(DP) < 20$  的菊糖分子和具有  $(DP) \geq 20$  的菊糖分子。

在食品和饲料工业中，寡果糖广泛用作一种部分或完全的低热量糖代用品，以提供甜味、质地和口感，而  $(\overline{DP})$  至少约为 10，最好至少为 20 的菊糖用作：(1) 一种部分或完全的低热量糖代用品，其与或不与一种或多种

高强度甜味剂合用，提供质地和口感；(2) 用作一种组织改进剂；(3) 用作一种低热量脂肪代用品。菊糖用作脂肪代用品的依据是菊糖可与水形成一种稳定的、均匀的、乳油状结构的颗粒凝胶，具有极好的感官特性。

具有 (DP)  $\geq 10$  的菊糖分子和具有 (DP)  $< 10$  的寡果糖分子不被人体内的消化酶所水解。因此，这些分子经过消化道的上部和小肠不改变 (Ellegård L. et al., *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51, 1-5, (1997))，且几乎定量地进入大肠，在那里被特定的肠道细菌发酵 (Roberfroid M. et al., *J. Nutr.*, 128(1), 11-19, (1998))。因此菊糖和寡糖显示出非常有趣的营养特性。

首先，菊糖和寡果糖被认为是膳食纤维。它们进入大肠前不改变，这样可以为大肠内的微生物群落提供碳能量。菊糖和寡果糖以这种方式促进大肠的肠道菌生长，对肠功能起有益的作用，包括促进肠蠕动的作用（即增加细菌生物量），增加粪便重量，增加大便频率和缓解便秘 (Roberfroid M., in *Dietary Fiber in Health and Disease*, (Ed. Kritchevsky, Bonfield), Plenum Press, New York, 211-219, (1998))。

而且，已发现菊糖和寡果糖具有强的益生作用，因为菊糖和寡果糖选择性地促进双歧杆菌和乳杆菌的生长和代谢作用。此外，已观察到口服摄取的菊糖和寡果糖可明显地增加肠道内双歧杆菌的数量，在大肠内不合需要的细菌或病原菌，例如梭菌和大肠杆菌数量随之明显减少 (Gibson G. R. et al., *J. Appl. Bacteriology*, 77, 412-420, (1994)和 Wang X., Ph. D. Thesis, University of Cambridge, UK, (1993))。摄取的菊糖和寡果糖可以选择性地促进大肠内的益生菌（如双歧杆菌）的增殖，抑制有害的细菌的生长，从而大大地改变和调节肠道菌群，对宿生的肠道疾病产生有利的预防和治疗作用。



健康志愿者的体内实验表明，菊糖（RAFTILINE® ST）和寡果糖（RAFTILOSE® P95）有相同程度的益生作用（Gibson G. R. Et al., *Gastroenterology*, 108, 975-982, (1995)），而体外实验表明，在大肠中发酵的菊糖（ $(DP) \geq 10$ ）比寡果糖（ $(DP) < 10$ ）约慢2倍（Roberfroid M. et al., *J. Nutr.*, 128(1), 11-19, (1998)）。

这些观察表明，寡果糖几乎完全在大肠的邻近部分发酵，即向上部分，而菊糖能达到差不多程度，更多的是在大肠的末端，即横向和向下部分发酵。

体外实验表明，龙舌兰菊糖比寡果糖容易发酵。推测龙舌兰菊糖也几乎完全在人和哺乳动物的大肠的邻近部分发酵。

已披露寡果糖和菊糖对某些癌症，如结肠癌（WO 98/52578）和乳腺癌（EP 0692252）的发生和生长有预防和治疗作用。

对乳腺癌的效果似乎与免疫调节作用有关，尤其是寡果糖、菊糖和/或其发酵产物（主要是短链脂肪酸对免疫系统的刺激作用（Namioka S. Et al., *Bifidobacteria microflora*, 10, 1-9, (1991)）。关于结肠癌（通常是在结肠的末端部分形成肿瘤发生前的损害），已报道长链菊糖，即具有  $(\overline{DP}) \geq 20$  的菊糖在防止结肠癌发生和抑制结肠癌生长方面比具有  $(DP) < 10$  的寡果糖和具有  $(\overline{DP})$  约为 10 的标准级菊苣菊糖更有效（WO 98/52578）。

因此，已发现在患有轻度高脂质血症的健康志愿者的研究中，与对照安慰剂治疗比较，摄食寡果糖或菊糖对脂代谢起有益的作用，因为其减少了血清甘油三酯和胆固醇（主要是低密度脂蛋白胆固醇）的水平（Brighenti F. et al., *Eur. J. Clin. Nutr.*, 53(9), 726-733, (1995)）。而且，通过大鼠实验证明，与对照组比较，富含脂肪的饮食中添加寡果糖或菊糖，大鼠体内的血清胆固醇和血清甘油三酯减少 50%（Kok N. et al., *J. Nutr.*, 128(7), 1099-1103, (1997)）。

在许多研究中发现寡果糖和菊糖对肠吸收矿物质，尤其是钙、镁和铁及对改善骨矿物质密度(BMD)有积极作用。Shimura 等(Shimura S. et al., *J. Nutr. Food Sci.*, 44(4), 287-291, (1991))、Levrat 等(Levrat M. A. et al., *J. Nutr.*, 121, 1730-1737, (1990))、Rémésy 等(Rémésy C. et al., *Am. J. Physiology*, 264(5),

G855-G862, (1993))、Tagushi 等 (Tagushi A. et al., Meiji Seika Kenkyu Nenpo, 33, 37-43, (1995)) 和 Scholz-Ahrens 等 (Scholz-Ahrens K. et al., Symposium Deutsche Gesellschaft für Ernährungsforschung, 19-20 March 1998 (Kiel, Germany)) 报道, 对大鼠研究表明, 口服菊糖和寡果糖, 促进了钙的吸收, 及其它矿物质, 如镁。

Otha 等 (Otha A. et al., J. Nutr., 125(9), 2417-2424, (1995)) 和 Baba 等 (Baba S. et al., Nutr. Res., 16(4), 657-666, (1996)) 提出了这样一种假设, 即在大肠内, 非消化性碳水化合物对钙和镁的吸收有促进作用。而通常认为矿物质吸收主要通过小肠。

Delzenne 等 (Delzenne N. et al., Life Science, 57(17), 1579-1587, (1995)) 报道摄食中补充 10% 菊糖 (RAFTILINE® ST) 或寡果糖 (RAFTILOSE® P95), 健康大鼠对镁、钙的吸收有大幅度增加, 对铁的吸收也有中等程度增加, 而且寡果糖与菊糖的效果几乎相同。Brommage 等 (Brommage R. et al., J. Nutr., 123(12), 2186-2194, (1993)) 披露在健康大鼠的饮食中, 补充 5% 寡果糖 (RAFTILOSE® P95), 钙吸收的增加相似。Taguchi 等 (Taguchi A. et al., Meiji Seika Kenkyu Nenpo, 33, 37-43, (1995)) 报道在卵巢切除的大鼠中, 饮食内补充 2.5% 和 5% 寡果糖增加了矿物质吸收, 尤其是钙、镁的吸收, 且增加了 BMD, 从而防止了由雌激素缺乏引起的骨损害。Scholz-Ahrens 等 (Scholz-Ahrens K. et al., Symposium Deutsche Gesellschaft für Ernährungsforschung, 19-20 March 1998 (Kiel, Germany)) 采用相同的模型观察到寡果糖 (2.5、5、10%) 的剂量影响钙的吸收和骨的矿化作用。在研究中, 寡果糖还明显地减轻了由卵巢切除引起的骨小梁结构的骨质疏松症。Lemort 等 (Lemort C. et al., Thesis, Univ. Cathol. Louvain (1998)) 报道在摄食中分别含 5%、10% 菊糖 (RAFTILINE® HP) 的大鼠中, BMD 增加的同时伴随了钙吸收的增加。

菊糖和寡果糖能影响饮食中的矿物质吸收, 且影响矿物质在骨组织中的吸收, 导致 BMD 增加, 这些发现对人体健康非常重要。体内钙的吸收, BMD 的增加及尽可能地防止、减缓或控制骨矿物质密度减少对于西方生活和饮食

方式的人群体是很重要的，因为随年龄增长，尤其是绝经后妇女会出现矿物质吸收、再吸收和排泄的不平衡。这种不平衡导致 BMD 减少和增加骨的脆性，其最显著的阶段即为骨质疏松。在后阶段，骨质疏松导致很高的骨裂发生率。因此，在儿童和青少年生长期，确保形成具有高 BMD 的骨骼成分是十分重要的。实际上，这种骨骼成分能较长久的阻碍由任何因素引起的去矿化作用，且可延迟甚至避免由于后期骨质疏松引起的骨裂。鉴于上述，减少成年人骨矿物质含量的丢失以防止或最大限度的推迟与骨质疏松有关的情况的出现，尤其是减缓绝经后导致骨质疏松的去矿化作用及最后的骨裂，就显得非常重要。

此外，最重要的是能治疗骨质疏松症，尤其是出现与骨质疏松有关的骨裂的病例。在必要时最好能刺激和增加矿物质吸收和骨结构的形成，例如在儿童、成人和老人出现意外骨裂的情况下。

有关增加大鼠中矿物质吸收的报道已引起全世界医学界的重视，为了增加或改进 BMD 和人体的骨结构，已进行了一些研究以考察从饮食中吸收钙和增加骨组织中钙的吸收。Ellegård 等 (Ellegård L. et al., Eur. J. Clin. Nutr., 51, 1-5 (1997)) 对进行过回肠吻合术的志愿者提供 15 克/天剂量的菊糖或寡果糖，测定了其矿物质平衡。发现摄入菊糖和寡果糖都不改变从小肠中排泄的矿物质，证实在小肠内，不出现菊糖和寡果糖引起对矿物质吸收的促进作用，而主要发生在大肠（也称为结肠）内。Coudray 等 (Coudray C. et al., Eur. J. Clin. Nutr., 51(6), 375-380, (1997)) 对健康的成人男性的研究（代谢平衡法）表明，每天饮食中加入 40 克菊糖能显著地增加钙吸收。Van den Heuvel 等 (Van den heuvel E. et al., Am. J. Clin. Nutr., 69, 544-548, (1999)) 对健康的男性青少年的研究（双稳定同位素法）发现，每天摄入 15 克寡果糖 (RAFTILOSE® P95) 钙吸收明显增加。

摄取寡果糖和菊糖产生的营养效果显然是它们在肠道中发酵的结果。但是，正如 Roberfroid 等 (Roberfroid M. et al., J. Nutr., 128(1), 11-19, (1998)) 报道的那样，菊糖的发酵速率比寡果糖慢得多。

此外，对人的粪浆的体外实验（未发表的结果）表明，当长链菊糖（即具有  $(\overline{DP}) \geq 20$ ）绝对不含寡果糖（即  $(DP) < 10$  的菊糖时），发酵几乎不发生。

上述观察表明，一方面菊糖尤其是长链菊糖改善了营养效果，另一方面发酵较难而且开始缓慢，这导致菊糖尤其是长链菊糖在大肠中的发酵率较低，很显然，这样的技术问题限制甚至阻止长链菊糖在人和哺乳动物中最大限度地产生营养效果。

此外，在迄今报道的大多数营养研究中，采用每天消耗寡果糖或菊糖的剂量相当大，即 15 克-40 克/天（在人的研究中）和饮食内补充 2.5-10%，甚至 20%（在大鼠研究中）。大鼠饮食中含 2.5-10%寡果糖或菊糖相对于人而言约 15-60 克/天的寡果糖或菊糖。这样高的每日用量对于作为营养目的而使用菊糖，面临更深的技术问题，因为已知这种相对高的剂量会对肠道引起副作用，如太多的肠胃气胀，太多的肠压力，肠绞痛和腹泻。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种新的菊糖产品和成分，与已知的菊糖产品相比，对人、哺乳动物和其它脊椎动物有改进的营养特性，无肠道副作用。

本发明的另一目的是提供一种新的菊糖产品和成分，用于调节人、哺乳动物和其它脊椎动物中的细菌菌群组成及调节该菊糖在上述生物中的发酵形式。

本发明的进一步目的是提供采用新的菊糖来制备产生改进营养效果的产品和成份，尤其是增加人、哺乳动物或其它脊椎动物中矿物质吸收的产品和成分。

在寻找改进的菊糖产品时，发明人惊喜地发现采用由难发酵的菊糖（如长链菊糖）组成的一种新菊糖产品尽管有上述副作用，仍然提供解决一个或多个已提及的和其它问题的途径。

根据本发明的一个实施例，本发明的菊糖产品由一种易发酵菊糖组分（简

称 EFI) 和一种难发酵菊糖组分 (简称 HFI) 的混合物组成, EFI/HFI 的重量比为 10/90-70/30。

EFI 意指直链及支链型菊糖产品, 它们在人和哺乳动物的大肠的邻近部分 (向上部分) 中完全或几乎完全发酵。典型的 EFI 是短链菊糖 (即具有  $(DP) < 10$  的菊糖) 和龙舌兰菊糖 (即典型的  $(\overline{DP})$  为 14-16 的支链菊糖)。

少量短链菊糖的  $(DP)$  最好是 2-7, 总数最好小于 5%, 小于 3% 更好, 菊糖的  $(DP) = 8$  和  $(DP) = 9$  (% 是总菊糖的百分比重量)。一种最好短链菊糖是由菊苣菊糖的酶水解获得的寡果糖。

HFI 意指直链及支链型菊糖产品, 它们在人和哺乳动物的大肠的邻近部分发酵很难发生, 在大肠的末端部分 (横向部分和/或向下部分) 发酵率低。典型的 HFI 是长链菊糖 (即具有  $(\overline{DP}) \geq 20$  的直链及支链菊糖), 一种特定结晶或一种特定物理表现形式的菊糖在人和哺乳动物的大肠邻近部分不易于发酵。

长链菊糖的  $(\overline{DP})$  至少为 23 较好, 至少为 25 更好, 甚至至少为 30 更好, 且  $(DP) = 9$  和  $(DP) = 10$  的菊糖含量最好少于 5%, 小于 3% 更好 (% 是相对总菊糖的百分比重量)。

一种最好的 HFI 是来源于菊苣的长链菊糖 (这里命名为长链菊苣菊糖), 其  $(\overline{DP}) \geq 20$ ,  $(\overline{DP}) \geq 23$  较好,  $(\overline{DP}) \geq 25$  更好; 另一最好的 HFI 是来源于细菌的菊糖。

在一个最佳实施例中, 本发明的菊糖产品由不含龙舌兰菊糖的 EFI 组分的混合物, 及由一种短链菊糖和长链菊糖的 HFI 组分组成, EFI/HFI 的重量比为 10/90-70/30, 具有  $(DP) = 9$  和  $(DP) = 10$  的菊糖总含量最大为 5%, 最大为 3% 较好, 最大为 2% 更好, 最大为 1% 最佳 (% 是相对总菊糖的百分比重量, 按照 De Leenheer 等 (De Leenheer L. et al., Starch/Stärke, 45, (5), 193-196, (1994) and Carbohydrates as Organic Raw Materials, Ed. H. Van Bekkum et al. For CRF, Wageningen, The Netherlands, Vol. III, 67-74, (1996)) 的气液色谱法测定。

在另一个最佳实施例中，本发明的菊糖产品是龙舌兰菊糖的 EFI 组份的混合物。天然龙舌兰菊糖最好具有的 ( $\overline{DP}$ ) 范围为 14-17，或具有支链的龙舌兰菊糖和一种 HFI 组份的混合物，其中 HFI 为长链菊糖，EFI/HFI 重量比范围为 10/90-70/30，(DP) =9 和 (DP) =10 在菊糖中的含量最大为 5%，最大为 3%较好，最大为 2%更好，最大为 1%最佳 (%是相对总菊糖的百分比重量，按照 De Leenheer 等 (De Leenheer L. et al., Starch/Stärke, 45, (5), 193-196, (1994) and Carbohydrates as Organic Raw Materials, Ed. H. Van Bekkum et al. For CRF, Wageningen, The Netherlands, Vol. III, 67-74, (1996)) 的气液色谱法测定。

在根据本发明的一种最好的菊糖产品中，EFI/HFI 的重量比较好为 20/80-65/35，35/65-65/35 更好，甚至 40/60-45/55 更好，典型的约 50/50。

在一个更好的实施例中，本发明的菊糖产品由作为 EFI 组分的寡果糖和作为 HFI 组分的长链菊糖的混合物组成，EFI/HFI 的重量比为 10/90-70/30，具有 (DP) =9 和 (DP) =10 的菊糖总含量最大为 5%，最大为 3%较好，最大为 2%更好，最大为 1%最佳 (%是总菊糖的百分比重量，采用气液色谱法测定)。在一个最佳实施例中，菊糖产品的 EFI/HFI 重量比为 35/65-65/35，40/60-45/55 最佳。

根据本发明的另一最佳实施例，本发明的菊糖产品是工业级菊糖产品，意指菊糖产品由工业级短链菊糖或龙舌兰或作为 EFI 组分的任何混合物和作为 HFI 组分的工业级长链菊糖的任何混合物组成，EFI/HFI 的重量比为 10/90-70/30，35/65-65/35 更好，40/60-45/55 最佳，具有 (DP) =9 和 (DP) =10 的菊糖总含量最大为 5%，最大为 3%较好，最大为 2%更好，最大为 1%最佳 (%是总菊糖的百分比重量，采用气液色谱法测定)。

在根据本发明的工业级菊糖产品中，EFI (短链菊糖) 组分/HFI (长链菊糖) 组分的重量比是在各自组分中存在的有效短链菊糖和有效长链菊糖的基础上确定的，不考虑可能存在的葡萄糖、果糖和蔗糖的量。本发明的工业级菊糖产品的有效量与在 EFI 和 HFI 组分中存在的有效短链菊糖和有效长链

菊糖的总量相符。

在根据本发明的工业级菊糖产品中，工业级寡果糖可用作 EFI 组分，葡萄糖、果糖和蔗糖（%即寡果糖产品中总碳水化合物的百分比重量）总含量最大 20%，最大 15%较好，最大 10%更好，甚至最大 8%更好，最大 5%最佳。

在根据本发明的另一最好的工业级菊糖产品中，寡果糖组分由通式  $F_m$  的大于 43%菊糖型分子组成，F 表示果糖基单元，m 是聚合度，范围为 2-9，最好是 2-7。

根据本发明，适合作为工业级菊糖产品的 EFI 组分的典型的工业级寡果糖是 RAFTILOSE® L85，RAFTILOSE® L95 和 RAFTILOSE® P95，所有的寡果糖级均由菊苣菊糖通过酶水解得到的。用已知方法，如根据美国专利 5,314,810，由蔗糖体外酶合成可得到合适的工业级寡果糖。一种合适的工业级龙舌兰菊糖是 GAVEDIET® PR.

具有  $(\overline{DP}) \geq 20$  的工业级长链菊糖适合作为本发明的工业级菊糖产品的 HFI 组分，其含有的菊糖分子具有 (DP) 为 10-20，直到约 45%（%是占总碳水化合物的百分比重量）。可能存在的菊糖分子（具有 (DP) < 10）是作为部分 EFI 组分计算的。在工业级长链菊糖中，葡萄糖、果糖和蔗糖的含量通常很低，典型的小于约 2%（%是占总碳水化合物的百分比重量）。

一种适合于作为 HFI 组分的典型的工业级菊糖具有  $(\overline{DP}) \geq 20$  的长链菊苣菊糖， $(\overline{DP}) \geq 23$  最好，如 RAFTILONE® HP。

与已知的菊糖产品，如寡果糖、中链菊糖和长链菊糖比较，本发明的菊糖显著地改进营养特性及其口服或肠内摄入会对人、哺乳动物和其它脊椎动物有明显改进的营养效果的益处。另外，口服或肠内摄入本发明的菊糖产品，日剂量比已知的菊糖产品所需的日剂量低，如可能完全能产生这种营养效果。

哺乳动物是狗、猫、马、兔子、猪、小猪和小牛。

本发明的菊糖产品有可能迅速和显著地改变和调节，在人、哺乳动物和

其它脊椎动物的大肠邻近部分及末端部分中细菌菌群的组成，这些生物或许是健康的、失去功能的或患病的。

失去功能的人，哺乳动物和其它脊椎动物意指在非患病的生物中，身体功能不是最适状态，他们可能导致疾病发展的危险性高或会导致以后疾病的发展。

发明人不受以下推测的约束，假定本发明的菊糖产品的营养效果的改进是由于在明确的重量比中存在 EFI 组分和 HFI 组分，以致在菊糖产品中特定量的易发酵菊糖选择性地刺激人、哺乳动物和其它脊椎动物的大肠邻近部分中的双歧杆菌和其它有益菌的生长和代谢作用，从而将现有的细菌菌群改变和调节成由更多有益细菌和更少不良细菌组成的菌群成分。这些活性细菌与特定量、未改变的难发酵菊糖一起从大肠的邻近部分进入末端部分。在到达末端部分时，在消耗 EFI 的压力下（被大肠邻近部分中的细菌消耗），活性细菌激发 HFI，在大肠的末端部分（横向及向下部分）中迅速地和完全地发酵。本发明的菊糖产品一方面提供 HFI 组分，它能几乎未改变地到达大肠的末端部分，在那里其发酵是最有益的；另一方面本发明的菊糖产品通过其 EFI 组分确保 HFI 在大肠的末端部分中容易被激活细菌开始发酵，以至于进展到发酵完全。从而提供了一种或多种改进的与菊糖相关的营养效果/益处。本发明的菊糖产品有可能改变和/或调节菊糖在大肠，尤其是在人、哺乳动物和其它脊椎动物的大肠末端部分中的发酵形式。

在进一步的实施例中，本发明涉及制备菊糖产品的方法，包括以上述限定的重量比混合的 EFI 组分和 HFI 组分。混合可采用常规技术进行，例如组分的干燥混合或组分的湿混合，可以选择通过常规技术（如喷雾干燥）分离已形成的菊糖产品（干燥形式）。湿混合技术包括：(1) 溶解混合的组分，分散或悬浮于液体中，接下来选择采用已知技术（如喷雾干燥）分离已形成的菊糖产品；(2) 将干燥形式（最好是粉末形式），纯的形式或溶液、分散液或液体中的悬浮液的一个组分混合到纯的形式、溶液、分散液或液体中的悬浮液的另一个组分内，液体最好相同，继之以采用已知技术如喷雾干燥分离形



成的菊糖产品；(3) 分别制备一种溶液，将各组分分散或悬浮于液体中，接着混合，并通过共干燥技术，尤其是共喷雾干燥分离形成的菊糖产品；(4) 通过用水（液相或蒸气相）润湿以聚集所述的组分（粉末形式）的干燥混合物，接着在热空气的存在下（典型的是在一个聚集室）中干燥湿的混合物，然后冷却和分离已形成的颗粒。颗粒可以过筛以分离具有所需的颗粒大小的菊糖产品，而超过所需大小的颗粒可以回收。

本发明的菊糖产品最好对具有特定重量比的二个组份共干燥、共喷雾干燥或，在喷雾干燥阶段，第一个组分在干燥室中热空气存在下，以所需的重量比与颗粒形式的第二个组分接触，从而形成共干燥的颗粒或聚集物。可用常规技术分离已形成的颗粒或聚集物。

为了生产可接受的微生物质量的菊糖产品，包含喷雾干燥步骤的混合工艺可选择性地应用常规的超高温处理步骤。

用于制备菊糖产品的液体最好不引起组分的水解；否则将达不到所需的组分的重量比。水是最稳定的液体，它是短链菊糖和龙舌兰菊糖及长链菊糖的良好的溶剂（至少在温度约 80°C 以上）。

湿混合工艺条件即，包括液体种类、溶液的 PH、分散或悬浮、温度和停留时间（即组分和/或形成的菊糖产品在所述条件中的停留时间）等工艺参数，应当合适，这意味着不或至少不使组分或形成的菊糖产品发生水解或降解。

在与成分有关的另一实施例中，本发明涉及有效量的菊糖产品，和其中含一个或多个食用或药学上可接受的组分。典型的成分包括食品、饲料、饮料、功能性食品、功能性饲料、药物和药剂（包括预防成分和治疗成分）及中间体。

功能性食品或饲料意指那些由于含有某些成分（食品或饲料），而比传统营养物更能使健康受益的食品或饲料（根据 1994 年美国科学院医学研究所的定义）。

食用或药学上可接受的组分最好从下列物质中选择：糖（如葡萄糖、果

糖、蔗糖、乳糖、半乳糖、麦芽糖、6-果糖- $\alpha$ -葡糖苷)、多元醇(如山梨醇、乳糖醇、麦芽糖醇、异麦芽、甘露醇、木糖醇)、麦芽糊精、甜味剂、氢化的葡萄糖浆、食品或饲料添加剂、食品或饲料成分、食品或饲料中间体、食品或饲料产品、液体、饮料、矿物质原料,尤其是钙、镁、铁原料,药学上可接受的赋形剂、有治疗作用的物质。

有效量意指当口服或肠道摄取时(最好有规律地每日摄取),在人、哺乳动物和其它脊椎动物中有改进营养效果/益处的菊糖产品的量。

根据本发明,本发明的菊糖产品的一个显著优点和最佳混合物包括在食用或药学上可接受的、一个或多个矿物质的生物利用源,尤其是钙和/或镁和/或铁源,如奶制品和盐类及钙、镁和铁的复合物。

在矿物质源中一种矿物质的生物利用量,即在日剂量混合物中存在的矿物质相当于推荐的日剂量(RDI值)的矿物用量。但是该混合物比推荐的日剂量含或多或少可生物利用的矿物质。

根据本发明的混合物可采用常规技术制备,例如用至少一种食用或药学上可接受的组分,以特定重量比混合EFI组分和HFI组分,再采用常规技术可以获得所需形状的混合物。本发明的混合物可表现为固体、半固体(如奶油、凝胶、液体、分散剂、悬浮液或乳剂)。例如混合物可表现为多种形式的食品、饲料、饮料、功能性食品和功能性的饲料,如面包、小甜饼和饼干、干酪和其它奶制品、巧克力、果酱、布丁和其它含乳点心、可涂抹的产品、冷冻点心和冰淇淋;药剂和药物形式如粉末、聚集体、粒状、片剂、涂层片剂、锭剂、胶囊、饮料、糖浆,用于饲管、肠道摄取、口服给药和肠道给药混合物。

此外,本发明的菊糖产品和混合物可呈一种消费品形式,其形状和/或包装,可以使消费者能直接使用,例如呈片状、颗粒状或粉状,最好以单位剂量包装。

在另一方面,本发明涉及菊糖产品或混合物用作食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂、药物或中间体。

在另一方面，本发明涉及菊糖产品或组成成份的用途，通过最好以日剂量口服和/或肠道摄取或给药，能改变和调节大肠中的细菌菌群组成，尤其是在大肠的末端，和/或改变和调节菊糖在人、哺乳动物和其它脊椎动物中的发酵方式，并为其提供一种或多种改进的与菊糖相关的营养效果/益处，而这些人、哺乳动物和其它脊椎动物可能是健康的、失去功能的或患病的。

在另一实施例中，本发明涉及菊糖产品和组份用于生产食品、饲料、饮料、消费品、功能性食品、功能性饲料、药剂、药物或中间体，尤其是用于在大肠和大肠的末端部分改变和调节细菌菌群组成；改变和调节菊糖的发酵方式，及为健康的、失去功能的或患病的人、哺乳动物和其它脊椎动物提供一种或多种改进的、与菊糖相关的营养效果/益处。

改进的与菊糖相关的营养效果/益处包括膳食纤维效果，尤其是在结肠中，特别地是在结肠的末端部分，包括产生有益的代谢物，如短链脂肪酸和产生细菌生物量，降低结肠的 PH，前生物作用和/或益生作用，尤其是在大肠的末端部分，包括增加双歧杆菌的数量，同时减少不需要的菌和/或病原菌，有利于防止和治疗肠功能紊乱、肠失去功能和肠道疾病。

另外，改进的营养效果/益处还包括调节脂代谢，刺激免疫系统，减少癌症发生率，及对癌症的预防和治疗效果，尤其是乳腺癌和结肠癌。

进一步的效果/益处包括改进矿物质在体内的吸收，尤其是钙和镁的吸收，从而可以改进健康的、失去功能的或患病的人、哺乳动物和其它脊椎动物中的骨矿物质密度和骨结构，有可能预防、延迟、阻止或显著地减少人，尤其是绝经后的妇女，胃切除的人、老人、患病的人，尤其是骨质疏松症患者中的去矿化过程和骨质疏松。

此外，所述的效果/益处还能使发育中的儿童、青少年、哺乳动物和其它脊椎动物骨架，更具刚性，并增加人体中的最大骨量，从而防止或推迟在生命后期，尤其是绝经后的妇女发生骨去矿化和骨质疏松症。

此外，发明人惊奇地发现在本发明的菊糖产品中存在的 EFI 量对肠道菌群有明显的激活作用，在所述的产品中存在的 HFI 量在大肠末端部分中很容

易并完全地发酵。这使得与已知菊糖产品相比较，本发明的菊糖产品用较低日剂量就能得到相似的营养效果/益处。

在成人日剂量仅用约 4 克本发明的菊糖产品已获得改善的营养效果/益处，例如改进矿物质吸收，或菊糖产品本身（还包括工业级菊糖产品）或在一种组份中（克是本发明的有效菊糖产品的克）。

本发明的有效菊糖产品的日剂量，适于在成人中产生改善的营养效果/益处，较好范围为约 4-12 克（相当于约 50-150 毫克/天/公斤体重），更好是约 6-10 克，典型的是约 8 克，对婴儿和儿童日剂量范围最好约 40-400 毫克/天/公斤体重。小剂量的菊糖产品对人产生额外的益处，因为与产生相似效果/益处所需的颇大量的已知菊糖产品（约 15-40 克/天）比较，使得人对菊糖吸收感觉更舒适。此外，由于每天服小量的菊糖，人体不会发生肠道副作用，而这些副作用常与摄取大量菊糖有关，例如气胀、肠压力、发胀、肠痉挛和/或腹泻。

虽然已清楚地披露了本发明的菊糖产品对人和哺乳动物有改进的营养效果/益处，但应注意到口服和/或肠道吸收本发明的菊糖产品，也产生一种或多种改进的营养效果/益处。对其它脊椎动物而言，尽管它们与人和哺乳动物相比可能有不同的消化系统，所述的脊椎动物包括鱼（如鲑鱼、大菱鲆）；两栖动物；爬行动物；鸟类（如鸵鸟）和家禽，尤其是小鸡和火鸡。

以下举例进一步说明本发明：

### 附图说明

图 1 表示根据本发明菊糖产品的 dionex 色谱，其由 EFI（具有（DP）为 2-7 的寡果糖）和 HFI（具有（ $\overline{DP}$ ）约为 25 的菊苣）的混合物组成（重量比为 45/55）。

### 具体实施方式

实施例 1 通过与寡果糖和长链菊糖比较，用大鼠作研究，评定摄取

## 本发明的菊糖产品对钙吸收的影响

在 4 组 Wistar 雄鼠（每组 9 只或 10 只鼠，6 周龄，体重 160-180 克）中测定了钙吸收。

第 1 组：对照组，接受标准的半合成食品的饮食，符合美国营养研究所提供 AIN 1976 推荐的矿物质含量；

第 2 组：接受含工业级寡果糖（(DP) 为 2-7）的标准半合成食品；

第 3 组：接受含工业级长链菊苣菊糖（( $\overline{DP}$ ) 约为 25 的标准半合成食品；

第 4 组：接受含本发明的菊糖产品的标准半合成食品，由工业级寡糖（(DP) 为 2-7）和工业级长链菊苣菊糖（( $\overline{DP}$ ) 约为 25）组成，有效 EFI/有效 HFI 的重量比为 45/55，由共喷雾干燥制备，对应于图 1 的产品。

大鼠在 3 周内逐渐适应饮食后，在第 4 周将大鼠饲养在代谢笼内，接受含 10%（重量百分比）试验的寡果糖或菊糖（每天 100 克食品+100 克水）的饮食。监测食品摄取量，在第 4 周的最后 4 天收集粪和尿以测定钙的吸收。采用原子吸收光谱法测定尿样中的钙。食物样品和冷却干燥及磨碎的粪样品于 500°C 熔烧，将灰分溶解于硝酸/过氧化氢中，用 milli-Q 水稀释后，采用原子吸收光谱法测定钙。

用下列公式计算消化性吸收：

日消化性吸收=口服量-经粪便排泄的量；

%消化性吸收=100×[(口服量-经粪便排泄的量)/口服量]

结果列于表 1

表 1 的数据表明，与对照组比较，现观察到在所有 4 组中尿排泄钙没有差别，在所有测试组中钙吸收增加了，但发现与对照组比较，第 4 组钙的吸收仅增加了约 20%。

表1 口服摄取寡糖或菊糖对大鼠肠道吸收钙的影响

消化性钙吸收 (%)				
	第1组** (对照组)	第2组** (寡果糖)	第3组** (长链菊糖)	第4组 (本发明菊糖)
M±SD*	47.9±5.5	52.7±6.0	54.1±5.6	58.1±7.4
最小-最大	39.1-55.9	44.0-63.1	45.0-61.3	50.1-61.2

\* 指值±标准误差; \*\* 比较的

### 实施例2 通过与寡果糖比较, 评定摄取本发明的菊糖产品对青年期女孩的钙吸收的影响

在青年期健康女孩(年龄 11-14 岁, 平均体重 44 公斤)中测定了钙的吸收。在所有的例子中得到了伦理学上的认可和征得了试验人的同意。被选出的研究对象通常的钙吸收为 500-1400 毫克/天。如果她们有慢性胃肠道疾病、肾衰竭、或钙体内平衡失调, 如果她们服用处方药, 吸烟、服避孕丸或重量大于年龄的 90<sup>th</sup> 百分位则从研究中排除。

采用随机化、双盲、交叉设计来研究这些对象。将对象随机地分别放在二组内, 每天接受 2 盒含 4 克寡果糖或本发明的菊糖产品的饮食, 连续 4 周, 及每天接受 2 盒含 4 克安慰剂的饮食, 连续 3 周。这些研究被二周冲刷期区别开来。接受果糖或本发明的菊糖和安慰剂的对象处于随机顺序, 研究者对治疗规定是盲目的。

两种相同的方案同时进行。第 1 方案 (n=30) 中, 试验品是工业级寡果糖 (具 (DP) 为 2-7)。在第 2 方案 (n=29) 中, 试验品是本发明的菊糖产品, 由具 ( $\overline{DP}$ ) 为 2-7 的工业级寡糖和具 ( $\overline{DP}$ ) 约为 25 的工业级长链菊苣菊糖的混合物组成, 重量比为 45/55 (总的有效短链菊糖和有效长链菊糖含量的百分比), 由共喷雾干燥制备, 对应于图 1 的产品。

在两种方案中, 安慰剂寡果糖/菊糖以相同的包装及方式提供。在每 3 周适应期 (至 8 克/天) 结束时, 采用以前生效的双示踪物稳定同位素技术测定钙吸收。以外, 从对象中收集原始尿样。对象使用低钙早餐, 一杯钙增强的橙汁, 添加 4 克一盒的寡果糖、菊糖或安慰剂和 10 微克 <sup>46</sup> 钙。在早餐

后立即静脉输注 1.5 毫克 <sup>42</sup> 钙，2-3 分钟以上。午餐约含 400 毫克钙或钙增强的橙汁、牛奶或酸牛奶。晚餐含钙增强的橙汁、10 微克 <sup>46</sup> 钙和 4 克一盒的寡果糖、菊糖或安慰剂。在 8 周研究期间，对象每天约消耗 1300 毫克钙。在给予同位素后立刻开始收集 48 小时尿。通过口服和静脉输注后，同位素在 48 小时尿内累积的分级排泄量的比率来测定钙的吸收。采用草酸盐沉淀法纯化样品和采用热电离磁扇形质谱法测定同位素比率。采用草酸盐沉淀法纯化样品和采用计算打开和未打开的盒来估计柔顺性，假设是未打开的盒没有计算在内。寡果糖和本发明的柔顺性是很好的，如表 2 的数据所示。

表 2 柔顺性

柔顺性	寡果糖**	本发明菊糖
平均±SD*	95%±7	94%±12

\* 平均值±标准误差；\*\* 比较的

钙测定的结果列于表 3。

表 3 青年期健康女孩中的钙吸收

方案 碳水化合物	钙吸收 % (平均±SD) *	P-值 与安慰剂 (蔗糖) 比较
方案 I 蔗糖** 寡果糖**	30.9±10.0 31.8±9.3	0.75
方案 II 蔗糖** 本发明菊糖	32.3±9.8 38.2±9.8	0.007

\* 平均值±标准误差；\*\* 比较的

表 3 中的结果表明，在用蔗糖（安慰剂）的第 1 方案和第 2 方案中钙吸收无明显差异（P=0.89），寡果糖不明显地改变钙吸收。但用本发明的菊糖与安慰剂比较，钙吸收有明显的增加；与寡果糖比较，即从 31.8%至 38.2%，钙吸收相对增加 20%。

此外，尿中钙的排泄的研究表明，如表 4 中的数据所示，在任何研究组中尿中钙的排泄量无明显差异。

从以上实验可断定，以目前推荐的钙摄入量（青年期女孩约 1300 毫克/天），摄取本发明的菊糖小于 8 克/天，明显增加钙吸收，而尿钙排泄无额外的增加。在同样实验条件下，相同对象每天摄取 8 克寡果糖，钙吸收无明显增加。

表 4 青年期健康女孩中的尿钙排泄

方案 碳水化合物	尿钙排泄 毫克/天（平均±SD）*	P-值 与安慰剂（蔗糖）比较
方案 I 蔗糖** 寡果糖**	71±48 79±50	0.75
方案 II 蔗糖** 本发明菊糖	65±54 71±50	0.57

\* 平均值±标准误差；\*\* 比较的

### 实施例 3 通过与寡果糖比较，评定大鼠研究中摄取本发明的菊糖产品对镁吸收的影响

在 Wistar 雄鼠（每组 9 只或 10 只大鼠，6 周龄，体重 160-180 克）中测定镁吸收。

第 1 组：对照组，接受标准的半合成食品的饮食，符合美国营养研究所根据 AIN 1976 推荐的矿物质含量；

第 2 组：接受含工业级寡果糖（(DP) 为 2-7）的标准半合成食品；

第 3 组：接受含本发明的菊糖产品的标准半合成食品，由工业级寡糖（(DP) 为 2-7）和工业级长链菊苣菊糖（(DP) 约为 25）组成，有效短链菊糖/有效长链菊糖的重量比为 45/55，由共喷雾干燥制备，对应于图 1 的产品。

在逐渐适应饮食 3 周后，在第 4 周将大鼠饲养在代谢笼内，接受含 10%（重量百分率）试验的寡果糖或菊糖（每天 100 克食品+100 克水）的饮食。监测食品吸收，在第 4 周的最后 4 天收集粪和尿，以测定镁的消化性吸收。



采用原子吸收光谱法测定尿、粪的饲料样中的镁。消化性镁吸收的计算如实施例 1 所示。

结果列于表 5

表 5 口服摄取寡果糖或菊糖对大鼠中肠吸收镁的影响

消化性镁吸收 (%)			
	第 1 组** (对照组)	第 2 组** (寡果糖)	第 3 组 (本发明菊糖)
平均±SD*	48.8±5.3	71.3±4.5	76.7±6.7
最小-最大	39.3-57.0	65.0-78.6	67.6-90.4

\* 平均值±标准误差；\*\* 比较的

表 5 的数据表明，与对照组比较，在第 2 组和第 3 组中镁吸收在统计学上有明显增加，尤其是在第 3 组中镁吸收相对增加约 57%，表明本发明的菊糖比寡果糖对增强钙的吸收更明显。

#### 实施例 4 通过与寡果糖和长链菊糖比较，评定摄取本发明的菊糖对大鼠中脂代谢的影响

在 Zucker 雄鼠中测定了寡果糖和菊糖对脂代谢的影响。具有勒伯茄碱 (leptine) 受体突变的 Zucker 大鼠迅速产生脂肪组织而不是瘦肉组织，进一步特征性呈现高甘油三脂血症，耐胰岛素和脂肪肝变性。

在该研究中包括下列各组大鼠（每组 7 只大鼠，5 周龄）：

第 1 组：对照组，接受标准饲料的饮食；

第 2 组：接受含寡果糖 ((DP) 为 2-7) 的标准饲料的饮食；

第 3 组：接受含长链菊苣菊糖 (( $\overline{DP}$ ) 约为 25) 的标准饲料的饮食；

第 4 组：接受含本发明的菊糖的标准饲料的饮食，由寡果糖 ((DP) 为 2-7) 和长链菊苣菊糖 (( $\overline{DP}$ ) 约为 25) 组成，有效短链菊糖/有效长链菊糖的重量比为 45/55。

在适应饮食（对照组饮食或分别含 5%（重量百分比）的寡果糖、长链菊糖或本发明的菊糖）一周后，将接受含 10%试验品的饮食的大鼠致死，然

后按照标准技术测定脂肪组织重量、肝重量、肝甘油三脂的浓度和脂肪酸合酶在肝内的活性。

结果列于表 6。

表 6 寡果糖或菊糖对 Zucker 大鼠中的生物统计和生化参数的影响

组	脂肪组织重量 (克) *	肝重量 (克) *	肝甘油三脂 (毫克/克肝) *	肝脂肪酸合酶 (毫克单位/毫克蛋白质) *
1 (对照组)	5.94 ± 0.23	18.32 ± 0.40	452.44 ± 72.05	32.31 ± 1.88
2 (寡果糖) **	5.70 ± 0.23	17.28 ± 0.67	414.97 ± 50.12	22.4 ± 2.6
3 (长链菊糖) **	6.06 ± 0.28	18.17 ± 1.32	500.66 ± 62.68	25.3 ± 2.6
4 (本发明的菊糖)	4.99 ± 0.19	14.83 ± 0.60	286.64 ± 47.73	13.7 ± 0.52

\* 平均值 ± 标准误差; \*\* 比较的

表 6 的数据清楚地表明, 与寡果糖和长链菊糖比较, 本发明的菊糖对脂代谢的影响最明显。

#### 实施例 5 本发明的菊糖对大鼠结肠中氧化偶氮甲烷 (AOM) 诱发致癌作用的影响的评价

已知致癌作用是一个复杂的多级过程, 一般存在三个阶段, 称为起始、促进和进行性。起始的定义是正常细胞受到致癌 (如某些化学品) 的影响, 导致促进细胞选择性生长的基因组水平的改变。促进阶段包括起始细胞的克隆表达, 通常与改变细胞形态和/或表型的变化有关。进行性阶段包括遗传型和表型的变化, 与恶性肿瘤和转移瘤有关。

异常隐窝病灶 (ACF) 是公认的, 能在结肠中产生腺瘤和癌的前体损害。抑制 ACF 形成能减少实验室动物中结肠瘤的发生率 (Wargovich M. et al., *Cancer Epidemiol., Biomarkers, Prev.*, 5(5), 355-360, (1996))。

根据这些发现, 动物模型中的 ACF 引入可用来评价对结肠癌有预防和治疗作用的化合物。

在实施例 5 叙述的实验中, 与已知的菊糖品比较已评价了本发明的菊糖产品对 AOM 诱发大鼠中 ACF 形成的影响。实验进行如下:

动物包括刚断奶的雄鼠 Fisher 344, 适应对照饮食一周后, 将鼠分成几

个组，根据 AIN93GT 指定对照食物或实验性食物作为对照食物，但在消耗的玉米粉中含评价的产品（10，重量百分比）。无限制提供饲料和水。记录周体重和每日饲料摄取量。在指定饮食二周后，所有 7 周龄和 8 周龄动物接受皮下注射 AOM（Sigma, St. Louis Mo, USA），含盐水，16 毫克/公斤体重。在饲养期结束后（在最后一次 AOM 注射后的第 8 周），用 CO<sub>2</sub> 安死术将动物致死。除去结肠，用磷酸钾缓冲液冲洗，然后用 10% 甲醛液固定过夜。将结肠切成等长度的邻近和末端部分，再切成 2 公分长的切片。用 0.5% 亚甲蓝染色后，在光显微镜下检查切片，记录 ACF 或肿瘤，ACF 总数及每病灶中的隐窝数。

采用 SAS 统计程序分析数据，采用 Tukey's 概率分布范围试验区分平均数。

饮食的组成（克/公斤）列于表 7。

表 7 实验中采用的饮食组成

动物组	改良的对照饮食（克/公斤）		
	玉米粉	菊糖产品 <sup>#</sup>	菊糖型产品 <sup>##</sup>
第 1 组*（对照组）	397.5（=对照饮食）	0.0	--
第 2 组*	297.5	100.0	RAFTILINE® HP
第 3 组*	297.5	100.0	RAFTILINE® ST
第 4 组*	297.5	100.0	Raftilose® P95
第 5 组*	297.5	100.0	本发明的菊糖产品

\* 比较试验

\*\* 对照饮食（克/公斤）：玉米淀粉（397.5），菊糖产品（0.0），干酪（85% 蛋白质），糊化的玉米淀粉（90-94% 四糖）（132），菊糖（100），豆油（不是添加剂）（70），纤维（FS&D 公司的 Solka-Floc®，200FCC，St. Louis，MO，USA 或同等物）（50），矿物质混合物（AIN 93G-MX）（35），维生素混合物（AIN-93VX）（10），L-胱氨酸（3），酒石酸胆碱（41.1% 胆碱）（2.5）。

# 从 O AFTI®（比利时）得到的产品：AFTILIN®（具有（ $\overline{DP}$ ）约为 25 的长链菊苣菊糖），AFTILIN® ST（具有（ $\overline{DP}$ ）约为 12 的标准

级菊苣菊糖), RAFTILOSE® P95 (具 (DP) 约为 2-7 的工业级寡果糖), 本发明的菊糖产品: 由 (DP) 为 2-7 的工业级寡果糖和 ( $\overline{DP}$ ) 约为 25 的工业级长链菊苣菊糖组成, 有效短链菊糖/有效长链菊糖的重量比为 45/55, 由共喷雾干燥制备, 与图 1 的产品相符。

结果:

在喂饲对照饮食和实验性饮食的大鼠之间, 在体重增加和平均每天饲料摄取中未发现有明显的差异。未接受 AOM 但接受盐水的大鼠小组 (对照组) 和喂饲对照饮食表明, 结肠内没有 ACF 形成的迹象, 有关大鼠结肠中 AOM 诱发 ACF 形成的结果列于表 8。

表 8 菊糖对大鼠结肠中 AOM 诱发 ACF 形成的影响

组	动物数	邻近部分的 ACF	末端部分的 ACF	总 ACF
第 1 组 (对照组) *	12	39.92±0.82 <sup>a</sup>	114.17±1.57 <sup>a</sup>	155.42±1.64 <sup>a</sup>
第 2 组 (RAFTILINE® HP) *	10	13.30±1.45 <sup>c</sup>	70.20±1.18 <sup>c</sup>	83.50±1.67 <sup>c</sup>
第 3 组 (RAFTILINE® ST)	10	14.20±0.57 <sup>c</sup>	93.90±1.75 <sup>b</sup>	109.50±2.15 <sup>b</sup>
第 4 组 (RAFTILOSE® P95)	10	24.80±1.32 <sup>b</sup>	92.10±1.35 <sup>b</sup>	116.90±1.24 <sup>b</sup>
第 5 组 (本发明的菊糖)	12	14.90±0.94 <sup>c</sup>	63.00±2.05 <sup>d</sup>	75.90±1.54 <sup>d</sup>

abcd: 采用 Tukey's 概率分布范围试验, 在不同符号的栏内平均±SEM 有明显差异 (P<0.05)。

\* 比较试验

从表 8 中可见, 在大鼠结肠的邻近部分和末端部分 AOM 诱发 ACF 形成, 但在末端部分明显。

从表 8 中进一步可见, 各种菊糖产品 (包括 RAFTILINE® HP、RAFTILINE® ST、RAFTILOSE® P95) 减少了 AOM 在大鼠结肠的邻近部分和末端部分诱发 ACF 形成, 但本发明的菊糖最好; 如表 9 所示, 所述的减少率以与对照组比较的百分比表示。

表9 含菊糖的饮食对大鼠结肠中 ACF 诱发的减少率

组	含菊糖的饮食对大鼠结肠中 AOM 诱发 ACF 的减少率 (与对照比较的%)		
	邻近部分	末端部分	总数
第1组(对照组)*	--	--	--
第2组(RAFTILINE® HP)*	66.7	38.5	46.3
第3组(RAFTILINE® ST)*	64.4	17.8	29.5
第4组(RAFTILOSE® P95)*	37.9	19.3	24.8
第5组(本发明的菊糖)	62.7	44.8	51.2

## \* 比较试验

从这些结果中明显可见，本发明的菊糖产品比短链菊糖、标准级菊苣菊糖和长链菊苣菊糖更能抑制大鼠结肠中 AOM 诱发 ACF 形成。

因此，本发明的菊糖被认为对预防和减少癌症发生率及对治疗癌症，尤其是人、哺乳动物和其它脊椎动物的结肠癌比短链菊糖、标准级菊糖和长链菊糖具有更好的效果。

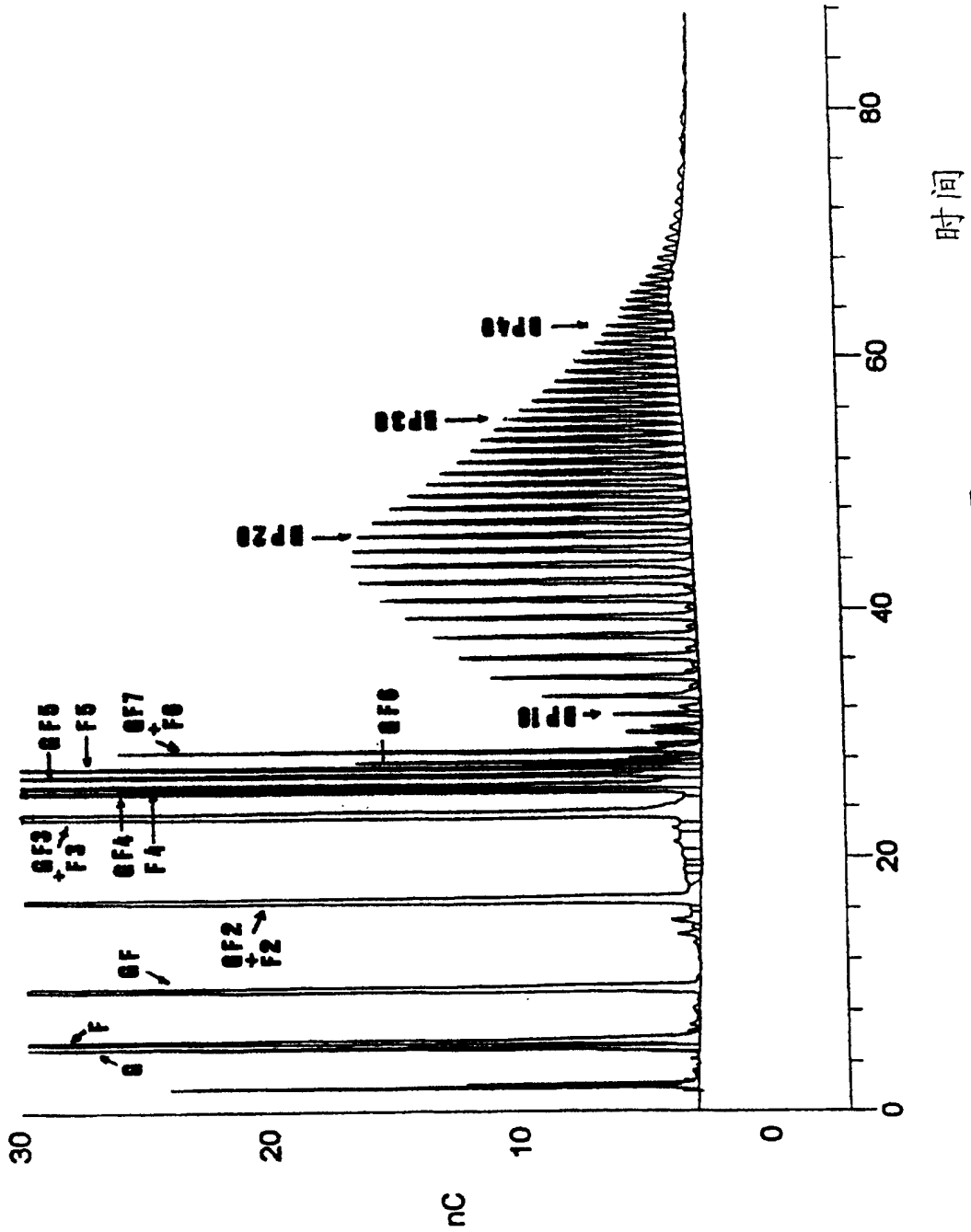


图1