



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0047776

(51)<sup>2021.01</sup> A23C 9/152; A23L 33/135; C12N 1/20; (13) B  
A23L 33/125

---

(21) 1-2022-05206

(22) 19/01/2021

(86) PCT/JP2021/001603 19/01/2021

(87) WO 2021/149663 A1 29/07/2021

(30) 2020-007101 20/01/2020 JP

(45) 25/06/2025 447

(43) 27/01/2023 418A

(73) MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD. (JP)

33-1, Shiba 5-chome, Minato-ku, Tokyo 108-8384 Japan

(72) Sakiko HARA (JP); Toshitaka ODAMAKI (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

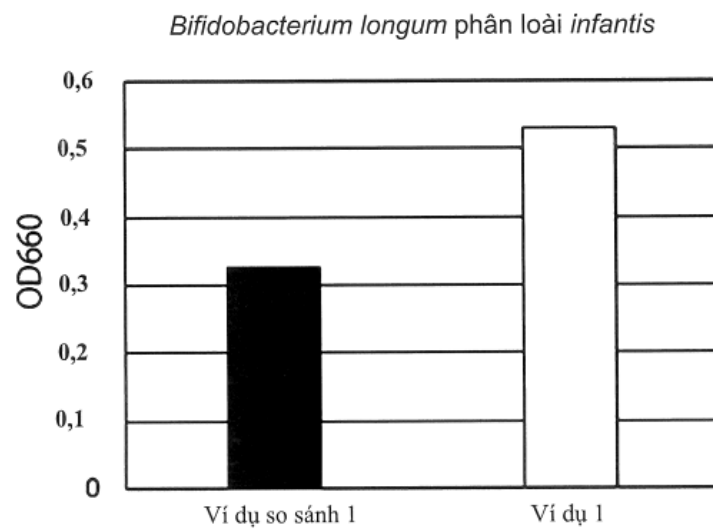
---

(54) CHẾ PHẨM BAO GỒM HỖN HỢP OLIGOSACARIT SỮA NGƯỜI

(21) 1-2022-05206

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm có thể thúc đẩy sự phát triển của chủng vi khuẩn *Bifidobacterium* mà có thể là vi khuẩn tốt. Chế phẩm này chứa hỗn hợp oligosacarit sữa người chứa lacto-N-neotetraoza, lacto-N-tetraoza, 2'-fucosyllactoza, 3'-sialyllactoza, 6'-sialyllactoza và *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*.

FIG. 1



**Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

[0001]

Sáng chế đề cập đến chế phẩm.

**Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

[0002]

Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu về lợi khuẩn nhằm mục đích ngăn chặn sự khởi phát bệnh hoặc tăng cường sức khỏe bằng cách chủ động uống các vi khuẩn ảnh hưởng tích cực đến động vật (còn được gọi là “các vi khuẩn tốt” dưới đây) và điều hòa môi trường ruột và nghiên cứu về thức ăn cho lợi khuẩn (prebiotic) như các thành phần giúp cho sự phát triển của các vi khuẩn tốt đã được thực hiện. Trong khi lợi khuẩn để chỉ các vi khuẩn hoạt động có lợi trong ruột, thức ăn cho lợi khuẩn để chỉ các chất là các nguồn dinh dưỡng chọn lọc cho lợi khuẩn và nó thúc đẩy sự phát triển của lợi khuẩn. Đã biết rằng thức ăn cho lợi khuẩn có các tác dụng có lợi đối với sức khỏe con người như tác dụng thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn axit lactic và *Bifidobacterium* spp., tác dụng điều hòa ruột và tác dụng phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh viêm ruột.

[0003]

Các oligosacarit sữa người (còn được gọi là “HMO” dưới đây) được chứa trong sữa mẹ với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 20g/l và được cho là hỗn hợp của 130 hoặc trên 130 loại oligosacarit. Cấu trúc của chúng là cấu trúc trong đó fucoza và axit sialic được bổ sung vào 13 loại cấu trúc lõi. Trong sữa người, tỷ lệ của các sacarit trung tính fucosyl hóa là cao, và 2'-fucosyllactoza, lacto-N-fucopentaoza I, lacto-N-difucohexaoza I và lacto-N-tetraoza là điển hình. Riêng bốn loại oligosacarit này chiếm tỷ lệ 1/3 đến 1/4 trong số tất cả các oligosacarit của sữa người. Các oligosacarit bao gồm lacto-N-bioza được gọi là loại I, và các oligosacarit bao gồm N-acetyllactosamin (LacNAc) được gọi là loại II. Trong sữa người, lượng lacto-N-tetraoza và lacto-N-fucopentaoza I, là loại I, là cao hơn so với lượng lacto-N-neotetraoza và lacto-N-fucopentaoza III, là loại II. Sự đồng tồn tại của loại I và loại II và sự ưu tiên của loại I

là các đặc điểm khác biệt của các oligosacarit của sữa người khác với các oligosacarit của sữa của các loài khác (NPL 1 và NPL 2).

[0004]

2'-FL và LNT, là các HMO chứa trong sữa mẹ, có hoạt tính sinh trưởng đối với vi khuẩn *Bifidobacterium*. 2'-FL và LNT được biết là tác dụng như yếu tố sinh trưởng đối với vi khuẩn *Bifidobacterium* do được sử dụng chọn lọc bởi vi khuẩn *Bifidobacterium* và là quan trọng đối với sự tạo thành hệ vi sinh vật đường ruột trong đó vi khuẩn *Bifidobacterium* chiếm ưu thế. Các HMO có thể được tổng hợp và có thể được sử dụng trong công nghiệp (PTL 1).

[0005]

Vi khuẩn *Bifidobacterium* chuyển hóa một số HMO bằng cách sử dụng con đường GNB/LNB đặc hiệu đối với vi khuẩn *Bifidobacterium*. Mặc dù nhiều loài thường được phát hiện trong đường ruột của người có con đường này, phần lớn vi khuẩn *Bifidobacterium* thường được phát hiện trong đường ruột của động vật không phải người và côn trùng không có con đường này. Các ví dụ thông thường về các loài vi khuẩn có thể phát triển bằng cách sử dụng các HMO làm nguồn cacbon duy nhất là bốn loài vi khuẩn gồm *Bifidobacterium longum* phân loài *longum*, *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*, *Bifidobacterium breve* và *Bifidobacterium bifidum*, chúng là các vi khuẩn *Bifidobacterium* thường được phát hiện ở trẻ sơ sinh. Cụ thể, hai loài vi khuẩn của nó, là *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* và *Bifidobacterium bifidum*, đã được thông báo là sử dụng các HMO khác nhau (NPL 3).

Danh mục tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

[0006]

PTL 1: WO2014/086373

Tài liệu phi sáng chế

[0007]

NPL 1: Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria Vol. 22, No. 1, trang 15-25, 2011

NPL 2: Milk Science Vol. 56, No.4, trang 155-176, 2008

NPL 3: Milk Science Vol. 61, No.2, trang 115-124, 2012

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Vấn đề kỹ thuật

[0008]

Để chủ động uống vi khuẩn tốt và điều hòa môi trường ruột, điều quan trọng là uống vi khuẩn tốt trong môi trường mà trong đó sự phát triển của vi khuẩn tốt được thúc đẩy.

[0009]

Vấn đề của sáng chế là đề xuất chế phẩm có thể thúc đẩy sự phát triển của chủng vi khuẩn Bifidobacterium mà có thể là vi khuẩn tốt.

Giải pháp cho vấn đề

[0010]

Các tác giả sáng chế đã nghiên cứu sự phát triển của chủng vi khuẩn Bifidobacterium trong môi trường chứa các HMO để giải quyết vấn đề này và đã phát hiện được rằng mức độ phát triển của chủng vi khuẩn Bifidobacterium là khác nhau theo loại và sự kết hợp của các HMO. Theo kết quả của các nghiên cứu sâu hơn về loại và sự kết hợp của các HMO thích hợp cho sự phát triển của chủng vi khuẩn Bifidobacterium, các tác giả sáng chế đã thành công trong việc thiết kế chế phẩm chứa hỗn hợp HMO thích hợp cho sự phát triển của chủng vi khuẩn Bifidobacterium và do đó đã hoàn thành sáng chế.

[0011]

Tức là, theo sáng chế, trước hết, chế phẩm chứa

hỗn hợp oligosacarit sữa người chứa

lacto-N-neotetraosa,

lacto-N-tetraosa,

2'-fucosyllactoza,

3'-sialyllactoza,

6'-sialyllactoza, và

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*

được đề xuất.

Để làm *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng cho chế phẩm theo sáng chế, *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* NITE BP-02623 có thể được sử dụng.

Hỗn hợp oligosacarit sữa người được sử dụng cho chế phẩm theo sáng chế có thể chứa

lacto-N-neotetraosa với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 10% khối lượng,

lacto-N-tetraosa với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 20% khối lượng,

2'-fucosyllactoza với lượng nằm trong khoảng từ 55 đến 75% khối lượng,

3'-sialyllactoza với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng, và

6'-sialyllactoza với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 15% khối lượng.

Các oligosacarit của sữa người được sử dụng cho chế phẩm theo sáng chế có thể còn bao gồm difucosyllactoza hoặc 3'-fucosyllactoza.

Trong trường hợp này, hỗn hợp oligosacarit sữa người được sử dụng cho chế phẩm theo sáng chế có thể chứa

difucosyllactoza hoặc 3'-fucosyllactoza với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa lactoza.

[0012]

Theo sáng chế, chế phẩm chứa

lacto-N-tetraosa và

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*

cũng được đề xuất.

[0013]

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng làm thực phẩm hoặc chế phẩm uống, chế phẩm dinh dưỡng hoặc sữa công thức.

Các hiệu quả có lợi của sáng chế

[0014]

Khi các chế phẩm theo sáng chế được sử dụng, sự phát triển của chủng vi khuẩn *Bifidobacterium* mà có thể là vi khuẩn tốt có thể được thúc đẩy. Tác dụng được mô tả ở đây không nhất thiết bị giới hạn và cũng có thể là tác dụng bất kỳ trong số các tác dụng được mô tả theo sáng chế.

**Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

[0015]

Fig.1 là đồ thị thể hiện hoạt tính sinh trưởng của *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* ở tỷ lệ sacarit của ví dụ 1 và ví dụ so sánh 1.

**Mô tả chi tiết sáng chế**

[0016]

Các phương án để thực hiện sáng chế được giải thích dưới đây. Về mặt này, các phương án được giải thích dưới đây thể hiện các ví dụ về các phương án điển hình của sáng chế, và phạm vi của sáng chế không được hiểu là hẹp hơn do các phương án này. Theo sáng chế, trong khoảng bằng số được biểu diễn bằng “giới hạn dưới đến giới hạn trên”, giới hạn trên có thể là “giá trị này hoặc nhỏ hơn” hoặc “nhỏ hơn giá trị này”, và giới hạn dưới có thể là “giá trị này hoặc lớn hơn” hoặc “lớn hơn giá trị này”. Ngoài ra, tỷ lệ phần trăm theo sáng chế là dựa trên khối lượng nếu không được chỉ rõ theo cách khác.

[0017]

**1. Chế phẩm**

Chế phẩm theo sáng chế chứa ít nhất là hỗn hợp oligosacarit sữa người và *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*. Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế chứa ít nhất là lacto-N-tetraosa và *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*. Các chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa lactoza hoặc tương tự.

[0018]

(1) Hỗn hợp oligosacarit sữa người

Hỗn hợp oligosacarit sữa người được sử dụng theo sáng chế chứa các HMO dưới đây.

- a. lacto-N-neotetraosa (còn được gọi là “LNnT” dưới đây)
- b. lacto-N-tetraosa (còn được gọi là “LNT” dưới đây)
- c. 2’-fucosyllactoza (còn được gọi là “2’-FL” dưới đây)
- d. 3’-sialyllactoza (còn được gọi là “3’-SL” dưới đây)
- e. 6’-sialyllactoza (còn được gọi là “6’-SL” dưới đây).

[0019]

Hỗn hợp oligosacarit sữa người được sử dụng theo sáng chế có thể chứa các HMO dưới đây.

f. difucosyllactoza (còn được gọi là “DFL” dưới đây) hoặc 3’-fucosyllactoza (còn được gọi là “3’-FL” dưới đây).

[0020]

Hàm lượng HMO của hỗn hợp HMO có thể được điều chỉnh thích hợp phụ thuộc vào mục đích nhưng tốt hơn là được điều chỉnh trong các khoảng tương ứng dưới đây.

- a. LNnT: 2 đến 10% khối lượng
- b. LNT: 10 đến 20% khối lượng
- c. 2’-FL: 55 đến 75% khối lượng
- d. 3’-SL: 1 đến 10% khối lượng
- e. 6’-SL: 5 đến 15% khối lượng



f. DFL hoặc 3'-FL: 1 đến 10% khối lượng

[0021]

Hỗn hợp HMO được sử dụng theo sáng chế cũng có thể chứa một, hai hoặc nhiều loại HMO đã biết thông thường ngoài các HMO này. Ví dụ về các HMO bao gồm 3-difucosyllactoza, 3-fucosyl-3'-sialyllactoza, lacto-N-fucopentaoza I, lacto-N-fucopentaoza II, lacto-N-fucopentaoza III, lacto-N-fucopentaoza V, lacto-N-difucosylhexaoza I, lacto-N-difucosylhexaoza II, lacto-N-sialylpentaoza, LSTa, LSTb và LSTc.

[0022]

Các HMO chứa trong hỗn hợp HMO được sử dụng theo sáng chế có thể là các sản phẩm thương mại, có thể được điều chế từ sữa hoặc có thể thu được bằng phương pháp đã biết như tổng hợp hữu cơ và xử lý bằng enzym. Sữa (ví dụ, sữa mẹ, sữa công thức, sữa bò hoặc sản phẩm từ sữa) chứa các HMO này cũng có thể được sử dụng. Ngoài ra, chế phẩm thu được bằng cách trộn các HMO này với sữa (ví dụ, sữa bò, sữa công thức hoặc sữa cho trẻ sơ sinh) (tức là, sữa chứa các HMO này) cũng có thể được sử dụng.

[0023]

Về mặt này, LNT được sử dụng theo sáng chế không cần được sử dụng dưới dạng hỗn hợp HMO được giải thích ở trên, và chế phẩm theo sáng chế có thể là chế phẩm chứa LNT và vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được mô tả dưới đây.

[0024]

(2) Vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*

Để làm vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* ("*Bifidobacterium infantis*" được phân loại lại là "*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*" và có nghĩa giống nhau) có thể được sử dụng theo sáng chế, một, hai hoặc nhiều loại vi khuẩn đã biết hoặc chưa biết thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* có thể được tự do lựa chọn và được sử dụng miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Cụ thể, các ví dụ về chúng bao gồm *Bifidobacterium longum* phân

loài *infantis* (NITE BP-02623), *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* (ATCC15697T) và tương tự.

[0025]

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* (NITE BP-02623) được lưu giữ đối với lưu giữ quốc tế theo hiệp ước Budapest ngày 26.1.2018 tại NITE Patent Microorganisms Depositary, National Institute of Technology and Evaluation (phòng 122, 2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818).

[0026]

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* (ATCC15697T) có thể nhận được từ ATCC, American Type Culture Collection (10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209, Mỹ).

[0027]

Các chủng vi khuẩn được xác định bằng tên của chủng vi khuẩn được ví dụ ở trên không bị giới hạn ở các chủng được lưu giữ hoặc được đăng ký ở các tổ chức nhất định dưới tên của chính chủng vi khuẩn (còn được gọi là “chủng được lưu giữ” dưới đây để thuận tiện cho việc giải thích) mà bao gồm các chủng gần như tương đương của chúng (còn được gọi là “các chủng được tạo dẫn xuất” hoặc “các chủng được cảm ứng” dưới đây). Tức là, ví dụ, “*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* (NITE BP-02623)” không bị giới hạn ở chính chủng được lưu giữ tại cơ quan lưu giữ với mã số lưu giữ của *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* (NITE BP-02623) mà còn bao gồm các chủng gần như tương đương của chúng.

Các ví dụ về các chủng gần như tương đương của các chủng được lưu giữ có thể là các chủng được tạo dẫn xuất từ các chủng được lưu giữ dưới dạng chủng gốc. Các chủng được tạo dẫn xuất bao gồm các chủng được lai từ các chủng được lưu giữ hoặc các chủng được tạo ra tự nhiên từ các chủng được lưu giữ.

[0028]

Các chủng được tạo dẫn xuất là các chủng sau đây.

(1) Chủng vi khuẩn được xác định là chủng vi khuẩn giống hệt bằng phương pháp ADN đa hình khuếch đại ngẫu nhiên hoặc phương pháp điện di gel trong điện trường

xung (được mô tả trong Probiotic in food/Health and nutritional properties and guidelines for evaluation 85, trang 43).

(2) Chủng vi khuẩn chỉ có các gen được tạo dẫn xuất từ chủng được lưu giữ mà không có gen ngoại lai bất kỳ và có mức độ đồng nhất ADN bằng hoặc lớn hơn 95%.

(3) Chủng được lai từ chủng vi khuẩn hoặc chủng bao gồm cải biến bằng cách thao tác di truyền, đột biến hoặc đột biến tự nhiên và có các đặc điểm giống nhau.

[0029]

Sự phát triển của vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* này được thúc đẩy khi có mặt hỗn hợp HMO được mô tả ở trên. Tức là, khi hỗn hợp HMO được mô tả ở trên được sử dụng, vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* này có thể được phát triển dễ dàng trong ruột.

[0030]

Vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* đã được thông báo là có các chức năng sinh lý khác nhau, và các chức năng này đã được thông báo là do sự phát triển trong ruột và các chất tạo ra (ví dụ, axit axetic). Do đó, vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* theo sáng chế cũng có thể được cho là có độ an toàn cao và có các tác dụng đã biết thông thường của các vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* trong nhóm tuổi rộng. Do đó, chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho một phạm vi rộng các ứng dụng khác nhau (cho thực phẩm hoặc đồ uống, cho thực phẩm chức năng, cho sản phẩm dược, cho thức ăn chăn nuôi hoặc tương tự). Ngoài ra, vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* có thể được cho là có tác dụng lợi khuẩn, và do đó chế phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng nhằm mục đích tăng cường sức khỏe, cải thiện chế độ ăn, cải thiện môi trường ruột, phòng ngừa-điều trị bệnh nhiễm trùng đường ruột hoặc tương tự.

[0031]

Các vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng theo sáng chế có thể được phát triển, ví dụ, bằng cách nuôi cấy chủng vi khuẩn của nó.

Phương pháp nuôi cấy là không bị giới hạn cụ thể, miễn là vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* có thể được phát triển, và phương pháp

thường được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* có thể được sử dụng với cải biến thích hợp nếu cần. Ví dụ, nhiệt độ nuôi cấy có thể nằm trong khoảng từ 30 đến 50°C và tốt hơn là 35 đến 45°C. Vi khuẩn tốt hơn là được nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí và có thể được nuôi cấy, ví dụ, trong khi cung cấp khí kỵ khí như khí cacbon dioxit. Hơn nữa, vi khuẩn này có thể được nuôi cấy trong điều kiện ưa ít oxy như nuôi cấy trong môi trường lỏng tĩnh.

[0032]

Môi trường để nuôi cấy vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng theo sáng chế để phát triển là không bị giới hạn cụ thể, và môi trường thường được sử dụng để nuôi cấy vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng theo sáng chế có thể được sử dụng với cải biến thích hợp nếu cần. Tức là, để làm nguồn cacbon khác với các HMO, ví dụ, các sacarit như galactosa, glucoza, fructoza, mannoza, xenlobioza, maltoza, lactoza, sucroza, trehaloza, sản phẩm thủy phân tinh bột và mật mía có thể được sử dụng phụ thuộc vào các đặc tính đồng hóa. Để làm nguồn nitơ, ví dụ, amoniac và muối amoni hoặc nitrat như amoni sulfat, amoni clorua và amoni nitrat có thể được sử dụng. Ngoài ra, để làm muối vô cơ, ví dụ, natri clorua, kali clorua, kali sulfat, magie sulfat, canxi clorua, canxi nitrat, mangan clorua, sắt (II) sulfat hoặc tương tự có thể được sử dụng. Hơn nữa, các thành phần hữu cơ như pepton, bột đậu nành, bánh đậu nành đã khử chất béo, chất chiết từ thịt và chất chiết nấm men cũng có thể được sử dụng. Hơn nữa, để làm môi trường được cải biến, ví dụ, môi trường MRS có thể được sử dụng.

[0033]

### (3) Các thành phần khác

Các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa thành phần bất kỳ miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Các ví dụ về chúng mà có thể được sử dụng thích hợp bao gồm: các thành phần béo như dầu dừa, dầu đậu nành, monoglyxerit và diglyxerit; hydrat cacbon như glucoza, lactoza và sản phẩm thủy phân tinh bột; protein như protein đậu nành và protein sữa; và các vitamin và các chất khoáng (canxi, phospho, kali, natri, clorua, magie, mangan, sắt, đồng, kẽm, selen, iot, các vitamin A, E, D, C và B và các phức chất của chúng).

[0034]

## 2. Ứng dụng của chế phẩm theo sáng chế

Bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế cho người, tác dụng thúc đẩy sự phát triển của lợi khuẩn ảnh hưởng đến các vi khuẩn tốt có thể được mong đợi. Tức là, khi lợi khuẩn phát triển trong ruột, hệ vi khuẩn đường ruột được cải thiện. Khi hệ vi khuẩn đường ruột được cải thiện, bệnh gây ra do hệ vi khuẩn đường ruột được cải thiện hoặc phòng ngừa, và việc điều trị bệnh này có thể thực hiện được.

Bệnh gây ra do hệ vi khuẩn đường ruột là bệnh viêm ruột kết, bệnh viêm ruột kết mạn loét, bệnh viêm ruột kết kích thích, bệnh ung thư ruột kết, bệnh đái tháo đường, bệnh xơ cứng động mạch hoặc tương tự.

Ngoài ra, bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế, chức năng miễn dịch được tăng cường. Khi chức năng miễn dịch được tăng cường, bệnh dị ứng như bệnh dị ứng phấn hoa, bệnh hen và bệnh viêm da dị ứng có thể được phòng ngừa, cải thiện hoặc điều trị.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể tốt hơn là được sử dụng cho thực phẩm hoặc đồ uống, sữa công thức cho trẻ sơ sinh, sản phẩm dược, dược mỹ phẩm, thức ăn chăn nuôi hoặc tương tự.

[0035]

Ứng dụng của phương án này có thể là việc sử dụng cho mục đích điều trị hoặc có thể là việc sử dụng cho mục đích không phải điều trị.

“Mục đích không phải điều trị” là khái niệm không bao gồm hành nghề y, tức là điều trị cho cơ thể người bằng liệu pháp. Các ví dụ về chúng bao gồm tăng cường sức khỏe và điều trị làm đẹp.

“Cải thiện” có nghĩa là: cải thiện bệnh, triệu chứng hoặc tình trạng; ngăn ngừa hoặc làm chậm sự xấu đi của bệnh, triệu chứng hoặc tình trạng; hoặc làm đảo ngược, ngăn ngừa hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh hoặc triệu chứng.

“Phòng ngừa” có nghĩa là ngăn ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh hoặc triệu chứng ở đối tượng sử dụng hoặc làm giảm nguy cơ bệnh hoặc triệu chứng của đối tượng sử dụng.

[0036]

Trong các chế phẩm theo sáng chế, hàm lượng của hỗn hợp HMO hoặc LNT có thể được điều chỉnh tự do miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Theo sáng chế, cụ thể, hàm lượng của hỗn hợp HMO hoặc LNT của chế phẩm có thể được điều chỉnh trong khoảng từ 0,05% đến 20,0% so với chế phẩm cuối.

[0037]

Ngoài ra, theo sáng chế, liều lượng hàng ngày của hỗn hợp HMO hoặc LNT cũng có thể được điều chỉnh tự do miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Theo sáng chế, cụ thể, liều lượng tốt hơn là được đặt ở giá trị tương đương với nồng độ HMO chứa trong sữa mẹ nói chung. Cụ thể, liều lượng có thể được điều chỉnh, ví dụ, nằm trong khoảng từ 200mg đến 20 g/ngày, tốt hơn là 300 mg đến 15 g/ngày, tốt hơn nữa là 400mg đến 10 g/ngày, tốt hơn nữa là 500mg đến 10 g/ngày, tốt nhất là 1g đến 10 g/ngày.

[0038]

Liên quan đến các chế phẩm theo sáng chế, vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* tốt hơn là được sử dụng với lượng, so với chế phẩm cuối, khoảng  $1 \times 10^3$  đến khoảng  $1 \times 10^{12}$  CFU/g hoặc ml, nhưng giá trị cao hơn cũng có thể chấp nhận được. Khi chế phẩm này được sử dụng cho người lớn (tức là, người trên 16 tuổi), vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng tốt hơn là với lượng ít nhất bằng hoặc lớn hơn  $1 \times 10^6$  CFU/g hoặc ml, tốt hơn nữa là ít nhất bằng hoặc lớn hơn  $1 \times 10^8$  CFU/g hoặc ml. Khi chế phẩm được sử dụng cho trẻ em (tức là, người dưới 16 tuổi), vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng trong khoảng tốt hơn là khoảng  $1 \times 10^6$  đến khoảng  $1 \times 10^{11}$  CFU/g hoặc ml, tốt hơn nữa là khoảng  $1 \times 10^6$  đến khoảng  $1 \times 10^9$  CFU/g hoặc ml. Theo sáng chế, CFU nghĩa là đơn vị tạo khuẩn lạc và để chỉ đơn vị tạo khuẩn lạc. Khi vi khuẩn là vi khuẩn đã chết, CFU có thể được thay bằng số tế bào.

[0039]

Lượng vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được sử dụng là không bị giới hạn cụ thể do độ an toàn cao nhưng tốt hơn là, ví dụ, nằm trong khoảng từ  $1 \times 10^6$  đến  $1 \times 10^{12}$  CFU/kg thể trọng/ngày, tốt hơn nữa là  $1 \times 10^7$  đến  $1 \times 10^{11}$  CFU/kg

thể trọng/ngày, tốt hơn nữa là  $1 \times 10^8$  đến  $1 \times 10^{10}$  CFU/kg thể trọng/ngày. Theo cách khác, lượng được sử dụng (liều lượng) cho mỗi người (thể trọng) tốt hơn là nằm trong khoảng từ  $10^7$  đến  $10^{14}$  CFU/ngày, tốt hơn nữa là  $10^8$  đến  $10^{13}$  CFU/ngày, và tốt hơn nữa là  $10^9$  đến  $10^{12}$  CFU/ngày.

[0040]

Đối tượng sử dụng theo sáng chế tốt hơn là trẻ sơ sinh hoặc trẻ nhỏ.

Thuật ngữ trẻ sơ sinh hoặc trẻ nhỏ bao gồm trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ, cụ thể hơn là bao gồm trẻ em, trẻ nhỏ và trẻ mới sinh và cụ thể hơn là bao gồm trẻ em, trẻ nhỏ, trẻ mới sinh, trẻ chưa trưởng thành, trẻ sinh non và trẻ có trọng lượng khi sinh thấp. Theo sáng chế, loài của trẻ sơ sinh hoặc trẻ nhỏ bao gồm người nếu không được chỉ rõ theo cách khác. Trẻ sơ sinh để chỉ trẻ em ở tuổi thơ ấu. Tuổi thơ ấu nghĩa là giai đoạn trong đó đối tượng uống sữa như sữa mẹ làm nguồn chất dinh dưỡng chính, và giai đoạn trước 1 tuổi thường là tuổi thơ ấu trong trường hợp người. Trẻ nhỏ thường để chỉ trẻ em ở giai đoạn trước khi đến trường. Trẻ mới sinh để chỉ trẻ em ở giai đoạn sơ sinh. Giai đoạn sơ sinh nghĩa là giai đoạn ngay sau khi sinh, và giai đoạn trong khoảng bốn tuần sau khi sinh thường là giai đoạn sơ sinh trong trường hợp người.

[0041]

Theo sáng chế, thức ăn cho lợi khuẩn cũng có thể được sử dụng kết hợp ngoài các HMO và vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được mô tả ở trên. Thức ăn cho lợi khuẩn là thành phần thực phẩm bền vững có tác dụng có lợi đối với vật chủ và cải thiện sức khỏe của vật chủ bằng cách thay đổi chọn lọc sự phát triển và hoạt tính của vi khuẩn cụ thể trong đại tràng.

Thức ăn cho lợi khuẩn là không bị giới hạn cụ thể, miễn là các hiệu quả của sáng chế có thể đạt được nhiều hơn khi thức ăn cho lợi khuẩn được uống cùng với vi khuẩn hoặc dịch nuôi cấy của nó, nhưng các ví dụ về chúng bao gồm lactuloza, rafinoza, galactooligosacarit, fructooligosacarit, oligosacarit đậu nành, lactosucroza, xylooligosacarit, isomaltooligosacarit, mannoooligosacarit của hạt cà phê, axit gluconic, polydextroza và inulin. Lactuloza, rafinoza và galactooligosacarit là được ưu tiên.

[0042]

## Chế phẩm dinh dưỡng

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng làm chế phẩm dinh dưỡng. Theo sáng chế, “chế phẩm dinh dưỡng” để chỉ thực phẩm hoặc đồ uống được sử dụng qua đường miệng hoặc đường tĩnh mạch và cũng cấp chất dinh dưỡng cho đối tượng sử dụng. Loại chế phẩm dinh dưỡng mà có thể được sử dụng theo sáng chế là không bị giới hạn cụ thể, nhưng tốt hơn là sữa công thức, thực phẩm lỏng hoặc tương tự, tốt hơn nữa là sữa công thức. Đối tượng sử dụng có thể là trẻ sơ sinh, trẻ nhỏ, trẻ em hoặc người lớn, nhưng tốt hơn là trẻ sơ sinh hoặc trẻ nhỏ.

Sữa công thức cho trẻ sơ sinh bao gồm sữa công thức dạng bột và sữa công thức dạng lỏng.

Sữa công thức dạng bột được định nghĩa bởi Ministerial Ordinance Concerning Compositional Standards, v.v.. đối với sữa và các sản phẩm sữa là “các sữa thu được bằng cách chế biến sữa tươi, sữa bò, sữa được chứng nhận hoặc thực phẩm được tạo ra từ đó làm nguyên liệu hoặc sử dụng nguyên liệu này làm nguyên liệu chính, bổ sung các chất dinh dưỡng cần thiết cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ và chế biến thành bột”.

Sữa công thức dạng lỏng được định nghĩa bởi Ministerial Ordinance là “sữa thu được bằng cách chế biến sữa tươi, sữa bò, sữa được chứng nhận hoặc thực phẩm được tạo ra từ đó làm nguyên liệu hoặc sử dụng nguyên liệu này làm nguyên liệu chính, bổ sung các chất dinh dưỡng cần thiết cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ và chế biến thành chất lỏng”.

Sữa công thức còn bao gồm cả sữa chứa thành phần chất dinh dưỡng như protein, dầu và chất béo, hydrat cacbon, các chất khoáng và các vitamin và chúng được chế biến thành bột hoặc chất lỏng.

Sữa công thức còn bao gồm “sữa công thức dạng bột cho trẻ sơ sinh”, “sữa công thức dạng lỏng cho trẻ sơ sinh” và “sữa công thức dạng bột cho phụ nữ có thai và sắp sinh và các bà mẹ cho con bú” của thực phẩm dùng cho mục đích ăn kiêng đặc biệt được quy định bởi Đạo luật tăng cường sức khỏe và còn bao gồm các dạng sữa công thức dạng bột cho trẻ sơ sinh dùng cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ từ 0 đến 12 tháng, sữa tiếp theo cho trẻ và trẻ nhỏ tuổi từ 6 đến 9 tháng hoặc trẻ lớn hơn (cho đến 3 tuổi), sữa công thức dạng bột cho trẻ sơ sinh đối với trẻ sơ sinh có trọng lượng khi sinh thấp dùng cho trẻ



mới sinh có thể trọng khi sinh nhỏ hơn 2500g (trẻ sơ sinh có trọng lượng khi sinh thấp), sữa công thức để điều trị bao gồm sữa công thức dung cho bệnh dị ứng được sử dụng để điều trị cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ bị bệnh như bệnh dị ứng sữa và không dung nạp lactoza, sữa công thức cho trẻ sơ sinh dùng cho bệnh không dung nạp lactoza và sữa công thức cho trẻ sơ sinh dùng cho trẻ có các lỗi chuyển hóa bẩm sinh, sữa công thức dạng bột cho trẻ sơ sinh dùng cho trẻ nhỏ, sữa công thức cho trẻ sơ sinh dùng cho trẻ ở tuổi đến trường, sữa công thức dinh dưỡng cho người lớn, sữa công thức dùng cho người già, thực phẩm trẻ em, thực phẩm dùng cho trẻ nhỏ, chất tăng cường cho sữa mẹ hoặc sữa công thức cho trẻ sơ sinh, bột dinh dưỡng cho người lớn, bột dinh dưỡng cho người già và tương tự. Chế phẩm này cũng có thể được áp dụng cho thực phẩm có công bố khuyến cáo về sức khỏe hoặc thực phẩm cho người ốm. Hệ thống thực phẩm có công bố khuyến cáo về sức khỏe đã được thiết lập không chỉ đối với thực phẩm nói chung mà còn đối với thực phẩm ở dạng viên nén, viên nang và tương tự, theo xu hướng trong và ngoài nước Nhật và còn cân nhắc sự phù hợp với hệ thống thực phẩm dùng cho các mục đích sức khỏe đặc biệt. Hệ thống này bao gồm hai loại, tức là thực phẩm dùng cho các mục đích sức khỏe đặc biệt (hệ thống chấp thuận cá nhân) và thực phẩm có công bố về chức năng dinh dưỡng (hệ thống quy định chuẩn).

Theo sáng chế, các định nghĩa về chế phẩm dinh dưỡng, sữa công thức, thực phẩm và tương tự bao gồm các sản phẩm được định nghĩa bởi các quốc gia, các thể chế quốc tế, các thể chế hợp tác, các tổ chức hợp tác, các tổ chức thuộc về chúng, các tổ chức, nhóm, hiệp hội và tương tự.

[0043]

Thực phẩm hoặc đồ uống

Các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể được điều chế bằng cách bổ sung vào thực phẩm hoặc đồ uống đã biết. Thực phẩm hoặc đồ uống mới cũng có thể được tạo ra bằng cách trộn chế phẩm vào nguyên liệu của thực phẩm hoặc đồ uống.

[0044]

Thực phẩm hoặc đồ uống chứa chế phẩm theo sáng chế không bị giới hạn về dạng như chất lỏng, bột nhão, chất rắn và bột, và các ví dụ về chúng bao gồm, ngoài kẹo viên, thực phẩm lỏng và tương tự, các sản phẩm từ lúa mì, thực phẩm ăn liền, nông sản chế

biển, thủy sản chế biến, sản phẩm chăn nuôi chế biến, sữa/sản phẩm từ sữa, dầu và chất béo, gia vị cơ bản, thực phẩm/chất tăng hương vị hỗn hợp, thực phẩm đông lạnh, bánh kẹo, đồ uống và các sản phẩm thương mại khác.

[0045]

Ví dụ về các sản phẩm từ lúa mì bao gồm bánh mì, macaroni, mì ý, mì sợi, hỗn hợp làm bánh, bột chiên và vụn bánh mì.

Ví dụ về thực phẩm ăn liền bao gồm mì ăn liền, mì cốc, thực phẩm nấu chín/chung đóng túi, thực phẩm đóng hộp nấu chín, thực phẩm vi sóng, súp/món hầm ăn liền, súp miso/súp nước trong Nhật Bản ăn liền, súp đóng hộp, thực phẩm sấy khô nhiệt độ thấp và thực phẩm ăn liền khác.

Ví dụ về nông sản chế biến bao gồm nông sản đóng hộp, hoa quả đóng hộp, mứt/mứt cam, đồ ngâm dấm, đậu nấu chín, nông sản sấy và ngũ cốc (hạt chế biến).

Ví dụ về thủy sản chế biến bao gồm thủy sản đóng hộp, dăm bông/xúc xích cá, sản phẩm pate thủy sản, các món ngon thủy sản và *Tsukudani* (thực phẩm được đun sôi trong nước tương ngọt).

Ví dụ về sản phẩm chăn nuôi chế biến bao gồm sản phẩm chăn nuôi/pate đóng hộp và dăm bông/xúc xích từ thịt gia súc.

Ví dụ về sữa/sản phẩm từ sữa bao gồm sữa lên men, sữa chế biến, đồ uống từ sữa, sữa chua, đồ uống chứa vi khuẩn axit lactic, phô mai, kem lạnh, sữa công thức, kem và các sản phẩm từ sữa khác.

Ví dụ về dầu và chất béo bao gồm bơ, margarin và dầu thực vật.

Ví dụ về gia vị cơ bản bao gồm xì dầu, tương đậu nành, nước xốt, gia vị cà chua chế biến, *Mirin* (rượu sake ngọt cho gia vị) và dấm.

Chất làm tăng hương vị hỗn hợp/thực phẩm bao gồm hỗn hợp để nấu, bột đảo bơ ca ri, nước xốt, nước xốt để trộn, canh mì, gia vị và các chất làm tăng hương vị hỗn hợp khác.

Ví dụ về thực phẩm đông lạnh bao gồm nguyên liệu thực phẩm đông lạnh, thực phẩm đông lạnh nấu bán chín và thực phẩm đông lạnh nấu chín.

Ví dụ về bánh kẹo bao gồm caramen, kẹo, kẹo cao su, sôcôla, bánh ngọt, bánh quy, bánh, bánh nướng, đồ ăn nhẹ, bánh quy giòn, bánh kẹo kiểu Nhật, bánh kẹo từ gạo, bánh kẹo từ đậu, món tráng miệng và bánh kẹo khác.

Ví dụ về đồ uống bao gồm đồ uống có ga, nước ép trái cây tự nhiên, nước ép trái cây, đồ uống không cồn từ nước ép trái cây, đồ uống từ thịt quả, nước ép trái cây chứa hạt quả, nước uống từ rau, sữa đậu nành, đồ uống từ sữa đậu nành, đồ uống từ cà phê, đồ uống từ trà, đồ uống dạng bột, đồ uống cô đặc, đồ uống dùng trong thể thao, đồ uống dinh dưỡng, rượu và đồ uống xa xỉ khác.

Ví dụ về thực phẩm thương mại khác bao gồm thực phẩm trẻ em, *Furikake* (gia vị Nhật khô) và gia vị cho *Chazuke* (cơm với trà nóng).

[0046]

Thực phẩm hoặc đồ uống có nhãn chức năng

Thực phẩm, đồ uống hoặc tương tự được định nghĩa theo sáng chế cũng có thể được cung cấp hoặc bán dưới dạng thực phẩm hoặc đồ uống có nhãn với mục đích cụ thể (đặc biệt là mục đích sức khỏe) hoặc chức năng.

Hành vi “gắn nhãn” bao gồm tất cả các hành vi để thông báo cho người tiêu dùng mục đích này, và tất cả các cách diễn đạt có thể nhắc nhở/đoán được mục đích này là hành vi “gắn nhãn” theo sáng chế, bất kể mục đích của của việc gắn nhãn này, nội dung của việc gắn nhãn này, đối tượng được gắn nhãn, phương tiện truyền thông và tương tự.

[0047]

“Nhãn” tốt hơn là có sự diễn đạt cho phép người tiêu dùng trực tiếp nhận ra mục đích này. Các ví dụ cụ thể bao gồm hành vận chuyển sản phẩm trong đó mục đích này được mô tả trên sản phẩm liên quan đến thực phẩm hoặc đồ uống hoặc bao gói của sản phẩm, phân phối sản phẩm này, trưng bày sản phẩm này để chuyển giao hoặc phân phối hoặc nhập khẩu sản phẩm này, hành vi trưng bày hoặc phân phát quảng cáo, bảng giá hoặc tài liệu kinh doanh có mô tả về mục đích này trên đó hoặc cung cấp thông tin có các nội dung này với việc mô tả mục đích này bằng phương pháp điện tử (internet hoặc tương tự) và hành vi khác.

[0048]

Nội dung của nhãn tốt hơn là nhãn được chấp thuận bởi chính phủ hoặc tương tự (ví dụ, nhãn được cấp thuận trên cơ sở hệ thống được quy định bởi chính phủ và được cung cấp ở dạng dựa trên sự chấp thuận này). Tốt hơn là nhãn có nội dung này trên bao gói, đồ chứa, catalog, sách nhỏ quảng cáo, tài liệu quảng cáo ở nơi bán hàng như POP, các tài liệu khác hoặc tương tự.

[0049]

“Nhãn” còn bao gồm nhãn với thực phẩm có lợi cho sức khỏe, thực phẩm chức năng, thực phẩm cho người ốm, sản phẩm dinh dưỡng đường ruột, thực phẩm dùng cho mục đích ăn kiêng đặc biệt, thực phẩm có công bố khuyến cáo về sức khỏe, thực phẩm cho mục đích sức khỏe đặc biệt, thực phẩm có công bố về chức năng, thực phẩm có công bố về chức năng dinh dưỡng, dược mỹ phẩm và tương tự. Cụ thể, nhãn là nhãn được chấp thuận bởi Cục bảo vệ người tiêu dùng Nhật Bản, như nhãn được chấp thuận bởi các hệ thống thực phẩm cho mục đích sức khỏe đặc biệt, các hệ thống thực phẩm có công bố về chức năng và các hệ thống tương tự của chúng. Các ví dụ cụ thể hơn bao gồm nhãn với thực phẩm cho mục đích sức khỏe đặc biệt, nhãn với thực phẩm đủ điều kiện cho mục đích sức khỏe đặc biệt, nhãn với thực phẩm có công bố về chức năng, nhãn chỉ ra sự ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của cơ thể, nhãn với việc làm giảm nguy cơ bệnh và tương tự. Các ví dụ điển hình về chúng bao gồm các nhãn với thực phẩm dùng cho các mục đích sức khỏe đặc biệt (đặc biệt là các nhãn với các mục đích sức khỏe) được quy định bởi các quy định thực thi luật tăng cường sức khỏe (Sắc lệnh của Bộ Y tế, Lao động và Phúc lợi Nhật Bản, No. 86, ngày 30.4.2003), các nhãn với thực phẩm có công bố về chức năng được quy định bởi luật dán nhãn thực phẩm (Act No. 70, năm 2013) và các nhãn tương tự.

[0050]

Bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế, vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* phát triển trong ruột của đối tượng sử dụng. Khi lợi khuẩn này phát triển trong ruột, năng lực miễn dịch cải thiện, và hệ vi khuẩn đường ruột cải thiện. Cụ thể, ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ, bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế, vi khuẩn *Bifidobacterium* trong ruột tăng lên một cách hiệu quả, và môi trường ruột được điều hòa. Khi uống các vi khuẩn xấu hoặc các vi khuẩn cơ hội cùng với chủng vi khuẩn

*Bifidobacterium*, năng lực miễn dịch có thể đạt được, và môi trường trong ruột thu được như hệ vi khuẩn đường ruột được duy trì như ở người lớn.

[0051]

Liên quan đến phương pháp sản xuất sữa công thức, một, hai hoặc nhiều loại phương pháp sản xuất đã biết có thể được kết hợp tự do và được sử dụng miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Cụ thể, ví dụ, sữa cải biến có thể được sản xuất bằng cách trộn chế phẩm theo sáng chế và các chất phụ gia vào sữa nguyên liệu và thực hiện các bước làm đồng nhất, tiệt trùng, cô đặc, sấy, tạo hạt và rây.

[0052]

Sữa công thức theo sáng chế có thể được sản xuất cụ thể bằng phương pháp sau đây chẳng hạn.

[0053]

Tức là, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất sữa công thức bao gồm bước trộn hỗn hợp HMO hoặc LNT và bột vi khuẩn chứa vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* và bằng cách đó thu được sữa công thức.

Cụ thể, ví dụ, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất sữa công thức bao gồm bước A và bước B dưới đây:

bước A: bước nuôi cấy vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* trong môi trường chứa thành phần bất kỳ và bằng cách đó thu được dịch nuôi cấy; và

bước B: bước trộn dịch nuôi cấy và hỗn hợp HMO hoặc LNT và thu được sữa công thức.

[0054]

Chế phẩm thực phẩm theo sáng chế có thể là cụ thể, ví dụ, sản phẩm bổ sung cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ. Ví dụ về sản phẩm bổ sung cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ có thể được sản xuất, ví dụ, bằng phương pháp sau đây.

[0055]

Tức là, sáng chế đề xuất, ví dụ, phương pháp sản xuất sản phẩm bổ sung bao gồm bước C đến bước E dưới đây:

bước C: bước nuôi cấy vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* trong môi trường chứa thành phần bất kỳ và bằng cách đó thu được dịch nuôi cấy;

bước D: bước trộn dịch nuôi cấy, hỗn hợp HMO hoặc LNT và tá được và bằng cách đó thu được hỗn hợp; và

bước E: bước bào chế hỗn hợp này bằng cách dập viên hoặc tương tự.

[0056]

Về mặt này, môi trường được sử dụng cho bước A và bước C nêu trên có thể chứa hỗn hợp HMO hoặc LNT.

[0057]

Trong tất cả các phương pháp sản xuất được mô tả ở trên, thành phần khác với các thành phần nêu trong các bước này có thể được sử dụng kết hợp thích hợp.

[0058]

Phương pháp bổ sung chế phẩm theo sáng chế là không bị giới hạn cụ thể, miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi, nhưng ví dụ, chế phẩm theo sáng chế có thể được bổ sung ở trạng thái lỏng trong khi trộn như được mô tả ở trên hoặc có thể được tạo thành bột và sau đó được bổ sung để trộn và sản xuất bột.

[0059]

Hàm lượng của hỗn hợp HMO hoặc LNT của sữa công thức theo sáng chế có thể được điều chỉnh tự do miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Theo sáng chế, cụ thể, hàm lượng của hỗn hợp HMO hoặc LNT của sữa cải biến có thể được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 0,05% đến 20,0% so với chế phẩm cuối của sữa công thức.

[0060]

Lượng vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* trong sữa công thức theo sáng chế có thể được điều chỉnh tự do, miễn là hiệu quả của sáng chế không bị giảm đi. Theo sáng chế, cụ thể, lượng vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* trong sữa công thức có thể được điều chỉnh nằm trong khoảng từ  $1 \times 10^3$  đến  $1 \times 10^{12}$  CFU/ml hoặc g so với chế phẩm cuối của sữa công thức.

[0061]

## Sản phẩm được và được mỹ phẩm

Chế phẩm theo sáng chế có thể được bổ sung vào sản phẩm được hoặc được mỹ phẩm (còn được gọi là “sản phẩm được hoặc tương tự” dưới đây) là đã biết. Sản phẩm được mới hoặc tương tự có thể được tạo ra bằng cách trộn chế phẩm theo sáng chế vào nguyên liệu của sản phẩm được hoặc tương tự.

[0062]

Khi chế phẩm theo sáng chế được chứa trong sản phẩm được hoặc tương tự, sản phẩm được hoặc tương tự này có thể được bào chế thích hợp thành dạng liều mong muốn phụ thuộc vào phương pháp sử dụng như sử dụng qua đường miệng hoặc sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Dạng liều là không bị giới hạn cụ thể, nhưng trong trường hợp sử dụng qua đường miệng, ví dụ, sản phẩm được hoặc tương tự có thể được bào chế thành chế phẩm dạng rắn như bột, hạt, viên nén, viên ngậm dẹt và viên nang, chế phẩm dạng lỏng như dung dịch, xirô, hỗn dịch và nhũ tương hoặc tương tự. Trong trường hợp sử dụng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, sản phẩm được hoặc tương tự có thể được bào chế thành thuốc đạn, thuốc xịt, thuốc xông, pomat, miếng dán hoặc thuốc tiêm. Theo sáng chế, việc bào chế thành dạng liều để sử dụng qua đường miệng là được ưu tiên.

Việc bào chế này có thể được thực hiện thích hợp bằng phương pháp đã biết phụ thuộc vào dạng liều.

[0063]

Việc bào chế này cũng có thể được thực hiện, ví dụ, bằng cách trộn thích hợp chất mang để bào chế. Ngoài ra, ngoài peptit theo sáng chế, thành phần thường được sử dụng để bào chế, như tá dược, chất điều chỉnh độ pH, chất màu và chất làm giảm tác dụng phụ, có thể được sử dụng. Thành phần có tác dụng phòng ngừa, cải thiện và /hoặc điều trị bệnh hoặc triệu chứng là đã biết hoặc sẽ được tìm ra trong tương lai cũng có thể được sử dụng kết hợp thích hợp phụ thuộc vào mục đích.

[0064]

Để làm chất mang để bào chế, chất mang hữu cơ hoặc vô cơ có thể được sử dụng phụ thuộc vào dạng liều. Ví dụ về chất mang cho chế phẩm dạng rắn bao gồm tá dược, chất kết dính, chất phân rã, chất làm trơn, chất ổn định và chất điều vị.

[0065]

Ví dụ về tá dược bao gồm: các dẫn xuất sacarit như lactoza, sucroza, glucoza, manitol và sorbitol; các dẫn xuất tinh bột như tinh bột ngô, tinh bột khoai tây,  $\alpha$ -tinh bột, dextrin và carboxymetyl tinh bột; các dẫn xuất xenluloza như xenluloza tinh thể, hydroxypropyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, carboxymetylxenluloza và carboxymetyl xenluloza canxi; gôm arabic; dextran; pululan; các dẫn xuất silicat như anhydrit silixic nhẹ, nhôm silicat tổng hợp và magie nhôm metasilicat; các dẫn xuất phosphat như canxi phosphat; các dẫn xuất carbonat như canxi carbonat; và các dẫn xuất sulfat như canxi sulfat.

[0066]

Ví dụ về chất kết dính bao gồm, ngoài tá dược, gelatin, polyvinylpyrrolidon và macrogol.

[0067]

Ví dụ về chất phân rã bao gồm, ngoài tá dược, tinh bột được cải biến hóa học hoặc dẫn xuất xenluloza như croscarmeloza natri, natri carboxymetyl tinh bột và polyvinylpyrrolidon liên kết ngang.

[0068]

Ví dụ về chất làm trơn bao gồm: bột talc; axit stearic; stearat kim loại như canxi stearat và magie stearat; silic oxit dạng keo; sáp như veegum (smectit) và sáp cá voi; axit boric; glycol; axit carboxylic như axit fumaric và axit adipic; natri carboxylat như natri benzoat; sulfat như natri sulfat; leuxin; lauryl sulfat như natri lauryl sulfat và magie lauryl sulfat; axit silixic như anhydrit silixic và hydrat axit silixic; và các dẫn xuất tinh bột.

[0069]

Ví dụ về chất ổn định bao gồm: paraoxybenzoat este như metylparaben và propylparaben; rượu như clobutanol, rượu benzylic và rượu phenyletylic; benzalkoni clorua; anhydrit axetic; và axit boric.

[0070]



Ví dụ về chất điều vị bao gồm chất tạo ngọt, chất axit hóa và chất thơm.

Về mặt này, ví dụ về chất mang được sử dụng trong trường hợp chế phẩm dạng lỏng để sử dụng qua đường miệng bao gồm các dung môi như nước và chất điều vị.

[0071]

Thức ăn chăn nuôi

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được bổ sung vào thức ăn chăn nuôi đã biết. Thức ăn chăn nuôi có thể được tạo ra bằng cách trộn chế phẩm vào nguyên liệu của thức ăn chăn nuôi.

[0072]

Khi chế phẩm theo sáng chế được chứa trong thức ăn chăn nuôi, ví dụ về nguyên liệu của thức ăn chăn nuôi bao gồm: hạt ngũ cốc như ngô, lúa mì, lúa mạch và lúa mạch đen; các loại cám như cám yến mạch, cám lúa mì, cám gạo và cám gạo đã loại chất béo; các sản phẩm phụ của nhà sản xuất thực phẩm như bột gluten ngô và bột mứt ngô; thức ăn chăn nuôi như sữa bột đã loại chất béo, váng sữa, bột cá và bột xương; nấm men như nấm men bia; thức ăn khoáng như canxi phosphat và canxi carbonat; dầu và chất béo; axit amin; và sacarit. Ví dụ về dạng của thức ăn chăn nuôi bao gồm thức ăn chăn nuôi cho vật nuôi cảnh như thức ăn cho vật nuôi cảnh, thức ăn cho gia súc và thức ăn nuôi cá.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

[0073]

Sáng chế được giải thích chi tiết hơn dưới đây dựa trên ví dụ. Về mặt này, ví dụ được giải thích dưới đây thể hiện các ví dụ thông thường của sáng chế, và phạm vi của sáng chế không được hiểu là hẹp hơn do ví dụ này.

[0074]

Để làm ví dụ về vi khuẩn thuộc *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*, *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* NITE BP-02623 của Morinaga Milk Industry Co., Ltd. được cấy ở tỷ lệ 1% thể tích dưới dạng dung dịch vi khuẩn vào 200μl môi trường sau 16 giờ loại khí và được nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí ở 37°C. Để làm môi

trường, mỗi môi trường lỏng MRS (de Man-Rogosa-Sharpe) (thành phần: bảng 2) trong đó nguồn sacarit được thay đổi thành các oligosacarit của sữa người (được sản xuất bởi Jennewein Biotechnologie GmbH) được thể hiện trong bảng 1 được điều chế. Độ đục (OD<sub>660</sub>) sau 16 giờ nuôi cấy được xác định, và sự phát triển của *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được so sánh giữa các tỷ lệ sacarit của ví dụ 1 và ví dụ so sánh 1.

[0075]

Bảng 1. Thành phần của nguồn sacarit

|                 |                                    | 2'FL | LNnT | LNT  | 3'SL | 6'SL |
|-----------------|------------------------------------|------|------|------|------|------|
| Ví dụ 1         | Lượng được sử dụng (g/l)           | 5,12 | 0,4  | 1,12 | 0,4  | 0,72 |
|                 | Lượng trong các HMO (% khối lượng) | 66,0 | 5,2  | 14,4 | 5,2  | 9,3  |
| Ví dụ so sánh 1 | Lượng được sử dụng (g/l)           | 1    | -    | -    | 2    | 1    |
|                 | Lượng trong các HMO (% khối lượng) | 25,0 | -    | -    | 50,0 | 25,0 |

[0076]

Bảng 2. Thành phần của MRS

|                                                                                        |        |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Polypepton BBL (được sản xuất bởi BD Bioscience)                                       | 10g    |
| Chất chiết thịt bò Bacto (được làm khô, được sản xuất bởi BD Bioscience)               | 10g    |
| Chất chiết nấm men Bacto (được sản xuất bởi BD Bioscience)                             | 5g     |
| Polyoxyetylen sorbitan monooleat (được sản xuất bởi Nacalai)                           | 1g     |
| Dikali hydrophosphat (được sản xuất bởi Kokusan Chemical Co., Ltd.)                    | 2g     |
| Natri axetat (được sản xuất bởi Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)                   | 5g     |
| Diamoni hydro xitrat (được sản xuất bởi Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)           | 2g     |
| Magie sulfat heptahydrat (được sản xuất bởi Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)       | 0,2g   |
| Mangan (II) sulfat pentahydrat (được sản xuất bởi Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) | 0,05g  |
| Nước cất                                                                               | 800ml  |
| SW (được bổ sung sau)                                                                  | 200ml  |
| Tổng cộng                                                                              | 1000ml |
| Độ pH                                                                                  | 6,5    |

[0077]

Các kết quả được thể hiện trên Fig.1. Như được thể hiện trên đồ thị của Fig.1, hoạt tính sinh trưởng cao được thể hiện trong trường hợp tỷ lệ sacarit của ví dụ so với trường hợp tỷ lệ sacarit của ví dụ so sánh 1. Từ các kết quả này, đã cho thấy rằng sự phát triển của *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được thúc đẩy khi hỗn hợp HMO chứa LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL và 6'-SL được sử dụng.

[0078]

Các ví dụ điều chế

Các ví dụ điều chế chế phẩm, chế phẩm được, sữa lên men và sữa công thức được thể hiện dưới đây.

[0079]

Ví dụ điều chế 1

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được bổ sung vào 3ml môi trường MRS và được nuôi cấy kỵ khí ở 37°C trong 24 giờ, và sau đó dung dịch nuôi cấy được cô và làm đông khô để thu được bột đông khô. Bột đông khô thu được được trộn đồng nhất với LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL và 6'-SL, và chế phẩm đã thu được.

[0080]

Ví dụ điều chế 2

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được bổ sung vào 3ml môi trường MRS và được nuôi cấy kỵ khí ở 37°C trong 24 giờ, và sau đó dung dịch nuôi cấy được cô và làm đông khô để thu được bột đông khô. Tiếp theo, bột đông khô thu được, LNnT, LNT, 2'-FL, 3'-SL, 6'-SL và xenluloza tinh thể được cho vào máy khuấy tạo hạt và trộn. Sau đó, nước tinh khiết được bổ sung để tạo hạt, và hạt được sấy để thu được hạt (chế phẩm được).

[0081]

Ví dụ điều chế 3

Phương pháp điều chế sữa lên men chứa *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* và các HMO được sử dụng theo sáng chế được thể hiện dưới đây.

Trước hết, nguyên liệu sữa tươi, nước theo nhu cầu, các thành phần khác và tương tự được trộn, tốt hơn là được làm đồng nhất và tiệt trùng bằng nhiệt. Quá trình làm đồng nhất và tiệt trùng bằng nhiệt có thể được thực hiện bằng các phương pháp thường dùng. Giống vi khuẩn axit lactic được bổ sung (được cấy) vào dung dịch sữa cải biến được tiệt trùng bằng nhiệt, và dung dịch này được duy trì ở nhiệt độ lên men nhất định và được lên men để thu được sản phẩm lên men. Thông qua quá trình lên men, sữa chua vón cục được tạo ra.

[0082]

Để làm giống vi khuẩn axit lactic, ví dụ, vi khuẩn axit lactic mà thường được sử dụng để sản xuất sữa chua, như *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus lactis* và *Streptococcus thermophilus*, có thể được sử dụng. Khi độ pH đạt tới giá trị đích, sữa chua vón cục tạo ra được nghiền bằng cách khuấy và làm lạnh đến 10°C hoặc thấp hơn, và sản phẩm lên men đã thu được. Bằng cách làm lạnh đến 10°C hoặc thấp hơn, hoạt tính của vi khuẩn axit lactic có thể được giảm đi, và sự tạo thành axit có thể được ức chế.

[0083]

Tiếp theo, sản phẩm lên men thu được bằng bước lên men được xử lý nhiệt, và sản phẩm lên men sau khi xử lý nhiệt đã thu được. Bằng cách gia nhiệt thích hợp sản phẩm lên men, sự tạo thành axit bởi vi khuẩn axit lactic trong sản phẩm lên men sau khi xử lý nhiệt có thể được ức chế. Do đó, sự giảm độ pH trong bước điều chế sau đó và /hoặc trong quá trình bảo quản sữa lên men cô đặc có thể được ngăn chặn, và do đó, khả năng sống của chủng vi khuẩn *Bifidobacterium* có thể được cải thiện.

[0084]

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*, LNT, 2'-FL, 3'-SL và 6'-SL được bổ sung vào sản phẩm lên men sau khi gia nhiệt thu được bằng bước xử lý nhiệt. Lượng *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được bổ sung, so với sản phẩm lên men sau khi xử lý nhiệt, tốt hơn là nằm trong khoảng từ  $1 \times 10^7$  đến  $1 \times 10^{11}$  CFU/ml, tốt hơn nữa là  $1 \times 10^8$  đến  $1 \times 10^{10}$  CFU/ml. Khi *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* là vi khuẩn đã chết, CFU/ml có thể được thay bằng số tế bào/ml.

[0085]

Sau khi bổ sung *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* và các HMO vào sản phẩm lên men sau khi xử lý nhiệt, hỗn hợp này được cô đặc. Bước cô đặc có thể được thực hiện thích hợp bằng cách sử dụng phương pháp cô đặc đã biết. Bằng phương pháp ly tâm, váng sữa trong sản phẩm cần cô đặc (sản phẩm lên men sau khi gia nhiệt chứa chủng vi khuẩn *Bifidobacterium* và thức ăn cho lợi khuẩn) được loại bỏ, và sữa lên men cô đặc có nồng độ theo hàm lượng chất rắn tăng và chứa *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* và các HMO được sử dụng theo sáng chế đã thu được. Bằng cách uống sữa lên men thu được này, hệ vi khuẩn đường ruột có thể được cải thiện.

[0086]

Ví dụ điều chế 4

Phương pháp điều chế sữa công thức chứa *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* và các HMO được sử dụng theo sáng chế được thể hiện dưới đây.

Trong 300kg nước ấm, 10kg bột protein váng sữa bò đã loại muối (được sản xuất bởi MILEI GmbH), 6kg bột casein sữa bò (được sản xuất bởi Fonterra Co-operative Group), 48kg lactoza (được sản xuất bởi MILEI GmbH), 920g hỗn hợp chất khoáng (được sản xuất bởi Tomita Pharmaceutical Co., Ltd), 32g hỗn hợp vitamin (được sản xuất bởi Tanabe Seiyaku Co., Ltd.), 500g lactuloza (được sản xuất bởi Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), 500g rafinoza (được sản xuất bởi Nippon Beet Sugar Manufacturing Co., Ltd.) và 900g xirô galactooligosacarit (được sản xuất bởi Yakult Pharmaceutical Industry Co., Ltd.) được hòa tan và được gia nhiệt và hòa tan thêm ở 90°C trong 10 phút, và sau đó bổ sung 28kg chất béo cải biến (được sản xuất bởi Taiyo Yushi Corp.), hỗn hợp này được làm đồng nhất. Sau đó, sau các bước tiệt trùng và cô đặc, hỗn hợp này được sấy phun, và khoảng 95kg sữa cải biến được điều chế. Sữa cải biến này được bổ sung 100g bột vi khuẩn *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* được nghiền trong tinh bột, LNT, LNT, 2'-FL, 3'-SL và 6'-SL, và khoảng 95kg sữa công thức được điều chế. Sữa công thức thu được này được hòa tan trong nước, và dung dịch sữa cải biến có tổng nồng độ theo hàm lượng chất rắn dưới dạng nồng độ của sữa công thức chuẩn là 14% (trọng lượng/thể tích) đã thu được. Liên quan đến số lượng vi khuẩn *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* trong dung dịch sữa công thức thu được,

$2,7 \times 10^9$  CFU/100 ml có thể thu được. Bằng cách sử dụng sữa công thức thu được như được mô tả ở trên, sự phát triển của lợi khuẩn trong ruột có thể được thúc đẩy.

[0087]

Bằng cách sử dụng chế phẩm, chế phẩm được, sữa lên men hoặc sữa công thức được tạo ra trong các ví dụ điều chế 1 đến 4 nêu trên cho người, *Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* phát triển trong ruột, dẫn đến việc cải thiện hệ vi khuẩn đường ruột.

Đơn này yêu cầu hưởng quyền ưu tiên từ Đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế số 2020-007101 nộp ngày 20/1/2020 tại Nhật Bản và nội dung của nó được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

### 1. Chế phẩm bao gồm:

hỗn hợp oligosacarit sữa người chứa

lacto-N-neotetraosa,

lacto-N-tetraosa,

2'-fucosyllactosa,

3'-sialyllactosa,

6'-sialyllactosa, và

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis* NITE BP-02623.

### 2. Chế phẩm theo điểm 1,

trong đó hỗn hợp oligosacarit sữa người chứa

lacto-N-neotetraosa với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 10% khối lượng,

lacto-N-tetraosa với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 20% khối lượng,

2'-fucosyllactosa với lượng nằm trong khoảng từ 55 đến 75% khối lượng,

3'-sialyllactosa với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng, và

6'-sialyllactosa với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 15% khối lượng.

### 3. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc điểm 2,

trong đó hỗn hợp oligosacarit sữa người còn chứa difucosyllactosa hoặc 3'-fucosyllactosa.

### 4. Chế phẩm theo điểm 3,

trong đó hỗn hợp oligosacarit sữa người chứa difucosyllactosa hoặc 3'-fucosyllactosa với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng.

### 5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó chế phẩm này còn chứa lactosa.

### 6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chế phẩm này là thực phẩm hoặc chế phẩm uống hoặc chế phẩm dinh dưỡng.

7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chế phẩm này là sửa công thức.



FIG. 1

*Bifidobacterium longum* phân loài *infantis*

