

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202191254** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.11.25

(51) Int. Cl. *C07H 3/06* (2006.01)
A23K 20/163 (2016.01)
A23L 33/125 (2016.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.11.08

(54) ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И КОМПОЗИЦИИ

(31) 62/757,233; 62/757,486

(32) 2018.11.08

(33) US

(86) PCT/US2019/060463

(87) WO 2020/097458 2020.05.14

(71) Заявитель:

МИДОРИ ЮЭсЭй, ИНК. (US); ДСМ
АйПи АССЕТС, Б.В. (NL); КАЛЕЙДО
БАЙОСАЙЕНСИЗ, ИНК. (US)

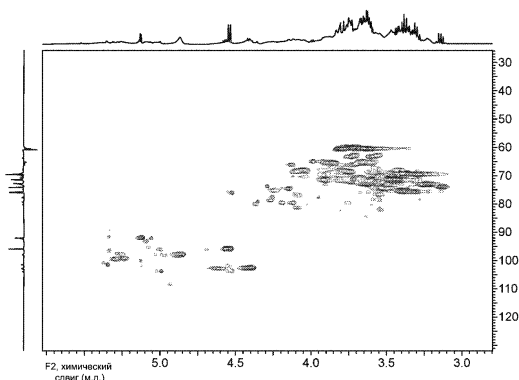
(72) Изобретатель:

Джеремиа Джон М. (US), Хёллер
Ульрих (NL), Тамбурини Ян (US),
Баур Мануэла (NL), Любомиров
Анастасия В. (US), Кане-Мартинес
Эстель (NL), Лю Кристофер Мэтью
(US), Лапраде Лиза Энн, Шинс Гислен
(NL), Хехт Максвел Б. (US), Хайнц
Рудигер (NL), Хартман Мэдлин,
Анталек Митчел Тайлер (US)

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретение относится к олигосахаридным препаратам, подходящим для использования в питательных композициях, таких как корм для животных, и к способам производства описанных олигосахаридных препаратов. Настоящее изобретение также относится к питательным композициям, которые содержат олигосахаридные препараты. Раскрытые олигосахаридные препараты могут быть полезными в качестве корма для животных благодаря, по меньшей мере частично, их пребиотической ценности и присутствию олигосахаридов, содержащих ангидросубъединицы, которые можно использовать для обнаружения и/или определения присутствия и содержания раскрытых олигосахаридных препаратов в питательной композиции.



202191254
A1

202191254

A1

ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И КОМПОЗИЦИИ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет для предварительной заявки на патент США № 62/757,233 и предварительной заявки на патент США №62/757,486, поданных 8 ноября 2018, раскрытие которых включено в настоящее описание посредством ссылки во всей полноте.

Уровень техники

Олигосахариды представляют собой гетерогенную группу углеводов с различной степенью полимеризации. Композиции олигосахаридов можно получать естественным путем, например, в молоке, или синтезировать с помощью ферментативных или химических процессов. В зависимости от процесса производства полученные олигосахаридные композиции могут обладать различными химическими и/или физическими свойствами. Ферментативный гидролиз длинноцепочечных олигосахаридов и полисахаридов может производить олигосахариды посредством специфических расщеплений в мягких условиях реакции. Однако использование ферментов в промышленных процессах ограничено их термостабильностью, и ферментативные методы могут генерировать побочные продукты разложения, которые вызывают метаболические проблемы при употреблении домашней птицей, свиньями и другими домашними животными. С другой стороны, химический гидролиз олигосахаридов и полисахаридов с более длинной цепью может потребовать жестких условий реакции, и трудно контролировать химические и/или физические свойства олигосахаридов, полученных в процессе химического гидролиза. Соответственно, остается потребность в производстве олигосахаридных композиций с необходимыми свойствами.

Олигосахаридные препараты, которые обычно могут включать моносахариды, олигосахариды, полисахариды, функционализированные олигосахариды или их комбинации, используются в качестве добавок в питательных композициях, таких как корм для животных. Добавление олигосахаридных препаратов позволяет улучшить здоровье и продуктивность животного. Однако обнаружить или количественно определить добавку олигосахаридного препарата в питательной композиции сложно, поскольку питательные композиции обычно содержат другие источники углеводов, которые могут иметь структурное сходство с олигосахаридными препаратами. В результате существует потребность в способах селективной детекции или количественного определения олигосахаридных препаратов в питательной композиции.

Сущность изобретения

В настоящей заявке предложены синтетические олигосахаридные препараты, которые включают олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы. Раскрытые олигосахаридные препараты могут быть полезными в качестве добавки в питательную композицию для кормов для животных, например, благодаря их пребиотической ценности и присутствию олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, которые можно использовать для детекции и/или определения присутствия и содержания раскрытых олигосахаридных препаратов в питательной композиции для животных. Соответственно, в настоящей заявке представлены питательные композиции для животных, содержащие описанные олигосахаридные препараты, присутствие и содержание которых в питательной композиции может быть обнаружено или определено, например, с помощью олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, таких как моносахариды, содержащие ангидро-субъединицы, и/или дисахариды, содержащие ангидро-субъединицы. Кроме того, в настоящей заявке раскрыт способ производства олигосахаридного препарата, включающего олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления способ производства включает регулирование содержания воды, времени реакции и температуры реакции во время реакции полимеризации и/или конденсации сахаров.

В одном аспекте в настоящей заявке раскрыт синтетический олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции от DP1 до DP n), где n является целым числом больше 3; где каждая фракция DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии. В другом аспекте в настоящей заявке раскрыт синтетический олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции от DP1 до DP n), где n является целым числом больше 3; где каждая фракция DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной масс-спектрометрией. В некоторых вариантах осуществления относительное содержание олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления n составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,

15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, или 100. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее чем 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 включает менее 15%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее чем 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по

относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее чем 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает примерно от 0,1% или 0,5% до 10% или 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция по меньшей мере из n фракций олигосахаридов включает менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более чем 2% 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых

вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более чем 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция по меньшей мере из n фракций олигосахаридов включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления более 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, содержат только одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 примерно от 1% до 40% по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 примерно от 1% до 35% по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 примерно от 1% до 30% по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP4 примерно от 0,1% до 20% по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 примерно от 0,1% до 15% по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP2 к фракции DP1 составляет примерно от 0,02 до 0,40 по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP3 к фракции DP2 составляет примерно от 0,01 до 0,30 по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления совокупное содержание фракций DP1 и DP2 в олигосахаридном препарате составляет менее 50%, менее 40% или менее 30% по массе, при определении жидкостной хроматографией. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере 10^3 , по меньшей мере 10^4 , по меньшей мере 10^5 , по меньшей мере 10^6 или по меньшей мере 10^9 различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления два или более независимых олигосахаридов содержат разные ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления каждый из олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, включает одну или несколько ангидро-субъединиц, которые являются продуктами термической дегидратации моносахаридов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько

ангидро-субъединиц, выбранных из ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтросы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-талозы, ангидро-аллозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-рамнозы, ангидро-ликсозы и ангидро-ксилозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц из ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 содержит ангидро-субъединицы 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы или 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 содержит ангидро-субъединицы как 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы, так и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, примерно от 9:1 до 1:10, примерно от 8:1 до 1:10, примерно от 7:1 до 1:10, примерно от 6:1 до 1:10, примерно от 5:1 до 1:10, примерно от 4:1 до 1:10, примерно от 3:1 до 1:10, примерно от 2:1 до 1:10, примерно от 10:1 до 1:9, примерно от 10:1 до 1:8, примерно от 10:1 до 1:7, примерно от 10:1 до 1:6, примерно от 10:1 до 1:5, примерно от 10:1 до 1:4, примерно от 10:1 до 1:3, примерно от 10:1 до 1:2 или примерно от 1:1 до 3:1 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, примерно 9:1, примерно 8:1, примерно 7:1, примерно 6:1, примерно 5:1, примерно 4:1, примерно 3:1, примерно 2:1, примерно 1:1, примерно 1:2, примерно 1:3, примерно 1:4, примерно 1:5, примерно 1:6, примерно 1:7, примерно 1:8, примерно 1:9 или примерно 1:10 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает по меньшей мере 5 видов олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает примерно от 5 до 10 видов олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 включает примерно от 2 до 20 видов олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 не содержит целлобиозана на обнаруживаемом уровне, при определении с помощью ВЭЖХ-МС. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает один или несколько продуктов карамелизации сахара. В некоторых вариантах осуществления продукты карамелизации сахара выбраны из группы, состоящей из метанола; этанола; фурана; метилглиоксаля; 2-метилфурана; винулацетата; гликольальдегида; уксусной кислоты;

ацетола; фурфурола; 2-фуранметанола; 3-фуранметанола; 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она; 5-метилфурфурола; 2(5H)-фуранона; 2-метилциклопентенолона; левоглюкозенона; циклического гидроксил-лактона; 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы; диангидроглюкопиранозы; и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf). В некоторых вариантах осуществления более 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицу, содержат ангидро-субъединицу на конце цепи. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет средневесовую молекулярную массу примерно от 300 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 5000 г/моль, примерно от 700 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 2000 г/моль, примерно от 400 до 1300 г/моль, примерно от 400 до 1200 г/моль, примерно от 400 до 1100 г/моль, примерно от 500 до 1300 г/моль, примерно от 500 до 1200 г/моль, примерно от 500 до 1100 г/моль, примерно от 600 до 1300 г/моль, примерно от 600 до 1200 г/моль или примерно от 600 до 1100 г/моль, при определении с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет средневесовую молекулярную массу примерно от 300 до 2500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет средневесовую молекулярную массу примерно от 500 до 2000 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет средневесовую молекулярную массу примерно от 500 до 1500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу примерно от 300 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 5000 г/моль, примерно от 700 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 2000 г/моль, г/моль, примерно от 700 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 2000 г/моль, примерно от 400 до 1000 г/моль, примерно от 400 до 900 г/моль, примерно от 400 до 800 г/моль, примерно от 500 до 900 г/моль или примерно от 500 до 800 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу примерно от 300 до 2500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу примерно от 500 до 2000 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу примерно от 500 до 1500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат

имеет средневесовую молекулярную массу примерно от 2000 до 2800 г/моль, примерно от 2100 до 2700 г/моль, примерно от 2200 до 2600 г/моль, примерно от 2300 до 2500 г/моль. г/моль или примерно от 2320 до 2420 г/моль. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу примерно от 1000 до 2000 г/моль, примерно от 1100 до 1900 г/моль, примерно от 1200 до 1800 г/моль, примерно от 1300 до 1700 г/моль, примерно от 1400 до 1600 г/моль или примерно от 1450 до 1550 г/моль. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит моносахаридную субъединицу, выбранную из арабинозы, ликсозы, рибозы, ксилозы, аллозы, альтрозы, маннозы, гулозы, идозы, галактозы, талозы, психозы, фруктозы, сорбозы и тагатозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит моносахаридную субъединицу, выбранную из ксилозы, маннозы, галактозы и фруктозы.

В одном аспекте в настоящей заявке представлена питательная композиция, содержащая описанный здесь олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления питательная композиция включает основную питательную композицию. В некоторых вариантах осуществления питательная композиция представляет собой кормовую композицию для животных.

В одном аспекте в настоящей заявке обеспечен способ, включающий применение у животного питательной композиции, содержащей основную питательную композицию и описанный здесь олигосахаридный препарат.

В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции от DP1 до DP n), где n является целым числом больше 2; и где каждая фракция включает от 1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении масс-спектрометрией. В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции DP1-DP n), где n является целым числом больше 3; и где каждая фракция включает от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со

степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления n составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, или 100. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления более 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%,

50%, 45%, 40%, 35% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 от 1 до 40% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 от 1 до 35% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 от 1 до 30% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP4 от 0,1 до 20% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 от 0,1 до 15% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP2 к фракции DP1 составляет 0,02-0,40 по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP3 к фракции DP2 составляет 0,01-0,30 по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления совокупное содержание фракций DP1 и DP2 в олигосахаридном препарате составляет менее 50, 30 или 10% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает по меньшей мере 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 или 10^9 различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления два или более независимых олигосахарида содержат разные ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые являются продуктами термической дегидратации моносахаридов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц из ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтросы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-галозы, ангидро-аллозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-рамнозы, ангидро-ликсозы и ангидро-ксилозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц из ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 содержит одну или несколько ангидро-субъединиц 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы или 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 содержит ангидро-субъединицы как 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы, так и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1

до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2, или от 1:1 до 3:1 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 или 1:10 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2, или от 1:1 до 3:1 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9, или 1:10 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% ангидро-субъединиц выбраны из группы, состоящей из 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые представляют собой продукты карамелизации сахара. В некоторых вариантах осуществления продукты карамелизации сахара выбраны из группы, состоящей из метанола; этанола; фурана; метилглиоксаля; 2-метилфурана; винулацетата; гликольальдегида; уксусной кислоты; ацетона; фурфурола; 2-фуранметанола; 3-фуранметанола; 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она; 5-метилфурфурола; 2(5H)-фуранона; 2-метилциклопентенолона; левоглюкозенона; циклического гидроксил-лактона; 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы; диангидроглюкопиранозы; и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf). В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,1% до 5%, от 0,1% до 2% или от 0,1% до 1% ангидро-субъединиц в препарате являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления более 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицу, содержат ангидро-субъединицу на конце цепи. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500

г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1300 г/моль, от 400 до 1200 г/моль, от 400 до 1100 г/моль, от 500 до 1300 г/моль, 500 до 1200 г/моль, от 500 до 1100 г/моль, от 600 до 1300 г/моль, от 600 до 1200 г/моль или от 600 до 1100 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленная молекулярная масса препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1000 г/моль, от 400 до 900 г/моль, от 400 до 800 г/моль, от 500 до 900 г/моль, или от 500 до 800 г/моль. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса препарата составляет примерно от 2000 до 2800 г/моль, от 2100 до 2700 г/моль, от 2200 до 2600 г/моль, от 2300 до 2500 г/моль или от 2320 до 2420 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленная молекулярная масса препарата составляет примерно от 1000 до 2000 г/моль, от 1100 до 1900 г/моль, от 1200 до 1800 г/моль, от 1300 до 1700 г/моль, от 1400 до 1600 г/моль или от 1450 до 1550 г/моль.

В настоящей заявке предложена питательная композиция, содержащая описанный здесь олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления питательная композиция дополнительно содержит основную питательную композицию. Кроме того, в настоящей заявке предложен способ, включающий применение у животного питательной композиции, содержащей основную питательную композицию и описанный здесь олигосахаридный препарат. В настоящей заявке предложен способ производства олигосахаридного препарата, включающий нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации, при этом катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, N- (2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты), HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, б-сульфохинозозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина,

метионина, фенилаланина, тирозина, и триптофана, и где олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 3 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100, например, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40 или 50. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции, как определено относительным стандартным отклонением ряда K_m менее

$$K_m = \frac{[DP_m][H_2O]}{[DP_{m-1}][DP_1]}$$

15%, 10% или 5%, и где m представляет собой целое число больше 1, но равное n или менее, ряд K_m включает не менее 5 чисел K_m , $[H_2O]$ представляет собой молярную концентрацию воды, а $[DP_1]$, $[DP_{m-1}]$ и $[DP_m]$ представляют собой молярные концентрации олигосахаридов во фракциях DP1, DP_{m-1} и DP_m, соответственно. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции, определяемого изменением средневесовой молекулярной массы водной композиции менее чем на 15% в течение периода 1 часа.

В настоящей заявке предложен способ производства олигосахаридного препарата, включающий нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации и достижения равновесия водной композиции, где олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 3 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100, например, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40 или 50. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции, определяемого изменением средневесовой молекулярной массы водной композиции менее 15% в течение 1 часа. В некоторых вариантах осуществления

катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохиновозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина и триптофана. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров в количестве более 1 кг. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров включают моносахариды, дисахариды, трисахариды, тетрасахариды или их комбинации, и каждый из указанных моносахаридов, дисахаридов, трисахаридов или тетрасахаридов независимо находится в их гидратной или дегидратированной форме. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров включают глюкозу, галактозу, фруктозу, маннозу или любую их комбинацию, и где каждая из глюкозы, галактозы, фруктозы или маннозы независимо находится в своей моногидратной или дегидратированной форме. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров включают функционализированные или модифицированные сахара. В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахара включают аминсахара, сахарные кислоты, сахароспирты, амиды сахаров, простые эфиры сахаров или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахара включают глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, глюкуроновую кислоту, галактуоновую кислоту, глюцитол, ксилитол, маннитол, сорбитол или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров включают дезоксисахара. В некоторых вариантах осуществления дезоксисахара включают фукозу, рамнозу, дезоксирибозу, фукулозу или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления катализатор присутствует в количестве примерно от 0,01% до 5%, от 0,02% до 4%, от 0,03% до 3% или от 0,05% до 2% одного или более кормовых сахаров по

массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления катализатор присутствует в количестве примерно от 1% до 2% одного или нескольких кормовых сахаров по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления катализатор добавляют в водную композицию в сухой или влажной форме. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление воды для образования водной композиции. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 2% до 10%, от 2% до 8% или от 4% до 8% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 4% до 8% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 100°C до 200°C, от 100°C до 180°C, от 110°C до 170°C, от 120°C до 160°C, от 130°C до 150°C или от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды примерно от 1% до 20%, от 2% до 10%, от 2% до 8% или от 4% до 8% по массе, в то время как водную композицию нагревают до температуры и в течение времени, достаточного для индукции полимеризации. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды путем перегонки при атмосферном давлении. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для того, чтобы водная композиция достигла среднечисленной молекулярной массы примерно от 500 до 2000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения водной композицией средневесовой молекулярной массы примерно от 700 до 3000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления полимеризацию обеспечивают путем поликонденсации. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает удаление воды таким образом, чтобы водная композиция содержала примерно 9% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает разбавление, обесцвечивание, фильтрацию или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления каждая из n фракций олигосахаридного препарата включает от 1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах

осуществления питательная композиция представляет собой кормовую композицию для животных.

В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, полученный способом, включающим нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации, при этом катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохиновозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина и триптофана; где олигосахаридный препарат включает по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n представляет собой целое число, равное 2 или более, и где каждая фракция включает примерно от 0,1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной масс-спектрометрией.

В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, полученный способом, включающим нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации и достижения водной композиции равновесия, при этом олигосахаридный препарат включает по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более, и где каждая фракция включает примерно от 0,1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной масс-спектрометрией. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по

относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 3 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100, например, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40 или 50.

В настоящей заявке предложен способ производства синтетической олигосахаридной композиции, включающий: (а) нагревание водной композиции, которая содержит по меньшей мере один кормовой сахар и катализатор, до предварительно определенной температуры в течение периода времени, достаточного для индукции полимеризации указанного по меньшей мере одного кормового сахара; чтобы таким образом получить партию синтетического олигосахаридного препарата; где указанная партия включает по меньшей мере 1 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата; и где указанный синтетический олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 3 или более; и где каждая фракция указанного синтетического олигосахаридного препарата включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии; (b) измерение уровня указанного катализатора в указанной производимой партии указанного синтетического олигосахаридного препарата; (c) сравнение указанного уровня с предварительно определенным критерием приемлемости; и (d) формирование по меньшей мере части указанной партии указанного синтетического олигосахаридного препарата, только если уровень указанного катализатора в указанном препарате партии соответствует указанному предварительно определенному критерию приемлемости. В настоящей заявке предложен способ производства синтетической олигосахаридной композиции, включающий: (а) нагревание водной композиции, содержащей по меньшей мере один кормовой сахар и катализатор, до заданной температуры в течение периода времени, достаточного для индукции полимеризации указанного по меньшей мере одного кормового сахара; чтобы таким образом получить партию синтетического олигосахаридного препарата; где указанная партия включает по меньшей мере 1 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата; и где указанный синтетический олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 3 или более; и где каждая фракция указанного синтетического олигосахаридного

препарата включает от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии; (b) измерение уровня указанного катализатора в указанной производимой партии указанного синтетического олигосахаридного препарата; и (c) формирование по меньшей мере части указанной партии указанного синтетического олигосахаридного препарата, только если уровень указанного катализатора в указанном препарате партии составляет 0,1 масс.% или менее от указанной партии; для получения синтетической олигосахаридной композиции.

В некоторых вариантах осуществления указанное формирование включает регуляцию pH указанного синтетического олигосахаридного препарата, получение порошковой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата, получение твердой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата, упаковку указанного синтетического олигосахаридного препарата, маркировку указанного синтетического олигосахаридного препарата, выпуск указанного синтетического олигосахаридного препарата для продажи, или предложение для продажи или продажу указанного синтетического олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления указанное формирование включает получение порошковой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления указанная порошковая форма представляет собой стеклоподобную порошковую композицию. В некоторых вариантах осуществления указанная порошковая форма представляет собой порошковую композицию, загруженную на носитель. В некоторых вариантах осуществления указанное формирование включает получение твердой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления указанного формирования включает экструзию указанного синтетического олигосахаридного препарата с получением экструдированной твердой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления указанного формирования катализатор выбран из группы, состоящей из (+)-камфор-10-сульфонової кислоты; 2-пиридинсульфонової кислоты; 3-пиридинсульфонової кислоты; 8-гидрокси-5-хинолинсульфонової кислоты гидрата; α -гидрокси-2-пиридинметансульфонової кислоты; (β)-камфор-10-сульфонової кислоты; бутилфосфонової кислоты; дифенилфосфинової кислоты; гексилфосфонової кислоты; метилфосфонової кислоты; фенилфосфинової кислоты; фенилфосфонової кислоты; трет-бутилфосфонової кислоты; (S)-VAPOL-гидрофосфата; 6-хинолинсульфонової кислоты, 3-(1-пиридино)-1-пропансульфоната; 2-(2-пиридинил)этансульфонової кислоты; 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-п,п'-дисульфоновой кислоты моноватриевой соли гидрата; 1,1'-бинафтил-2,2'-диил-гидрофосфата; бис(4-метоксифенил)фосфинової кислоты; фенил(3,5-ксилил)фосфинової

кислоты; L-цистеиновой кислоты моногидрата; поли(стиролсульфоновой кислоты-со-дивинилбензола); лизина; этандисульфоновой кислоты; этансульфоновой кислоты; изетионовой кислоты; гомоцистеиновой кислоты; HEPBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)); HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты); 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоновой кислоты; 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты; метансульфоновой кислоты; метаниазида; нафталин-1-сульфоновой кислоты; нафталин-2-сульфоновой кислоты; перфторбутансульфоновой кислоты; 6-сульфохинозовы; трифликовой кислоты; 2-аминоэтансульфоновой кислоты; бензойной кислоты; хлоруксусной кислоты; трифторуксусной кислоты; капроновой кислоты; энантовой кислоты; каприловой кислоты; пеларгоновой кислоты; лауриновой кислоты; пальмитиновой кислоты; стеариновой кислоты; арахидиновой кислоты; аспарагиновой кислоты; глутаминовой кислоты; серина; треонина; глутамина; цистеина; глицина; пролина; аланина; валина; изолейцина; лейцина; метионина; фенилаланина; тирозина и триптофана. В некоторых вариантах осуществления указанный катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, HEPBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохинозовы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина и триптофана.

В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия указанной водной композиции, при этом равновесие определяется относительным стандартным отклонением ряда K_m менее 15%, 10% или 5%, и где m представляет собой целое число больше 1, но равное n или менее, ряд K_m включает не менее 5 чисел K_m , $[H_2O]$ представляет собой молярную концентрацию воды, а $[DP_1]$, $[DP_{m-1}]$ и $[DP_m]$ представляют собой молярные концентрации олигосахаридов во

фракциях DP1, DPm-1 и DPm, соответственно. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение по меньшей мере 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов или 10 часов. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение по меньшей мере 6 часов. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение по меньшей мере 10 часов. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции от 1 до 24 часов, от 1 до 16 часов, от 1 до 8 часов, от 1 до 4 часов, от 1 до 3 часов, от 1 до 2 часов, от 2 до 12 часов, от 2 до 10 часов, от 2 до 8 часов, от 2 до 6 часов, от 2 до 4 часов, от 3 до 8 часов, от 3 до 6 часов, от 3 до 5 часов, от 3 до 4 часов, от 4 до 24 часов, от 4 до 16 часов, от 4 до 12 часов, от 4 до 10 часов, от 4 до 8 часов, от 4 до 6 часов, от 5 до 24 часов, от 5 до 16 часов, от 5 до 12 часов, от 5 до 10 часов, от 5 до 8 часов, от 5 до 6 часов, от 6 до 24 часов, от 6 до 16 часов, от 6 до 12 часов, от 6 до 10 часов или от 6 до 8 часов. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение 5-12 часов. В некоторых вариантах осуществления способ включает измерение вязкости, содержания воды, среднечисленной молекулярной массы (MWn), средневесовой молекулярной массы (MWw), содержания ангидро-субъединиц, распределения степени полимеризации, выделенного водного конденсата, содержания воды в реакции, общего содержания растворенных твердых веществ, остаточного содержания мономеров, pH, плотности или цвета указанной водной композиции во время указанного нагревания. В некоторых вариантах осуществления указанное измерение используют для определения указанного периода времени, достаточного для индукции полимеризации. В некоторых вариантах осуществления указанное содержание ангидро-субъединиц находится во фракции DP1 или фракции DP2. В некоторых вариантах осуществления указанное содержание ангидро-субъединиц определяют с помощью ЖХ-МС/МС. В некоторых вариантах осуществления указанную среднечисленную молекулярную массу (MWn) определяют с помощью хроматографии ВЭЖХ/ГПХ. В некоторых вариантах осуществления указанную средневесовую молекулярную массу (MWw) определяют хроматографией ВЭЖХ/ГПХ. В некоторых вариантах осуществления указанное общее содержание растворенных твердых веществ определяют титрованием по Карлу Фишеру. В некоторых вариантах осуществления указанную вязкость определяют с использованием вискозиметра или реометра. В некоторых вариантах осуществления указанное содержание воды определяют с использованием метода выпаривания, метода дистилляции или метода химической

реакции. В некоторых вариантах осуществления указанный способ химической реакции представляет собой титрование по Карлу Фишеру. В некоторых вариантах осуществления указанное содержание воды определяют с использованием анализатора влажности, ИК-спектроскопии или БИК-спектроскопии. В некоторых вариантах осуществления указанная партия содержит по меньшей мере 10 кг, 100 кг, 1000 кг, 5000 кг, 10000 кг, 20000 кг, 30000 кг, 40000 кг, 50000 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления указанная партия включает по меньшей мере 5000 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления указанный предварительно определенный критерий приемлемости представляет собой предварительно определенное содержание в масс.% указанного катализатора в указанной партии. В некоторых вариантах осуществления указанное содержание в масс.% составляет менее 1 масс.%, 0,9 масс.%, 0,8 масс.%, 0,7 масс.%, 0,6 масс.%, 0,5 масс.%, 0,4 масс.%, 0,3 масс.%, 0,2 масс.% или 0,1 масс.%. В некоторых вариантах осуществления указанный предварительно определенный критерий приемлемости является коммерческой спецификацией выпуска. В некоторых вариантах осуществления указанный кормовой сахар включает функционализированные или модифицированные сахара. В некоторых вариантах осуществления указанные функционализированные или модифицированные сахара включают аминсахара, сахарные кислоты, амиды сахаров или простые эфиры сахаров, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления указанные функционализированные или модифицированные сахара включают глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, глюкуроновую кислоту или галактуроновую кислоту, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления указанный кормовой сахар содержит дезоксисахара. В некоторых вариантах осуществления дезоксисахара включают фукозу, рамнозу, дезоксирибозу или фукулозу, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления указанный кормовой сахар включает глюкозу, ксилозу, галактозу, маннозу, мальтодекстрин, арабинозу, лактозу, сахарозу или трегалозу, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции, которая содержит по меньшей мере два, три, четыре или пять кормовых сахаров и катализатор, до заданной температуры в течение периода времени, достаточного для индукции полимеризации указанного по меньшей мере одного кормового сахара. В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции, которая содержит по меньшей мере два кормовых сахара. В некоторых вариантах осуществления каждый из указанных по меньшей мере двух кормовых сахаров включает глюкозу, ксилозу,

галактозу, маннозу, мальтодекстрин, арабинозу, лактозу, сахарозу или трегалозу, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления каждый из указанных по меньшей мере двух, трех, четырех или пяти кормовых сахаров включает глюкозу, ксилозу, галактозу, маннозу, мальтодекстрин, арабинозу, лактозу, сахарозу или трегалозу, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды путем перегонки при атмосферном давлении. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды путем добавления воды. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в диапазоне примерно от 2%, 3%, 4% или 5% до примерно 6%, 7%, 8% или 9%, при измерении по среднему содержанию воды до и после реакции. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в диапазоне примерно от 2% до 8%, при измерении по среднему содержанию воды до и после реакции. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP указанного олигосахаридного препарата монотонно снижается со степенью его полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций указанного олигосахаридного препарата олигосахаридов монотонно снижается со степенью его полимеризации. В некоторых вариантах осуществления n составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата содержит примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах

осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13 %, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция указанного олигосахаридного препарата содержит менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14 %, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает примерно 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата содержит менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата содержит примерно 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах

осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью MALDI-MS, ЖХ-МС/МС или ГХ/МС. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция указанного препарата олигосахаридов содержит менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция указанного олигосахаридного препарата содержит примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция указанного олигосахарида включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14 %, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата

олигосахаридов включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления более 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления примерно 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 от 1 до 40% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 от 1 до 35% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 от 1 до 30% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP4 от 0,1 до 20% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 от 0,1 до 15% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает фракцию DP2 и фракцию DP1, где отношение указанной фракции DP2 к указанной фракции DP1 составляет 0,02-0,40 по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает фракцию DP3 и фракцию DP2, где отношение указанной фракции DP3 к указанной фракции DP2 в указанном олигосахаридном препарате составляет 0,01-0,30 по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает фракцию DP1 и фракцию DP2, где совокупное

содержание указанных фракций DP1 и DP2 в указанном олигосахаридном препарате составляет менее 50, 30 или 10% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает по меньшей мере 1000, 5000, 10000, 20000, 30000, 40000, 50000 или 100000 различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два независимых олигосахаридов из указанного олигосахаридного препарата содержат разные ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат включает по меньшей мере один олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицу, который является продуктом термической дегидратации моносахарида. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере один олигосахарид, который включает субъединицу ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтрозы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-талозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-рамнозы, ангидро-ликсозы или ангидро-ксилозы. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну субъединицу ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну субъединицу 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы или 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну субъединицу 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и по меньшей мере одну ангидро-субъединицу 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе в указанном олигосахаридном препарате составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2, или от 1:1 до 3:1. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе в указанном олигосахаридном препарате составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9 или 1:10. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе в указанном олигосахаридном препарате составляет примерно 2:1. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1

до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2, или от 1:1 до 3:1 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9 или 1:10 в каждой фракции указанного олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в каждой фракции указанного олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% указанных ангидро-субъединиц в указанном олигосахаридном препарате выбраны из группы, состоящей из 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну ангидро-субъединицу, которая представляет собой продукт карамелизации сахара. В некоторых вариантах осуществления указанный продукт карамелизации сахара выбран из группы, состоящей из метанола; этанола; фурана; метилглиоксаля; 2-метилфурана; винилацетата; гликольальдегида; уксусной кислоты; ацетола; фурфурола; 2-фуранметанола; 3-фуранметанола; 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она; 5-метилфурфурола; 2(5H)-фуранона; 2-метилциклопентенолона; левоглюкозенона; циклического гидроксил-лактона; 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы; диангидроглюкопиранозы; и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf). В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,1% до 5%, от 0,1% до 2% или от 0,1% до 1% указанных ангидро-субъединиц в указанном олигосахаридном препарате являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, в указанном олигосахаридном препарате содержат концевую ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления примерно 1%-100%, 1%-99%, 1%-90%, 1%-80%, 1%-70%, 1%-60%, 1%-50%, 1%-40%, 1%-30%, 1%-20%, 1%-10%, 1%-5%, 1%-4%, 1%-3%, 1%-2%, 10%-100%, 10%-99%, 10%-90%, 10%-80%, 10%-70%, 10%-60%, 10%-50%, 10%-40%, 10%-30%, 10%-20%, 20%-100%, 20%-99%, 20%-90%, 20%-80%, 20%-70%, 20%-60%, 20%-50%, 20%-40% или 20-30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, в указанном олигосахаридном препарате содержат ангидро-субъединицу на конце цепи. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1300 г/моль, от

400 до 1200 г/моль, от 400 до 1100 г/моль, от 500 до 1300 г/моль, от 500 до 1200 г/моль, от 500 до 1100 г/моль, от 600 до 1300 г/моль, от 600 до 1200 г/моль или от 600 до 1100 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленная молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1000 г/моль, от 400 до 900 г/моль, от 400 до 800 г/моль, от 500 до 900 г/моль, или от 500 до 800 г/моль. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 2000 до 2800 г/моль, от 2100 до 2700 г/моль, от 2200 до 2600 г/моль, от 2300 до 2500 г/моль или от 2320 до 2420 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленная молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 1000 до 2000 г/моль, от 1100 до 1900 г/моль, от 1200 до 1800 г/моль, от 1300 до 1700 г/моль, от 1400 до 1600 г/моль или от 1450 до 1550 г/моль.

В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции DP1-DP n), где n является целым числом больше 2; и где каждая фракция включает от 1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления n составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих

ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция содержит менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция содержит менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция содержит более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления более 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 от 1 до 40% по относительной распространенности. В некоторых вариантах

осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 от 1 до 35% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 от 1 до 30% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет относительное фракции DP4 от 0,1 до 20% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 от 0,1 до 15% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP2 к фракции DP1 составляет 0,02-0,40 по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP3 к фракции DP2 составляет 0,01-0,30 по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления совокупное содержание фракций DP1 и DP2 в олигосахаридном препарате составляет менее 50, 30 или 10% по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает по меньшей мере 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 или 10^9 различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления два или более независимых олигосахаридов содержат разные ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые являются продуктами обратимой термической дегидратации моносахаридов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит один или несколько субъединиц из ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтросы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-талозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-рамнозы, ангидро-ликсозы или ангидро-ксилозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы или 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит ангидро-субъединицы как 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы, так и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2, или от 1:1 до 3:1 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1,

9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9 или 1:10 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2, или от 1:1 до 3:1 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9 или 1:10 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% ангидро-субъединиц выбраны из группы, состоящей из 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые представляют собой продукты карамелизации сахара. В некоторых вариантах осуществления продукты карамелизации сахара выбраны из группы, состоящей из метанола, этанола, фурана, метилглиоксаля, 2-метилфурана, винилацетата, гликоль-альдегида, уксусной кислоты, ацетола, фурфурола, 2-фуранметанола, 3-фуранметанола, 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она, 5-метил-фурфурола, 2(5H)-фуранона, 2-метилциклопентенолона, левоглюкозенона, циклического гидроксилактона, 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы, диангидроглюкопиранозы и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит субъединицы 5-hmf. В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,1% до 5%, от 0,1% до 2% или от 0,1% до 1% ангидро-субъединиц в препарате являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления более 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, содержат ангидро-субъединицу на конце цепи. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1300 г/моль, от 400 до 1200 г/моль, от 400 до 1100 г/моль, от 500 до 1300 г/моль, 500 до 1200 г/моль, от 500 до 1100 г/моль, от 600 до 1300 г/моль, от 600 до 1200 г/моль или от 600 до 1100 г/моль. В некоторых вариантах

осуществления среднечисленная молекулярная масса препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1000 г/моль, от 400 до 900 г/моль, от 400 до 800 г/моль, от 500 до 900 г/моль, или от 500 до 800 г/моль. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса препарата составляет примерно от 2000 до 2800 г/моль, от 2100 до 2700 г/моль, от 2200 до 2600 г/моль, от 2300 до 2500 г/моль или от 2320 до 2420 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленная молекулярная масса препарата составляет примерно от 1000 до 2000 г/моль, от 1100 до 1900 г/моль, от 1200 до 1800 г/моль, от 1300 до 1700 г/моль, от 1400 до 1600 г/моль, или от 1450 до 1550 г/моль. В настоящей заявке предложена питательная композиция, содержащая описанный здесь олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления питательная композиция дополнительно включает основную питательную композицию. Кроме того, в настоящей заявке предлагается способ, включающий применение у животного питательной композиции, содержащей основную питательную композицию и описанный здесь олигосахаридный препарат.

В настоящей заявке предложен способ производства синтетического олигосахаридного препарата, включающий нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации, при этом катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохиновозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, и триптофана, и где олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn),

где n является целым числом, равным 2 или более. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции, как определено относительным стандартным

$$K_m = \frac{[DP_m][H_2O]}{[DP_{m-1}][DP_1]}$$

отклонением ряда K_m менее 15%, 10% или 5%, и где m представляет собой целое число больше 1, но меньше или равно n , ряд K_m включает не менее 5 чисел K_m , $[H_2O]$ представляет собой молярную концентрацию воды, а $[DP_1]$, $[DP_{m-1}]$ и $[DP_m]$ представляют собой молярные концентрации олигосахаридов во фракциях DP_1 , DP_{m-1} и DP_m , соответственно. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции, что определяется изменением средневесовой молекулярной массы водной композиции менее чем на 15% в течение периода 1 час. В настоящей заявке предложен способ производства олигосахаридного препарата, включающий нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации и для достижения равновесия водной композиции, при этом олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP_1) до n (фракция DP_n), где n является целым числом, равным 2 или более. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия водной композиции, определяемого изменением средневесовой молекулярной массы водной композиции менее чем на 15% в течение 1 часа. В некоторых вариантах осуществления катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохинозольной кислоты, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой

кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамин, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, и триптофана. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров в количестве более 1 кг. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров включают моносахариды, дисахариды, трисахариды, тетрасахариды или их комбинации, и каждый из указанных моносахаридов, дисахаридов, трисахаридов или тетрасахаридов независимо находится в их гидратной или дегидратированной форме. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу, галактозу, фруктозу, маннозу или любую их комбинацию, и где каждая из глюкозы, галактозы, фруктозы или маннозы независимо находится в своей моногидратной или дегидратированной форме. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат функционализированные или модифицированные сахара. В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахара включают аминсахара, сахарные кислоты, сахароспирты, амиды сахаров, простые эфиры сахаров, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахара включают аминсахара, сахарные кислоты, амиды сахаров, простые эфиры сахаров или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахара включают глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, глюкуроновую кислоту, галактуроновую кислоту, глюцитол, ксилитол, маннитол, сорбитол или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахара включают глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, глюкуроновую кислоту, галактуроновую кислоту или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат дезоксисахара. В некоторых вариантах осуществления дезоксисахара включают фукозу, рамнозу, дезоксирибозу, фукулозу или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления катализатор присутствует в количестве примерно от 0,01% до 5%, от 0,02% до 4%, от 0,03% до 3% или от 0,05% до 2% от одного или нескольких кормовых сахаров по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления катализатор присутствует в количестве примерно от 1% до 2% от одного или нескольких кормовых сахаров по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления катализатор добавляют в водную композицию в сухой или влажной форме. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление воды для образования водной композиции. В

некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 2% до 10%, от 2% до 8% или от 4% до 8% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 4% до 8% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 100°C до 200°C, от 100°C до 180°C, от 110°C до 170°C, от 120°C до 160°C, от 130°C до 150°C или от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды примерно от 1% до 20%, от 2% до 10%, от 2% до 8% или от 4% до 8% по массе, в то время как водную композицию нагревают до температуры и в течение времени, достаточное для индукции полимеризации. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды путем перегонки при атмосферном давлении. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды путем добавления воды. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для того, чтобы водная композиция достигла среднечисленной молекулярной массы примерно от 500 до 2000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения водной композиции средневесовой молекулярной массы примерно от 700 до 3000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления полимеризацию обеспечивают поликонденсацией. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает удаление воды таким образом, чтобы водная композиция содержала примерно 9% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает разбавление, обесцвечивание, фильтрацию или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления каждая из n фракций олигосахаридного препарата включает от 1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления относительное содержание олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления питательная композиция представляет собой кормовую композицию для животных. В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, полученный способом, включающим нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени,

достаточных для индукции полимеризации, причем катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N- (2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохинозольной кислоты, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, и триптофана, где олигосахаридный препарат включает по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более, и где каждая фракция содержит от 1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью масс-спектрометрии. В настоящей заявке предложен синтетический олигосахаридный препарат, полученный способом, включающим нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации и достижения равновесия водной композиции, при этом олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более, и где каждая фракция включает от 1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении масс-спектрометрией. В настоящей заявке предложен способ производства синтетического олигосахаридного препарата, включающий нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации и для достижения равновесия водной композиции, при этом олигосахаридный препарат включает по крайней мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более, и где равновесие

определяется относительным стандартным отклонением ряд K_m меньше 15%, 10% или

5%, и где
$$K_m = \frac{[DP_m][H_2O]}{[DP_{m-1}][DP_1]}$$
, m представляет собой целое число больше 1 и меньше или равно n , ряд K_m включает не менее 5 чисел K_m , $[H_2O]$ представляет молярную концентрацию воды, а $[DP_1]$, $[DP_{m-1}]$ и $[DP_m]$ представляют собой молярные концентрации олигосахаридов во фракциях DP_1 , DP_{m-1} и DP_m , соответственно.

Дополнительные аспекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидными для специалистов в данной области техники из следующего подробного описания, в котором показаны и описаны только иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения. Как будет понятно, настоящее раскрытие допускает другие и различные варианты осуществления, и некоторые его детали допускают модификации в различных очевидных отношениях, все без отклонения от раскрытия. Соответственно, чертежи и описание следует рассматривать как иллюстративные по своей природе, а не как ограничительные.

Включение посредством ссылки

Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в данном описании, включены сюда посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были специально и индивидуально указаны для включения посредством ссылки. В той степени, в которой публикации и патенты или заявки на патенты, включенные посредством ссылки, противоречат раскрытию, содержащемуся в описании, данное описание предназначено для замены и/или имеет преимущество над любым таким противоречащим материалом.

Краткое описание чертежей

Новые признаки изобретения подробно изложены в прилагаемой формуле изобретения. Лучшее понимание признаков и преимуществ настоящего изобретения будет получено со ссылкой на следующее подробное описание, в котором представлены иллюстративные варианты осуществления, в которых используются принципы изобретения, и прилагаемые чертежи (также «фигуры» и «Фиг.» в данном документе), где:

Фиг.1 иллюстрирует часть 2D 1H , ^{13}C -HSQC ЯМР спектра олигосахаридного препарата из Примера 7.

Фиг.2 иллюстрирует спектр MALDI-MS олигосахаридного препарата из Примера 9.7, который демонстрирует присутствие ангидро-субъединиц.

Фиг.3 иллюстрирует 1D 1H -протонный ЯМР-спектр фракции ангидро- DP_1 , выделенной из олигосахаридов из Примера 9.

Фиг.4 иллюстрирует 1D АРТ ^{13}C -ЯМР спектр фракции ангидро- DP_1 , выделенной

из олигосахарида из Примера 9.

Фиг.5 иллюстрирует назначения ЯМР 1,6-ангидро-бета-D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро-бета-D-глюкопиранозы.

Фиг.6 показывает увеличение хроматограммы ГХ-МС (графики ТИС и ХИС (m/z 229)) для олигосахаридного препарата из Примера 9.7 после дериватизации.

Фиг.7 иллюстрирует спектры MALDI-MS, сравнивающие олигосахаридный препарат из Примера 9 с обычным декстраном.

Фиг.8 показывает ЖХ-МС/МС детекцию форм ангидро-DP2 при концентрации 1-80 мкг/мл олигосахаридного препарата в воде.

Фиг.9 иллюстрирует линейную калибровочную кривую, полученную в результате ЖХ-МС/МС детекции с Фиг.8.

Фиг.10 иллюстрирует олигосахаридный препарат с монотонно уменьшающимся распределением DP, при определении с помощью эксклюзионной хроматографии.

Фиг.11 иллюстрирует олигосахаридный препарат с не-монотонно уменьшающимся распределением DP, при определении с помощью эксклюзионной хроматографии.

Фиг.12 показывает два DP1 олигосахарида и один DP2 олигосахарид, которые содержат ангидро-субъединицы.

Фиг.13 иллюстрирует олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицы (целлотриозан).

Фиг.14А иллюстрирует спектр MALDI-MS олигосахаридного препарата из Примера 2, который демонстрирует присутствие ангидро-субъединиц; Фиг.14В иллюстрирует увеличение части спектра MALDI-MS, показанного на Фиг.14А.

Фиг.15А иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 1; Фиг.15В иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP1 вида из олигосахаридного препарата из Примера 1; Фиг.15С иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 1.

Фиг.16А иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 3; Фиг.16В иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP1 вида из олигосахаридного препарата из Примера 3; Фиг.16С иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 3.

Фиг.17А иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 4; Фиг.17В иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP1 вида из олигосахаридного препарата из Примера 4;

Фиг.17С иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 4.

Фиг.18А иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP2 вида из олигосахаридного препарата из Примера 7; Фиг.18В иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС ангидро-DP1 видов из олигосахаридного препарата из Примера 7; Фиг.18С иллюстрирует определение с помощью ЖХ-МС/МС DP2 видов из олигосахаридного препарата из Примера 7.

Фиг.19А иллюстрирует детекцию ГХ-МС спектра фракций DP1, ангидро-DP1, DP2 и ангидро-DP2 олигосахаридного препарата из примера 1; Фиг.19В иллюстрирует увеличение фракций DP2 и ангидро DP 2, как показано на Фиг.19А.

Фиг.20А иллюстрирует детекцию ГХ-МС спектра фракций DP1, ангидро-DP1, DP2 и ангидро-DP2 олигосахаридного препарата из Примера 3; Фиг.20В показывает увеличение фракций DP2 и ангидро-DP2, как показано на Фиг.20А.

Фиг.21А иллюстрирует детекцию ГХ-МС спектра фракций DP1, ангидро-DP1, DP2 и ангидро-DP2 олигосахаридного препарата из Примера 4; Фиг.21В иллюстрирует увеличение фракций DP2 и ангидро-DP2, как показано на Фиг.21А.

Фиг.22А иллюстрирует детекцию ГХ-МС спектра фракций DP1, ангидро-DP1, DP2 и ангидро-DP2 олигосахаридного препарата из Примера 7; Фиг.22В иллюстрирует увеличение фракций DP2 и ангидро-DP2, как показано на Фиг.22А.

Фиг.23 иллюстрирует влияние температуры реакции, содержания воды и времени реакции на количество DP2 олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, в олигосахаридных препаратах по сравнению с олигосахаридным препаратом согласно Примеру 2.

Фиг.24 иллюстрирует количественное определение содержания ангидро-DP2 в различных контрольных и обработанных питательных композициях.

Фиг.25 иллюстрирует 2D-1H JRES ЯМР спектр образца глюкоолигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы.

Фиг.26 представляет собой типичный ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР спектр образца глюкоолигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, с соответствующими резонансами и назначениями, используемыми для распределения связей.

Фиг.27 иллюстрирует наложение спектров ^1H DOSY трех олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы.

Фиг.28 иллюстрирует спектры MALDI-MS, сравнивающие олигосахаридный препарат из Примера 9 при различных энергиях лазера.

Раскрытие изобретения

В настоящей заявке описаны олигосахаридные препараты и питательные композиции для животных, которые содержат такие олигосахаридные препараты. Описанные олигосахаридные препараты выгодны с точки зрения применения пребиотиков, контроля качества и производственных целей; присутствие и/или концентрация олигосахаридного препарата в питательных композициях может быть выборочно определена и/или обнаружена. Далее здесь описаны способы получения олигосахаридных препаратов и питательных композиций, а также способы их анализа и количественной оценки.

Следующее ниже описание и примеры подробно иллюстрируют варианты осуществления настоящего изобретения. Следует понимать, что это настоящее изобретение не ограничивается конкретными вариантами осуществления, описанными в настоящей заявке, и как таковое может варьировать. Специалисты в данной области техники поймут, что существуют многочисленные вариации и модификации этого настоящего изобретения, которые входят в его объем.

Все термины предназначены для понимания так, как они будут поняты специалисту в данной области техники. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой относится изобретение.

Заголовки разделов, используемые в настоящей заявке, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описанный предмет.

Хотя различные признаки настоящего изобретения могут быть описаны в контексте единственного варианта осуществления, эти признаки также могут быть предоставлены отдельно или в любой подходящей комбинации. И наоборот, хотя настоящее изобретение может быть описано здесь в контексте отдельных вариантов осуществления для ясности, настоящее изобретение также может быть реализовано в одном варианте осуществления.

Следующие ниже определения дополняют определения в данной области техники и относятся к текущей заявке и не должны относиться к какому-либо связанному или не связанному случаю, например, к какому-либо общему патенту или заявке. Хотя любые методы и материалы, подобные или эквивалентные описанным здесь, могут быть использованы на практике для тестирования настоящего изобретения, здесь описаны предпочтительные материалы и методы. Соответственно, используемая здесь терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения.

I. Определения

Используемый в настоящей заявке термин «применение» включает обеспечение синтетического олигосахаридного препарата, питательной композиции, жидкости или кормовой композиции для животных, описанных в данном документе, для животного таким образом, чтобы животное могло проглотить синтетический олигосахаридный препарат, питательную композицию, жидкость или кормовую композицию для животных. В таких вариантах осуществления животное поглощает некоторую часть синтетического олигосахаридного препарата, питательной композиции или кормовой композиции для животных. В некоторых вариантах осуществления животное поглощает некоторую часть синтетического олигосахаридного препарата, питательной композиции, жидкости или кормовой композиции для животных каждые 24 часа или каждый другой 24-часовой период в течение по меньшей мере 7 дней, 14 дней, 21 дней, 30 дней, 45 дней, 60 дней, 75 дней, 90 дней или 120 дней. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат может быть растворен в воде или другой жидкости, и животное поглощает некоторую часть олигосахаридного препарата, выпивая жидкость. В некоторых вариантах осуществления олигосахарид доставляют животному через питьевую воду. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат, питательная композиция, жидкость или кормовая композиция для животных потребляются по желанию.

Используемый в настоящей заявке термин «уровень включения» или «доза» относится к концентрации олигосахаридного препарата в питательной композиции, жидкости, рациионе или кормовой композиции для животных, предоставляемой животному. В некоторых вариантах осуществления уровень включения измеряется как массовая концентрация олигосахаридного препарата в конечной питательной композиции, жидкости, рациионе или корме для животных. Например, уровень включения может быть измерен в частях на миллион (ч./млн.) олигосахаридов в пересчете на массу сухих твердых веществ на основе общей массы конечной питательной композиции, жидкости, рацииона или корма для животных. В некоторых вариантах осуществления массу сухих твердых веществ олигосахаридного препарата измеряют как массу в пересчете на сухое вещество видов DP1+. В других вариантах осуществления массу сухих твердых веществ олигосахаридного препарата измеряют как массу в пересчете на сухое вещество видов DP2+.

Используемый в настоящей заявке термин «удельная доза» относится к количеству олигосахаридного препарата, потребляемому животным за единицу времени, по отношению к его массе тела. В некоторых вариантах осуществления конкретная доза может быть измерена в единицах мг олигосахаридного препарата (в пересчете на сухие

вещества) на кг массы тела животного в сутки (т.е. мг/кг/сутки).

Используемый в настоящей заявке термин «ангидро-субъединица» относится к продукту термической дегидратации моносахарида (или моносахаридной субъединицы) или продукту карамелизации сахара. Например, «ангидро-субъединица» может представлять собой ангидро-моносахарид, такой как ангидро-глюкоза. В качестве другого примера «ангидро-субъединица» может быть связана с одной или несколькими регулярными или ангидро-моносахаридными субъединицами через гликозидную связь.

Термин «олигосахарид» относится к моносахариду или соединению, содержащему две или более моносахаридных субъединиц, связанных гликозидными связями. По существу, олигосахарид включает обычный моносахарид, ангидро-моносахарид или соединение, содержащее две или более моносахаридных субъединиц, где одна или более моносахаридных субъединиц при необходимости независимо заменены одной или несколькими ангидро-субъединицами. Олигосахарид может быть функционализирован. Используемый в настоящей заявке термин «олигосахарид» охватывает все виды олигосахаридов, где каждая моносахаридная субъединица в олигосахариде независимо и необязательно функционализована и/или заменена соответствующей ангидромоносахаридной субъединицей.

Используемый в настоящей заявке термин «олигосахаридный препарат» относится к препарату, который содержит по меньшей мере один олигосахарид.

Используемый в настоящей заявке термин «глюкоолигосахарид» относится к глюкозе или соединению, содержащему две или более субъединиц моносахарида глюкозы, связанных гликозидными связями. По существу, глюкоолигосахарид включает глюкозу, ангидро-глюкозу или соединение, содержащее две или более субъединиц моносахарида глюкозы, связанных гликозидными связями, причем каждая из указанных субъединиц моносахарида глюкозы при необходимости и независимо заменена субъединицей ангидро-глюкозы.

Используемый в настоящей заявке термин «галактоолигосахарид» относится к галактозе или соединению, содержащему две или более субъединиц моносахарида галактозы, связанных гликозидными связями. По существу, галактоолигосахарид включает галактозу, ангидро-галактозу или соединение, содержащее две или более субъединиц моносахарида галактозы, связанных гликозидными связями, где каждая из указанных субъединиц моносахарида галактозы при необходимости и независимо заменена субъединицей ангидро-галактозы.

Используемый в настоящей заявке термин «глюко-галакто-олигосахаридный препарат» относится к композиции, которую получают в результате реакции полной или

неполной конденсации сахаров глюкозы и галактозы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления глюко-галактозо-олигосахаридный препарат включает глюко-олигосахариды, галактоолигосахариды, соединения, содержащие одну или несколько субъединиц моносахарида глюкозы и одну или несколько субъединиц моносахарида галактозы, связанных гликозидными связями, или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления глюко-галактозо-олигосахаридный препарат включает глюкоолигосахариды и соединения, содержащие одну или несколько субъединиц моносахарида глюкозы и одну или несколько субъединиц моносахарида галактозы, связанных гликозидными связями. В некоторых вариантах осуществления глюко-галактозо-олигосахаридный препарат включает галактоолигосахариды и соединения, содержащие одну или несколько субъединиц моносахарида глюкозы и одну или несколько субъединиц моносахарида галактозы, связанных гликозидными связями. В некоторых вариантах осуществления глюко-галактозо-олигосахаридный препарат включает соединения, содержащие одну или несколько субъединиц моносахарида глюкозы и одну или несколько субъединиц моносахарида галактозы, связанных гликозидными связями.

Используемые в настоящей заявке термины «моносахаридная единица» и «моносахаридная субъединица» используются взаимозаменяемо. «Моносахаридная субъединица» относится к мономеру моносахарида в олигосахариде. Для олигосахаридов, имеющих степень полимеризации 1, олигосахарид может называться моносахаридной субъединицей или моносахаридом. Для олигосахаридов, имеющих степень полимеризации 2 или выше, его моносахаридные субъединицы связаны гликозидными связями.

Используемый в настоящей заявке термин «регулярный моносахарид» относится к моносахариду, который не содержит ангидро-субъединицу. Термин «регулярный дисахарид» относится к дисахариду, который не содержит ангидро-субъединицу. Соответственно, термин «регулярная субъединица» относится к субъединице, которая не является ангидро-субъединицей.

Термин «относительная распространенность» или «распространенность» в контексте настоящего описания относится к распространенности вида с точки зрения того, насколько часто или редко встречается этот вид. Например, фракция DP1, включающая 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, может относиться к множеству олигосахаридов DP1, где 10% олигосахаридов DP1 представляют собой ангидромносахариды. Относительную распространенность, например, для определенной фракции DP олигосахаридов, можно определить с помощью подходящих аналитических инструментов, например, масс-

спектрометрии и жидкостной хроматографии, такой как ЖХ-МС/МС, ГХ-МС, ВЭЖХ-МС и MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность определяют путем интегрирования площади под пиками на хроматографах (например, ЖХ-МС/МС, ГХ-МС и ВЭЖХ-МС), которые соответствуют интересующим фракциям. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность определяют по интенсивности пиков (например, MALDI-MS). В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность определяют комбинацией аналитических методов, таких как определение массы после разделения с помощью жидкостной хроматографии.

Используемые в настоящей заявке формы единственного числа включают множественное число, если контекст явно не диктует иное. Таким образом, например, ссылка на термин «агент» включает множество таких агентов, а ссылка на «олигосахарид» включает ссылку на один или несколько олигосахаридов (или на множество олигосахаридов) и их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

Когда в настоящей заявке используются диапазоны физических свойств, таких как молекулярная масса, или химические свойства, такие как химические формулы, предполагается, что все комбинации и субкомбинации диапазонов и конкретные варианты осуществления в них включены. Термин «примерно» при ссылке на число или числовой диапазон означает, что указанное число или числовой диапазон является приблизительным в пределах экспериментальной вариабельности (или в пределах статистической экспериментальной ошибки), и, таким образом, число или числовой диапазон в некоторых случаях будет варьировать от 1% до 15% от указанного числа или числового диапазона. В некоторых вариантах осуществления термин «примерно» означает в пределах 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, или 0,05% от заданного значения или диапазона.

Термин «содержащий» (и связанные с ним термины, такие как «содержать» или «содержит», или «имеющий» или «включающий») предназначен для включения, но не обязательно ограничивается описанным.

II. Композиции олигосахаридных препаратов

В настоящей заявке раскрыт олигосахаридный препарат, подходящий для использования в питательных композициях. В одном аспекте в настоящей заявке описывается олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции от DP1 до DPn), где n является целым числом, равным 2 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число больше 2, такое

как 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 3 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100, например, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40 или 50. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций от 1 до n в олигосахаридном препарате независимо включает от 0,1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии, ЖХ-МС/МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций от 1 до n в олигосахаридном препарате независимо включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций от 1 до n в олигосахаридном препарате независимо включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью масс-спектрометрии, такой как MALDI-MS, или ЖХ-МС/МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,8%, 1%, 2% или 3% до примерно 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% или 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью масс-спектрометрии, ЖХ-МС/МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой фракции монотонно уменьшается со степенью полимеризации.

В одном аспекте описанный олигосахаридный препарат представляет собой синтетический олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления синтетический олигосахаридный препарат относится к множеству олигосахаридов, полученных способом, не требующим живых организмов. В некоторых вариантах осуществления синтетический олигосахаридный препарат относится к множеству олигосахаридов, полученных с помощью процесса, который не требует ферментов. В некоторых вариантах осуществления синтетический олигосахаридный препарат относится к множеству олигосахаридов, полученных химическим способом. В некоторых вариантах осуществления синтетический олигосахаридный препарат относится к множеству олигосахаридов, полученных конденсацией сахаров.

Пребиотическая ценность олигосахаридов

В настоящей заявке раскрыты олигосахаридные препараты, содержащие ангидро-сахарные компоненты и/или компоненты продукта дегидратации сахара, которые демонстрируют сложную функциональную модуляцию микробного сообщества, такого как микробиом кишечника животных. Олигосахаридные препараты обеспечивают пользу для регуляции использования ферментируемого углерода микрофлорой и прямого метаболического потока к полезным видам, обеспечивая, таким образом, опосредованное микробиомом улучшение здоровья или питания.

Не-перевариваемые углеводы могут действовать как пребиотики, обеспечивая ферментируемый источник углерода для микробного сообщества. Например, рационы, богатые растворимой растительной клетчаткой, были идентифицированы по их способности питать микрофлору кишечника. Кроме того, бифидогенные пребиотики поддерживают рост бифидобактерий (например, представителей рода *Bifidobacterium*), а лактогенные пребиотики поддерживают рост видов *Lactobacillus*.

Пребиотические волокна могут быть ферментированы до полезных химических веществ, таких как короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК). Пребиотические волокна включают устойчивые крахмалы; целлюлозу; пектины, такие как рамногалактаны, арабиногалактаны, арабинаны; гемицеллюлозы, такие как арабиноксиланы, ксилоглюканы, глюкоманнаны, галактоманнаны и β -глюканы; полифруктаны, такие как инулин и леван; и камеди, такие как альгинат. Инулин - это обычное бифидогенное пребиотическое волокно.

В других случаях пребиотики действуют, препятствуя способности патогенных бактерий приживаться и, таким образом, инфицировать организм-хозяина, через такие механизмы противодействия, как конкурентное связывание рецепторов на клеточной поверхности. Некоторые галакто-олигосахариды эффективно препятствуют адгезии различных энтеропатогенных организмов, таких как виды *Escherichia*.

Пребиотики обычно применяют у животного-хозяина путем включения в рацион, при котором они проявляют дозозависимый ответ (по меньшей мере, до порога насыщения). Например, применение более высокой дозы бифидогенного пребиотика, такого как инулин, имеет тенденцию к большему увеличению популяции видов *Bifidobacterium*. Более высокие дозы инулина соответствуют более высокому производству КЦЖК посредством ферментации. Это связано с тем, что пребиотик является источником метаболического углерода, и большее количество углерода превращается в более ферментированный продукт. Точно так же применение более высокой дозы пребиотика против адгезии обеспечивает вероятность конкурентного связывания участков поверхностных рецепторов.

Определенные виды углеводов, содержащие модифицированные мономерные субъединицы, могут влиять на способ, которым микробные системы используют другие углеводы, в противном случае доступные им в качестве источника пребиотиков. Например, такие виды углеводов могут быть модифицированными видами углеводов, которые модулируют систему утилизации бактериального крахмала (SUS), то есть белки, ответственные за распознавание на клеточной поверхности, гликозидное расщепление и импорт метаболитов крахмала.

Углеводные композиции, способные к комплексной модуляции микробиоты животных, можно использовать в качестве кормовых добавок, которые улучшают здоровье и питание животных за счет воздействия на микробиом животных. Например, модуляция выработки бутирата микрофлорой кишечника приносит пользу для здоровья животного, способствуя здоровой слизистой оболочке кишечника, барьерной функции, и обеспечивая противовоспалительное действие. Модуляция выработки пропионовой кислоты влияет на метаболическую энергию, извлекаемую из рациона животного, за счет увеличения глюконеогенеза. Соответствующие микробные сообщества включают, например, микробиоту подвздошной кишки, тощей кишки, слепой кишки и/или фекалий у домашних птиц, свиней, собак, кошек, лошадей, или микробиоту жвачных животных у крупного рогатого скота, коров, овец и т.д. Другие микробные сообщества включают микрофлору кожи, микрофлору носа и др.

Кроме того, описанные в настоящей заявке олигосахаридные препараты имеют преимущество в том, что они могут быть выборочно проанализированы и количественно определены в сложной питательной композиции, такой как комбикорм для животных, благодаря присутствию ангидро-субъединиц. Коммерчески полезен анализ присутствия и/или концентрации кормовых добавок, таких как олигосахаридные препараты. Такой анализ может быть выполнен с целью контроля качества, чтобы определить, была ли добавка надлежащим образом смешана с основной питательной композицией для получения итоговой питательной композиции, содержащей добавку в намеченной дозе или уровне включения.

Однако сами питательные композиции содержат большое количество и разнообразие углеводных структур (например, крахмал, растительные волокна и пектины). Поэтому особенно сложно отличить небольшие количества кормовых добавок на основе олигосахаридов от огромного количества других углеводов, присутствующих в качестве основы питательной композиции. Таким образом, описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат обеспечивает средство отличия от других источников углеводов в питательной композиции посредством ангидро-субъединиц.

Распределение по степени полимеризации (DP)

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции DP1-DP n). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит n фракций олигосахаридов, где каждая фракция имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции DP1 - DP n). В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 содержит один или несколько моносахаридов и/или один или несколько ангидро-моносахаридов. Например, в некоторых вариантах осуществления фракция DP1 включает глюкозу, галактозу, фруктозу, 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозу, 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозу или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 содержит один или несколько регулярных дисахаридов и один или несколько дисахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 содержит лактозу.

В некоторых вариантах осуществления n равно по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22, по меньшей мере 23, по меньшей мере 24, по меньшей мере 25, по меньшей мере 26, по меньшей мере 27, по меньшей мере 28, по меньшей мере 29, по меньшей мере 30, по меньшей мере 31, по меньшей мере 32, по меньшей мере 33, по меньшей мере 34, по меньшей мере 35, по меньшей мере 36, по меньшей мере 37, по меньшей мере 38, по меньшей мере 39, по меньшей мере 40, по меньшей мере 41, по меньшей мере 42, по меньшей мере 43, по меньшей мере 44, по меньшей мере 45, по меньшей мере 46, по меньшей мере 47, по меньшей мере 48, по меньшей мере 49, по меньшей мере 50, по меньшей мере 51, по меньшей мере 52, по меньшей мере 53, по меньшей мере 54, по меньшей мере 55, по меньшей мере 56, по меньшей мере 57, по меньшей мере 58, по меньшей мере 59, по меньшей мере 60, по меньшей мере 61, по меньшей мере 62, по меньшей мере 63, по меньшей мере 64, по меньшей мере 65, по меньшей мере 66, по меньшей мере 67, по меньшей мере 68, по меньшей мере 69, по меньшей мере 70, по меньшей мере 71, по меньшей мере 72, по меньшей мере 73, по меньшей мере 74, по меньшей мере 75, по меньшей мере 76, по меньшей мере 77, по меньшей мере 78, по меньшей мере 79, по меньшей мере 80, по меньшей мере 81, по меньшей мере 82, по меньшей мере 83, по меньшей мере 84, по

меньшей мере 85, по меньшей мере 86, по меньшей мере 87, по меньшей мере 88, по меньшей мере 89, по меньшей мере 90, по меньшей мере 91, по меньшей мере 92, по меньшей мере 93, по меньшей мере 94, по меньшей мере 95, по меньшей мере 96, по меньшей мере 97, по меньшей мере 98, по меньшей мере 99, или по меньшей мере 100. В некоторых вариантах осуществления n равно 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100. В некоторых вариантах осуществления n составляет менее 10, менее 11, менее 12, менее 13, менее 14, менее 15, менее 16, менее 17, менее 18, менее 19, менее 20, менее 21, менее 22, менее 23, менее 24, менее 25, менее 26, менее 27, менее 28, менее 29, менее 30, менее 31, менее 32, менее 33, менее 34, менее 35, менее 36, менее 37, менее 38, менее 39, менее 40, менее 41, менее 42, менее 43, менее 44, менее 45, менее 46, менее 47, менее 48, менее 49, менее 50, менее 51, менее 52, менее 53, менее 54, менее 55, менее 56, менее 57, менее 58, менее 59, менее 60, менее 61, менее 62, менее 63, менее 64, менее 65, менее 66, менее 67, менее 68, менее 69, менее 70, менее 71, менее 72, менее 73, менее 74, менее 75, менее 76, менее 77, менее 78, менее 79, менее 80, менее 81, менее 82, менее 83, менее 84, менее 85, менее 86, менее 87, менее 88, менее 89, менее 90, менее 91, менее 92, менее 93, менее 94, менее 95, менее 96, менее 97, менее 98, менее 99 или менее 100. В некоторых вариантах осуществления n составляет от 2 до 100, от 5 до 90, от 10 до 90, от 10 до 80, от 10 до 70, от 10 до 60, от 10 до 50, от 10 до 40, от 10 до 30, от 15 до 60, от 15 до 50, от 15 до 45, от 15 до 40, от 15 до 35 или от 15 до 30.

Распределение степени полимеризации олигосахаридного препарата может быть определено любым подходящим аналитическим методом и оборудованием, включая метод концевых групп, осмотическое давление (осмометрию), ультрацентрифугирование, измерение вязкости, метод светорассеяния, эксклюзионную хроматографию (SEC), SEC-MALLS, проточное фракционирование в силовом поле (ПФП), проточное фракционирование под влиянием асимметричного силового поля (A4F), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и масс-спектрометрию (МС), но не ограничиваясь ими. Например, распределение степени полимеризации может быть определено и/или обнаружено с помощью масс-спектрометрии, такой как масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI)-MS, жидкостной хроматографии (ЖХ)-МС или газовой хроматографии (ГХ)-МС. В другом примере распределение степени полимеризации может быть определено и/или обнаружено с помощью SEC, такой как гель-проникающая хроматография (ГПХ). В

качестве еще одного примера распределение степени полимеризации можно определить и/или обнаружить с помощью ВЭЖХ, ПФП или А4Ф. В некоторых вариантах осуществления распределение степени полимеризации определяют и/или выявляют с помощью MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления распределение степени полимеризации определяют и/или обнаруживают с помощью ГХ-МС или ЖХ-МС. В некоторых вариантах осуществления распределение степени полимеризации определяют и/или обнаруживают с помощью SEC. В некоторых вариантах осуществления распределение степени полимеризации определяют и/или обнаруживают с помощью комбинации аналитических инструментов, таких как MALDI-MS и SEC. В некоторых вариантах осуществления степень полимеризации олигосахаридного препарата может быть определена на основании его молекулярной массы и молекулярно-массового распределения. Например, Фиг.2 показывает спектр MALDI-MS, который иллюстрирует степени полимеризации различных фракций и присутствие олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы (смещение пиков -18 г/моль MW) во всех наблюдаемых фракциях.

В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в большинстве фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов менее 6, менее 5, менее 4, менее 3 или менее 2 фракций олигосахаридного препарата не уменьшается монотонно со степенью его полимеризации.

В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45 или по меньшей мере 50 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенности олигосахаридов в по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45 или по меньшей мере 50 последовательных фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 20 или по меньшей мере 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов

в по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 20 или по меньшей мере 30 последовательных фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации.

В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. Например, Фиг.10 представляет собой пример распределения DP, где относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается с DP. Например, в некоторых вариантах осуществления только относительная распространенность олигосахаридов во фракции DP3 не уменьшается монотонно со степенью полимеризации, т.е. относительная распространенность олигосахаридов во фракции DP3 ниже, чем относительная распространенность олигосахаридов во фракции DP4. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов во фракции DP2 ниже, чем относительная распространенность олигосахаридов во фракции DP3. Например, Фиг.11 иллюстрирует распределение по степени полимеризации, при которой относительная распространенность олигосахаридов во фракции DP2 не уменьшается монотонно со степенью полимеризации.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 примерно от 1% до 50%, примерно от 1% до 40%, примерно от 1% до 35%, примерно от 1% до 30%, примерно от 1% до 25%, примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 15%, примерно от 5% до 50%, примерно от 5% до 40%, примерно от 5% до 35%, примерно от 5% до 30%, примерно от 5% до 25%, примерно от 5% до 20%, примерно от 5% до 15%, примерно от 10% до 50%, примерно от 10% до 40%, примерно от 10% до 35%, примерно от 10% до 30%, примерно от 10% до 25%, примерно от 10% до 20% или примерно от 10% до 15% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 примерно от 10% до 35%, примерно от 10% до 20% или примерно от 10% до 15% по массе или относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP1 определяют путем MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP1 определяют с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP1 определяют с помощью ЖХ-МС/МС или ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 примерно от 1% до 35%, примерно от 1% до 30%, примерно от 1% до 25%, примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, примерно от 5% до 30%, примерно от 5% до 25%,

примерно от 5% до 20%, примерно от 5% до 15%, или примерно от 5% до 10% по массе или относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 примерно от 5% до 25%, примерно от 5% до 20%, примерно от 5% до 15%, или примерно от 5% до 10% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP2 определяют посредством MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP2 определяют с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP2 определяют с помощью ЖХ-МС/МС или ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления описанный здесь олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 примерно от 1% до 30%, примерно от 1% до 25%, примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, примерно от 5% до 30%, примерно от 5% до 25%, примерно от 5% до 20%, примерно от 5% до 15%, или примерно от 5% до 10% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, примерно от 5% до 15% или примерно от 5% до 10% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах содержание фракции DP3 определяют с помощью MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP3 определяют с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP3 определяют с помощью ЖХ-МС/МС или ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP4 примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,1% до 10%, примерно от 0,1% до 5%, примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10% или примерно от 1% до 5% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP4 примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, или примерно от 1% до 5% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,1% до 10%, примерно от 0,1% до 5%, примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10% или примерно от 1% до 5% по массе или относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 примерно от 1% до 10% или примерно от 1% до 5% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления

содержание фракции DP4 и/или DP5 определяют с помощью MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP4 и/или DP5 определяют с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления содержание фракции DP4 и/или DP5 определяют с помощью ЖХ-МС/МС или ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP2 к фракции DP1 в олигосахаридном препарате составляет примерно от 0,01 до 0,8, примерно от 0,02 до 0,7, примерно от 0,02 до 0,6, примерно от 0,02 до 0,5, примерно от 0,02 до 0,4, примерно от 0,02 до 0,3, примерно от 0,02 до 0,2, примерно от 0,1 до 0,6, примерно от 0,1 до 0,5, примерно от 0,1 до 0,4 или примерно от 0,1 до 0,3 по их массе или относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP2 к фракции DP1 в олигосахаридном препарате составляет примерно от 0,02 до 0,4 по их массе или относительной распространенности.

В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP3 к фракции DP2 в олигосахаридном препарате составляет примерно от 0,01 до 0,7, примерно от 0,01 до 0,6, примерно от 0,01 до 0,5, примерно от 0,01 до 0,4, примерно от 0,01 до 0,3 или примерно от 0,01 до 0,2 по массе или относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления отношение фракции DP3 к фракции DP2 в олигосахаридном препарате составляет примерно от 0,01 до 0,3 по массе или относительной распространенности.

В некоторых вариантах осуществления совокупное содержание фракций DP1 и DP2 в олигосахаридном препарате составляет менее 70%, менее 60%, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 20%, или менее 10% по массе или по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления совокупное содержание фракций DP1 и DP2 в олигосахаридном препарате составляет менее 50%, менее 30% или менее 10% по массе или по относительной распространенности.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат, описанный в настоящей заявке, имеет среднее значение DP в диапазоне от 2 до 10. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднее значение DP примерно от 2 до 8, примерно от 2 до 5 или примерно от 2 до 4. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднее значение DP примерно 3,5. Среднее значение DP может быть определено с помощью SEC или элементного анализа.

Уровень ангидро-субъединиц

В некоторых вариантах осуществления каждая из n фракций олигосахаридов в описанном в настоящей заявке олигосахаридном препарате независимо включает уровень ангидро-субъединиц. Например, в некоторых вариантах осуществления фракция DP1 содержит примерно 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по

относительной распространенности, а фракция DP2 включает примерно 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В другом примере, в некоторых вариантах осуществления каждая фракция из DP1, DP2 и DP3 содержит примерно 5%, примерно 10% и примерно 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, соответственно. В некоторых вариантах осуществления две или более фракций олигосахаридов содержат аналогичные уровни олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. Например, в некоторых вариантах осуществления каждая фракция из DP1 и DP3 содержит примерно 5% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций от 1 до n в описанном в настоящей заявке олигосахаридном препарате независимо включает примерно от 0,1% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии, ЖХ-МС/МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций от 1 до n в олигосахаридном препарате независимо включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии, ЖХ-МС/МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления ЖХ-МС/МС используют для определения относительной распространенности олигосахаридов во фракциях DP1, DP2 и/или DP3. В некоторых вариантах осуществления ГХ-МС или ЖХ-МС/МС используют для определения относительной распространенности олигосахаридов во фракциях DP1, DP2 и/или DP3. В некоторых вариантах осуществления MALDI-MS используют для определения относительной распространенности олигосахаридов во фракции DP3, фракции DP4 или во фракции с более высокой DP. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность определенной фракции определяют путем интегрирования площади под пиками хроматограммы ЖХ-МС/МС, которые обозначены как соответствующие этой фракции. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность определенной фракции вычисляют путем интегрирования площади под пиками хроматограммы ГХ-МС, которые обозначены как соответствующие этой фракции.

Уровень ангидро-субъединиц можно определять и/или обнаруживать любыми подходящими аналитическими методами, такими как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), масс-спектрометрия, ВЭЖХ, ПФП, А4F или любая их комбинация. В некоторых вариантах осуществления уровень олигосахаридов, содержащих ангидро-

субъединицы, определяют, по меньшей мере частично, масс-спектрометрией, такой как MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления уровень ангидро-субъединиц определяют, по меньшей мере частично, с помощью ЯМР. В некоторых вариантах осуществления уровень олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют, по меньшей мере частично, с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления уровень олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью MALDI-MS, как показано пиками, смещенными на -18 г/моль MW на Фиг.2. В некоторых вариантах осуществления присутствие и тип разновидностей ангидро-субъединиц определяют и/или обнаруживают с помощью ЯМР, как проиллюстрировано в Примере 11 на Фиг.3 и Фиг.4. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ЖХ-МС/МС, как показано на Фиг.15А-15С, 16А-16С, 17А-17С и 18А-18С. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ГХ-МС, как показано на Фиг.19А-19В, 20А-20В, 21А-21В и 22А-22В.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает менее 80%, менее 70%, менее 60%, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее чем 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3% или менее 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В других вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает более 0,5%, более 0,8%, более 1%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11%, более 12%, более 13%, более 14%, более 15%, более 16%, более 17%, более 18%, более 19%, более 20%, более 30%, более 40%, более 50%, более 60%, более 70%, или более 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В других вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного

препарата включает более 20%, более 21%, более 22%, более 23%, более 24%, более 25%, более 26%, более 27%, более 28%, более 29% или более 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция (такая как DP1, DP2 и/или DP3) олигосахаридного препарата содержит примерно 0,1%, примерно 0,2%, примерно 0,3%, примерно 0,4%, примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1%, примерно 1,5%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9% , примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16%, примерно 17%, примерно 18%, примерно 19%, примерно 20%, примерно 21%, примерно 22%, примерно 23%, примерно 24%, примерно 25% или примерно 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция (такая как DP1, DP2 и/или DP3) олигосахаридного препарата содержит примерно 0,1%, примерно 0,2%, примерно 0,3%, примерно 0,4%, примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9% или примерно 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фракция (такая как DP1, DP2 и/или DP3) олигосахаридного препарата содержит примерно от 0,1% до 90%, примерно от 0,5% до 90%, примерно от 0,5% до 80%, примерно от 0,5% до 70%, примерно от 0,5% до 60%, примерно от 0,5% до 50%, примерно от 0,5% до 40%, примерно от 0,5% до 30%, примерно от 0,5% до 20%, примерно от 0,5% до 10%, примерно от 0,5% до 9%, примерно от 0,5% до 8%, примерно от 0,5% до 7%, примерно от 0,5% до 6% примерно от 0,5% до 5%, примерно от 0,5% до 4%, примерно от 0,5% до 3%, примерно от 0,5% до 2%, примерно от 1% до 10%, примерно от 2% до 9%, примерно от 2% до 8%, примерно от 2% до 7%, примерно от 2% до 6%, примерно от 2% до 5%, примерно от 2% до 4%, примерно от 2% до 3%, или примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций DP1 и DP2 олигосахаридного препарата независимо включает олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы, в диапазоне примерно от 0,1%; 0,5%; 0,6%; 0,7%; 0,8%; 0,9%; 1%; 1,1%; 1,2%; 1,3%; 1,4% или 1,5% до примерно 8%, 9%, 10%, 11%, 12% или 15% по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии, ЖХ-МС/МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,5% до

15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии или ЖХ-МС/МС или ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления каждая фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает менее 80%, менее 70%, менее 60%, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция описанного здесь олигосахаридного препарата содержит менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В других вариантах осуществления каждая фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В других вариантах осуществления каждая фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит более 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает примерно 0,1%, примерно 0,2%, примерно 0,3%, примерно 0,4%, примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1%, примерно 1,5%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16%, примерно 17%, примерно 18%, примерно 19%, примерно 20%, примерно 21%, примерно 22%, примерно 23%, примерно 24%, примерно 25% или примерно 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает примерно 0,1%, примерно 0,2%, примерно 0,3%, примерно 0,4%, примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9% или примерно 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления каждая фракция описанного

в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает примерно от 0,1% до 90%, примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,5% до 90%, примерно от 0,5% до 80%, примерно от 0,5% до 70%, примерно от 0,5% до 60%, примерно от 0,5% до 50%, примерно от 0,5% до 40%, примерно от 0,5% до 30%, примерно от 0,5% до 20%, примерно от 0,5% до 10%, примерно от 0,5% до 9%, примерно от 0,5% до 8%, примерно от 0,5% до 7%, примерно от 0,5% до 6%, примерно от 0,5% до 5%, примерно от 0,5% до 4%, примерно от 0,5% до 3%, примерно от 0,5% до 2%, примерно от 2% до 9%, примерно от 2% до 8%, примерно от 2% до 7%, примерно от 2% до 6%, примерно от 2% до 5%, примерно от 2% до 4%, примерно от 2% до 3% или примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит менее 80%, менее 70%, менее 60%, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В других вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит более 0,5%, более 0,8%, более 1%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11%, более 12%, более 13%, более 14%, более 15%, более 16%, более 17%, более 18%, более 19%, более 20%, более 30%, более 40%, более 50%, более 60%, более 70% или более 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В других вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит более 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит примерно 0,1%, примерно 0,2%, примерно 0,3%, примерно 0,4%, примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16%, примерно 17%, примерно 18%, примерно 19%, примерно 20%, примерно 21%, примерно 22%, примерно 23%, примерно 24%, примерно 25% или примерно 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-

субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит примерно 0,1%, примерно 0,2%, примерно 0,3%, примерно 0,4%, примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1%, примерно 1,5%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9% или примерно 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает примерно от 0,1% до 90%, примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,5% до 90%, примерно от 0,5% до 80%, примерно от 0,5% до 70%, примерно от 0,5% до 60%, примерно от 0,5% до 50%, примерно от 0,5% до 40%, примерно от 0,5% до 30%, примерно от 0,5% до 20%, примерно от 0,5% до 10%, примерно от 0,5% до 9%, примерно от 0,5% до 8%, примерно от 0,5% до 7%, примерно от 0,5% до 6%, примерно от 0,5% до 5%, примерно от 0,5% до 4%, примерно от 0,5% до 3%, примерно от 0,5% до 2%, примерно от 2% до 9%, примерно от 2% до 8%, примерно от 2% до 7%, примерно от 2% до 6%, примерно от 2% до 5%, примерно от 2% до 4%, примерно от 2% до 3% или примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит менее 30%, менее 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,8%, более 1%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11%, более 12%, более 13%, более 14% или более 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит примерно 0,5%, примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16% примерно 17%, примерно 18%, примерно 19% или примерно 20% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата

содержит примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,5% до 20%, примерно от 0,5% до 10%, примерно от 0,5% до 15%, примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, примерно от 2% до 14%, примерно от 3% до 13%, примерно от 4% до 12%, примерно от 5% до 11%, примерно от 5% до 10%, примерно от 6% до 9% или примерно от 7% до 8% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, или в любых интервалах между ними. В некоторых вариантах осуществления фракция DP1 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью масс-спектрометрии, такой как MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ЖХ-МС/МС. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит менее 30%, менее 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,8%, более 1%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11%, более 12%, более 13%, более 14% или более 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит примерно 0,5%, примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16%, примерно 17%, примерно 18%, примерно 19% или примерно 20% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,5% до 20%,

примерно от 0,5% до 10%, примерно от 0,5% до 15%, примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, примерно от 2% до 14%, примерно от 3% до 13%, примерно от 4% до 12%, примерно от 5% до 11%, примерно от 5% до 10%, примерно от 6% до 9%, или примерно от 7% до 8% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, или в любых диапазонах между ними. В некоторых вариантах осуществления фракция DP2 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицу, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью масс-спектрометрии, такой как MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ЖХ-МС/МС. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит менее 30%, менее 20%, менее 19%, менее 18%, менее 17%, менее 16%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата включает более 0,1%, более 0,5%, более 0,8%, более 1%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11%, более 12%, более 13%, более 14% или более 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит примерно 0,5%, примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14%, примерно 15%, примерно 16%, примерно 17%, примерно 18%, примерно 19% или примерно 20% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит примерно от 0,1% до 15%, примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,5% до 20%, примерно от 0,5% до 10%, примерно от 0,5% до 15%, примерно от 1% до 20%, примерно

от 1% до 15%, примерно от 1% до 10%, примерно от 2% до 14%, примерно от 3% до 13%, примерно от 4% до 12%, примерно от 5% до 11%, примерно от 5% до 10%, примерно от 6% до 9% или примерно от 7% до 8% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, или в любых диапазонах между ними. В некоторых вариантах осуществления фракция DP3 описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата содержит примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью масс-спектрометрии, такой как MALDI-MS. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ЖХ-МС/МС. В некоторых вариантах осуществления относительную распространенность олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, определяют с помощью ГХ-МС.

В некоторых вариантах осуществления олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицы, включает одну или несколько ангидро-субъединиц. Например, DP1 олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицы, включает одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления DP_n олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицы, может содержать от 1 до n ангидро-субъединиц. Например, в некоторых вариантах осуществления DP2 олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицы, включает одну или две ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления каждый олигосахарид в олигосахаридном препарате независимо содержит ноль, одну или две ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления более 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления более 99%, 95%, 90%, 85% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, содержат только одну ангидро-субъединицу.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько олигосахаридов в олигосахаридном препарате или в каждой фракции олигосахаридного препарата содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 ангидро-субъединиц, каждая из которых связана через гликозидную связь, где гликозидная связь, связывающая каждую ангидро-субъединицу, выбрана независимо. В некоторых вариантах осуществления один или несколько олигосахаридов в олигосахаридном препарате в или в каждой фракции олигосахаридного препарата содержат 1, 2 или 3 ангидро-субъединицы, каждая из которых связана гликозидной связью, при этом гликозидная связь, связывающая каждую ангидро-

субъединицу, выбрана независимо. В некоторых вариантах осуществления более 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 99% олигосахаридов в олигосахаридном препарате или в каждой фракции содержат 1, 2 или 3 ангидро-субъединицы, каждая из которых связана гликозидной связью, где гликозидная связь, связывающая каждую ангидро-субъединицу, выбрана независимо. В некоторых вариантах осуществления один или несколько олигосахаридов в олигосахаридном препарате или в каждой фракции содержат 1 ангидро-субъединицу, связанную гликозидной связью. В некоторых вариантах осуществления более 50%, более 60%, более 70%, более 80%, более 90% или более 99% олигосахаридов в олигосахаридном препарате или в каждой фракции содержат 1 ангидро-субъединицу, связанную через гликозидную связь.

Виды ангидро-субъединиц

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит различные виды ангидро-субъединиц. В некоторых вариантах осуществления типичные олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы, проиллюстрированы на Фиг.5, Фиг.12 и Фиг.13. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые являются продуктами термической дегидратации моносахаридов, то есть ангидро-моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые являются продуктами обратимой термической дегидратации моносахаридов.

Следует понимать, что ангидро-моносахарид (или ангидро-моносахаридная субъединица) относится к одному или нескольким видам продуктов термической дегидратации моносахарида. Например, в некоторых вариантах осуществления ангидроглюкоза относится к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе (левоглюкозану) или 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозе. В некоторых вариантах осуществления множество ангидро-глюкоз относится к множеству 1,6-ангидро- β -D-глюкопираноз (левоглюкозанов), множеству 1,6-ангидро- β -D-глюкофураноз, множеству других термических продуктов дегидратации глюкозы, или любых их комбинаций. Аналогичным образом, в некоторых вариантах осуществления термин «множество ангидро-галактоз» относится к множеству любых продуктов термической дегидратации галактозы или любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат, как описано в настоящей заявке, содержит одну или несколько субъединиц ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтросы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-талозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-рамнозы, ангидро-ликсозы, ангидро-ксилозы, или любую комбинацию этих

субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат, как описано в настоящей заявке, содержит один или несколько из 1,6-ангидро-3-O- β -D-глюкопиранозил- β -D-глюкопиранозы, 1,6-ангидро-3-O- α -D-глюкопиранозил- β -D-глюкопиранозы, 1,6-ангидро-2-O- β -D-глюкопиранозил- β -D-глюкопиранозы, 1,6-ангидро-2-O- α -D-глюкопиранозил- β -D-глюкопиранозы, 1,6-ангидро- β -D-целлобиозы (целлобиозана), 1,6-ангидро- β -D-целлотриозы (целлотриозана), 1,6-ангидро- β -D-целлотетраозы (целлотетраозана), 1,6-ангидро- β -D-целлопентаозы (целлопентаозана) и 1,6-ангидро- β -D-мальтозы (мальтозана).

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько субъединиц 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы (левоглюкозана). Например, Фиг.12 иллюстрирует два DP1 олигосахарида, содержащих ангидро-субъединицы (левоглюкозан и 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозу) и DP2 олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицы (ангидро-целлобиозу).

Присутствие и уровень разновидностей ангидро-субъединицы могут варьировать в зависимости от кормовых сахаров, используемых для производства олигосахарида. Например, в некоторых вариантах осуществления глюкоолигосахарида содержат ангидро-глюкозные субъединицы, галактоолигосахарида содержат ангидро-галактозные субъединицы, а глюкогоолигосахарида содержат ангидро-глюкозные и ангидро-галактозные субъединицы.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит как 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозные, так и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозные ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 0,1%, 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 99% ангидро-субъединиц выбраны из группы, состоящей из 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% ангидро-субъединиц представляют собой ангидро-субъединицы 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% или 60% ангидро-субъединиц представляют собой 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозу.

В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от

9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2 или от 1:1 до 3:1 в препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9 или 1:10 в препарате. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозы в препарате составляет примерно 2:1.

В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2 или от 1:1 до 3:1 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 или 1:10 в каждой фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в каждой фракции.

В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2 или от 1:1 до 3:1 по меньшей мере в одной фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 или 1:10 по меньшей мере в одной фракции. В некоторых вариантах осуществления отношение 1,6-ангидро-β-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-β-D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 по меньшей мере в одной фракции.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат включает DP2 олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит ангидро-лактозу, ангидро-сахарозу, ангидро-целлобиозу или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает примерно от 2 до 20, от 2 до 15, от 5 до 20, от 5 до 15 или от 5 до 10 видов DP2 олигосахаридов,

содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат, описанный в настоящей заявке, не содержит целлобиозан или не содержит определяемого уровня целлобиозана.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, которые представляют собой продукты карамелизации сахара. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит одну или несколько ангидро-субъединиц, являющихся продуктами карамелизации сахара, выбранными из группы, состоящей из метанола; этанола; фурана; метилглиоксаля; 2-метилфурана; винилацетата; гликольальдегида; уксусной кислоты; ацетола; фурфурола; 2-фуранметанола; 3-фуранметанола; 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она; 5-метилфурфурола; 2(5H)-фуранона; 2-метилциклопентенолона; левоглюкозенона; циклического гидроксил-лактона; 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы; диангидроглюкопиранозы; и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит ангидро-субъединицы 5-hmf.

В некоторых вариантах осуществления в олигосахаридном препарате или по меньшей мере в одной из фракций DP ангидро-субъединицы, которые являются продуктами карамелизации, менее распространены, чем ангидро-субъединицы, которые являются продуктами обратимой термической дегидратации моносахарида. В некоторых вариантах осуществления в олигосахаридном препарате или по меньшей мере в одной из фракций ангидро-субъединицы, которые являются продуктами карамелизации, более распространены, чем ангидро-субъединицы, которые являются продуктами обратимой термической дегидратации моносахарида. В некоторых вариантах осуществления в олигосахаридном препарате или по меньшей мере в одной из фракций ангидро-субъединицы, которые являются продуктами карамелизации, и ангидро-субъединицы, которые являются продуктами обратимой термической дегидратации моносахарида, имеют аналогичную распространенность.

В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,01% до 50%, примерно от 0,01% до 40%, примерно от 0,01% до 30%, примерно от 0,01% до 20%, примерно от 0,01% до 10%, примерно от 0,01% до 5%, примерно от 0,01% до 4%, примерно от 0,01% до 3%, примерно от 0,01% до 2%, примерно от 0,01% до 1%, примерно от 0,1% до 0,5%, примерно от 0,1% до 50%, примерно от 0,1% до 40%, примерно от 0,1% до 30%, примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,1% до 10% примерно от 0,1% до 5%, примерно от 0,1% до 4%, примерно от 0,1% до 3%, примерно от 0,1% до 2%, примерно от 0,1% до 1%, или примерно от 0,1% до 0,5% ангидро-субъединиц в описанном здесь олигосахаридном

препарате являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,1% до 5%, примерно от 0,1% до 2% или примерно от 0,1% до 1% ангидро-субъединиц в олигосахаридном препарате являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% ангидро-субъединиц в олигосахаридном препарате являются продуктами карамелизации.

В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,01% до 50%, примерно от 0,01% до 40%, примерно от 0,01% до 30%, примерно от 0,01% до 20%, примерно от 0,01% до 10%, примерно от 0,01% до 5%, примерно от 0,01% до 4%, примерно от 0,01% до 3%, примерно от 0,01% до 2%, примерно от 0,01% до 1%, примерно от 0,01 примерно от 0,1% до 0,5%, примерно от 0,1% до 50%, примерно от 0,1% до 40%, примерно от 0,1% до 30%, примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,1% до 10% примерно от 0,1% до 5%, примерно от 0,1% до 4%, примерно от 0,1% до 3%, примерно от 0,1% до 2%, примерно от 0,1% до 1% или примерно от 0,1% до 0,5% ангидро-субъединиц по меньшей мере в одной фракции (например, DP1, DP2 и/или DP3) описанного здесь препарата являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,1% до 5%, примерно от 0,1% до 2% или примерно от 0,1% до 1% ангидро-субъединиц по меньшей мере в одной фракции (например, DP1, DP2 и/или DP3) препарата являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления менее 50%, 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% ангидро-субъединиц по меньшей мере в одной фракции препарата являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления менее 20%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% ангидро-субъединиц во фракциях DP1, DP2 и/или DP3 описанного здесь олигосахаридного препарата являются продуктами карамелизации.

В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,01% до 50%, примерно от 0,01% до 40%, примерно от 0,01% до 30%, примерно от 0,01% до 20%, примерно от 0,01% до 10%, примерно от 0,01% до 5%, примерно от 0,01% до 4%, примерно от 0,01% до 3%, примерно от 0,01% до 2%, примерно от 0,01% до 1%, примерно от 0,01 примерно от 0,1% до 0,5%, примерно от 0,1% до 50%, примерно от 0,1% до 40%, примерно от 0,1% до 30%, примерно от 0,1% до 20%, примерно от 0,1% до 10% примерно от 0,1% до 5%, примерно от 0,1% до 4%, примерно от 0,1% до 3%, примерно от 0,1% до 2%, примерно от 0,1% до 1% или примерно от 0,1% до 0,5% ангидро-субъединиц в каждой фракции описанного в

настоящей заявке олигосахаридного препарата являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления примерно от 0,1% до 5%, примерно от 0,1% до 2% или примерно от 0,1% до 1% ангидро-субъединиц в каждой фракции препарата являются продуктами карамелизации. В некоторых вариантах осуществления менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 20%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 14%, менее 13%, менее более 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее более 2% или менее 1% ангидро-субъединиц в каждой фракции препарата являются продуктами карамелизации.

В некоторых вариантах осуществления каждый из олигосахаридов в описанном в настоящей заявке олигосахаридном препарате независимо и при необходимости содержит ангидро-субъединицу. В некоторых вариантах осуществления два или более независимых олигосахаридов содержат одинаковые или разные ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления два или более независимых олигосахаридов содержат разные ангидро-субъединицы. Например, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает DP1 олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицу, который включает 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозу, и олигосахарид DP2, содержащий ангидро-субъединицу, который включает 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозную субъединицу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько олигосахаридов в олигосахаридном препарате содержат две или более одинаковых или разных ангидро-субъединицы.

В некоторых вариантах осуществления в любой фракции олигосахаридного препарата, которая имеет степень полимеризации, равную 2 или более (т.е. фракции DP2-DPn), ангидро-субъединица может быть связана с одной или несколькими регулярными или ангидро-субъединицами. В некоторых вариантах осуществления во фракциях DP2-DPn по меньшей мере одна ангидро-субъединица связана с одной, двумя или тремя другими регулярными или ангидро-субъединицами. В некоторых вариантах осуществления во фракциях DP2-DPn по меньшей мере одна ангидро-субъединица связана с одной или двумя регулярными субъединицами. В некоторых вариантах осуществления во фракциях DP2-DPn по меньшей мере одна ангидро-субъединица связана с одной регулярной субъединицей. В некоторых вариантах осуществления в любой из фракций DP2-DPn более 99%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% или 30% ангидро-субъединиц связаны с одной регулярной субъединицей. В некоторых вариантах осуществления в каждой из фракций DP2-DPn более 99%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% или 30% ангидро-субъединиц связаны с одной регулярной субъединицей.

В некоторых вариантах осуществления в любой фракции олигосахаридного

препарата, которая имеет степень полимеризации, равную 2 или более (т.е. фракции DP2-DPn), ангидро-субъединица может быть расположена на конце цепи олигосахарида. В некоторых вариантах осуществления в любой фракции олигосахаридного препарата, которая имеет степень полимеризации, равную 3 или более (т.е. фракции DP3-DPn), ангидро-субъединица может находиться в положении, которое не является концом цепи олигосахарида. В некоторых вариантах осуществления во фракциях DP2-DPn по меньшей мере одна субъединица расположена на конце олигосахаридной цепи. В некоторых вариантах осуществления более 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35% или 30% ангидро-субъединиц во фракциях DP2-DPn расположены на конце олигосахаридной цепи. В некоторых вариантах осуществления более 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% или 10% ангидро-субъединиц в олигосахаридном препарате расположены на конце олигосахаридной цепи. В некоторых вариантах осуществления более 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицу, включают ангидро-субъединицу на конце цепи. В некоторых вариантах осуществления более 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицу, включают ангидро-субъединицу на конце цепи.

Гликозидные связи

В некоторых вариантах осуществления описанный здесь олигосахаридный препарат содержит множество гликозидных связей. Тип и распределение гликозидных связей может зависеть от источника и способа производства олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления тип и распределение различных гликозидных связей можно определять и/или обнаруживать любыми подходящими способами, известными в данной области техники, такими как ЯМР. Например, в некоторых вариантах осуществления гликозидные связи определяют и/или обнаруживают с помощью ^1H -ЯМР, ^{13}C -ЯМР, 2D ЯМР, такого как 2D JRES, HSQC, HMBC, DOSY, COSY, ECOSY, TOCSY, NOESY или ROESY, или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления гликозидные связи определяют и/или обнаруживают, по меньшей мере частично, с помощью ^1H -ЯМР. В некоторых вариантах осуществления гликозидные связи определяют и/или обнаруживают, по меньшей мере частично, с помощью ^{13}C -ЯМР. В некоторых вариантах осуществления гликозидные связи определяют и/или обнаруживают, по меньшей мере частично, с помощью 2D ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит одну или несколько α -(1,2) гликозидных связей, α -(1,3) гликозидных связей, α -(1,4) гликозидных связей, α -(1,6) гликозидных связей, β -(1,2)

гликозидных связей, β -(1,3) гликозидных связей, β -(1,4) гликозидных связей, β -(1,6) гликозидных связей, α -(1,1)- α -гликозидных связей, α -(1,1)- β -гликозидных связей, β -(1,1)- β -гликозидных связей или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 60 мол.%, примерно от 5% до 55 мол.%, примерно от 5% до 50 мол.%, примерно от 5% до 45 мол.%, примерно от 5% до 40 мол.%, примерно от 5% до 35 мол.%, примерно от 5% до 30 мол.%, примерно от 5% до 25 мол.%, примерно от 10% до 60 мол.%, примерно от 10% до 55 мол.%, примерно от 10% до 50 мол.%, примерно от 10% до 45 мол.%, примерно от 10% до 40 мол.%, примерно от 10% до 35 мол.%, примерно от 15% до 60 мол.%, примерно от 15% до 55 мол.%, примерно от 15% до 50 мол.%, примерно от 15% до 45 мол.%, примерно от 15% до 40 мол.%, примерно от 15% до 35 мол.%, примерно от 20% до 60 мол.%, примерно от 20% до 55 мол.%, примерно от 20% до 50 мол.%, примерно от 20% до 45 мол.%, примерно от 20% до 40 мол.%, примерно от 20% до 35 мол.%, примерно от 25% до 60 мол.%, примерно от 25% до 55 мол.%, примерно от 25% до 50 мол.%, примерно от 25% до 45 мол.%, примерно от 25% до 40 мол.%, или примерно от 25% до 35 мол.% α -(1,6) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 50 мол.%, примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 35 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 5% до 40 мол.%, примерно от 5% до 35 мол.%, примерно от 5% до 30 мол.% примерно от 5% до 25 мол.%, примерно от 5% до 20 мол.%, примерно от 10% до 40 мол.%, примерно от 10% до 35 мол.%, примерно от 10% до 20 мол.% примерно от 15% до 40 мол.%, примерно от 15% до 35 мол.%, примерно от 15% до 30 мол.%, примерно от 15% до 25 мол.% или примерно от 15% до 20 мол.% α -(1,3) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 35 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол. мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 0 до 15 мол.%, примерно от 0 до 10 мол.%, примерно от 2% до 30 мол.%, примерно от 2% до 25 мол.%, примерно от 2% до 20 мол.%, примерно от 2% до 15 мол.%, примерно от 2% до 10 мол.%, примерно от 3% до 30 мол.%, примерно от 3% до 25 мол.%, примерно от 3% до 20 мол.%, примерно от 3% до 15 мол.%, примерно от 3% до 10 мол.%, примерно от 5% до 30 мол.%, примерно от 5% до 25 мол.%, примерно от 5% до 20 мол.%, примерно от 5% до 15 мол.% или примерно от 5% до 10 мол.% α -(1,2) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 0 до 15 мол.%, примерно от 0 до 10 мол.% или примерно от 0 до 5 мол.% α -(1,4) гликозидных связей. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи менее 40 мол.%, менее 30 мол.%, менее 20 мол.%, менее 15 мол.%, менее 10 мол.%, менее 9 мол.%, менее 8 мол.%, менее 7 мол.%, менее 6 мол.%, менее 5 мол.%, менее 4 мол.%, менее 3 мол.% или менее 2 мол.% α -(1,4) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 35 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 0 до 15 мол.%, примерно от 0 до 10 мол.%, примерно от 2% до 30 мол.%, примерно от 2% до 25 мол.%, примерно от 2% до 20 мол.%, примерно от 2% до 15 мол.%, примерно от 2% до 10 мол.%, примерно от 5% до 30 мол.%, примерно от 5% до 25 мол.%, примерно от 5% до 20 мол.%, примерно от 5% до 15 мол.%, примерно от 5% до 10 мол.%, примерно от 8% до 30 мол.%, примерно от 8% до 25 мол.%, примерно от 8% до 20 мол.%, примерно от 8% до 15 мол.% или примерно от 10% до 15 мол.% β -(1,6) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 35 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 0 до 15 мол.%, примерно от 0 до 10 мол.%, примерно от 2% до 30 мол.%, примерно от 2% до 25 мол.%, примерно от 2% до 20 мол.%, примерно от 2% до 15 мол.%, примерно от 2% до 10 мол.%, примерно от 3% до 30 мол.%, примерно от 3% до 25 мол.%, примерно от 3% до 20 мол.%, примерно от 3% до 15 мол.%, примерно от 3% до 10 мол.%, примерно от 5% до 30 мол.%, примерно от 5% до 25 мол.%, примерно от 5% до 20 мол.%, примерно от 5% до 15 мол.% или примерно от 5% до 10 мол.% β -(1,4) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 0 до 15 мол.%, примерно от 0 до 10 мол.%, примерно от 0 до 5 мол.%, примерно от 1% до 20 мол.%, примерно от 1% до 15 мол.%, примерно от 1% до 10 мол.%, примерно от 1% до 5 мол.%, примерно от 2% до 20 мол.%, примерно от 2% до 15 мол.%, примерно от 2% до 10

мол.%, или примерно от 2% до 5 мол.% β -(1,2) гликозидных связей. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи менее 40 мол.%, менее 30 мол.%, менее 20 мол.%, менее 15 мол.%, менее 10 мол.%, менее 9 мол.%, менее 8 мол.%, менее 7 мол.%, менее 6 мол.%, менее 5 мол.%, менее 4 мол.%, менее 3 мол.% или менее 2 мол.% β -(1,2) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи примерно от 0 до 40 мол.%, примерно от 0 до 30 мол.%, примерно от 0 до 25 мол.%, примерно от 0 до 20 мол.%, примерно от 0 до 15 мол.%, примерно от 0 до 10 мол.%, примерно от 0 до 5 мол.%, примерно от 1% до 20 мол.%, примерно от 1% до 15 мол.%, примерно от 1% до 10 мол.%, примерно от 1% до 5 мол.%, примерно от 2% до 20 мол.%, примерно от 2% до 15 мол.%, примерно от 2% до 10 мол.%, или примерно от 2% до 5 мол.% β -(1,3) гликозидных связей. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи менее 40 мол.%, менее 30 мол.%, менее 20 мол.%, менее 15 мол.%, менее 10 мол.%, менее 9 мол.%, менее 8 мол.%, менее 7 мол.%, менее 6 мол.%, менее 5 мол.%, менее 4 мол.%, менее 3 мол.% или менее 2 мол.% β -(1,3) гликозидных связей.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типа гликозидной связи, которое отличается от распределения типа гликозидной связи в несинтетических олигосахаридных препаратах. Например, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют распределение типов гликозидных связей, которое отличается от такового в основных питательных композициях. В некоторых вариантах осуществления основные питательные композиции содержат природный источник углеводов, такой как крахмал и растительные волокна. Некоторые из природных источников углеводов имеют высокий процент α -(1,4), α -(1,6) и/или β -(1,6) гликозидных связей. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют более низкий процент α -(1,4) гликозидных связей, чем основная питательная композиция. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют более низкий процент α -(1,6) гликозидных связей, чем основная питательная композиция. В других вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют более высокий процент α -(1,6) гликозидных связей, чем основная питательная композиция. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты имеют более низкий процент β -(1,6) гликозидных связей, чем основная питательная композиция. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит гликозидные связи, которые трудно расщепляются или гидролизуются ферментами.

В частности, в некоторых вариантах осуществления α -(1,2), α -(1,3), α -(1,4), α -(1,6), β -(1,2), β -(1,3), β -(1,4) и/или β -(1,6) гликозидные связи в распределении типа гликозидной связи описанных в настоящей заявке олигосахаридных препаратов по меньшей мере на 50 мол.%, по меньшей мере на 40 мол.%, по меньшей мере на 30 мол.%, по меньшей мере на 20 мол.%, по меньшей мере на 15 мол.%, по меньшей мере на 10 мол.%, по меньшей мере на 5 мол.%, по меньшей мере на 2 мол.% или по меньшей мере на 1 мол.% ниже, чем в основной питательной композиции. В некоторых вариантах осуществления α -(1,2), α -(1,3), α -(1,4), α -(1,6), β -(1,2), β -(1,3), β -(1,4) и/или β -(1,6) гликозидные связи в распределении типа гликозидной связи препаратов олигосахаридов по меньшей мере на 50 мол.%, по меньшей мере на 40 мол.%, по меньшей мере на 30 мол.%, по меньшей мере на 20 мол.%, по меньшей мере на 15 мол.%, по меньшей мере на 10 мол.%, по меньшей мере на 5 мол.%, по меньшей мере на 2 мол.% или по меньшей мере на 1 мол.% выше, чем в основной питательной композиции.

Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что определенные типы гликозидных связей могут быть неприменимы к олигосахаридам, содержащим определенный тип моносахаридов. Например, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит α -(1,2) гликозидные связи и α -(1,6) гликозидные связи. В других вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит α -(1,2) гликозидные связи и β -(1,3) гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит α -(1,2) гликозидные связи, α -(1,3) гликозидные связи и β -(1,6) гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит α -(1,2) гликозидные связи, α -(1,3) гликозидные связи, α -(1,4) гликозидные связи, α -(1,6) гликозидные связи, β -(1,2) гликозидные связи, β -(1,3) гликозидные связи, β -(1,4) гликозидные связи и β -(1,6) гликозидные связи.

Молекулярная масса

Молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение описанных в настоящей заявке олигосахаридных препаратов могут быть определены любыми подходящими аналитическими средствами и инструментами, такими как метод концевых групп, осмотическое давление (осмометрия), ультрацентрифугирование, измерение вязкости, метод светорассеяния, SEC, SEC-MALLS, ПФП, А4F, ВЭЖХ и масс-спектрометрия. В некоторых вариантах осуществления молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение определяют масс-спектрометрией, такой как MALDI-MS, ЖХ-МС или ГХ-МС. В некоторых вариантах осуществления молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение определяют с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC), такой как гель-проникающая хроматография (ГПХ). В других

вариантах осуществления молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение определяют с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение определяют с помощью MALDI-MS.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет средневесовую молекулярную массу примерно от 100 до 10000 г/моль, примерно от 200 до 8000 г/моль, примерно от 300 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 5000 г/моль, примерно от 700 до 5000 г/моль, примерно от 900 до 5000 г/моль, примерно от 1100 до 5000 г/моль, примерно от 1300 до 5000 г/моль, примерно от 1500 до 5000 г/моль, примерно от 1700 до 5000 г/моль, примерно от 300 до 4500 г/моль, примерно от 500 до 4500 г/моль, примерно от 700 до 4500 г/моль, примерно от 900 до 4500 г/моль, примерно от 1100 до 4500 г/моль, примерно от 1300 до 4500 г/моль, примерно от 1500 до 4500 г/моль, примерно от 1700 до 4500 г/моль, примерно от 1900 до 4500 г/моль, примерно от 300 до 4000 г/моль, примерно от 500 до 4000 г/моль, примерно от 700 до 4000 г/моль, примерно от 900 до 4000 г/моль, примерно от 1100 до 4000 г/моль, примерно от 1300 до 4000 г/моль, примерно от 1500 до 4000 г/моль, примерно от 1700 до 4000 г/моль, примерно от 1900 до 4000 г/моль, примерно от 300 до 3000 г/моль, примерно от 500 до 3000 г/моль, примерно от 700 до 3000 г/моль, примерно от 900 до 3000 г/моль, примерно от 1100 до 3000 г/моль, примерно от 1300 до 3000 г/моль, примерно от 1500 до 3000 г/моль, примерно от 1700 до 3000 г/моль, примерно от 1900 до 3000 г/моль, примерно от 2100 до 3000 г/моль, примерно от 300 до 2500 г/моль, примерно от 500 до 2500 г/моль, примерно от 700 до 2500 г/моль, примерно от 900 до 2500 г/моль, примерно от 1100 до 2500 г/моль, примерно от 1300 до 2500 г/моль, примерно от 1500 до 2500 г/моль, примерно от 1700 до 2500 г/моль, примерно от 1900 до 2500 г/моль, примерно от 2100 до 2500 г/моль, примерно от 300 до 1500 г/моль, примерно от 500 до 1500 г/моль, примерно от 700 до 1500 г/моль, примерно от 900 до 1500 г/моль, примерно от 1100 до 1500 г/моль, примерно от 1300 до 1500 г/моль, примерно от 2000 до 2800 г/моль, примерно от 2100 до 2700 г/моль, примерно от 2200 до 2600 г/моль, примерно от 2300 до 2500 г/моль или примерно от 2320 до 2420 г/моль. В некоторых вариантах осуществления средневесовая молекулярная масса олигосахаридного препарата составляет примерно от 2000 до 2800 г/моль, примерно от 2100 до 2700 г/моль, примерно от 2200 до 2600 г/моль, примерно от 2300 до 2500 г/моль, или примерно от 2320 до 2420 г/моль. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет средневесовую молекулярную массу в диапазоне по меньшей мере от 500 г/моль, 750 г/моль, 1000 г/моль или 1500 г/моль до не более 1750 г/моль, 2000 г/моль, 2250 г/моль, 2500 г/моль или 3000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления средневесовую молекулярную массу описанного в настоящей

заявке олигосахаридного препарата определяют с помощью ВЭЖХ согласно Примеру 9.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу примерно от 100 до 10000 г/моль, примерно от 200 до 8000 г/моль, примерно от 300 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 5000 г/моль, примерно от 700 до 5000 г/моль, примерно от 900 до 5000 г/моль, примерно от 1100 до 5000 г/моль, примерно от 1300 до 5000 г/моль, примерно от 1500 до 5000 г/моль, примерно от 1700 до 5000 г/моль, примерно от 300 до 4500 г/моль, примерно от 500 до 4500 г/моль, примерно от 700 до 4500 г/моль, примерно от 900 до 4500 г/моль, примерно от 1100 до 4500 г/моль, примерно от 1300 до 4500 г/моль, примерно от 1500 до 4500 г/моль, примерно от 1700 до 4500 г/моль, примерно от 1900 до 4500 г/моль, примерно от 300 до 4000 г/моль, примерно от 500 до 4000 г/моль, примерно от 700 до 4000 г/моль, примерно от 900 до 4000 г/моль, примерно от 1100 до 4000 г/моль, примерно от 1300 до 4000 г/моль, примерно от 1500 до 4000 г/моль, примерно от 1700 до 4000 г/моль, примерно от 1900 до 4000 г/моль, примерно от 300 до 3000 г/моль, примерно от 500 до 3000 г/моль, примерно от 700 до 3000 г/моль, примерно от 900 до 3000 г/моль, примерно от 1100 до 3000 г/моль, примерно от 1300 до 3000 г/моль, примерно от 1500 до 3000 г/моль, примерно от 1700 до 3000 г/моль, примерно от 1900 до 3000 г/моль, примерно от 2100 до 3000 г/моль, примерно от 300 до 2500 г/моль, примерно от 500 до 2500 г/моль, примерно от 700 до 2500 г/моль, примерно от 900 до 2500 г/моль, примерно от 1100 до 2500 г/моль, примерно от 1300 до 2500 г/моль, примерно от 1500 до 2500 г/моль, примерно от 1700 до 2500 г/моль, примерно от 1900 до 2500 г/моль, примерно от 2100 до 2500 г/моль, примерно от 300 до 2000 г/моль, примерно от 500 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 2000 г/моль, примерно от 900 до 2000 г/моль, примерно от 1100 до 2000 г/моль, примерно от 300 до 1500 г/моль, примерно от 500 до 1500 г/моль, примерно от 700 до 1500 г/моль, примерно от 900 до 1500 г/моль, примерно от 1100 до 1500 г/моль, примерно от 1300 до 1500 г/моль, примерно от 1000 до 2000 г/моль, примерно от 1100 до 1900 г/моль, примерно от 1200 до 1800 г/моль, примерно от 1300 до 1700 г/моль, примерно от 1400 до 1600 г/моль или примерно от 1450 до 1550 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленная молекулярная масса олигосахаридного препарата составляет примерно от 1000 до 2000 г/моль, примерно от 1100 до 1900 г/моль, примерно от 1200 до 1800 г/моль, примерно от 1300 до 1700 г/моль, примерно от 1400 до 1600 г/моль или примерно от 1450 до 1550 г/моль. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат имеет среднечисленную молекулярную массу в диапазоне по меньшей мере от 500 г/моль, 750 г/моль, 1000 г/моль или 1500 г/моль до не более 1750 г/моль, 2000 г/моль, 2250 г/моль, 2500 г/моль или 3000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления среднечисленную

молекулярную массу описанного в настоящей заявке олигосахаридного препарата определяют с помощью ВЭЖХ согласно Примеру 9.

Типы олигосахаридов

Виды олигосахаридов, присутствующих в олигосахаридном препарате, могут зависеть от типа одного или нескольких кормовых сахаров. Например, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты содержат глюкоолигосахарид, когда кормовые сахара содержат глюкозу. Например, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты содержат галактоолигосахарид, когда кормовые сахара содержат галактозу. В другом примере, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные препараты содержат глюкоголактоолигосахариды, когда кормовые сахара включают галактозу и глюкозу.

В некоторых вариантах осуществления описанные в настоящей заявке олигосахаридные препараты содержат один или несколько видов моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат может содержать олигосахариды с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более различными видами моносахаридных субъединиц.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит олигосахариды с 1, 2, 3 или 4 различными видами моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает олигосахариды с 1, 2 или 3 различными видами моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит олигосахариды с 3 различными видами моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает олигосахариды с 2 различными видами моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах реализации олигосахаридный препарат включает один вид моносахаридных субъединиц.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает различные виды олигосахаридов, при этом каждая молекула олигосахарида независимо включает 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 различных видов моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления описанный здесь олигосахаридный препарат содержит 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 или более различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления некоторые из олигосахаридов в препарате содержат один вид моносахаридных субъединиц, а некоторые другие олигосахариды в том же препарате содержат два или более видов моносахаридных субъединиц. Например, в некоторых вариантах осуществления, когда кормовые сахара представляют собой глюкозу и галактозу, олигосахаридный препарат может включать олигосахариды, которые содержат

только глюкозные субъединицы, олигосахариды, которые содержат только галактозные субъединицы, олигосахариды, которые содержат глюкозные и галактозные субъединицы в различных соотношениях, или любую комбинацию из них.

В некоторых вариантах осуществления любая или все n фракций препарата олигосахаридов содержат различные виды олигосахаридных субъединиц, где каждый олигосахарид независимо включает 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 различных видов моносахаридных субъединиц. В некоторых вариантах осуществления некоторые из олигосахаридов во фракции препарата содержат один вид моносахаридных субъединиц, а некоторые другие олигосахариды в той же фракции препарата содержат два или более видов моносахаридных субъединиц.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит одну или несколько моносахаридных субъединиц, выбранных из группы, состоящей из триозы, тетрозы, пентозы, гексозы, гептозы и любой их комбинации, где каждая из указанных триозной, тетрозной, пентозной, гексозной или гептозной субъединиц независимо и при необходимости функционализована и/или заменена одной из своих соответствующих ангидро-субъединиц. В некоторых вариантах осуществления соответствующая ангидро-субъединица является продуктом обратимой термической дегидратации моносахаридной субъединицы. В некоторых вариантах осуществления соответствующая ангидро-субъединица представляет собой продукт карамелизации моносахаридной субъединицы.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит пентозные субъединицы, гексозные субъединицы или любую их комбинацию, где каждая из указанных пентозных или гексозных субъединиц независимо и при необходимости функционализована и/или заменена одной из своих соответствующих ангидро-субъединиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит гексозные субъединицы, где каждая из указанных гексозных субъединиц независимо и при необходимости заменена одной из своих соответствующих ангидро-субъединиц.

В контексте настоящего изобретения тетроза относится к моносахариду с четырьмя атомами углерода, такому как эритроза, треоза и эритрулоза. В контексте настоящего изобретения пентоза относится к моносахариду с пятью атомами углерода, такому как арабиноза, ликсоза, рибоза и ксилоза. В контексте настоящего изобретения гексоза относится к моносахариду с шестью атомами углерода, такому как аллоза, альтроза, глюкоза, манноза, гулоза, идоза, галактоза, талоза, психоза, фруктоза, сорбоза и тагатоза. В контексте настоящего изобретения гептоза относится к моносахариду с семью атомами

углерода, такому как седогептулоза и манногептулоза.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит глюкозную субъединицу, где по меньшей мере одна глюкозная субъединица при необходимости заменена ангидро-глюкозной субъединицей. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит галактозную субъединицу, где по меньшей мере одна галактозная субъединица при необходимости заменена ангидро-галактозной субъединицей. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит галактозные и глюкозные субъединицы, где по меньшей мере одна галактозная субъединица или по меньшей мере одна глюкозная субъединица при необходимости заменена одной из ее соответствующих ангидро-субъединиц. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит фруктозные и глюкозные субъединицы, где по меньшей мере одна фруктозная субъединица или по меньшей мере одна глюкозная субъединица при необходимости заменена одной из ее соответствующих ангидро-субъединиц. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит маннозную и глюкозную субъединицы, где по меньшей мере одна маннозная субъединица или по меньшей мере одна глюкозная субъединица при необходимости заменена одной из ее соответствующих ангидро-субъединиц.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат включает глюको-галактозо-олигосахаридный препарат, глюко-олигосахаридный препарат, галакто-олигосахаридный препарат, фрукто-олигосахаридный препарат, манно-олигосахаридный препарат, арабино-олигосахаридный препарат, ксило-олигосахаридный препарат, глюко-фрукто-олигосахаридный препарат, глюко-манно-олигосахаридный препарат, глюко-арабино-олигосахаридный препарат, глюко-ксило-олигосахаридный препарат, галакто-фрукто-олигосахаридный препарат, манно-олигосахаридный препарат, галакто-арабино-олигосахаридный препарат, галакто-ксило-олигосахаридный препарат, фрукто-манно-олигосахаридный препарат, фрукто-арабино-олигосахаридный препарат, фрукто-ксило-олигосахаридный препарат, манно-арабино-олигосахаридный препарат, манно-ксило-олигосахаридный препарат, арабино-ксило-олигосахаридный препарат, галакто-арабино-ксило-олигосахаридный препарат, фрукто-галакто-ксило-олигосахаридный препарат, арабино-фрукто-манно-ксило-олигосахаридный препарат, глюко-фрукто-галакто-арабино-олигосахаридный препарат, фрукто-глюко-арабино-манно-ксило-олигосахаридный препарат, глюко-галакто-фрукто-манно-арабино-ксило-олигосахаридный препарат, или любые их комбинации; где каждая

из моносахаридных субъединиц в составе препарата независимо и при необходимости функционализована и/или заменена одной из своих соответствующих ангидро-субъединиц.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит более 99% субъединиц глюкозы по массе. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит только глюкозные субъединицы.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит примерно от 45% до 55% субъединиц глюкозы и примерно от 55% до 45% субъединиц галактозы по массе. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит примерно 50% субъединиц глюкозы и 50% субъединиц галактозы по массе.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит примерно от 80% до 95% субъединиц глюкозы и примерно от 20% до 5% субъединиц маннозы по массе. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит примерно от 85% до 90% субъединиц глюкозы и примерно от 15% до 10% субъединиц маннозы по массе.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит примерно от 80% до 95% глюкозных субъединиц и примерно от 20% до 5% галактозных субъединиц по массе. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит примерно от 85% до 90% глюкозных субъединиц и примерно от 15% до 10% галактозных субъединиц по массе.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит примерно от 80% до 95% глюкозных субъединиц, от 0% до 8% галактозных субъединиц и от 5% до 20% маннозных субъединиц по массе. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат содержит примерно от 80% до 90% глюкозных субъединиц, от 1% до 5% галактозных субъединиц и от 10% до 15% маннозных субъединиц по массе.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат, описанный в настоящей заявке, содержит примерно от 1 до 100 масс.%, примерно от 50 масс.% до 100 масс.%, примерно от 80 масс.% до 98 масс.% или примерно от 85 масс.% до 95 масс.% глюкозных субъединиц, или в любых диапазонах между ними. В некоторых вариантах осуществления галактозные субъединицы присутствуют в олигосахаридном препарате, описанном в настоящей заявке, в количестве примерно от 0 до 90 масс.%, примерно от 1 до 50 масс.%, примерно от 2 до 20 масс.%, или примерно от 5 масс.% до 15 масс.%, или в

любом диапазоне между ними. В некоторых вариантах осуществления маннозные субъединицы присутствуют в олигосахаридном препарате, описанном в настоящей заявке, в количестве примерно от 0 масс.% до 90 масс.%, примерно от 1 масс.% до 50 масс.%, примерно от 2 масс.% до 20 масс.%, или примерно от 5 масс.% до 15 масс.%, или в любом диапазоне между ними.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат имеет состав моносахаридных субъединиц, как показано в Таблице 1.

Таблица 1. Примерный состав олигосахаридных препаратов

№ олигосахаридной композиции	Глюкозные и ангидро-глюкозные субъединицы (масс.%)	Галактозные и ангидро-галактозные субъединицы (масс.%)	Маннозные и ангидро-маннозные субъединицы (масс.%)	Фруктозные и ангидро-фруктозные субъединицы (масс.%)
1	87,5	12,5	0	0
2	100	0	0	0
3	85	2,5	12,5	0
4	87,5	0	12,5	0
5	50	50	0	0
6	75	0	25	0
7	9	6	0	0
8	90	0	10	0
9	95	5	0	0
10	97,5	2,5	0	0
11	85	5	10	0
12	85	1,5	13,5	0
13	80	10	10	0
14	85	0	15	0
15	85	15	0	0
16	87,5	0	0	12,5

D-формы и L-формы

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна моносахаридная субъединица в олигосахариде находится в L-форме. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна моносахаридная субъединица в олигосахариде находится в D-форме. В некоторых вариантах осуществления моносахаридные субъединицы в описанном в настоящей заявке олигосахаридном препарате находятся в их естественной распространенной форме, например, в виде D-глюкозы, D-ксилозы и L-арабинозы.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат включает смесь L- и D-форм моносахаридных субъединиц. В

некоторых вариантах осуществления отношение моносахаридных субъединиц L- к D- или D- к L- форме составляет примерно 1:1, примерно 1:2, примерно 1:3, примерно 1:4, примерно 1:5, примерно 1:6, примерно 1:7, примерно 1:8, примерно 1:9, примерно 1:10, примерно 1:12, примерно 1:14, примерно 1:16, примерно 1:18, примерно 1:20, примерно 1:25, примерно 1:30, примерно 1:35, примерно 1:40, примерно 1:45, примерно 1:50, примерно 1:55, примерно 1:60, примерно 1:65, примерно 1:70, примерно 1:75, примерно 1:80, примерно 1:85, примерно 1:90, примерно 1:100 или примерно 1:150.

Функционализованные олигосахариды

В некоторых вариантах осуществления один или несколько олигосахаридов в описанном в настоящей заявке олигосахаридном препарате функционализованы независимо. Функционализованные олигосахариды могут быть получены, например, путем объединения одного или нескольких сахаров с одним или несколькими функционализирующими соединениями в присутствии катализатора. Способы получения функционализованных олигосахаридов описаны в WO 2012/118767, WO 2014/031956 и WO/2016/122887, которые включены в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте и для их раскрытия.

В некоторых вариантах осуществления функционализирующее соединение содержит одну или несколько кислотных групп (например, -COOH), гидроксильных групп или N-содержащих групп (например, -CN, -NO₂ и -N(Ra)₂, где Ra представляет собой водородную, алкильную, алкенильную, алкинильную, галогеналкильную, гетероалкильную, циклоалкильную, арильную, гетероциклоалкильную или гетероарильную группу), S-содержащих групп (например, тиольных и сульфатных), галогенидов (например, -Cl), P-содержащих группы (например, фосфатных) или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления функционализирующее соединение связано по меньшей мере с одной моносахаридной субъединицей посредством простой эфирной, сложноэфирной, кислород-серной, аминной или кислород-фосфорной связи. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько функционализирующих соединений связаны с моносахаридной субъединицей посредством одной связи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно функционализирующее соединение связано с одним или двумя олигосахаридами двумя или более связями.

Следует понимать, что для каждого олигосахарида в олигосахаридном препарате каждый из описанных вариантов осуществления является независимым и может быть объединен, как если бы каждая комбинация была перечислена отдельно; таким образом, любое сочетание вариантов осуществления охвачено настоящим раскрытием. Например, различные варианты осуществления могут быть сгруппированы в несколько категорий,

которые включают (i) наличие или отсутствие ангидро-субъединицы; (ii) количество и уровень ангидро-субъединицы; (iii) тип разновидностей ангидро-субъединицы; (iv) расположение ангидро-субъединицы; (v) степень полимеризации; (vi) молекулярную массу; (vii) наличие или отсутствие каких-либо функциональных групп; (viii) тип олигосахаридов; (ix) тип гликозидной связи и (x) L- или D-форму; но не ограничиваются ими. Соответственно, описанный олигосахаридный препарат включает множество олигосахаридов разных видов. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере 10 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 или 10^{10} различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления препарат содержит по меньшей мере 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 или 10^9 различных видов олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления препарат содержит по меньшей мере 10^3 различных вида олигосахаридов.

III. Способы производства олигосахаридных препаратов

В одном аспекте в настоящей заявке представлены способы производства олигосахаридных препаратов. В некоторых вариантах осуществления в настоящей заявке представлены способы производства олигосахаридных препаратов, подходящих для использования в питательной композиции, такой как кормовая композиция для животных, или для скармливания непосредственно животному. В одном аспекте в настоящей заявке представлены способы производства олигосахаридного препарата, включающие нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации, где катализатор выбран из группы, состоящей из: (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты; 2-пиридинсульфоновой кислоты; 3-пиридинсульфоновой кислоты; 8-гидрокси-5-хинолинсульфоновой кислоты гидрата; α -гидрокси-2-пиридинметансульфоновой кислоты; (β)-камфор-10-сульфоновой кислоты; бутилфосфоновой кислоты; дифенилфосфиновой кислоты; гексилфосфоновой кислоты; метилфосфоновой кислоты; фенилфосфиновой кислоты; фенилфосфоновой кислоты; трет-бутилфосфоновой кислоты; (S)-VAPOL-гидрофосфата; 6-хинолинсульфоновой кислоты; 3-(1-пиридино)-1-пропансульфоната; 2-(2-пиридинил)этансульфоновой кислоты; 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-п,п'-дисульфоновой кислоты моноватриевой соли гидрата; 1,1'-бинафтил-2,2'-диил-гидрофосфата; бис(4-метоксифенил)фосфиновой кислоты; фенил(3,5-ксилил)фосфиновой кислоты; L-цистеиновой кислоты моногидрата; поли(стиролсульфоновой кислоты-со-дивинилбензола); лизина; этандисульфоновой кислоты; этансульфоновой кислоты; изетионовой кислоты; гомоцистеиновой кислоты; HEPBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)); HEPES (4-(2-

гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоной кислоты); 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоной кислоты; 2-(N-морфолино)этансульфоной кислоты; метансульфоной кислоты; метаниазида; нафталин-1-сульфоной кислоты; нафталин-2-сульфоной кислоты; перфторбутансульфоной кислоты; 6-сульфохиновозы; трифликовой кислоты; 2-аминоэтансульфоной кислоты; бензойной кислоты; хлоруксусной кислоты; трифторуксусной кислоты; капроновой кислоты; энантовой кислоты; каприловой кислоты; пеларгоновой кислоты; лауриновой кислоты; пальмитиновой кислоты; стеариновой кислоты; арахидиновой кислоты; аспарагиновой кислоты; глутаминовой кислоты; серина; треонина; глутамина; цистеина; глицина; пролина; аланина; валина; изолейцина; лейцина; метионина; фенилаланина; тирозина; триптофана, и где олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n представляет собой целое число, равное 2 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 3 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100, например, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40 или 50. В некоторых вариантах осуществления полимеризация кормовых сахаров достигается путем ступенчатой полимеризации. В некоторых вариантах осуществления полимеризация кормовых сахаров достигается поликонденсацией.

Кормовой сахар

В некоторых вариантах осуществления способ производства олигосахаридных препаратов, описанный в настоящей заявке, включает нагревание одного или нескольких типов кормовых сахаров. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержит моносахариды, дисахариды, трисахариды, тетрасахариды или любые их смеси.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу и галактозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу, ксилозу и галактозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу и маннозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу и фруктозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу, фруктозу и галактозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу, галактозу и

маннозу.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат дисахариды, такие как лактоза, сахароза и целлобиоза. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат трисахариды, такие как мальтотриоза или рафиноза. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу, маннозу, галактозу, ксилозу, мальтодекстрин, арабинозу или галактозу, или любые их комбинации. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат сахарный сироп, такой как кукурузный сироп. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу и лактозу. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу и сахарозу.

В некоторых вариантах осуществления тип кормовых сахаров может влиять на получаемые в результате олигосахаридные препараты. Например, в некоторых вариантах, когда один или несколько кормовых сахаров представляют собой глюкозу, полученные олигосахаридные препараты включают глюको-олигосахаридные препараты. В других вариантах осуществления, когда один или несколько кормовых сахаров представляют собой маннозу, полученные олигосахаридные препараты включают манно-олигосахаридные препараты. В некоторых вариантах осуществления, где один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу и галактозу, полученные олигосахаридные препараты включают глюко-галакто-олигосахаридные препараты. В еще других вариантах осуществления, где один или несколько кормовых сахаров включают ксилозу, глюкозу и галактозу, полученные олигосахаридные препараты включают глюко-галакто-ксило-олигосахаридные препараты.

В некоторых вариантах осуществления каждый из одного или нескольких кормовых сахаров может независимо находиться в своей дегидратированной или гидратной форме. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат глюкозу, галактозу, фруктозу, маннозу или любую их комбинацию, и где каждая из глюкозы, галактозы, фруктозы или маннозы независимо находится в своей моногидратной или дегидратированной форме. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат моногидрат моносахарида, такой как моногидрат глюкозы. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат дигидрат сахара, такой как дигидрат трегалозы. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат по меньшей мере один сахар в его дегидратированной форме и по меньшей мере один сахар в его гидратной форме.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров могут быть обеспечены в виде сахарного раствора, в котором сахара объединены с водой и загружены в реактор. В некоторых вариантах осуществления сахара можно подавать в реактор в твердой форме и объединять с водой в реакторе. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров объединяют и перемешивают перед добавлением воды. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров объединяют в воде и после этого смешивают.

В некоторых вариантах осуществления способ включает объединение двух или более кормовых сахаров с катализатором для получения олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления два или более кормовых сахара включают глюкозу, галактозу, фруктозу, маннозу, лактозу или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления способ включает объединение смеси сахаров (например, моносахаридов, дисахаридов и/или трисахаридов) с катализатором для получения олигосахаридного препарата. В других вариантах осуществления способ включает объединение смеси сахаров и сахароспиртов с катализатором для получения олигосахаридного препарата.

В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров содержат функционализированные или модифицированные сахара. Функционализированные или модифицированные сахара могут включать аминсахара, сахарные кислоты, сахароспирты, амиды сахаров, простые эфиры сахаров, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления аминсахара относятся к молекулам сахара, в которых гидроксильная группа заменена аминогруппой. Примеры аминсахаров включают N-ацетил-D-глюкозамин, маннозамин, нейраминную кислоту, мурамовую кислоту, N-ацетилнейраминную кислоту, N-ацетилмурамовую кислоту, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилманнозу, N-гликолилнейраминную кислоту, акарвиозин, D-глюкозамин и D-галактозамин, но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах осуществления сахарные кислоты относятся к сахарам с карбоксильной группой. Примеры сахарных кислот включают альдоновые кислоты (такие как глицериновая кислота, ксилоновая кислота, глюконовая кислота и аскорбиновая кислота), улозоновые кислоты (такие как нейраминная кислота и кетодезоксиуктулозоновая кислота), уроновые кислоты (такие как глюкуроновая кислота, галактуроновая кислота и идуроновая кислота) и альдаровые кислоты (такие как винная кислота, муциновая кислота и сахарная кислота), но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах осуществления сахароспирты относятся к полиолам, производным от сахаров. Примеры сахароспиртов включают этиленгликоль, арабитол,

глицерин, эритритол, треитол, ксилитол, рибитол, маннитол, сорбитол, галактитол, фуцитол, идитол, инозитол и волемитол, но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах осуществления изобретения амиды сахаров относятся к молекулам сахара, которые содержат группу $-C(=O)-N-$. В некоторых вариантах осуществления изобретения простые эфиры сахаров относятся к молекулам сахара, которые содержат эфирную связь, например, к глюкозидам.

В некоторых вариантах осуществления функционализированные или модифицированные сахарные кислоты включают глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, глюкуроновую кислоту, галактуроновую кислоту, глюцитол, ксилитол, маннитол, сорбитол. В некоторых вариантах осуществления один или несколько кормовых сахаров включают дезоксисахара, такие как фукоза, рамноза, дезоксирибоза или фукулоза.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридного препарата осуществляют в граммовом масштабе. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридного препарата осуществляют в килограммовом или более крупном масштабе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров в количестве более 0,5, более 1, более 2, более 3, более 4, более 5, более 6, более 7, более 9, более 10, более 100 или более 1000 кг. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров в количестве не более 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 100, 1000 или 1500 кг. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров в количестве более 1 кг.

Катализатор

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридного препарата включает добавление одного или нескольких катализаторов. В некоторых вариантах осуществления предложенный здесь катализатор включает одну или несколько кислот. В некоторых вариантах осуществления предложенный здесь катализатор включает минеральную кислоту, карбоновую кислоту; аминокислоту; сульфоновую кислоту; бороновую кислоту; фосфоновую кислоту; фосфиновую кислоту; серную кислоту; фосфорную кислоту; поли(стиролсульфоновой кислоты-со-винилбензил-имидазолия сульфат-со-дивинилбензол); поли(стиролсульфоновой кислоты-со-дивинилбензол); (+)-камфор-10-сульфоновую кислоту; 2-пиридинсульфоновую кислоту; 3-пиридинсульфоновую кислоту; 8-гидрокси-5-хинолинсульфоновой кислоты гидрат; α -гидрокси-2-пиридинметансульфоновую кислоту;

(β)-камфор-10-сульфоновою кислоту; бутилфосфоновою кислоту; дифенилфосфиновую кислоту; гексилфосфоновою кислоту; метилфосфоновою кислоту; фенилфосфиновую кислоту; фенилфосфоновою кислоту; трет-бутилфосфоновою кислоту; (S)-VAPOL-гидрофосфат; 6-хинолинсульфоновою кислоту; 3-(1-пиридино)-1-пропансульфонат; 2-(2-пиридинил)этансульфоновою кислоту; 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-п,п'-дисульфоновою кислоты моноватриевой соли гидрат; 1,1'-бинафтил-2,2'-диилгидрофосфат; бис(4-метоксифенил)фосфиновую кислоту; фенил(3,5-ксилил)фосфиновую кислоту; L-цистеиновой кислоты моногидрат; уксусную кислоту; пропионовую кислоту; бутановую кислоту; глутаминовую кислоту; лизин, этандисульфоновою кислоту; этансульфоновою кислоту; изетионовую кислоту; гомоцистеиновую кислоту; HEPBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновою кислоту)); HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновою кислоту); 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоновою кислоту; 2-(N-морфолино)этансульфоновою кислоту; метансульфоновою кислоту; метаниазид; нафталин-1-сульфоновою кислоту; нафталин-2-сульфоновою кислоту; перфторбутансульфоновою кислоту; 6-сульфохиновозу; трифликовую кислоту; 2-аминоэтансульфоновою кислоту; бензойную кислоту; хлоруксусную кислоту; трифторуксусную кислоту; капроновую кислоту; энантовую кислоту; каприловую кислоту; пеларгоновую кислоту; лауриновую кислоту; пальмитиновую кислоту; стеариновую кислоту; арахидиновую кислоту; аспарагиновую кислоту; глутаминовую кислоту; серин; треонин; глутамин; цистеин; глицин; пролин; аланин; валин; изолейцин; лейцин; метионин; фенилаланин; тирозин; триптофан; полимерную кислоту; кислоту на углеродной основе; или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления предлагаемый в настоящей заявке катализатор включает: (+)-камфор-10-сульфоновою кислоту; 2-пиридинсульфоновою кислоту; 3-пиридинсульфоновою кислоту; 8-гидрокси-5-хинолинсульфоновою кислоты гидрат; α-гидрокси-2-пиридинметансульфоновою кислоту; (β)-камфор-10-сульфоновою кислоту; бутилфосфоновою кислоту; дифенилфосфиновую кислоту; гексилфосфоновою кислоту; метилфосфоновою кислоту; фенилфосфиновую кислоту; фенилфосфоновою кислоту; трет-бутилфосфоновою кислоту; (S)-VAPOL-гидрофосфат; 6-хинолинсульфоновою кислоту, 3-(1-пиридино)-1-пропансульфонат; 2-(2-пиридинил)этансульфоновою кислоту; 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-п,п'-дисульфоновою кислоты моноватриевой соли гидрат; 1,1'-бинафтил-2,2'-диилгидрофосфат; бис(4-метоксифенил)фосфиновую кислоту; фенил(3,5-ксилил)фосфиновую кислоту; L-цистеиновой кислоты моногидрат; поли(стиролсульфоновою кислоту-со-дивинилбензол);

лизин; этандисульфоновую кислоту; этансульфоновую кислоту; изетионовую кислоту; гомоцистеиновую кислоту; НЕРBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновую кислоту)); НЕРЕС (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновую кислоту); 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоновую кислоту; 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту; метансульфоновую кислоту; метаниазид; нафталин-1-сульфоновую кислоту; нафталин-2-сульфоновую кислоту; перфторбутансульфоновую кислоту; 6-сульфохинозову; трифликовую кислоту; 2-аминоэтансульфоновую кислоту; бензойную кислоту; хлоруксусную кислоту; трифторуксусную кислоту; капроновую кислоту; энантовую кислоту; каприловую кислоту; пеларгоновую кислоту; лауриновую кислоту; пальмитиновую кислоту; стеариновую кислоту; арахидиновую кислоту; аспарагиновую кислоту; глутаминовую кислоту; серин; треонин; глутамин; цистеин; глицин; пролин; аланин; валин; изолейцин; лейцин; метионин; фенилаланин; тирозин; триптофан; или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой (+)-камфор-10-сульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 2-пиридинсульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 3-пиридинсульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 8-гидрокси-5-хинолинсульфоновой кислоты гидрат. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой α -гидрокси-2-пиридинметансульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой (β)-камфор-10-сульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой бутилфосфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой дифенилфосфиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой гексилфосфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой метилфосфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой фенилфосфиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой фенилфосфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой трет-бутилфосфоновую кислоту. В некоторых вариантах

осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой (S)-VAROL гидрофосфат. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 6-хинолинсульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 3-(1-пиридино)-1-пропансульфонат. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 2-(2-пиридинил)этансульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-п,п'-дисульфоновой кислоты моноватриевой соли гидрат. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой 1'-бинафтил-2,2'-диил-гидрофосфат. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой бис(4-метоксифенил) фосфиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой фенил(3,5-ксилил)фосфиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой L-цистеиновой кислоты моногидрат. В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой поли(стиролсульфоновую кислоту-со-дивинилбензол). В некоторых вариантах осуществления катализатор, предложенный в настоящей заявке, представляет собой лизин.

В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой этандисульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой этансульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой изетионовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой гомоцистеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой HEPBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновую кислоту)). В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновую кислоту). В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой метансульфоновую кислоту. В вариантах осуществления катализатор представляет собой нафталин-1-сульфоновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой метаниазид. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой нафталин-2-сульфоновую кислоту. В

полимерный катализатор или катализатор на углеродной подложке, раскрытый в WO2016122887, который включен сюда посредством ссылки во всей полноте и для его раскрытия.

В некоторых вариантах осуществления предложенный в настоящей заявке катализатор присутствует в количестве примерно от 0,01% до 5%, примерно от 0,02% до 4%, примерно от 0,03% до 3% или примерно от 0,05% до 2% от одного или нескольких кормовых сахаров по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления предлагаемый в настоящей заявке катализатор присутствует в количестве примерно от 1% до 2% от одного или нескольких кормовых сахаров по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления предложенный в настоящей заявке катализатор присутствует в количестве примерно 0,5%, примерно 0,6%, примерно 0,7%, примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1,0%, примерно 1,1%, примерно 1,2%, примерно 1,3%, примерно 1,4%, примерно 1,5%, примерно 1,6%, примерно 1,7%, примерно 1,8%, примерно 1,9%, примерно 2,0%, примерно 2,1%, примерно 2,2%, примерно 2,3%, примерно 2,4%, примерно 2,5%, примерно 2,6%, примерно 2,7%, примерно 2,8%, примерно 2,9% или примерно 3,0% от одного или нескольких кормовых сахаров по массе сухого вещества.

В некоторых вариантах осуществления предложенный в настоящей заявке катализатор присутствует в количестве примерно от 0,01% до 5%, примерно от 0,02% до 4%, примерно от 0,03% до 3% или примерно от 0,05% до 2% от водной композиции по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления предложенный в настоящей заявке катализатор присутствует в количестве примерно от 1% до 2% от водной композиции по массе сухого вещества. В некоторых вариантах осуществления предложенный здесь катализатор присутствует в количестве примерно 0,8%, примерно 0,9%, примерно 1,0%, примерно 1,1%, примерно 1,2%, примерно 1,3%, примерно 1,4%, примерно 1,5%, примерно 1,6%, примерно 1,7%, примерно 1,8%, примерно 1,9%, примерно 2,0%, примерно 2,1%, примерно 2,2%, примерно 2,3%, примерно 2,4%, примерно 2,5%, примерно 2,6%, примерно 2,7%, примерно 2,8%, примерно 2,9% или примерно 3,0% от водной композиции по массе сухого вещества.

В некоторых вариантах осуществления предлагаемый в настоящей заявке катализатор представляет собой комбинацию двух или более различных катализаторов. В некоторых вариантах осуществления катализатор включает пригодный для повторного использования катализатор, такой как смолы и полимерные катализаторы, и не подлежащий повторному использованию катализатор. В некоторых вариантах осуществления, когда катализатор включает по меньшей мере два разных катализатора,

каждый из катализаторов присутствует в количестве, предусмотренном в настоящей заявке. В других вариантах осуществления, где катализатор включает по меньшей мере два разных катализатора, по меньшей мере два разных катализатора присутствуют в совокупности в указанном в настоящей заявке количестве.

В некоторых вариантах осуществления катализатор добавляют в водную композицию в сухой форме. В других вариантах осуществления катализатор добавляют в водную композицию во влажной форме, например, в водном растворе. В некоторых вариантах осуществления катализатор объединяют с одним или несколькими кормовыми сахарами перед добавлением воды. В других вариантах осуществления катализатор растворяют в воде перед его объединением с одним или несколькими кормовыми сахарами. В некоторых вариантах осуществления способ, представленный в настоящей заявке, включает получение водной композиции путем объединения одного или нескольких кормовых сахаров в дегидратированной форме и катализатора во влажной форме (например, в виде водного раствора).

Добавление воды

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридных препаратов включает добавление воды для образования водной композиции. В некоторых вариантах осуществления всю или часть воды в водной композиции добавляют в виде свободной воды. В других вариантах осуществления всю воду в водной композиции добавляют в виде связанной воды, например, в моно- или дигидрате сахара. В некоторых вариантах осуществления всю воду в водной композиции добавляют в виде связанной воды в моногидрате моносахарида, таком как моногидрат глюкозы. В некоторых вариантах осуществления всю или часть воды в водной композиции добавляют с катализатором, то есть через раствор катализатора.

Содержание воды

По мере развития способов производства препаратов олигосахаридов вода может быть получена посредством реакции. Например, в некоторых вариантах осуществления воду получают (i) с образованием гликозидной связи, (ii) с образованием ангидро-субъединицы или (iii) с помощью других механизмов или источников. Поскольку обе реакции конденсации сахара и дегидратации включают воду, в некоторых вариантах осуществления содержание воды влияет на состав олигосахаридного препарата.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления содержание воды влияет на вязкость водной композиции, что, в свою очередь, может влиять на эффективность смешивания водной композиции. Например, в некоторых вариантах осуществления чрезмерно вязкая водная композиция может привести к нежелательному гетерогенному

распределению катализатора в водной композиции. Более того, в некоторых вариантах очень низкое содержание воды может привести к затвердеванию водной композиции, что препятствует эффективному смешиванию. С другой стороны, в некоторых других вариантах осуществления чрезвычайно высокое содержание воды может препятствовать реакции конденсации сахара и понижать уровень ангидро-субъединиц. Соответственно, настоящее изобретение описывает подходящее содержание воды для производства олигосахаридных препаратов.

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридного препарата включает формирование и/или нагревание водной композиции. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 0% до 80%, примерно от 0% до 70%, примерно от 0% до 60%, примерно от 0% до 50%, примерно от 0% до 40%, примерно от 0% до 35%, примерно от 0% до 30%, примерно от 0% до 25%, примерно от 0% до 20%, примерно от 0% до 19%, примерно от 0% до 18%, примерно от 0% до 17%, примерно от 0% до 16%, примерно от 0% до 15%, примерно от 0% до 14%, примерно от 0% до 13%, примерно от 0% до 12%, примерно от 0% до 11%, примерно от 0% до 10%, примерно от 0% до 9%, примерно от 0% до 8%, примерно от 0% до 7%, примерно от 0% до 6%, примерно от 0% до 5%, примерно от 0% до 4%, примерно от 0% до 3%, примерно от 0% до 2% или примерно от 0% до 1% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 18%, примерно от 1% до 16%, примерно от 1% до 14%, примерно от 1% до 12%, примерно от 1% до 10%, примерно от 1% до 8%, примерно от 1% до 6% или примерно от 1% до 4% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно от 3% до 16%, примерно от 3% до 14%, примерно от 3% до 12%, примерно от 3% до 10%, примерно от 3% до 8%, примерно от 3% до 6%, примерно от 5% до 16%, примерно от 5% до 14%, примерно от 5% до 12%, примерно от 5% до 10%, примерно от 7% до 16%, примерно от 7% до 14%, примерно от 7% до 12%, примерно от 7% до 10% или примерно от 8% до 10% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно 1%, примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9%, примерно 10%, примерно 11%, примерно 12%, примерно 13%, примерно 14% или примерно 15% воды от общей массы. В некоторых вариантах осуществления водная композиция содержит примерно 9% воды от общей массы. Однако следует понимать, что количество воды в водной композиции можно регулировать в зависимости от условий реакции и конкретного используемого катализатора. В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной

композиции, как описано выше, измеряют в начале реакции, например, перед нагреванием кормовых сахаров. В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной композиции, описанной выше, измеряют в конце реакции полимеризации или конденсации. В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной композиции, описанной выше, измеряют как среднее содержание воды в начале реакции и в конце реакции.

В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящей заявке, может дополнительно включать мониторинг содержания воды, присутствующей в водной композиции, и/или отношения воды к сахарам или катализатору в течение определенного периода времени. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции, например, путем дистилляции. Для удаления воды из водной композиции можно использовать любой способ, известный в данной области техники, включая, например, вакуумную фильтрацию, вакуумную перегонку, нагревание, пар, горячий воздух и/или испарение.

В некоторых вариантах осуществления описанные в настоящей заявке олигосахаридные препараты являются гигроскопичными. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления гигроскопичность кормовых сахаров и олигосахаридов, образующихся при полимеризации, может влиять на скорость, с которой вода может быть удалена из водной композиции.

В некоторых вариантах осуществления описанный здесь способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции таким образом, чтобы содержание воды в водной композиции составляло примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 18%, примерно от 1% до 16%, примерно от 1% до 14%, примерно от 1% до 12%, примерно от 1% до 10%, примерно от 1% до 8%, примерно от 2% до 16% примерно от 2% до 14%, примерно от 2% до 12%, примерно от 2% до 10%, примерно от 2% до 8%, примерно от 2% до 6%, примерно от 4% до 16%, примерно от 4% до 14%, примерно от 4% до 12%, примерно от 4% до 10%, примерно от 4% до 8%, примерно от 6% до 16%, примерно от 6% до 12%, примерно от 6% до 10% или примерно от 6% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции таким образом, чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно от 2% до 10%, примерно от 2% до 8% или примерно от 4% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции таким образом, чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9% или примерно 10% от общей

массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции, так чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно от 4% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции таким образом, чтобы в конце реакции полимеризации и/или конденсации содержание воды в водной композиции было таким, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции таким образом, чтобы в начале реакции полимеризации и/или конденсации среднее содержание воды в водной композиции было таким, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции таким образом, чтобы среднее содержание воды в водной композиции в начале и в конце реакции полимеризации и/или конденсации находилось в пределах диапазона, описанного выше. В некоторых вариантах осуществления способ включает удаление по меньшей мере части воды из водной композиции, так чтобы на протяжении реакции полимеризации и/или конденсации содержание воды в водной композиции было в пределах диапазона, описанного выше.

В некоторых вариантах осуществления описанный здесь способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию таким образом, чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 18%, примерно от 1% до 16%, примерно от 1% до 14%, примерно от 1% до 12%, примерно от 1% до 10%, примерно от 1% до 8%, примерно от 2% до 16%, примерно от 2% до 14%, примерно от 2% до 12%, примерно от 2% до 10%, примерно от 2% до 8%, примерно от 2% до 6%, примерно от 4% до 16%, примерно от 4% до 14%, примерно от 4% до 12%, примерно от 4% до 10%, примерно от 4% до 8%, примерно от 6% до 16%, примерно от 6% до 12%, примерно от 6% до 10% или примерно от 6% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию таким образом, чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно от 2% до 10%, примерно от 2% до 8% или примерно от 4% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию таким образом, чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно 2%, примерно 3%, примерно 4%, примерно 5%, примерно 6%, примерно 7%, примерно 8%, примерно 9% или примерно 10% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию, так чтобы содержание воды в водной композиции составило примерно от 4% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах

осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию таким образом, чтобы в конце реакции полимеризации и/или конденсации содержание воды в водной композиции было таким, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию таким образом, чтобы в начале реакции полимеризации и/или конденсации содержание воды в водной композиции было таким, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию таким образом, чтобы среднее содержание воды в водной композиции в начале и в конце реакции полимеризации и/или конденсации находилось в пределах диапазона, описанного выше. В некоторых вариантах осуществления способ включает добавление по меньшей мере части воды в водную композицию, так чтобы на протяжении реакции полимеризации и/или конденсации содержание воды в водной композиции оставалось в пределах диапазона, описанного выше.

В некоторых вариантах осуществления степени полимеризации олигосахаридов и/или количество и тип ангидро-субъединиц в олигосахаридном препарате можно регулировать, устанавливая или контролируя содержание воды, присутствующей в водной композиции, на протяжении всего производственного процесса. Например, в некоторых вариантах осуществления степень полимеризации олигосахаридов и количество ангидро-субъединиц увеличивают за счет уменьшения содержания воды.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления описанный здесь способ включает внутрипроцессный контроль (IPC) содержания воды, который может включать мониторинг содержания воды, поддержание содержания воды, увеличение содержания воды, уменьшение содержания воды или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления процесс IPC включает поддержание содержания воды, пока водная композиция нагревается до температуры, описанной в настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в течение времени, достаточного для индукции полимеризации. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в раскрытом диапазоне либо путем добавления воды, либо путем удаления воды из водной композиции, либо путем и того, и другого. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в раскрытом диапазоне путем перегонки. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в раскрытом диапазоне с помощью вакуумной перегонки. В некоторых вариантах осуществления способ включает поддержание содержания воды в раскрытом диапазоне путем перегонки при атмосферном давлении.

В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной композиции поддерживают в диапазоне примерно от 1% до 20%, примерно от 1% до 18%, примерно от 1% до 16%, примерно от 1% до 14%, примерно от 1% до 12%, примерно от 1% до 10%, примерно от 1% до 8%, примерно от 2% до 16%, примерно от 2% до 14% примерно от 2% до 12%, примерно от 2% до 10%, примерно от 2% до 8%, примерно от 2% до 6%, примерно от 4% до 16%, примерно от 4% до 14%, примерно от 4% до 12%, примерно от 4% до 10%, примерно от 4% до 8%, примерно от 6% до 16%, примерно от 6% до 12%, примерно от 6% до 10% или примерно от 6% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной композиции поддерживают в диапазоне примерно от 2% до 10%, примерно от 2% до 8% или примерно от 4% до 8% от общей массы. В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной композиции поддерживают в диапазоне примерно от 2% до 8% от общей массы.

В некоторых вариантах осуществления подходящее содержание воды варьирует в зависимости от температуры реакции и типа кормовых сахаров. В некоторых вариантах осуществления содержание воды составляет примерно от 8% до 9% при 120°C. В некоторых вариантах осуществления содержание воды составляет примерно от 5% до 7% при 130°C. В некоторых вариантах осуществления содержание воды для производства глюко-олигосахаридного препарата составляет примерно от 5% до 7% при 130°C. В некоторых вариантах осуществления содержание воды для производства глюко-галакто-олигосахаридного препарата составляет примерно от 5% до 6% при 130°C.

Содержание воды в водной композиции может быть определено множеством аналитических методов и инструментов. В некоторых вариантах осуществления содержание воды определяют методом испарения (например, методом потери массы при сушке), методом дистилляции или методом химической реакции (например, титрованием по Карлу Фишеру). В некоторых вариантах осуществления содержание воды определяют аналитическим прибором, таким как анализатор влажности. В некоторых вариантах осуществления содержание воды определяют титрованием по Карлу Фишеру.

В некоторых вариантах осуществления содержание воды в водной композиции измеряют во время реакции и используют для осуществления контроля содержания воды в процессе производства (ИРС). В некоторых вариантах осуществления содержание воды в реакции измеряют титрованием по Карлу-Фишеру, ИК-спектроскопией, БИК-спектроскопией, по проводимости, вязкости, плотности, моменту перемешивания или энергии перемешивания. В некоторых вариантах осуществления измерение содержания воды в реакции используют для управления устройством, которое активно регулирует содержание воды в реакции, например, насосом для добавления воды или проточным

клапаном.

Не желая углубляться в теорию, считается, что содержание воды во время реакции полимеризации сахара и/или конденсации может влиять на уровень ангидро-субъединиц в описанном здесь олигосахаридном препарате. Например, как показано на Фиг.23, в некоторых вариантах осуществления более высокое содержание воды коррелирует с более низким уровнем ангидро-субъединиц. В некоторых вариантах осуществления более низкая температура реакции может коррелировать с более низким уровнем содержания ангидро-субъединиц.

Температура

В некоторых вариантах осуществления степени полимеризации олигосахаридов и/или количество и тип ангидро-субъединиц в олигосахаридном препарате можно регулировать путем регулирования температуры, до которой нагревают водную композицию. В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридного препарата включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 80°C до 250°C, примерно от 90°C до 200°C, примерно от 100°C до 200°C, примерно от 100°C до 180°C, примерно от 110°C до 170°C, примерно от 120°C до 160°C, примерно от 130°C до 150°C или примерно от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления способ производства олигосахаридного препарата включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 100°C до 200°C, примерно от 100°C до 180°C, примерно от 110°C до 170°C, примерно от 120°C до 160°C, примерно от 130°C до 150°C или примерно от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления способ производства олигосахаридного препарата включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 135°C до 145°C. В других вариантах осуществления способ производства олигосахаридного препарата включает нагревание водной композиции до температуры примерно от 125°C до 135°C.

Время реакции

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридного препарата включает нагревание водной композиции в течение достаточного времени. В некоторых вариантах осуществления степень полимеризации олигосахаридов, полученных в соответствии с описанными здесь способами, может быть отрегулирована временем реакции.

В некоторых вариантах осуществления достаточное время описывают количеством часов. Например, в некоторых вариантах осуществления достаточное время составляет по меньшей мере 30 минут, по меньшей мере 1 час, по меньшей мере 2 часа, по меньшей мере 3 часа, по меньшей мере 4 часа, по меньшей мере 5 часов, по меньшей мере 6 часов,

по меньшей мере 7 часов, по меньшей мере 8 часов, по меньшей мере 9 часов или по меньшей мере 10 часов. В некоторых вариантах осуществления достаточное время составляет примерно от 1 до 24 часов, примерно от 1 до 16 часов, примерно от 1 до 8 часов, примерно от 1 до 4 часов, примерно от 1 до 3 часов, примерно от 1 до 2 часов, примерно от 2 до 12 часов, примерно от 2 до 10 часов, примерно от 2 до 8 часов, примерно от 2 до 6 часов, примерно от 2 до 4 часов, примерно от 3 до 8 часов, примерно от 3 до 6 часов, примерно от 3 до 5 часов или примерно от 3 до 4 часов.

В других вариантах осуществления достаточное время определяют путем измерения одного или нескольких химических или физических свойств олигосахаридного препарата, например, содержания воды, вязкости, молекулярной массы, содержания ангидро-субъединиц, распределения по степени полимеризации, выделенного водного конденсата, содержания реакционной воды, плотности или цвета.

В некоторых вариантах осуществления во время производственного контроля измеряют постоянную вязкость. В некоторых вариантах осуществления во время производственного контроля измеряют выделенный водный конденсат. В некоторых вариантах осуществления производственный контроль представляет собой ИК-анализ на месте (например, по Карлу-Фишеру). В некоторых вариантах осуществления производственный контроль представляет собой анализ ВЭЖХ в режиме реального времени. В некоторых вариантах осуществления производственный контроль представляет собой анализ ГХ. В некоторых вариантах осуществления производственный контроль измеряет плотность. В некоторых вариантах осуществления производственный контроль измеряет цвет (например, по измерению УФ/видимого света).

В некоторых вариантах осуществления данные от производственного контроля сравнивают с предварительно определенным критерием; и в некоторых вариантах осуществления, когда достигается указанный предварительно определенный критерий, реакцию останавливают. В некоторых вариантах осуществления данные при производственном контроле сравнивают с предварительно определенным критерием; и в некоторых вариантах осуществления, когда указанные данные при производственном контроле находятся в пределах 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% или 1% от указанного предварительно определенного критерия, реакцию останавливают.

В некоторых вариантах осуществления молекулярную массу олигосахаридного препарата контролируют во время полимеризации. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для того, чтобы водная композиция достигла среднечисленной молекулярной массы или средневесовой молекулярной массы, как описано в настоящей заявке. В некоторых

вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения водной композиции среднечисленной молекулярной массы в диапазоне примерно от 300 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 5000 г/моль, примерно от 700 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 2000 г/моль, примерно от 400 до 1000 г/моль, примерно от 400 до 900 г/моль, примерно от 400 до 800 г/моль, примерно от 500 до 900 г/моль, или примерно от 500 до 800 г/моль. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения водной композиции среднечисленной молекулярной массы примерно от 500 до 2000 г/моль. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения водной композиции средневесовой молекулярной массы в диапазоне примерно от 300 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 5000 г/моль, примерно от 700 до 5000 г/моль, примерно от 500 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 2000 г/моль, примерно от 700 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 1500 г/моль, примерно от 300 до 2000 г/моль, примерно от 400 до 1300 г/моль, примерно от 400 до 1200 г/моль, примерно от 400 до 1100 г/моль, примерно от 500 до 1300 г/моль, примерно от 500 до 1200 г/моль, примерно от 500 до 1100 г/моль, примерно от 600 до 1300 г/моль, примерно от 600 до 1200 г/моль или примерно от 600 до 1100 г/моль. В некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для достижения водной композиции средневесовой молекулярной массы примерно от 700 до 3000 г/моль.

В некоторых вариантах осуществления достаточное время - это время, необходимое водной композиции для достижения реакционного равновесия при соответствующей температуре реакции. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления способ включает нагревание водной композиции в течение времени, достаточного для того, чтобы водная композиция достигла равновесия. Например, в некоторых вариантах осуществления равновесие определяют путем измерения молекулярной массы, вязкости или распределения DP водной композиции.

В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют путем измерения среднечисленной или средневесовой молекулярной массы водной композиции. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяется среднечисленной или средневесовой молекулярной массой водной композиции, которая остается практически неизменной с течением времени. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяется изменением среднечисленной или средневесовой молекулярной массы

водной композиции, которое составляет менее определенного процента в течение периода времени. В некоторых вариантах осуществления молекулярную массу водной композиции измеряют с помощью ВЭЖХ или SEC.

В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют по изменению среднечисленной или средневесовой молекулярной массы водной композиции менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10% или менее 5% в течение периода времени. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют изменением среднечисленной или средневесовой молекулярной массы водной композиции в течение 3 часов, 2 часов, 1 часа, 30 минут, 20 минут или 10 минут. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют изменением средневесовой молекулярной массы водной композиции менее чем на 15% в течение 1 часа.

В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют путем измерения вязкости водной композиции. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют по вязкости водной композиции, которая остается практически неизменной с течением времени. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют по изменению вязкости водной композиции, которая составляет менее определенного процента в течение периода времени. В некоторых вариантах вязкость водной композиции измеряют вискозиметром или реометром.

В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют по изменению вязкости водной композиции менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10% или менее 5% за период времени. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют по изменению вязкости водной композиции в течение 3 часов, 2 часов, 1 часа, 30 минут, 20 минут или 10 минут. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют по изменению вязкости водной композиции менее чем на 15% за период 1 час.

В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют путем измерения распределения DP водной композиции. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют распределением DP водной композиции, которое остается по существу неизменным с течением времени. В некоторых вариантах осуществления изменение распределения DP водной композиции определяют путем вычисления ряда K_m , где
$$K_m = \frac{[DP_m][H_2O]}{[DP_{m-1}][DP_1]}$$
 где $[H_2O]$ представляет собой молярную концентрацию воды (моль/л), а $[DP_1]$, $[DP_{m-1}]$ и $[DP_m]$ представляют собой молярные концентрации олигосахаридов (моль/л) в DP_1 , DP_{m-1} и DP_m фракциях, соответственно. Например, K_2 равно $[DP_2][H_2O]/[DP_1][DP_1]$ согласно приведенной выше формуле. В некоторых вариантах осуществления m представляет собой целое число более 1 и менее n . В других вариантах

осуществления m равно n . В некоторых вариантах осуществления m представляет собой целое число больше 1 и или равное n или менее. В некоторых вариантах осуществления m равно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

В некоторых вариантах осуществления концентрацию олигосахаридов во фракциях DP1, DP m -1 и DP m определяют с помощью SEC, ВЭЖХ, ПФП, А4F, масс-спектрометрии или любого другого подходящего метода. В некоторых вариантах осуществления концентрацию олигосахаридов во фракциях DP1, DP m -1 и DP m определяют с помощью SEC, например, ГПХ. В некоторых вариантах осуществления концентрацию олигосахаридов во фракциях DP1, DP m -1 и DP m определяют масс-спектрометрией, такой как ГХ-МС, ЖХ-МС/МС и MALDI-МС. В некоторых вариантах осуществления концентрацию олигосахаридов во фракциях DP1, DP m -1 и DP m определяют с помощью ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления концентрацию воды определяют методом испарения (например, методом потери при сушке), методом дистилляции или методом химической реакции (например, титрованием по Карлу Фишеру). В некоторых вариантах осуществления концентрацию воды определяют любым подходящим аналитическим прибором, таким как анализатор влажности.

В некоторых вариантах осуществления способ включает вычисление ряда из по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40 или по меньшей мере 50 значений K_m . В некоторых вариантах осуществления способ включает вычисление ряда из по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или по меньшей мере 15 значений K_m . В некоторых вариантах осуществления способ включает вычисление примерно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 15 значений K_m . В некоторых вариантах осуществления способ включает вычисление от K_2 до K_4 , от K_2 до K_5 , от K_2 до K_6 , от K_2 до K_7 , от K_2 до K_8 , от K_2 до K_9 , от K_2 до K_{10} , от K_2 до K_{11} , от K_2 до K_{12} , от K_2 до K_{13} , от K_2 до K_{14} , от K_2 до K_{15} , от K_3 до K_5 , от K_3 до K_6 , от K_3 до K_7 , от K_3 до K_8 , от K_3 до K_9 , от K_3 до K_{10} , от K_3 до K_{11} , от K_3 до K_{12} , от K_3 до K_{13} , от K_3 до K_{14} , или от K_3 до K_{15} . В некоторых вариантах осуществления способ включает вычисление от K_2 до K_4 или от K_3 до K_5 .

В некоторых вариантах осуществления значение K_m зависит от температуры, концентрации воды и/или количества и типа кормовых сахаров. В некоторых вариантах осуществления K_m составляет примерно от 0,1 до 100, примерно от 0,1 до 90, примерно от 0,1 до 80, примерно от 0,1 до 70, примерно от 0,1 до 60, примерно от 0,1 до 50, примерно

от 0,1 до 40, примерно от 0,1 до 30, примерно от 0,1 до 25, примерно от 0,1 до 20 или примерно от 0,1 до 15. В некоторых вариантах осуществления K_m составляет примерно от 1 до 100, примерно от 1 до 90, примерно от 1 до 80, примерно от 1 до 70, примерно от 1 до 60, примерно от 1 до 50, примерно от 1 до 40, примерно от 1 до 30, примерно от 1 до 25, примерно от 1 до 20, примерно от 1 до 15, примерно от 1 до 10, примерно от 5 до 50, примерно от 5 до 40, примерно от 5 до 30, примерно от 5 до 20, примерно от 5 до 15 или примерно от 5 до 10. В некоторых вариантах осуществления K_m составляет примерно от 1 до 15 или примерно от 5 до 15.

В некоторых вариантах осуществления для ряда рассчитанных K_m определяют среднее значение, стандартное отклонение и/или относительное стандартное отклонение. В данном контексте относительное стандартное отклонение выражают в процентах и получают путем умножения стандартного отклонения на 100 и деления этого произведения на среднее значение.

В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют относительным стандартным отклонением ряда K_m менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 9 %, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1%. В некоторых вариантах осуществления равновесие определяют относительным стандартным отклонением ряда K_m менее 15%, менее 10% или менее 5%.

Стадии после реакции

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридных препаратов дополнительно включает одну или несколько дополнительных стадий обработки после нагревания водной композиции при температуре и в течение достаточного времени. В некоторых вариантах осуществления дополнительные стадии обработки включают, например, разделение (такое как хроматографическое разделение), разбавление, концентрирование, сушку, фильтрацию, деминерализацию, экстракцию, обесцвечивание или любую их комбинацию. Например, в некоторых вариантах осуществления способ включает стадию разбавления и стадию обесцвечивания. В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию фильтрации и стадию сушки.

В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию разбавления, на которой воду добавляют в олигосахаридный препарат для получения сиропа олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления концентрация олигосахаридного препарата в сиропе составляет примерно от 5% до 80%, примерно от 10% до 70%, примерно от 10% до 60%, примерно от 10% до 50%, примерно от 10% до 40%, примерно от 10% до 30%, или примерно от 15% до 25%. В других вариантах

осуществления способ не включает стадию разбавления, а скорее олигосахаридному препарату дают затвердеть. В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию фильтрации. В некоторых вариантах осуществления способ включает рециркуляцию катализатора путем фильтрации.

В некоторых вариантах осуществления описанный способ включает стадию обесцвечивания. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат может подвергаться стадии обесцвечивания с использованием любого метода, известного в данной области техники, включая, например, обработку абсорбентом, активированным углем, хроматографию (например, с использованием ионообменной смолы), гидрирование и/или фильтрацию (например, микрофильтрацию).

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат приводят в контакт с материалом для удаления солей, минералов и/или других ионных частиц. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат пропускают через пару анионо/катионообменных колонок. В одном варианте осуществления анионообменная колонка содержит слабую смолу для обмена оснований в форме гидроксида, а катионообменная колонка содержит сильную смолу для обмена кислот в протонированной форме.

В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию концентрирования. В некоторых вариантах осуществления на стадии концентрирования получают олигосахаридный препарат с повышенной концентрацией. Например, в некоторых вариантах осуществления стадия концентрирования включает выпаривание (например, вакуумное испарение), сушку (например, лиофилизацию и распылительную сушку) или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию выделения, на которой отделяют по меньшей мере часть олигосахаридного препарата. В некоторых вариантах осуществления стадия выделения включает кристаллизацию, осаждение, фильтрацию (например, вакуумную фильтрацию) и центрифугирование, или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию разделения. В некоторых вариантах осуществления стадия разделения включает отделение по меньшей мере части олигосахаридного препарата по меньшей мере от части катализатора, по меньшей мере от части непрореагировавших кормовых сахаров, или от того и другого. В некоторых вариантах осуществления стадия разделения включает фильтрацию, хроматографию, дифференциальную растворимость, осаждение, экстракцию или центрифугирование.

Реакторы

Описанные в настоящей заявке способы могут включать использование одного или нескольких реакторов, подходящих для конденсации сахара, с учетом температуры реакции, pH, давления и других факторов. В некоторых вариантах осуществления один или несколько подходящих реакторов включают реактор периодического действия с подпиткой и перемешиванием, реактор периодического действия с мешалкой, реактор с непрерывным потоком с мешалкой, реактор непрерывного действия с поршневым потоком, реактор с истиранием или реактор с перемешиванием, индуцируемым электромагнитным полем. В некоторых вариантах осуществления один или несколько подходящих реакторов включают реактор, описанный в Ryu, S. K., and Lee, J. M., Bioconversion of waste cellulose by using an attrition bioreactor, Biotechnol. Bioeng. 25: 53-65(1983); Gusakov, A. V., and Sinitsyn, A. P., Kinetics of the enzymatic hydrolysis of cellulose: 1. A mathematical model for a batch reactor process, Enz. Microb. Technol., 7: 346-352 (1985); Gusakov, A. V., Sinitsyn, A. P., Davydkin, I. Y., Davydkin, V. Y., Protas, O. V., Enhancement of enzymatic cellulose hydrolysis using a novel type of bioreactor with intensive stirring induced by electromagnetic field, Appl. Biochem. Biotechnol., 56: 141-153(1996); or Fernanda de Castilhos Corazza, Flavio Faria de Moraes, Gisella Maria Zanin and Ivo Neitzel, Optimal control in fed-batch reactor for the cellobiose hydrolysis, Acta Scientiarum. Technology, 25: 33-38 (2003).

В некоторых вариантах осуществления один или несколько подходящих реакторов включают реакторы с псевдооживленным слоем, с бланкетом с восходящим потоком, с иммобилизацией, или реакторы экструдерного типа для гидролиза и/или ферментации. В некоторых вариантах осуществления один или несколько подходящих реакторов включают открытый реактор, закрытый реактор, или оба из них. В некоторых вариантах осуществления, когда способ включает непрерывный процесс, один или несколько подходящих реакторов могут включать смеситель непрерывного действия, такой как шнековый смеситель.

Процесс

В некоторых вариантах осуществления описанный в настоящей заявке способ производства олигосахаридных препаратов включает периодический процесс, непрерывный процесс или и то, и другое. В некоторых вариантах осуществления способ производства олигосахаридного препарата включает периодический процесс. Например, в некоторых вариантах осуществления периодического процесса производство последующих партий олигосахаридного препарата не начинают до завершения текущей партии. В некоторых вариантах осуществления во время периодического процесса весь

препарат или существенное количество олигосахаридного препарата удаляют из реактора. В некоторых вариантах осуществления во время периодического процесса все кормовые сахара и катализатор объединяют в реакторе до того, как водная композиция нагревается до описанной температуры, или до того, как инициируют полимеризацию. В некоторых вариантах осуществления во время периодического процесса кормовые сахара добавляют до, после или одновременно с добавлением катализатора.

В некоторых вариантах осуществления периодический процесс представляет собой периодический процесс с подпиткой, в котором все кормовые сахара не добавляют в реактор одновременно. В некоторых вариантах осуществления периодического процесса с подпиткой по меньшей мере часть кормовых сахаров добавляют в реактор во время полимеризации или после того, как водная композиция нагревается до описанной температуры. В некоторых вариантах осуществления периодического процесса с подпиткой по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50% или 60% по массе кормовых сахаров добавляют в реактор во время полимеризации или после того, как водная композиция нагревается до описанной температуры.

В некоторых вариантах осуществления способ производства олигосахаридного препарата представляет собой непрерывный процесс. Например, в некоторых вариантах осуществления непрерывного процесса содержимое реактора непрерывно протекает через реактор. В некоторых вариантах осуществления комбинацию кормовых сахаров с катализатором и удаление по меньшей мере части олигосахаридного препарата выполняют одновременно.

В некоторых вариантах осуществления способ производства олигосахаридного препарата включает одnoreакторный и многореакторный процесс. Например, в некоторых вариантах осуществления одnoreакторного процесса полимеризацию проводят в одном реакторе. В качестве другого примера, в некоторых вариантах осуществления многореакторного процесса полимеризацию проводят в более чем одном реакторе. В некоторых вариантах осуществления многореакторного процесса способ включает 2, 3 или более реакторов. В некоторых вариантах осуществления многореакторного процесса способ включает стадию комбинирования, на которой объединяют продукты полимеризации из двух или более реакторов.

IV. Питательные композиции, включающие олигосахаридные препараты

В настоящей заявке представлены питательные композиции, содержащие олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления в настоящей заявке представлены питательные композиции, содержащие описанный олигосахаридный препарат, где присутствие и/или концентрация олигосахаридного препарата в составе

питательных композиций могут быть выборочно определены и/или обнаружены. Олигосахаридные препараты, которые демонстрируют сложную функциональную модуляцию микробного сообщества, могут быть важными компонентами питательных композиций. Таким образом, присутствие и/или концентрация олигосахаридного препарата в питательных композициях может быть одним из факторов, которые необходимо измерять в процессе контроля качества и производства питательных композиций. Соответственно, предлагаемые питательные композиции являются выгодными с точки зрения контроля качества и производственных целей, поскольку присутствие и/или концентрация олигосахаридного препарата могут быть выборочно определены и/или обнаружены. Например, в некоторых вариантах осуществления присутствие и концентрацию олигосахаридного препарата можно определить и/или обнаружить путем измерения сигнала, связанного с олигосахаридами, содержащими ангидро-субъединицы.

В некоторых вариантах осуществления питательная композиция представляет собой кормовую композицию для животных. В некоторых вариантах осуществления питательная композиция включает основную питательную композицию.

Основные питательные композиции

В некоторых вариантах осуществления описанная в настоящей заявке питательная композиция содержит основную питательную композицию и описанный олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит источник углеводов, отличный от олигосахаридного препарата. Например, в некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция включает натуральный источник углеводов (или натуральную олигосахаридную композицию), такой как крахмал и растительные волокна. В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит крахмал. В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит растительные волокна.

В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит один или несколько источников углеводов, которые получены из семян, корней, клубней, кукурузы, тапиоки, маранта, пшеницы, риса, картофеля, сладкого картофеля, саго, бобов (например, кормовых бобов, чечевицы, бобов мунг, гороха и нута), кукурузы, маниоки или других крахмалистых продуктов (например, желудей, маранта, арракачи, бананов, ячменя, плодов хлебного дерева, гречки, канны, колоказии, кандыка японского, пуэрарии, ксантозомы, проса, овса, кислицы клубненосной, полинезийского маранта, сорго, ржи, таро, каштана, водяного ореха и ямса).

В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция

содержит один или несколько источников углеводов, которые получены из бобовых (например, гороха, соевых бобов, люпина, зеленой фасоли и других бобов), овса, ржи, чиа, ячменя, фруктов (например, инжира, авокадо, сливы, чернослива, ягод, бананов, кожуры яблока, айвы и груши), овощей (например, брокколи, моркови, цветной капусты, кабачков, сельдерея, нопала и топинамбура), корневых клубней, корнеплодов (например, сладкого картофеля и лука), шелухи семян подорожника, семян (например, семян льна), орехов (например, миндаля), цельнозерновых продуктов, пшеницы, кукурузных отрубей, лигнанов, или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления композиция включает одно или несколько растительных волокон, полученных из пшеничных отрубей, жома сахарной свеклы, пушистых семян хлопка, шелухи сои или любой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит менее 500 ч./млн., менее 400 ч./млн., менее 300 ч./млн., менее 200 ч./млн., менее 100 ч./млн., менее 50 ч./млн., менее 10 ч./млн., менее 5 ч./млн. или менее 1 ч./млн. ангидро-субъединиц или олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит менее 50 ч./млн., менее 10 ч./млн., менее 5 ч./млн. или менее 1 ч./млн. ангидро-субъединиц или олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция по существу не содержит ангидро-субъединиц.

В некоторых вариантах осуществления в основной питательной композиции отсутствует определяемый уровень ангидро-субъединиц. В зависимости от методов детекции или определения уровень ангидро-субъединиц ниже определенного порога может быть не обнаруживаемым. Например, в некоторых вариантах осуществления обнаруживаемый уровень ангидро-субъединиц может относиться к по меньшей мере 1000 ч./млн., по меньшей мере 500 ч./млн., по меньшей мере 400 ч./млн., по меньшей мере 300 ч./млн., по меньшей мере 200 ч./млн., по меньшей мере 100 ч./млн., по меньшей мере 50 ч./млн., по меньшей мере 10 ч./млн., по меньшей мере 5 ч./млн. или по меньшей мере 1 ч./млн. ангидро-субъединиц или олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, в основной питательной композиции.

В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит множество олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция включает распределение типа гликозидной связи, которое отличается от олигосахаридного препарата. Например, в некоторых вариантах осуществления основная питательная композиция содержит более высокий процент α -(1,4) гликозидных связей, чем олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах

осуществления гликозидные связи, такие как α -(1,4) гликозидные связи в основных питательных композициях, расщепляются одним или несколькими ферментами. В некоторых вариантах осуществления гликозидные связи в основной питательной композиции легче расщепляются и/или гидролизуются, чем гликозидные связи в олигосахаридном препарате.

В некоторых вариантах осуществления уровень α -(1,2) гликозидной связи, α -(1,3) гликозидной связи, α -(1,6) гликозидной связи, β -(1,2) гликозидной связи, β -(1,3) гликозидной связи, β -(1,4) гликозидной связи или β -(1,6) гликозидной связи в основной питательной композиции по меньшей мере на 2%, по меньшей мере на 3%, по меньшей мере на 4%, по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 6%, по меньшей мере на 7%, по меньшей мере на 8%, по меньшей мере на 9%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 11%, по меньшей мере на 12%, по меньшей мере на 13%, по меньшей мере на 14%, или по меньшей мере на 15% ниже уровня соответствующей гликозидной связи в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления уровень α -(1,2) гликозидной связи, α -(1,3) гликозидной связи, α -(1,6) гликозидной связи, β -(1,2) гликозидной связи, β -(1,3) гликозидной связи, β -(1,4) гликозидной связи или β -(1,6) гликозидной связи в основной питательной композиции по меньшей мере на 10% ниже уровня соответствующей гликозидной связи в олигосахаридном препарате.

В некоторых вариантах осуществления уровень α -(1,4) гликозидной связи в основной питательной композиции по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 5% или по меньшей мере на 2% выше уровня α -(1,4) гликозидной связи в олигосахаридном препарате. В некоторых вариантах осуществления уровень α -(1,4) гликозидной связи в основной питательной композиции по меньшей мере на 10% выше уровня α -(1,4) гликозидной связи в олигосахаридном препарате.

Кормовая композиция для животных

В зависимости от типа и возраста животного питательная композиция может содержать олигосахаридный препарат и основную питательную композицию в различных соотношениях. Например, олигосахаридный препарат можно комбинировать с основной питательной композицией в различных соотношениях, подходящих для типа и возраста животного. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат присутствует в питательной композиции в концентрации примерно от 1 до 10000 ч./млн., примерно от 1 до 5000 ч./млн., примерно от 1 до 3000 ч./млн., примерно от 1 до 2000 ч./млн., примерно от 1 до 1500 ч./млн., примерно от 1 до 1000 ч./млн., примерно от 1 до

500 ч./млн., примерно от 1 до 250 ч./млн., примерно от 1 до 100 ч./млн., примерно от 10 до 5000 ч./млн., примерно от 10 до 3000 ч./млн., примерно от 10 до 2000 ч./млн., примерно от 10 до 1500 ч./млн., примерно от 10 до 1000 ч./млн., примерно от 10 до 500 ч./млн., примерно от 10 до 250 ч./млн., примерно от 10 до 100 ч./млн., примерно от 50 до 5000 ч./млн., примерно от 50 до 3000 ч./млн., примерно от 50 до 2000 ч./млн., примерно от 50 до 1500 ч./млн., примерно от 50 до 1000 ч./млн., примерно от 50 до 500 ч./млн., примерно от 50 до 250 ч./млн., примерно от 50 до 100 ч./млн., примерно от 100 до 5000 ч./млн., примерно от 100 до 3000 ч./млн., примерно от 100 до 2000 ч./млн., примерно от 100 до 1500 ч./млн., примерно от 100 до 1000 ч./млн., примерно от 100 до 500 ч./млн., примерно от 100 до 400 ч./млн., примерно от 100 до 300 ч./млн., примерно от 100 до 200 ч./млн., примерно от 200 до 5000 ч./млн., примерно от 200 до 3000 ч./млн., примерно от 200 до 2500 ч./млн., примерно от 200 до 2000 ч./млн., примерно от 200 до 1500 ч./млн., примерно от 200 до 1000 ч./млн., примерно от 200 до 500 ч./млн., примерно от 500 до 5000 ч./млн., примерно от 500 до 3000 ч./млн., примерно от 500 до 2500 ч./млн., примерно от 500 до 2000 ч./млн., примерно от 500 до 1500 ч./млн. или примерно от 500 до 1000 ч./млн. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат присутствует в питательной композиции в концентрации примерно от 1 до 5000 ч./млн., примерно от 1 до 1000 ч./млн., примерно от 1 до 500 ч./млн., примерно от 10 до 5000 ч./млн., примерно от 10 до 2000 ч./млн., примерно от 10 до 1000 ч./млн., примерно от 10 до 500 ч./млн., примерно от 10 до 250 ч./млн., примерно от 10 до 100 ч./млн., примерно от 50 до 5000 ч./млн., примерно от 50 до 2000 ч./млн., примерно от 50 до 1000 ч./млн., примерно от 50 до 500 ч./млн., примерно от 50 до 250 ч./млн. или примерно от 50 до 100 ч./млн. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат присутствует в питательной композиции в концентрации примерно от 1 до 5000 ч./млн., примерно от 10 до 1000 ч./млн., примерно от 10 до 500 ч./млн. или примерно от 50 до 500 ч./млн.

В некоторых вариантах осуществления, олигосахаридный препарат присутствует в питательной композиции в концентрации более 10 ч./млн., более 50 ч./млн., более 100 ч./млн., более 200 ч./млн., более 300 ч./млн., более 400 ч./млн., более 500 ч./млн., более 600 ч./млн., более 1000 ч./млн. или более 2000 ч./млн. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат присутствует в питательной композиции в концентрации более 10 ч./млн., более 50 ч./млн., более 100 ч./млн., более 200 ч./млн. или более 500 ч./млн.

В некоторых вариантах осуществления в зависимости от типа и возраста животного, питательная композиция может дополнительно включать белки, минералы (такие как медь, кальций и цинк), соли, незаменимые аминокислоты, витамины и/или

антибиотики.

В настоящей заявке также предложен способ применения у животного питательной композиции, содержащей основную питательную композицию и описанный олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления животное выбрано из крупного рогатого скота (например, мясного и молочного скота), свиней, водных животных, домашних птиц и человека. В некоторых вариантах осуществления животное представляет собой свинью, такую как свиноматки, поросята и боровы. В других вариантах осуществления животное представляет собой домашнюю птицу, такую как цыпленок, утка, индейка, гусь, перепел и курица. В некоторых вариантах осуществления изобретения домашняя птица представляет собой бройлера, племенную птицу или несушку. В некоторых вариантах осуществления животное представляет собой водное животное, такое как лосось, сом, окунь, угорь, тилапия, камбала, креветка и краб. В некоторых вариантах осуществления питательную композицию дают животному в сухой форме, жидкой форме, в виде пасты, или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления форма применения, скорость кормления и режим кормления могут варьировать в зависимости от типа и возраста животного.

Способы производства питательных композиций

В настоящей заявке представлены способы производства питательной композиции, включающие объединение олигосахаридного препарата с основной питательной композицией. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат включает распределение типа гликозидной связи, которое отличается от такового в основной питательной композиции.

В некоторых вариантах осуществления олигосахаридный препарат представляет собой синтетический олигосахаридный препарат. В некоторых вариантах осуществления синтетический олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции от DP1 до DPn). В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 2 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число больше 2. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число, равное 3 или более. В некоторых вариантах осуществления n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100, например, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40 или 50. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций DP1-DPn включает от 0,1% до 90% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной

распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций DP1 и DP2 олигосахаридного препарата независимо включает примерно от 0,1% до 15% или примерно от 0,5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления каждая из фракций DP1 и DP2 олигосахаридного препарата независимо включает олигосахариды, содержащие ангидро-субъединицы, в диапазоне примерно от 0,1%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4% или 1,5% до 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 15% или 20% по относительной распространенности, измеренной с помощью масс-спектрометрии. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно уменьшается со степенью полимеризации. В некоторых вариантах осуществления относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно уменьшается со степенью полимеризации.

В некоторых вариантах осуществления способ производства питательной композиции включает смешивание олигосахаридного препарата с основной питательной композицией. Например, в некоторых вариантах осуществления смешивание может быть выполнено с помощью промышленного смесителя и/или такого смесителя, как барабанный смеситель, двухконусный смеситель, ленточный смеситель, V-образный смеситель, смеситель со сдвиговым усилием и лопастной смеситель.

В некоторых вариантах осуществления способ производства питательной композиции дополнительно включает описанную в настоящей заявке стадию контроля качества. В некоторых вариантах осуществления описанная здесь стадия контроля качества включает определение уровня сигнала в образце питательной композиции и вычисление концентрации олигосахаридного препарата в питательной композиции на основе уровня сигнала. В некоторых вариантах осуществления описанная здесь стадия контроля качества включает детекцию сигнала в образце питательной композиции с помощью аналитических приборов, и приемку или браковку партии питательной композиции на основании наличия или отсутствия сигнала. В некоторых вариантах осуществления описанная здесь стадия контроля качества включает детекцию с помощью аналитических приборов наличия или отсутствия первого сигнала в первом образце питательной композиции и второго сигнала во втором образце питательной композиции, и сравнение первого сигнала и второго сигнала. В некоторых вариантах осуществления сигнал, первый сигнал и/или второй сигнал (i) указывает на олигосахариды, содержащие одну или несколько ангидро-субъединиц; (ii) ассоциирован с распределением олигосахаридов по степени полимеризации (DP); или (iii) ассоциирован с α -(1,2)

гликозидными связями, α -(1,3) гликозидными связями, α -(1,6) гликозидными связями, β -(1,2) гликозидными связями, β -(1,3) гликозидными связями, β -(1,4) гликозидными связями или β -(1,6) гликозидными связями.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления способ производства питательной композиции включает после выполнения стадии контроля качества дополнительное смешивание олигосахаридного препарата с основной питательной композицией, регуляцию уровня олигосахаридного препарата, или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления регуляция уровня олигосахаридного препарата включает добавление дополнительного олигосахаридного препарата в питательную композицию или удаление части олигосахаридного препарата из питательной композиции. В некоторых вариантах осуществления регуляция уровня олигосахаридного препарата включает добавление дополнительной основной питательной композиции в питательную композицию или удаление части основной питательной композиции из питательной композиции. В некоторых вариантах осуществления регуляция уровня олигосахаридного препарата включает добавление дополнительного олигосахаридного препарата в питательную композицию.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Синтез глюко-галакто-олигосахаридного препарата

Синтез глюко-галакто-олигосахаридного препарата проводили в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температуры реакции, которые были выбраны для обеспечения подходящего производства в килограммовом масштабе.

D-глюкозы моногидрат (825,16 г), D-лактозы моногидрат (263,48 г) и 2-пиридинсульфоновую кислоту (1,0079 г, Sigma-Aldrich, Сент-Луис, США) добавляли в трехлитровую трехгорлую колбу с круглым дном и центральной горловиной из шлифованного стекла 29/42 и двумя боковыми горловинами из шлифованного стекла 24/40. Тефлоновая лопасть 133 мм для перемешивания была прикреплена к стеклянному стержню для перемешивания с помощью ленты из ПТФЭ. Шток мешалки закрепляли через центральную точку с помощью тефлонового несущего адаптера и прикрепляли к подвесному механическому смесителю с высоким крутящим моментом через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого блоком контроля температуры через стержневую термопару J-типа, вставленную через резиновую перегородку в одном из боковых портов. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Вторичный температурный зонд,

подключенный к вспомогательному датчику температуры, также был вставлен и закреплен тем же способом. Второй боковой порт колбы был оборудован обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, поддерживаемой ниже 4°C с помощью охлаждающей ванны с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. Когда реакционная смесь достигала 120°C, дефлегматор переводили в конфигурацию для перегонки, при этом дистиллированный продукт собирали в круглодонной колбе объемом 250 мл, помещенной на ледяную баню. Смесью выдерживали при 130°C при непрерывном перемешивании в течение 6 часов, после чего блок термодпары отключали. Дистилляционный аппарат удаляли, и в трехгорлую колбу постепенно добавляли 390 г дистиллированной воды с температурой 60°C. Полученную смесь оставляли перемешиваться при 40 об./мин в течение 10 часов. Было собрано примерно 1250 г вязкого материала светло-янтарного цвета, и его концентрация составила 71,6° Брикса по показателю преломления.

Пример 2: Синтез глюко-олигосахаридного препарата.

Синтез глюко-олигосахаридного препарата проводили в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температуры реакции, которые были выбраны для обеспечения подходящего производства в килограммовом масштабе.

D-глюкозы моногидрат (1150 г) добавляли в трехлитровую трехгорлую круглодонную колбу с одной центральной горловиной из шлифованного стекла 29/42 и двумя боковыми горловинами из шлифованного стекла 24/40. 133 мм тефлоновая лопасть для перемешивания была прикреплена к стеклянному стержню для перемешивания с помощью ленты из ПТФЭ. Шток мешалки закрепляли через центральную точку с помощью тефлонового несущего адаптера и прикрепляли к подвесному механическому смесителю с высоким крутящим моментом через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого устройством контроля температуры, через стержневую термодпару J-типа, вставленную через резиновую перегородку в одном из боковых портов. Наконечник термодпары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Вторичный температурный зонд, подключенный к дополнительному датчику температуры, также был вставлен и закреплен тем же способом. Второй боковой порт колбы был оборудован обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, поддерживаемой ниже 4°C с помощью охлаждающей ванны с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. Когда температура реакции повышалась до 120–130°C, в трехгорлую колбу добавляли (+)-камфор-10-сульфоновую кислоту (1,16 г, Sigma-Aldrich, Сент-Луис), и прибор переключали с обратного холодильника на конфигурацию перегонки с круглодонной колбой для сбора, помещенной в ледяную баню. Эту установку поддерживали в течение 1,5 часов, после чего отключали блок термопары, удаляли дистилляционный аппарат, и в трехгорлую колбу постепенно добавляли 390 г дистиллированной воды с температурой 23°C. Полученную смесь оставляли перемешиваться при 40 об./мин в течение 10 часов до момента сбора. Было собрано примерно 1300 г вязкого материала темно-янтарного цвета, и его концентрация составила 72,6° по Бриксу.

Пример 3: Синтез глюко-галакто-манно-олигосахаридного препарата

Синтез глюко-галакто-манно-олигосахаридного препарата проводили в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температуры реакции, которые были выбраны для обеспечения подходящего производства в килограммном масштабе. МН47-32-А / МН46-35-В: 8/10/18.

Глюко-галакто-манно-олигосахаридный препарат получали в виде двух отдельных компонентов, синтезированных в отдельных реакционных сосудах, которые собирали независимо. В каждом синтезе использовали разные исходные реагенты, но следовали тем же процедурам и методам до завершения. Конечный глюко-галакто-манно-олигосахаридный препарат представлял собой гомогенный сироп, полученный в результате смешивания обоих продуктов синтеза.

Для синтеза первого компонента в трехлитровую трехгорлую круглодонную колбу с центральной шлифованной горловиной 29/42 и боковыми шлифованными горловинами 24/40 добавляли 990,54 г глюкозы моногидрата, 105,58 г лактозы моногидрата и 1,00 г 2-пиридинсульфоновой кислоты. 133-миллиметровую тефлоновую лопасть для перемешивания прикрепляли к стеклянной мешалке диаметром 440 мм с помощью ленты из ПТФЭ. Шток мешалки закрепляли через центральную точку с помощью тефлонового несущего адаптера и прикрепляли к подвесному механическому смесителю с высоким крутящим моментом через гибкий соединитель. Колба была помещена в полусферический электронагревательный кожух, управляемый устройством контроля температуры через стержневую термопару J-типа, вставленную через резиновую перегородку в один из боковых портов. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Вторичный температурный зонд, подключенный к вспомогательному датчику температуры, также

был вставлен и закреплен тем же способом. Второй боковой порт колбы был оборудован обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, поддерживаемой ниже 4°C с помощью охлаждающей ванны с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. После того, как в камере контроля температуры достигалось значение от 120°C до 130°C, устройство переключали с обратного холодильника на конфигурацию дистилляции с круглодонной колбой для сбора, помещенной в ледяную баню. Эту установку поддерживали в течение примерно 6 часов и 10 минут, после чего нагревательный кожух отключали, дистилляционный аппарат удаляли, и 390 г дистиллированной воды с температурой 60°C постепенно добавляли в трехгорлую колбу. Полученную смесь оставляли перемешиваться при 40 об./мин в течение 10 часов до момента сбора. Было собрано примерно 1250 г вязкого материала светло-янтарного цвета, и при измерении по показателю преломления его концентрация составила 73,1° по шкале Брикса.

Для синтеза второго компонента 825,04 г глюкозы моногидрата, 251,16 г чистой маннозы из древесины, 25,10 г дистиллированной воды и 1,00 г 2-пиридинсульфоновой кислоты добавляли в трехлитровую трехгорлую круглодонную колбу с одной центральной шлифованной горловиной 29/42, по бокам которой расположены две шлифованных горловины 24/40. Остальную часть синтеза второго компонента проводили по той же процедуре и способам, что и для первого компонента, до момента сбора. Было собрано примерно 1250 г вязкого материала темно-янтарного цвета, и его концентрация составила 72,3° по шкале Брикса.

Первый и второй компоненты полностью переносили в контейнер из ПЭВП подходящего размера и тщательно перемешивали вручную до гомогенного состояния. Конечная смесь сиропа имела массу примерно 2,5 кг, темно-янтарный цвет, была вязкой и имела концентрацию приблизительно 72° по шкале Брикса.

Пример 4: Синтез глюко-манно-олигосахаридного препарата

Синтез глюко-олигосахаридного препарата проводили в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температуры реакции, которые были выбраны для обеспечения подходящего производства в килограммовом масштабе.

Глюко-манно-олигосахаридный препарат получали в виде двух отдельных компонентов, синтезированных в отдельных реакционных сосудах, которые собирали независимо. В каждом синтезе использовали разные исходные реагенты, но до завершения использовали одни и те же процедуры и способы. Конечный глюко-манно-

олигосахаридный препарат представлял собой гомогенный сироп, полученный в результате смешивания обоих продуктов синтеза.

Для синтеза первого компонента 1264,80 г глюкозы моногидрата добавляли в трехлитровую трехгорлую круглодонную колбу с одной центральной шлифованной горловиной 29/42, окруженной двумя шлифованными горловинами 24/40. 133-миллиметровую тефлоновую лопасть для перемешивания прикрепляли к стеклянной мешалке диаметром 440 мм с помощью ленты из ПТФЭ. Шток мешалки закрепляли через центральную точку с помощью тефлонового несущего адаптера и прикрепляли к подвесному механическому смесителю с высоким крутящим моментом через гибкий соединитель. Колба была помещена в полусферический электрический нагревательный кожух, управляемый устройством контроля температуры через стержневую термопару J-типа, вставленную через резиновую перегородку в одном из боковых портов. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Вторичный температурный зонд, подключенный к вспомогательному датчику температуры, также был вставлен и закреплен тем же способом. Второй боковой порт колбы был оборудован обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, поддерживаемой ниже 4°C с помощью охлаждающей ванны с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. После того, как в камере контроля температуры достигалось значение от 120°C до 130°C, в трехгорлую колбу добавляли 1,15 г (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты, и устройство переключали с обратного холодильника на конфигурацию перегонки с круглодонной колбой для сбора, помещенной в ледяную баню. Эту установку поддерживали в течение примерно 1 часа, после чего отключали блок термопары, удаляли дистилляционный аппарат, и 390 г дистиллированной воды с температурой 23°C постепенно добавляли в трехгорлую колбу. Полученную смесь оставляли перемешиваться при 40 об./мин в течение 10 часов до момента сбора. Было собрано приблизительно 1350 г вязкого материала светло-янтарного цвета, и его концентрация составила 71,8° по шкале Брикса.

Для синтеза второго компонента 949,00 г глюкозы моногидрата, 288,00 г чистой маннозы из древесины, 27,94 г дистиллированной воды и 1,15 г 2-пиридинсульфоновой кислоты добавляли в трехлитровую трехгорлую колбу с одной центральной шлифованной горловиной 29/42, по бокам которой расположены две шлифованных горловины 24/40. Остальную часть синтеза второго компонента проводили по той же процедуре и способам, что и для первого компонента, до момента сбора, за исключением того, что (+)-камфор-

10-сульфоновою кислоту не добавляли, поскольку дефлегматор был переключен на конфигурацию перегонки, и полученную установку поддерживали примерно 6 часов. Было собрано примерно 1350 г вязкого материала темно-янтарного цвета, и его концентрация составила 72,0° по шкале Брикса.

Первый и второй компоненты полностью переносили в контейнер из ПЭВП подходящего размера и тщательно перемешивали вручную до гомогенного состояния. Конечная смесь сиропа имела массу примерно 2,7 кг, темно-янтарный цвет, была вязкой и, как было определено по показателю преломления, имела концентрацию примерно 72° по шкале Брикса.

Пример 5: Синтез глюко-манно-олигосахаридного препарата.

Получение олигосахаридного препарата в килограммовом масштабе осуществляли в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температуры реакции, которые оказались подходящими для производства в масштабе 1 кг.

Глюко-манно-олигосахаридный препарат получали в виде двух отдельных компонентов, синтезированных в отдельных реакционных сосудах, которые собирали независимо. В каждом синтезе использовали разные исходные реагенты, но до завершения применяли одни и те же процедуры и способы. Конечный глюко-манно-олигосахаридный препарат представлял собой гомогенный сироп, полученный в результате смешивания обоих продуктов синтеза.

Для синтеза первого компонента 1261,00 г глюкозы моногидрата и 1,15 г 2-пиридинсульфоновою кислоты добавляли в трехлитровую трехгорлую круглодонную колбу с одной центральной шлифованной горловиной 29/42, окруженной двумя шлифованными горловинами 24/40. 133-миллиметровую тефлоновую лопасть для перемешивания прикрепляли к стеклянной мешалке диаметром 440 мм с помощью ленты из ПТФЭ. Шток мешалки закрепляли через центральную точку с помощью тефлонового несущего адаптера и прикрепляли к подвесному механическому смесителю с высоким крутящим моментом через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого устройством контроля температуры через стержневую термопару J-типа, вставленную через резиновую перегородку в одном из боковых портов. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Вторичный температурный зонд, подключенный к вспомогательному датчику температуры, также был вставлен и закреплен тем же способом. Второй боковой порт колбы был оборудован обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой

смесью, поддерживаемой ниже 4°C с помощью охлаждающей ванны с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. После того, как показания блока контроля температуры достигали от 120°C до 130°C, аппарат переключали с обратного холодильника на дистилляционную конфигурацию с круглодонной колбой для сбора, помещенной в ледяную баню. Эту установку поддерживали в течение примерно 6 часов, после чего блок термопары отключали, дистилляционный аппарат удаляли, и 390 г дистиллированной воды с температурой 23°C постепенно добавляли в трехгорлую колбу. Полученную смесь оставляли перемешиваться при 40 об./мин в течение 10 часов до момента сбора. Было собрано примерно 1250 г вязкого материала светло-желтого цвета, и его концентрация составила 73,5° по шкале Брикса.

Для синтеза второго компонента 949,00 г глюкозы моногидрата, 288,00 г чистой маннозы из древесины, 28,94 г дистиллированной воды и 1,15 г 2-пиридинсульфоновой кислоты добавляли в трехлитровую трехгорлую колбу с одной центральной шлифованной горловиной 29/42, по бокам которой расположены две шлифованных горловины 24/40. Остальную часть синтеза второго компонента проводили по той же процедуре и методам, что и для первого компонента, до момента сбора. Было собрано примерно 1250 г вязкого материала темно-янтарного цвета, и его концентрация составила 73,3° по шкале Брикса.

Первый и второй компоненты полностью переносили в контейнер из ПЭВП подходящего размера и тщательно перемешивали вручную до гомогенного состояния. Конечная смесь сиропа имела массу примерно 2,5 кг, была темно-янтарного цвета, вязкой и имела концентрацию приблизительно 73° по шкале Брикса.

Пример 6: Синтез глюко-галакто-олигосахаридного препарата

Производство олигосахаридного препарата в килограммовом масштабе проводили в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температур реакции, которые оказались подходящими для производства в масштабе 1 кг.

Трехгорлую колбу объемом 3 л оборудовали подвесным смесителем, соединенным через стеклянную мешалку диаметром 10 мм с 14 см серповидным смесительным элементом. Смесительный элемент располагали на расстоянии примерно 5 мм от стенок колбы. Колбу нагревали с помощью полусферического электронагревательного кожуха, управляемого блоком контроля температуры, подключенным к жезловидному зонду термопары, вставленному в реакционную колбу. Зонд термопары размещали так, чтобы над смесительным элементом оставался зазор 5-10 мм. В колбу загружали 576 г декстрозы моногидрата пищевого качества и 577 г D-галактозы моногидрата пищевого качества, и

нагревали примерно до 115°C с получением расплавленного сахарного сиропа. После получения сиропа колбу снабжали обратным холодильником с кожухом, охлаждаемым до 4°C за счет циркуляции охлажденного гликоля/воды и температуры. К смеси добавляли 31 г смолы Dowex Marathon C (содержание влаги 0,48 г H₂O/г смолы) с получением перемешиваемой суспензии. Конденсатор переводили в конфигурацию для перегонки, и суспензию нагревали до 145°C.

Скорость перемешивания примерно 80 об./мин и температуру 145°C поддерживали в течение 3,8 часа, после чего температуру на блоке контроля температуры снижали до 80°C, и в колбу постепенно добавляли 119 мл деионизированной воды с температурой 60°C, чтобы получить темно-янтарный сироп, содержащий остаточную смолу Dowex. Полученную суспензию дополнительно разбавляли до 60° Брикса, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали под вакуумом через фильтр 0,45 микрон для удаления смолы. Было получено 1200 г сиропа светло-янтарного цвета с концентрацией 60° Брикса.

Пример 7: Синтез глюко-олигосахаридного препарата

Производство олигосахаридного препарата в килограммовом масштабе осуществляли в трехлитровом реакционном сосуде с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температур реакции, которые оказались подходящими для производства в масштабе 1 кг.

Трехгорлую колбу вместимостью 3 л оборудовали подвесным смесителем, соединенным через стеклянную мешалку диаметром 10 мм с серповидным смесительным элементом размером 14 см. Смесительный элемент размещали на расстоянии примерно 5 мм от стенок колбы. Колбу нагревали с помощью полусферического электронагревательного кожуха, управляемого блоком контроля температуры, подключенным к жезловидному зонду термопары, вставленному в реакционную колбу. Зонд термопары размещали так, чтобы над смесительным элементом оставался зазор 5-10 мм. В колбу постепенно загружали 1148 г декстрозы моногидрата пищевого качества и нагревали примерно до 115°C с получением расплавленного сахарного сиропа. После получения сиропа колбу снабжали дистилляционным конденсатором с кожухом, охлаждаемым до 4°C путем циркуляции охлажденного гликоля/воды. Температуру реакции постепенно повышали до 145°C. После достижения и стабилизации температуры к смеси добавляли 31 грамм смолы Dowex Marathon C (содержание влаги 0,48 г H₂O/г смолы) и поддерживали скорость перемешивания примерно 80 об./мин и температуру 145°C в течение 3,8 часа.

Через 3,8 часа установку на блоке контроля температуры снижали до 80°C, и в

колбу постепенно добавляли 119 мл деионизированной воды с температурой 60°C для получения сиропа темно-янтарного цвета, содержащего остаточную смолу Dowex. Полученную суспензию дополнительно разбавляли до 60° Брикса, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали под вакуумом через фильтр 0,45 микрон для удаления смолы. Было получено 1113 г сиропа глюко-олигосахаридов темно-янтарного цвета с концентрацией 60° Брикса.

Пример 8: Синтез олигосахаридных препаратов в одном резервуаре

Однореакторный (однокомпонентный) синтез олигосахаридов из Примера 3 был продемонстрирован в масштабе 300 грамм в реакционном сосуде объемом один литр с использованием загрузки катализатора, времени реакции и температур реакции, которые оказались подходящими для реакции в одном резервуаре.

272,30 г D-глюкозы моногидрата пищевого качества из кукурузы, 37,50 г D-маннозы пищевого качества из древесины, 15,60 г D-лактозы моногидрата пищевого качества, 3,96 г дистиллированной воды и 0,270 г 2-пиридинсульфоновой кислоты (Sigma-Aldrich, Сент-Луис) добавляли в однолитровую трехгорлую круглодонную колбу с одной центральной шлифованной горловиной 29/42, окруженной двумя шлифованными горловинами 24/40. Тефлоновую лопасть для перемешивания прикрепляли к 220-миллиметровому стеклянному валу для перемешивания с помощью ленты из ПТФЭ. Шток мешалки закрепляли через центральную точку с помощью тефлонового несущего адаптера и прикрепляли к подвесному механическому смесителю с высоким крутящим моментом через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого устройством контроля температуры через стержневую термопару J-типа, вставленную через резиновую перегородку в одном из боковых портов. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Вторичный температурный зонд, подключенный к вспомогательному датчику температуры, также был вставлен и закреплен тем же способом. Второй боковой порт колбы был оборудован обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, поддерживаемой ниже 4°C с помощью охлаждающей ванны с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. После того, как в камере контроля температуры достигалось значение от 120°C до 130°C, устройство переключали с обратного холодильника на конфигурацию дистилляции с круглодонной колбой для сбора, помещенной в ледяную баню. Смесь поддерживали при 130°C при непрерывном перемешивании в течение примерно 5 часов 40 минут, после чего нагревательный кожух и

устройство для перегонки удаляли. В трехгорлую колбу постепенно добавляли примерно 40 г дистиллированной воды с температурой 23°C. Полученную смесь оставляли перемешиваться при 40 об./мин в течение 10 часов до момента сбора. Было собрано примерно 389 г вязкого материала темно-янтарного цвета, и его концентрация составила 67,0° Брикса. Соответствие олигосахаридному препарату из Примера 3 подтверждали хроматографией SEC и 2D ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР-спектроскопией.

Пример 9: Характеристика олигосахаридных препаратов

Способы и процедуры из Примеров 1-8 использовали для приготовления повторяющихся партий и смесей олигосахаридов из Примеров 1-7. Полученные материалы анализировали с помощью эксклюзионной хроматографии ВЭЖХ (SEC) для характеристики распределения молекулярной массы, ЖХ-МС/МС анализа для количественного определения содержания ангидро-сахаров DP₂, и 2D ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР для определения молекулярной структуры соответствующих препаратов олигосахаридов.

Пример 9.1: были приготовлены одиннадцать партий олигосахаридного препарата из Примера 1 и смешаны в четыре отдельные серии для получения олигосахаридного препарата 9.1.

Пример 9.2: были приготовлены семь партий олигосахаридного препарата из Примера 2 и смешаны в две отдельные серии для получения олигосахаридного препарата 9.2.

Пример 9.3: были приготовлены двенадцать партий олигосахаридного препарата из Примера 3 и смешаны в пять отдельных серий для получения олигосахаридного препарата 9.3.

Пример 9.4: были приготовлены четыре партии олигосахаридного препарата из Примера 4 и смешаны в одну серию для получения олигосахаридного препарата 9.4.

Пример 9.5: были приготовлены четыре партии олигосахаридного препарата из Примера 5 и смешаны в одну серию для получения олигосахаридного препарата 9.5.

Пример 9.6: были приготовлены две партии олигосахаридного препарата из Примера 6 и смешаны в одну серию для получения олигосахаридного препарата 9.6.

Пример 9.7: были приготовлены две партии олигосахаридного препарата из Примера 7 и смешаны в одну серию для получения олигосахаридного препарата 9.7.

В партиях из Примеров 9.1-9.7 были использованы как многореакторные (многокомпонентные), так и одnoreакторные (однокомпонентные) варианты соответствующих схем синтеза.

Дополнительные структурные варианты олигосахаридных препаратов из Примеров 1-7 были синтезированы в масштабе 300 граммов с использованием способов из Примеров

1-7, но с вариациями исходных сахарных композиций, кислоты, кислотной нагрузки, времени и температуры реакции. Олигосахаридные препараты были синтезированы следующим образом:

Пример 9.8: 300 г сахарозы, 3 г фосфорной кислоты и 27 г воды подвергали взаимодействию при 125°C в течение примерно одного часа с получением темно-коричневого олигосахаридного сиропа, который затем разбавляли до 60° по Бриксу дистиллированной водой.

Пример 9.9: Проводили реакцию 270 г глюкозы, 30 г сахарозы, 0,3 г фенилфосфоновой кислоты и 27 г воды при 130°C в течение от одного до четырех часов с получением темно-коричневого олигосахаридного сиропа, который затем разбавляли до 60° Брикса дистиллированной водой.

Пример 9.10: 225 г глюкозы, 75 г лактозы, 3 г бутилфосфоновой кислоты и 27 г воды подвергали реакции при 130°C в течение от одного до четырех часов с получением темно-янтарного сиропа олигосахарида, который затем разбавляли до 60° Брикса с дистиллированной водой.

Пример 9.11: 225 г глюкозы, 75 г лактозы, 3 г фенилфосфоновой кислоты и 27 г воды подвергали реакции при 130°C в течение от одного до пяти часов с получением темно-янтарного сиропа олигосахарида, который затем разбавляли до 60° Брикса дистиллированной водой.

Пример 9.12: Проводили реакцию 270 г глюкозы, 30 г лактозы, 3 г фенилфосфиновой кислоты и 27 г воды при 130°C в течение от трех до пяти часов с получением темно-коричневого олигосахаридного сиропа, который затем разбавляли до 60° Брикса дистиллированной водой.

Пример 9.13: 300 г глюкозы, 3 г фенилфосфиновой кислоты и 27 г воды подвергали реакции при 130°C в течение от одного до трех часов с получением темно-янтарного сиропа олигосахарида, который затем разбавляли до 60° Брикса дистиллированной водой.

Пример 9.14: 300 г глюкозы, 2 г пропионовой кислоты и 27 г воды подвергали реакции при 130°C в течение от одного до четырех часов с получением янтарного олигосахаридного сиропа, который затем разбавляли до 60° Брикса дистиллированной водой.

Пример 9.15: 300 г глюкозы, 0,15 г 8-гидрокси-5-хинолинсульфоновой кислоты гидрата и 27 г воды подвергали реакции при 130°C в течение двух-четырёх часов с получением янтарного олигосахаридного сиропа, который затем разбавляли до 60° Брикса дистиллированной водой.

В вышеуказанных реакциях все массы относятся к массам чистых компонентов, и общая масса реагирующей воды включала любую дополнительную воду, обеспеченную влажностью и/или водой от гидратации реагирующих сахаров.

Характеристика олигосахаридных препаратов

Полученные материалы анализировали с помощью эксклюзионной хроматографии ВЭЖХ (SEC) для характеристики распределения молекулярной массы, анализа ЖХ-МС/МС для количественного определения содержания ангидро-сахаров DP2, и 2D ¹H, ¹³C-NSQC ЯМР для определения молекулярной структуры соответствующих олигосахаридных препаратов.

Анализ молекулярной массы полимеров с помощью ВЭЖХ

Среднечисленную молекулярную массу (MW_n) и средневесовую молекулярную массу (MW_w) олигосахаридных препаратов из Примеров 9.1-9.7 определяли с помощью ВЭЖХ. SEC-анализ выполняли на ВЭЖХ Agilent серии 1100 с определением показателя преломления с использованием колонки Agilent PL aquagel-OH 20 при 40°C с дистиллированной водой в качестве подвижной фазы при 0,45 мл/мин. Калибровку времени удерживания до MW проводили с использованием стандартных растворов с известной молекулярной массой, и стандартные методы из уровня техники были использованы для определения различных свойств распределения по хроматограмме SEC.

Таблица 2. Молекулярная масса полимера (MW) для препаратов олигосахаридов с несколькими сериями

Пример	MW_n (г/моль)	MW_w (г/моль)
Пример 9.1	719 ± 11	1,063 ± 23
Пример 9.2	808 ± 30	1,336 ± 122
Пример 9.3	757 ± 15	1,186 ± 49
Пример 9.4	761	1,196
Пример 9.5	755	1,177
Пример 9.6	505	709
Пример 9.7	762 ± 12	1,154 ± 14

Анализ содержания ангидро-DP2 с помощью ЖХ-МС/МС

Содержание ангидро-олигосахаридов DP2 в олигосахаридных препаратах определяли с помощью ЖХ-МС/МС с использованием колонки Capcell Pak NH2 (Shiseido; 250x4,6 мм, 5 мкм) при скорости потока 1 мл/мин в изократических условиях вода/ацетонитрил 35/65. Перед МС поток разделяли 1:4 и добавляли подпитывающий поток 50 мкл 0,05% NH₄OH для усиления ионизации. Для детекции МС использовали зонд ESI в отрицательном режиме, а метод множественного мониторинга реакций (MRM)

позволял проводить целенаправленный анализ.

Содержание ангидро-DP2 в препаратах олигосахаридов сначала определяли относительно содержания в олигосахаридном препарате из Примера 9.7 в качестве эталонной композиции. Абсолютное содержание ангидро-DP2 в эталонном олигосахаридном препарате из Примера 9.7 было затем определено с помощью ВЭЖХ-МС/МС и составило примерно 10%, и затем было рассчитано содержание ангидро-DP2 в олигосахаридных препаратах из Примеров 9.1-9.6. Относительное и абсолютное содержание DP2 определяли следующим образом:

Таблица 3. Содержание ангидро-DP2 в олигосахаридных препаратах с несколькими сериями

Пример	Относительное содержание ангидро-DP2, по сравнению с Примером 9.7 (% по отношению к Примеру 9.7)	Содержание ангидро-DP2 (грамм ангидро-DP2/ грамм общих DP2)
Пример 9.1	53%	5,3%
Пример 9.2	14%	1,4%
Пример 9.3	57%	5,7%
Пример 9.4	53%	5,3%
Пример 9.5	33%	3,3%
Пример 9.6	50%	5,0%
Пример 9.7	100%	10,0%

Молекулярный фингерпринтинг методом 2D ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР:

Молекулярные структуры препаратов олигосахаридов из Примера 9 были охарактеризованы с помощью 2D ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР спектроскопии. Образцы получали путем сушки 125 мг (на основе сухого вещества) олигосахаридного препарата при 40°C и повторного растворения в D₂O, содержащей 0.1% ацетона. Спектры ЯМР получали при 300 К либо на ЯМР-спектрометре Bruker Avance, работающем с частотой протонов 400 МГц, либо на ЯМР-спектрометре Bruker Avance III, работающем с частотой протонов 600 МГц, оборудованном криогенно охлаждаемым 5-миллиметровым зондом TCI. На Фиг.1 представлен иллюстративный 2D ^1H , ^{13}C HSQC ЯМР-спектр олигосахаридного препарата из Примера 9.7.

Аномерная область спектра ^1H , ^{13}C -HSQC, F2 (^1H) = 4,2-6,0 м.д. и F1 (^{13}C) = 90-120 м.д. была использована для фингерпринтинга распределения связей олигосахаридных препаратов. Каждый пик в аномерной области был интегрирован, и его относительное содержание было определено по отношению к таковому всей аномерной области. 2D ^1H , ^{13}C HSQC фингерпринтинг проводили на четырех сериях олигосахаридного препарата из

Примера 9.1, в результате чего были получены следующие значения относительной распространенности, представленные в Таблице 4.

Таблица 4. Относительная распространенность пиков 2D ^1H , ^{13}C HSQC ЯМР олигосахаридного препарата из Примера 9.1

F2 (м.д.)	F1 (м.д.)	AUC (Среднее \pm SEM)
5,43	92,42	0,4% \pm 0,3%
5,44	102,07	0,4% \pm 0,1%
5,43	90,05	0,5% \pm 0,2%
5,40	100,22	1,6% \pm 0,4%
5,37	98,33	0,7% \pm 0,4%
5,35	99,70	2,7% \pm 0,6%
5,33	96,53	0,3% \pm 0,2%
5,24	100,86	0,5% \pm 0,2%
5,22	92,71	20,2% \pm 3,9%
5,21	102,45	0,5% \pm 0,4%
5,18	93,86	0,9% \pm 0,4%
5,17	96,01	0,4% \pm 0,1%
5,09	96,88	0,6% \pm 0,3%
5,03	108,49	0,4% \pm 0,2%
5,02	109,16	0,4% \pm 0,4%
4,98	99,19	0,6% \pm 0,3%
4,95	98,51	30,6% \pm 4,1%
4,86	98,53	0,7% \pm 0,5%
4,79	96,84	0,6% \pm 0,3%
4,71	103,48	2,5% \pm 0,7%
4,64	103,56	0,8% \pm 0,4%
4,63	102,49	0,7% \pm 0,5%
4,62	104,56	1,4% \pm 0,4%
4,57	97,07	1,6% \pm 0,3%
4,50	103,30	25,9% \pm 2,2%
4,45	103,56	2,4% \pm 1,3%

Пример 10: Определение ангидро-субъединиц сахаров в олигосахаридном препарате

Относительное количество ангидро-субъединиц сахаров в олигосахаридных препаратах из Примера 9 определяли с помощью MALDI-MS на приборе Bruker Ultraflex. Образцы растворяли в воде до концентрации 10 мг/мл, из которых 5 мкл смешивали с раствором матрицы (30 мг/мл ДНВ в 80% этаноле и воде в соотношении 1:10). Пластины готовили путем нанесения 1 мкл раствора анализируемого вещества на целевую пластину, и сушили на окружающем воздухе. В некоторых случаях образцы подвергали

перекристаллизации, применяя 1 мкл этанола перед анализом МС.

Фиг.2 представляет иллюстративный спектр MALDI олигосахаридного препарата из Примера 9. Ангидро-субъединицы сахара четко наблюдаются в виде смещенных пиков, сдвинутых на -18 г/моль относительно его соответствующей основной исходной DP. Смещенные пики наблюдаются при всех значениях DP, указывая на то, что ангидро-субъединицы сахара обнаруживаются при всех размерах олигосахаридов. Относительная интенсивность пика ангидро-субъединицы составила примерно 10% от общей интенсивности пика для каждого значения DP.

Фиг.14А и Фиг.14В иллюстрируют спектры MALDI олигосахаридного препарата из Примера 2. Ангидро-субъединицы сахаров наблюдаются на каждом уровне DP с относительной интенсивностью в диапазоне 5-10%.

Пример 11: Характеристика ангидро-субъединиц олигосахаридного препарата

Ангидросахарные субъединицы олигосахаридных препаратов из Примера 9 были охарактеризованы с использованием комбинации методов ЖХ-МС, ГХ-МС, ЖХ-МС/МС и ЯМР.

Характеристика ангидро-DP1 компонентов:

Ангидро-компонент DP1 из олигосахаридного препарата из Примера 9 выделяли с помощью препаративной жидкостной хроматографии. Выделенный ангидро-DP1 компонент получали для ЯМР растворением его в 0,75 мл D₂O. На Фиг.3 представлен иллюстративный 1D ¹H-ЯМР-спектр фракции ангидро DP1, выделенной из олигосахаридов из Примера 9, а на Фиг.4 представлен иллюстративный спектр АРТ ¹³C-ЯМР той же выделенной фракции ангидро DP1. Назначения пиков ЯМР представлены в Таблице 5 и на Фиг.5.

Таблица 5. Назначения пиков ЯМР

#	1,6-ангидро-бета-D- глюкофураноза		1,6-ангидро-бета-D- глюкопираноза	
	¹ H (м.д.)	¹³ C (м.д.)	¹ H (м.д.)	¹³ C (м.д.)
1	5,33	101,9	5,01	104,4
2	3,40	70,6	4,37	79,8
3	3,56 (ov) ^a	73,0	4,27	78,3
4	3,56 (ov) ^a	71,3	4,38	80,6
5	4,50	76,7	3,74	64,1
6	3,97; 3,64	65,7	4,14; 3,72	66,7

^aOv означает перекрывающийся сигнал.

Отношение 1,6-ангидро-бета-D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро-бета-D-глюкопиранозе, определенное методом ЯМР, составило 2:1.

Пример 12: Характеристика ангидро-субъединиц олигосахаридного препарата

Ангидросахарные субъединицы олигосахаридных препаратов из Примера 9 характеризовали с использованием комбинации методов ЖХ-МС, ГХ-МС, ЖХ-МС/МС и ЯМР.

Характеристика ангидро-DP2 компонентов

Содержание ангидро-DP2 в олигосахаридных препаратах из Примера 9 определяли с помощью анализа ГХ-МС и ЖХ-МС/МС. Газовую хроматографию выполняли с использованием колонки из плавленого диоксида кремния 30 м x 0,25 мм, содержащей неподвижную фазу HP-5MS, с гелием при постоянном давлении 21,57 фунт/кв.дюйм в качестве газа-носителя. Аликвоты предварительно дериватизировали ацелированием путем растворения 20 мг образца в 0,5 мл пиридина с 0,5 мл уксусного ангидрида в течение 30 минут при 60°C. Образцы объемом 1 мкл вводили при 300°C с температурной программой печи, начиная с 70°C и постепенно повышая на 10°C в минуту до 315°C. Детекцию проводили на МСД Agilent 5975С с энергией электронов 70 эВ.

Фиг.6 показывает увеличение хроматограммы ГХ-МС для олигосахаридного препарата из Примера 9.7. Графики ТИС и ХИС (m/z 229) демонстрируют, что компоненты ангидро-DP2 элюируются раньше компонентов DP2.

Фиг.19А-19В, 20А-20В, 21А-21В и 22А-22В иллюстрируют присутствие фракций DP1, ангидро-DP1, DP2 и ангидро-DP2, при определении с помощью ГХ-МС в олигосахаридном препарате из Примера 1, Примера 3, Примера 4, и Примера 7, соответственно. Как показано на Фиг.19А-19В, 20А-20В, 21А-21В и 22А-22В, фракции ангидро-DP1 и DP1 имеют время удерживания примерно 12-17 минут, а фракции ангидро-DP2 и DP2 имеют время удерживания примерно 2-25 минут.

Фиг.28 иллюстрирует спектры MALDI-MS, сравнивающие олигосахаридный препарат из Примера 9 при различных энергиях лазера. Относительная распространенность сигналов практически не изменилась, что свидетельствует о том, что лазерная ионизация не приводит к потере воды. Следовательно, доказано наличие ангидро-сахарных субъединиц в олигосахаридном препарате.

Пример 13: Сравнительный пример

Коммерческий 5 кДа декстран анализировали с помощью MALDI-MS на присутствие ангидро-сахарных субъединиц. Фиг.7 иллюстрирует явное присутствие смещенного пика со сдвигом на -18 г/моль от основного пика DP (аддукт Na⁺ при 851,268 г/моль). В отличие от этого было обнаружено, что образец декстрана практически не

содержит ангидро-сахарных субъединиц.

Пример 14: Количественное определение ангидро-DP компонента с помощью ЖХ-МС/МС

Образцы растворяли в воде и разделяли с использованием колонки Carcell Pak NH₂ (Shiseido; 250 × 4,6 мм, 5 мкм) при скорости потока 1 мл/мин в изократических условиях вода/ацетонитрил 35/65. В некоторых случаях после хроматографического разделения добавляли 50 мкл 0,05% NH₄OH для усиления ионизации. Содержание ангидро-DP2 олигосахаридов определяли методом ЖХ-МС/МС. Для детекции МС использовали зонд ESI в отрицательном режиме, а метод MRM позволял проводить целенаправленный анализ. Фиг.8 иллюстрирует детекцию олигосахаридного препарата из Примера 9 в диапазоне концентраций 1-80 мкг/мл в воде с линейной калибровочной кривой (показанной на Фиг.9) от площади под хроматограммой ЖХ-МС/МС до концентрации.

Фиг.15А-15С, 16А-16С, 17А-17С и 18А-18С иллюстрируют присутствие разновидностей ангидро-DP2, ангидро-DP1 и DP2, обнаруженных с помощью ЖХ-МС/МС в олигосахаридном препарате из Примера 1, Примера 3, Примера 4 и Пример 7, соответственно.

Пример 15: Приготовление корма, содержащего олигосахаридные препараты

Рационы домашней птицы и свиней были приготовлены для демонстрации включения препаратов олигосахаридов в рацион. Контрольные корма, демонстрирующие различные составы ингредиентов, и соответствующие обработанные корма, полученные путем обогащения соответствующих контрольных кормов препаратами олигосахаридов из Примера 9, были приготовлены следующим образом.

Примерный корм 15.1: Контрольный корм 15.1 (CTR) был приготовлен с использованием 62% кукурузной муки и 32% соевой муки. Обработанный корм 15.1 (TRT) был приготовлен путем добавления в контрольный корм 15.1 (CTR) 500 мг/кг олигосахаридного препарата из Примера 9. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат был обеспечен в форме порошка путем сушки олигосахаридов на молотой рисовой шелухе в качестве носителя и добавления порошка в смеситель с использованием весов для микро-ингредиентов перед гранулированием.

Примерный корм 15.2: Контрольный корм 15.2 (CTR) был приготовлен с использованием 62% кукурузной муки, 3% соевого концентрата и 26% соевой муки. Обработанный корм 15.2 (TRT) был приготовлен путем добавления в контрольный корм 15.2 (CTR) 500 мг/кг олигосахаридного препарата из Примера 9. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат был предоставлен в форме порошка путем сушки олигосахаридов на молотой рисовой шелухе в качестве носителя и добавления порошка в

смеситель с использованием весов для микро-ингредиентов перед гранулированием.

Примерный корм 15.3: Контрольный корм 15,3 (CTR) был приготовлен с использованием 52% кукурузной муки, 6% кукурузного крахмала, 5% концентрата соевых бобов, 26% соевой муки и микро-индикатора оксида титана. Обработанный корм 15.3 (TRT) получали путем добавления в контрольный корм 15.3 (CTR) 500 мг/кг олигосахаридного препарата. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат был обеспечен в форме порошка путем сушки олигосахарида на измельченной рисовой шелухе в качестве носителя и добавления порошка в смеситель с использованием весов для микро-ингредиентов перед гранулированием.

Примерный корм 15.4: Контрольный корм 15.4 (CTR) был приготовлен с использованием 55% кукурузной муки и 39% соевой муки. Обработанный корм 15.4 (TRT) получали путем добавления в контрольный корм 15.4 (CTR) 1000 мг/кг олигосахаридного препарата. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат был обеспечен в форме порошка путем сушки олигосахарида на измельченной рисовой шелухе в качестве носителя и добавления порошка в смеситель с использованием весов для микро-ингредиентов перед гранулированием.

Примерный корм 15.5: Контрольный корм 15.5 (CTR) был приготовлен с использованием 62% кукурузной муки, 3% соевого концентрата и 26% соевой муки. Обработанный корм 15.5 (TRT) был приготовлен путем добавления в контрольный корм 15.5 (CTR) 500 мг/кг олигосахаридного препарата из Примера 9. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат был обеспечен в форме порошка, с добавлением порошка в миксер с использованием весов для микро-ингредиентов перед гранулированием.

Примерный корм 15.6: Контрольный корм 15,6 (CTR) представлял собой коммерческий кукурузно-соевый стартовый корм для птицы из США. Обработанный корм 15,6 (TRT) представлял собой коммерческий стартовый корм для птицы из кукурузы и сои в США, содержащий 500 ч./млн. олигосахаридного препарата. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат был обеспечен в форме порошка, и порошок добавляли в смеситель с использованием весов для микро-ингредиентов перед гранулированием.

Примерный корм 15.7: Контрольный корм 15.7 (CTR) представлял собой исследуемый кукурузно-соевый корм для птицы со следующим составом рациона: кукурузная мука 62,39%, соевая мука 31,80%, карбонат кальция 0,15%, дикальций-фосфат 2,2%, хлорид натрия 0,15%, DL-метионин 0,15%, L-лизин 0,10%, соевое масло 2,00%, витаминно-минеральный премикс 1,00% и кокцидиостатик 0,06%. Обработанный корм 15,7 (TRT) получали путем добавления в контрольный корм 15.7 (CTR) 1000 ч./млн.

олигосахаридного препарата из Примера 9.1. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат обеспечивали в виде 60% сиропа в воде и наносили путем распыления сиропа на корм после гранулирования.

Примерный корм 15.8: Контрольный корм 15.8 (CTR) представлял собой исследуемый кукурузно-соевый корм для домашней птицы со следующим составом: пшеничная мука 48,45%, соевая мука 32,00%, рожь 12%, карбонат кальция 0,20%, бикальций-фосфат 2,00%, хлорид натрия 0,20%, DL-метионин 0,15%, соевое масло 4,00%, витаминно-минеральный премикс 1,00%. Обработанный корм 15.7 (TRT) получали путем добавления в контрольный корм 15.7 (CTR) 1000 ч./млн. олигосахаридного препарата из Примера 9.3. Для обработанного рациона олигосахаридный препарат обеспечивали в виде 60% сиропа в воде и наносили путем распыления сиропа на корм после гранулирования.

Как будет понятно специалисту в данной области техники, 15.1-15.6 также содержат стандартные отраслевые уровни жиров, витаминов, минералов, аминокислот, других микроэлементов и кормовых ферментов. В некоторых случаях корма содержали кокцидиостатик, но во всех случаях не содержали антибиотиков – стимуляторов роста. В соответствии со стандартной практикой корма обеспечивали в виде пюре, гранул или крошек.

Пример 16: Синтез олигосахаридного препарата с монотонно убывающим распределением DP

330 г D-глюкозы моногидрата и 0,3 г (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты добавляли в трехгорлую колбу вместимостью 1 литр с механическим перемешиванием, обеспечиваемым подвесным механическим смесителем с высоким крутящим моментом, соединенным через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого устройством контроля температуры через стержневую термопару, введенную в реакционную смесь. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Колба была оборудована обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, температуру которой поддерживали ниже 4°C с помощью охлаждающей бани с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. Когда температура реакции повышалась до 120-130°C, аппарат переключали с обратного холодильника на дистилляционную конфигурацию с круглодонной приемной колбой, помещенной в ледяную баню. Реакцию поддерживали при 130°C со скоростью перемешивания 120 об./мин в течение 60 минут, и массу конденсата, собранного в собирающей колбе,

регистрировали по времени с 10-минутными интервалами. Реакцию останавливали добавлением дистиллированной воды и прекращением нагревания. После охлаждения смеси продуктов до комнатной температуры аликвоту сиропа продукта разбавляли примерно до 1° Брикса, при определении по показателю преломления. Разбавленную аликвоту подвергали микрофильтрации с использованием шприц-фильтра 0,2 микрон и анализировали с помощью эксклюзионной хроматографии ВЭЖХ (SEC). SEC-анализ выполняли на ВЭЖХ Agilent серии 1100 с определением показателя преломления с использованием колонки Agilent PL aquagel-ОН 20 при 40°C с дистиллированной водой в качестве подвижной фазы со скоростью 0,45 мл/мин. Калибровку времени удерживания по MW проводили с использованием стандартных растворов с известной молекулярной массой. Константа равновесия DP была определена как $K = 3,3$, и было обнаружено, что распределение DP монотонно убывает. Фиг.10 четко иллюстрирует форму распределения DP, определенную с помощью ВЭЖХ-SEC.

Пример 17: Синтез олигосахаридного препарата с не-монотонным распределением DP

330 г D-глюкозы моногидрата и 0,3 г (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты добавляли в трехгорлую колбу вместимостью 1 литр с механическим перемешиванием, обеспечиваемым подвесным механическим смесителем с высоким крутящим моментом, прикрепленным через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого устройством контроля температуры через стержневую термопару, введенную в реакционную смесь. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Колба была оборудована обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, температуру которой поддерживали ниже 4°C с помощью охлаждающей бани с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 135°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. Когда температура реакции повышалась до 130°C, аппарат переключали с обратного холодильника на дистилляционную конфигурацию с круглодонной собирающей колбой, помещенной в ледяную баню. Реакцию поддерживали при 135°C при перемешивании при 120 об./мин в течение 35 минут. Реакцию останавливали добавлением дистиллированной воды и прекращением нагревания. После охлаждения смеси продуктов до комнатной температуры аликвоту сиропа продукта разбавляли примерно до 1° Брикса, как было определено по показателю преломления. Разбавленную аликвоту подвергали микрофильтрации с использованием шприц-фильтра 0,2 микрон и анализировали с

помощью эксклюзионной хроматографии ВЭЖХ (SEC). SEC-анализ выполняли на ВЭЖХ Agilent серии 1100 с определением показателя преломления с использованием колонки Agilent PL aquagel-ОН 20 при 40°C с дистиллированной водой в качестве подвижной фазы со скоростью 0,45 мл/мин. Калибровку времени удерживания по MW проводили с использованием стандартных растворов с известной молекулярной массой. Распределение DP оказалось не-монотонно убывающим. Фиг.11 ясно показывает, что содержание DP3 больше, чем содержание DP2, и что содержание DP4 и DP5 по существу равно.

Пример 18: Периодический синтез с подпиткой олигосахаридного препарата

330 г D-глюкозы моногидрата и 0,3 г 2-пиридинсульфоновой кислоты добавляли в литровую трехгорлую колбу с механическим перемешиванием, обеспечиваемым подвесным механическим смесителем с высоким крутящим моментом, прикрепленным через гибкий соединитель. Колба была закреплена внутри полусферического электронагревательного кожуха, управляемого устройством контроля температуры через стержневую термопару, введенную в реакционную смесь. Наконечник термопары был отрегулирован так, чтобы он находился в реакционной смеси с зазором в несколько мм над смесительным элементом. Колба была оборудована обратным холодильником, охлаждаемым водно-гликолевой смесью, температуру которой поддерживали ниже 4°C с помощью охлаждающей бани с рециркуляцией.

Реакционную смесь постепенно нагревали до 130°C при непрерывном перемешивании со скоростью перемешивания 80-100 об./мин. Когда температура реакции повышалась до 120-130°C, аппарат переключали с обратного холодильника на дистилляционную конфигурацию с круглодонной собирающей колбой, помещенной в ледяную баню. Реакцию поддерживали при 130°C со скоростью 120 об./мин, и массу конденсата, собранного в приемной колбе, регистрировали по времени с 20-минутными интервалами. Через 210 минут к реакционной смеси добавляли еще 110 г D-глюкозы моногидрата. Через 420 минут реакцию останавливали добавлением дистиллированной воды и прекращением нагревания. После охлаждения смеси продуктов до комнатной температуры аликвоту сиропа продукта разбавляли примерно до 1° Брикса, при определении по показателю преломления. Разбавленную аликвоту подвергали микрофльтрации с использованием шприц-фильтра 0,2 микрон и анализировали с помощью эксклюзионной хроматографии ВЭЖХ (SEC). SEC-анализ выполняли на ВЭЖХ Agilent 1100 с определением показателя преломления с использованием колонки Agilent PL aquagel-ОН 20 при 40°C с дистиллированной водой в качестве подвижной фазы со скоростью 0,45 мл/мин. Калибровку времени удерживания по MW проводили с использованием стандартных растворов с известной молекулярной массой. Константа

равновесия DP была определена как $K = 0,8$, и было обнаружено, что распределение DP монотонно снижается.

Пример 19: Показатели роста коммерческих цыплят-бройлеров, получавших олигосахаридный препарат

Цыплят-бройлеров выращивали на рационах из Примера 15.6, чтобы определить влияние олигосахаридного препарата на показатели роста животных. В частности, коммерческие корма для птицы из кукурузной и соевой муки, содержащие раствор остатка после ферментации зерна (DDGS), кокцидиостатик и стандартную смесь питательных микроэлементов, производили в соответствии с отраслевыми практиками и трехфазной программой кормления. Путем предварительного анализа составы кормов были определены, как показано в Таблице 6.

Таблица 6. Питательная композиция.

Компонент	Стартовый корм	Ростовой корм	Корм для отвыкания	Метод
Влажность	13,0%	13,0%	12,9%	АОАС 930,15 (вытяжная печь)
Неочищенный белок (CP)	24,1%	21,5%	19,6%	АОАС 992,15; АОАС 990,03
Жир (EE)	3,2%	3,8%	3,9%	АОАС 920,39 (экстракция эфиром)
Неочищенные волокна (CF)	2,7%	2,4%	2,4%	АОАС 962,09 (гидролиз)
Минеральный остаток (AR)	5,2%	4,3%	4,3%	АОАС 942,05 (муфельная печь)
NFE, по разнице	51,9%	55,1%	56,9%	Рассчитано: 1-CP-EE-CF-AR
Всего	100,0%	100,0%	100,0%	

Контрольный (CTR) и обработанный (TRT) рационы готовили для каждой фазы, как описано в Примере 15.6, где обработанные рационы готовили путем обогащения контрольного рациона одним фунтом на обработанную американскую тонну с использованием олигосахаридного препарата из Примера 9.7. Всего было изготовлено примерно 50 американских тонн каждого рациона.

Цыплят Hubbard M99 × Cobb 500 в день вывода получали из коммерческого инкубатория и случайным образом размещали в загонь 36 футов × 40 футов, построенные в туннельно вентилируемом птичнике с земляным полом. Всего было размещено примерно 30 000 птиц, причем в каждом загоне было одинаковое количество птиц. Подстилка в помещении состояла из насыпной подстилки, засыпанной свежей древесной стружкой. Использовали стандартную коммерческую программу по окружающей среде и освещению. Животных и жилые помещения проверяли ежедневно, включая регистрацию

общего состояния здоровья, потребления корма, подачи воды и температуры в помещении. Летальные исходы регистрировали ежедневно.

Птиц в загонах с нечетными номерами кормили обработанным рационом (т.е. содержащим кормовую добавку в количестве 2 фунта/тонну), а птицы в загонах с четными номерами получали контрольный рацион. Все рационы обеспечивали без ограничения через автоматические кормушки в каждом загоне и загрузочные лотки с первого по 7-й день. Воду подавали без ограничения из ниппельной линии поения.

Стартовая фаза проходила с 0 дня по 13 день, фаза выращивания с 14 дня по 27 день и фаза прекращения выращивания с 28 дня до конца исследования, день 31. Вес птицы в загоне регистрировали по дням 0 и 31. Для каждого загона регистрировали общую массу израсходованного корма. Затем для каждого загона определяли прибавку в весе и FCR в соответствии со стандартной отраслевой практикой.

На 31 день из каждого загона случайным образом выбирали шесть самцов птиц для отбора проб крови и слепой кишки. Регистрировали живую массу каждой отобранной птицы. Образец крови собирали путем прокола крыла в пробирки Vacutainer и замораживали после коагуляции и отделения сыворотки. Затем каждую отобранную птицу умерщвляли путем цервикальной дислокации с последующим извлечением слепой кишки стандартными ветеринарными методами. После рассечения содержимое слепой кишки переносили в конические пробирки на 15 мл, регистрировали массу содержимого слепой кишки, и содержимое мгновенно замораживали до -80°C .

Исходя из массы отобранных птиц, экспериментальная группа показала увеличение на 11 пунктов по массе тела, значимое при $P < 0,05$ (по ANOVA).

Пример 20: Масштабирование повторных партий для производства

Производственные масштабы олигосахаридных препаратов были увеличены до корпусного реактора с подвесной мешалкой вместимостью 720 л. Двенадцать периодических реакций с использованием масштабированной процедуры, полученной из Примера 9.2, были выполнены в масштабе 720 л. Полученные олигосахаридные препараты были охарактеризованы в соответствии с предварительно определенными критериями приемлемости для контроля качества, чтобы выполнить аттестацию партии и оценить стабильность процесса. Остаточный катализатор в конечном продукте определяли для партий, используя процедуру из Примера 26.

Для двенадцати партий условия процесса, такие как температура, время реакции и давление реакции, намеренно варьировали в диапазоне от номинальных условий из Примера 9.2 для оценки чувствительности полученного продукта к разумным изменениям условий процесса, которые могли можно ожидать в типичной производственной среде.

Для выбранных партий использовали зонд вязкости на месте реакции для мониторинга зависимости вязкости содержимого реактора от времени. В некоторых партиях время остановки реакции использовали для производственного контроля (IPC), основанного на непрерывном измерении вязкости. Количества материалов, включая дозированные количества реагентов, дистилляционную воду и выделившийся конденсат, измеряли либо по массе с помощью датчиков нагрузки на реакторе и вспомогательных баках, либо по объемному расходу и времени.

Внешний вид полученного олигосахаридного сиропа всех партий был определен визуальным осмотром как карамельный сироп. Общее содержание растворенных твердых веществ определяли титрованием по Карлу Фишеру, остаточное содержание мономера, MW_n и MW_w определяли хроматографией ВЭЖХ/ГПХ, pH определяли калиброванным pH-метром, а содержание ангидро-DP2 определяли посредством ЖХ-МС/МС. Как показано в Таблице 7, были получены следующие данные характеристики партии (N/R = «данные не представлены»):

Таблица 7. Характеристика олигосахаридных препаратов.

Партия	DS, масс. %	pH	Остаточный катализатор	DP1, масс. %	MW _n	MW _w	Содержание ангидро- DP2 (г ангидро-DP2/ г всех DP2)
27,1	66,4	N/D	N/R	17,5	777	1218	0,84%
27,2	68,8	3,3	N/R	17,9	735	1091	0,91%
27,3	69,4	3,1	0,095	14,8	807	1276	N/R
27,4	71,0	N/D	0,068	15,5	793	1241	1,04%
27,5	70,9	3,2	0,057	15,8	777	1196	1,15%
27,6	70,9	3,3	N/R	16,3	773	1170	N/R
27,7	70,7	3,0	N/R	15,7	783	1226	1,13%
27,8	70,5	3,9	N/R	16,1	785	1182	1,09%
27,9	71,1	4,1	N/R	17,1	761	1169	1,09%
27,10	70,4	4,1	N/R	16,3	778	1193	1,15%
27,11	70,5	4,7	N/R	18,6	696	995	1,33%
27,12	70,9	3,9	N/R	16,7	769	1194	1,12%

Всего было произведено приблизительно 6 метрических тонн 70% сиропа. Партии разделяли перед анализом контроля качества и оценивали по следующим критериям приемлемости: общее количество растворенных твердых веществ от 68 до 72 масс.%,

остаточное содержание мономера не более 18 масс.% по сравнению с общим содержанием углеводов, внешний вид карамельного сиропа, и содержание остаточного катализатора не более 0,1 масс.% на финальной сиропной основе. Например, партии 27.3, 27.4 и 27.5 были приняты на основе этих критериев, а партия 27.11 была идентифицирована для повторного тестирования и/или отклонения.

Пример 21: Регуляция рН олигосахаридного препарата

Значение рН олигосахаридного препарата из Примера 9.2 при содержании твердых веществ 50 масс.% определяли в трех повторностях путем разбавления $5,00 \pm 0,05$ г аликвот олигосахаридного препарата в $1,80 \pm 0,02$ мл деионизированной воды и перемешивания на вихревой мешалке для получения равномерной концентрации. Значение рН каждой аликвоты измеряли с помощью калиброванного рН-метра (VWR, Symphony B30PCI), чтобы получить среднее значение рН 2,4.

К 1,2 кг олигосахаридного препарата из Примера 9.2 добавляли 6,53 мл 1,0 М водного раствора гидроксида натрия. Полученную смесь энергично перемешивали до получения однородного сиропа с установленным рН. Затем определяли рН полученного отрегулированного сиропа при содержании твердых веществ 50 масс.% в трех повторностях, как описано выше, для получения среднего значения рН 4,1.

Процедуру регуляции рН повторяли для синтезов повторных партий в различных масштабах, но с некоторыми вариациями в процедуре, с помощью которых было обеспечено основание для состава олигосахаридного продукта. Для одной партии регуляцию рН выполняли как заключительную стадию реакции перед разбавлением реакционной воды. В другой партии корректировку рН проводили одновременно со стадией разбавления, сначала растворяя необходимое количество основания в разбавляющей воде; таким образом, основание и разбавляющую воду добавляли вместе для остановки реакции в одну стадию с получением конечного сиропа с необходимым рН. В другой партии основа была представлена в виде гранул гидроксида натрия пищевого качества. В другой партии 10 ч./млн силиконовой эмульсии пищевого качества (Dow Xiameter AFE-0100) добавляли в реакционную смесь перед разбавлением и регуляцией рН.

Пример 22: Приготовление стеклоподобной порошковой композиции из олигосахаридного препарата

Приблизительно 50 г олигосахаридного препарата из Примера 9.1 распределяли на сушильном лотке и помещали в нагреватель с принудительной конвекцией при 60°C для получения хрупкого стекла карамельного цвета. Стекло вынимали из сушильного лотка и измельчали с помощью ротационной мельницы со сдвигом, получая текучий порошок

светло-оранжевого цвета. Размер частиц порошка был определен путем просеивания и составлял от 100 до 2000 микрон, при 90% массы менее 1350 микрон. Истинная плотность крупнозернистого измельченного порошка, определенная гелиевым пикнометром, составила 1,3063 г/мл. Полученный порошок был сыпучим.

Процедуру формирования повторяли с использованием молотковой мельницы для получения тонкодисперсного порошка с 90% массы порошка с размером частиц менее 196 микрон. Истинная плотность тонко измельченного порошка составила 1,5263 г/мл. Полученный порошок не был ни стабильным, ни сыпучим.

Измерения ДСК проводили на порошках с использованием двух программ температурного цикла. В первой программе температуру сдвигали до 160°C от 0°C со скоростью 5°C/мин, затем снова отжигали до 0°C со скоростью -5°C/мин с последующим окончательным обратным нагревом до 160°C. Во второй программе температуру сдвигали до 50°C от -50°C со скоростью 5°C/мин, отжигали до -60°C со скоростью -5°C/мин, а затем нагревали до 60°C со скоростью 5°C/мин. Было обнаружено, что порошок имеет температуру стеклования от 20 до 40°C, в зависимости от остаточного содержания воды в твердом веществе от 5 до 10 масс.% влаги.

Процесс измельчения композиции повторяли для каждого из олигосахаридных препаратов из Примера 9.2, Примера 9.3, Примера 9.4 и Примера 9.5. Порошки легко повторно растворялись в воде и водно-спиртовых смесях, но не растворялись в ацетоне, метаноле и безводном этаноле.

Пример 23: Приготовление порошковой композиции, загруженной на носитель

Равные массы 70 масс.% водного сиропа олигосахаридного препарата из Примера 9.2 и диатомовой земли объединяли при комнатной температуре с получением стабильного сыпучего порошка. Полученный порошок содержал примерно 35 масс.% адсорбированного олигосахаридов (в пересчете на сухие твердые вещества) и примерно 50 масс.% носителя. Распределение по размеру частиц порошка измеряли просеиванием. 10% по массе порошка имело размер частиц менее 290 мкм, 50% по массе порошка имело размер частиц менее 511 мкм, и 90% по массе порошка имело размер частиц менее 886 мкм. Порошок был устойчив к расслоению и когезии, что было определено с помощью стандартных тестов на аэрацию и сжимаемость. Истинная плотность полученного порошка, измеренная гелиевым пикнометром, составила 1,8541 г/мл.

Формирование с загрузкой носителя повторяли с использованием диоксида кремния кормового качества с получением стабильного сыпучего порошка с содержанием олигосахаридного препарата по меньшей мере 50 масс.% (в пересчете на сухие твердые

вещества) по отношению к конечному порошку. Истинная плотность полученного порошка составила 1,5562 г/мл.

Пример 24: Получение экструдированной твердой формы

Твердый экструдированный продукт получали смешиванием 20% олигосахаридного препарата из Примера 9.2 с пшеничной крупой грубого помола, и готовили смесь через двухшнековый экструдер для сухого вещества с кожухом, с получением сыпучего порошка с размером частиц от 0,2 до 3,0 мм, с 90% по массе размером менее 2 мм. Полученный порошок был сыпучим и стабильным.

Пример 25: Приготовление стабильных порошковых композиций

Твердые композиции, включая композиции из Примеров 22-24, оценивали для определения их стабильности и гигроскопичности. Порошки из Примеров 23 и 24 оказались устойчивыми к сегрегации и агломерации, в то время как порошок из Примера 22 был нестабильным в отношении сегрегации.

Образцы каждой исследуемой порошковой композиции помещали в герметичные климатические камеры при относительной влажности 50% и относительной влажности 65% на срок до двух недель при 25°C. Из протестированных форм некоторые показали незначительный прирост массы или его отсутствие при воздействии влажности, и оставались сыпучими после двухнедельного периода воздействия. Было обнаружено, что тонкоизмельченный порошок из Примера 22 нестабилен при воздействии влаги.

Пример 26: Определение остаточного катализатора в олигосахаридных препаратах

Остаточное содержание кислотного катализатора в олигосахаридных препаратах определяли ионной хроматографией. От 80 до 100 мг порошкового состава олигосахаридного препарата (полученного, например, как описано в Примере 22) растворяли точно в 1,00 мл и центрифугировали для удаления частиц, если это необходимо. Полученный раствор анализировали с помощью ионной хроматографии при 30°C с использованием системы Thermo Dionex ICS-3000, оснащенной детектором проводимости, колонки Ion Pac AS19A 4x250 мм, предварительной колонки Ion Pac AS19G 50 4x50 мм и непрерывно регенерируемой анионной предколонки CR-ATC с использованием КОН в воде в качестве элюента. Элюирование проводили при 10 mM КОН в течение первых десяти минут после введения с последующим градиентным элюированием, с линейным увеличением до 55 mM КОН через 25 минут, затем снижением до 10 mM КОН через 26 минут, и сохранением уровня 10 mM КОН до конца программы.

Для олигосахаридного препарата из Примера 9.2 концентрацию остаточного катализатора определяли по стандартной калибровочной кривой, построенной с

использованием аутентичного образца (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты. Анализировали типичную партию олигосахаридного препарата из Примера 9.2, и было определено, что остаточная концентрация катализатора составляет 0,62 мг на грамм 70 масс.% сиропа.

Пример 27: количественный анализ остаточной концентрации катализатора для приемки партии

Определение остаточного количества катализатора в Примере 26 сравнивали с критерием приемки партии, чтобы определить пригодность партии для дальнейшего использования. Предел приемлемости для концентрации остаточного катализатора в препарате олигосахаридного продукта был предварительно установлен и составлял <1,0 мг на грамм сиропного продукта. Измеренное значение остаточного катализатора составляло 0,62 мг на грамм сиропного продукта. Таким образом, критерий приемки был соблюден для испытанной партии, и партия была принята для дальнейшего использования.

Пример 28: Экстракция образцов корма

Рационы, приготовленные в соответствии с процедурами из Примера 15, обрабатывали экстракцией. Образцы корма измельчали на мельнице. Готовили навеску из пяти граммов полученного измельченного корма в мерной колбе вместимостью 50 мл и добавляли горячую воду (примерно 80°C). После встряхивания смесь инкубировали на ультразвуковой водяной бане при 80°C в течение 30 минут. После охлаждения раствор центрифугировали в течение 20 минут при 3000 g, и надосадочную жидкость фильтровали через фильтр 1,2 мкм, а затем фильтр 0,45 мкм (и в некоторых случаях фильтр 0,22 мкм). Полученные отфильтрованные растворы упаривали досуха на роторном испарителе.

В некоторых случаях экстракцию проводили с использованием 50 масс.% этанола в воде в качестве альтернативного экстракционного растворителя. В некоторых случаях стадию фильтрации выполняли с использованием мембранного фильтра с отсечкой по молекулярной массе 5000 Дальтон.

Пример 29: Ферментативная обработка кормовых экстрактов

Кормовые экстракты из Примера 28 подвергали одной или нескольким стадиям ферментативного гидролиза для расщепления олигосахаридов, естественно присутствующих в корме. Смесь α -амилазы и амилогликозидаз использовали для расщепления α -(1,4) связей глюко-олигосахаридов и крахмала. Инвертазу и α -галактозидазу использовали для удаления сахарозы, рафинозы и других распространенных сахаридов клетчатки.

Растворы ферментов готовили следующим образом: амилоглюкозидаза (*A. niger*)

36000 Ед./г, раствор 800 Ед./мл в ацетат-аммонийном буфере (ацетат аммония 0,2 М, рН 5, содержащий 0,5 мМ MgCl₂ и 200 мМ CaCl₂), α-амилаза (из поджелудочной железы свиньи) 100000 Ед./г, Megazyme: раствор 800 Ед./мл в ацетате аммония, инвертаза из хлебопекарных дрожжей (*S. cerevisiae*) 300 Ед./мг, Sigma: раствор 600 Ед./мл в ацетат-аммонийном буфере; α-Галактозидаза из *A. Niger*, Megazyme 1000 Ед./мл.

Сухие кормовые экстракты из Примера 16 ресуспендировали в 10 мл буфера из ацетата аммония. Добавляли 50 мкл α-амилазы (конечная концентрация 4 Ед./мл), 50 мкл амилоглюкозидазы (конечная концентрация 4 Ед./мл), 50 мкл инвертазы (конечная концентрация 3 Ед./мл). При необходимости добавляли 20 мкл α-галактозидазы (конечная концентрация 2 Ед./мл). Раствор инкубировали 4 часа при 60°C. Затем расщепленный экстракт фильтровали через ультрафильтрационный фильтр (Vivaspin Turbo 4, 5000 MWCO, Sartorius) перед выпариванием досуха в азотной испарительной системе. В вариантах ферментативного расщепления один или несколько из вышеуказанных ферментов использовали в комбинациях, и период расщепления варьировали от 4 часов до расщепления в течение ночи. Концентрации фермента изменяли до двухкратных по сравнению с вышеуказанными нагрузками, и процедуру полного ферментативного расщепления повторяли несколько раз подряд на одном и том же корме.

Таблица 8. Список образцов кормов для экстракции и расщепления

	Матрикс	Растворитель для экстракции	Фильтрация	Ферментативное расщепление
1	Контрольный корм	Вода	0,22 мкМ	—
2	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,22 мкМ	—
3	Контрольный корм	Этанол/Вода 50/50	0,22 мкМ	—
4	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Этанол/Вода 50/50	0,22 мкМ	—
5	Ангидро-олигомеры	Вода	0,22 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
6	Контрольный корм	Вода	0,22 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
7	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,22 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
10	Контрольный корм	Этанол/Вода 50/50	0,22 мкМ	—
11	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Этанол/Вода 50/50	0,22 мкМ	—
12	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,45 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
13	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,22 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
14	Контрольный стартовый корм А	Вода	0,45 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
15	Ангидро-олигомерный стартовый корм В 2000 мг/кг	Вода	0,45 мкМ	a + b (4 ч 60°C)
16	Контрольный корм	Вода	0,45 мкМ	a + b + c (4 ч 60°C)

17	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,45 мкМ	a + b + c (4 ч 60°C)
18	Рис и спельта/ Ангидро-олигомеры	Вода	0,45 мкМ	–
19	Рис и спельта/ Ангидро-олигомеры	Этанол/Вода 50/50	0,45 мкМ	–
20	Контрольный корм	Вода	0,45 мкМ	a + b + c (4 ч 60°C)
21	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,45 мкМ	a + b + c (4 ч 60°C)
22	Ростовой корм С (контроль)	Вода	0,45 мкМ	
23	Ростовой корм D (ангидро-олигомеры 2000 мг/кг)	Вода	0,45 мкМ	
24	Предстартовый корм А (контроль)	Вода	0,45 мкМ	
25	Предстартовый корм D (Ангидро-олигомеры 1000 мг/кг)	Вода	0,45 мкМ	
26	Ростовой корм С (контроль)	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
27	Ростовой корм D (Ангидро-олигомеры 2000 мг/кг)	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
28	Предстартовый корм А (контроль)	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
29	Предстартовый корм D (Ангидро-олигомеры 1000 мг/кг)	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
30	Кукуруза	Вода	0,45 мкМ	–
31	Пшеница	Вода	0,45 мкМ	–
32	Соя	Вода	0,45 мкМ	–
33	Кукуруза	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
34	Пшеница	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
35	Соя	Вода	0,45 мкМ	a + b + c + d (4 ч 60°C)
41	Контрольный корм	Вода	0,45 мкМ	
42	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	0,45 мкМ	
43	Контрольный корм	Вода	ультра 5000 MWCO	a + b + c X2 (в течение ночи при 60°C)
44	Ангидро-олигомерный корм 1000 мг/кг	Вода	ультра 5000 MWCO	a + b + c X2 (в течение ночи при 60°C)

Ангидро-олигомеры относятся к олигосахаридам, содержащим ангидро-субъединицы.

Контрольные корма относятся к питательным композициям без добавленных ангидроолигомеров.

Фермент a = амилоглюкозидаза (*A. niger*) 36000 Ед./г Megazyme.

Фермент b = α -амилаза (из поджелудочной железы свиньи) 100000 Ед./г Megazyme.

Фермент c = инвертаза из пекарских дрожжей (*S. cerevisiae*) 300 Ед./мг Sigma.

Фермент d = α -галактозидаза из *A. niger* 620 Ед./г Megazyme.

Пример 30: Детекция олигосахаридных препаратов в корме

Контрольный и обработанный рационы в соответствии с Примером 15 анализировали для детекции отсутствия или наличия олигосахаридных препаратов. После изготовления корма из конечного корма брали пробы массой 1 кг. Содержание экстрагируемых твердых веществ в корме получали путем водной экстракции с использованием процедуры из Примера 28. Полученные экстракты анализировали на присутствие ангидро-DP с помощью ЖХ-МС/МС в соответствии с процедурой из Примера 14.

Фиг.24 показывает отсутствие ангидро-DP2 видов в контрольном корме из Примеров 15.1 (CTR) - 15,6 (CTR) по сравнению с присутствием ангидро-DP2 видов в обработанном корме из Примеров 15.1 (TRT) - 15,6 (TRT). Интеграцию полученных хроматограмм ЖХ-МС/МС использовали для определения присутствия олигосахаридных композиций из Примера 9 в конечном сырье. В частности, было определено, что корма содержали соответствующий олигосахаридный препарат, если площадь под пиком ангидро-DP2 превышала предел детекции (или любой другой подходящий порог, установленный в методе).

Пример 31: Количественная оценка олигосахаридных препаратов в кормах

Контрольный и обработанный рационы согласно Примеру 15 анализировали для определения концентрации олигосахаридных препаратов в конечном корме. После изготовления корма из конечного корма брали пробы массой 1 кг. Содержание экстрагируемых твердых веществ в сырье было получено путем водной экстракции с использованием процедуры из Примера 28. Полученные экстракты были проанализированы на присутствие ангидро-DP с помощью ЖХ-МС/МС в соответствии с процедурой из Примера 14, и площади пика ангидро-DP2 сравнивали со стандартной калибровочной кривой для определения концентрации олигосахаридного препарата в корме (Таблица 9).

Таблица 9. Концентрация олигосахаридного препарата в корме.

Корм	Содержание олигосахаридов (ч./млн.) в контрольном корме	Содержание олигосахаридов (ч./млн.) в обработанном корме
Пример 15.1	Не обнаружено	1642
Пример 15.2	Не обнаружено	953
Пример 15.3	Не обнаружено	1912
Пример 15.4	Не обнаружено	549
Пример 15.5	Не обнаружено	406
Пример 15.6	Следовое количество	401

Пример 32: ЯМР-характеристика глюко-олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы

Глюко-олигосахаридные препараты, содержащие ангидро-субъединицы, характеризовали по (i) степени полимеризации и (ii) распределению гликозидных связей из глюкозных единиц.

Относительную молярную распространенность α -(1,1)- α , α -(1,1)- β , β -(1,1)- β , α -(1,2), β -(1,2), α -(1,3), β -(1,3), α -(1,4), β -(1,4), α -(1,6), и β -(1,6) связей идентифицировали методом ЯМР-спектроскопии. Для определения распределения сцепления использовали J-RES и ^1H , ^{13}C -HSQC. Для некоторых образцов метод HSQC показал превосходные характеристики. Для каждого анализа приблизительно 50 мг лиофилизированного продукта растворяли в D_2O и переносили в 5-миллиметровую пробирку для ЯМР. Любой остаточный катализатор или твердые вещества удаляли фильтрацией. ЯМР-эксперименты проводили на ЯМР-спектрометре Bruker Avance III, работающем на протонах 600 МГц, соответствующем частоте Лармора углерода 150 МГц. Инструмент был снабжен криогенно охлаждаемым датчиком TCI размером 5 мм. Все эксперименты проводили при 298 К. Спектры ^1H -ЯМР регистрировали и калибровали в дейтерированной воде (4,75 ч./млн.). Спектры ^{13}C -ЯМР калибровали ацетоном (30,9 ч./млн.). Данные были получены с помощью TopSpin 3.5 и обработаны с помощью ACD/Labs на персональном компьютере.

Фиг.25 представляет типичный спектр ЯМР 2D- ^1H JRES для образца глюко-олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, с предварительным насыщением растворителем.

Фиг.26 представляет типичный ^1H , ^{13}C -HSQC ЯМР спектр глюко-олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы.

Фиг.27 иллюстрирует наложение спектров ^1H DOSY трех олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы. Диффузионно-упорядоченную ЯМР-спектроскопию (DOSY) выполняли для разделения сигналов ЯМР различных видов в соответствии с коэффициентом диффузии и, следовательно, гомологами MW. Сигналы в верхней части спектров DOSY на Фиг.27 соответствуют медленно диффундирующим видам, в то время как более быстро диффундирующие виды указаны ниже.

Пример 33: Получение продукта в форме сиропа

В олигосахаридном препарате из Примера 9.7 значение pH довели до 4,2 гидроксидом натрия пищевого качества в соответствии с процедурой из Примера 21. Полученный сироп был упакован в 20-литровую бутылку с крышкой, устойчивой к несанкционированному доступу. Непосредственно перед герметизацией контейнера был взят образец массой 500 г, который подвергли проверке качества. Было подтверждено,

что общее содержание твердых веществ в сиропе превышает 70 масс.% согласно методам FCC, ПРИЛОЖЕНИЕ X: Углеводы (крахмалы, сахара и родственные вещества): Общее содержание твердых веществ. Было подтверждено, что содержание восстанавливающих сахаров составляет менее 50% в виде D-глюкозы в пересчете на массу сухого вещества в соответствии с методом FCC, ПРИЛОЖЕНИЕ X: Углеводы (крахмалы, сахара и родственные вещества): Анализ восстанавливающих сахаров. Было подтверждено, что содержание сульфатной золы составляет менее 1% от массы сухого вещества с использованием метода FCC, ПРИЛОЖЕНИЕ II: Физические испытания и определения: С. ДРУГОЕ: Остаток при минерализации (сульфатная зола), Метод II (для жидкостей). Содержание диоксида серы составило менее 40 мг/кг при использовании оптимизированного метода Монье-Вильямса. Содержание свинца составило менее 1 мг/кг при использовании официального международного метода AOAC 2013.06. Было подтверждено, что общее количество аэробных микроорганизмов при анализе чашечным способом ниже 1000 КОЕ/г, с использованием методов, описанных в Главе 7 СММЕФ. Общее количество дрожжевых и плесневых грибов составило менее 100 КОЕ/г при использовании международного метода, утвержденного ААСС 42-50. Было подтверждено, что содержание колиформных бактерий составляет менее 10 MPN/г, при использовании метода, описанного в главе 4 FDA BAM. Было подтверждено, что содержание *E. coli* составляет менее 3 MPN/г, при использовании метода из главы 4 FDA BAM. Было подтверждено, что сальмонелла не обнаруживается в 25-граммовой пробе в соответствии с методом, указанным в Главе 5 FDA BAM. Содержание *Staphylococcus aureus* было ниже 10 КОЕ/г при использовании метода FDA BAM, Глава 12. Окраска при визуальном анализе была определена как карамельная.

Контейнер герметизировали, оставшийся для хранения образец замораживали и сохраняли для дальнейшего использования, и на полученную партию был выдан сертификат анализа.

Пример 34: Приготовление обработанной питьевой воды

Питьевая вода, содержащая 250 ч./млн. олигосахаридного препарата из Примера 9.7, была приготовлена следующим образом. 37 мл олигосахаридного сиропа из Примера 33 и 40 граммов сорбата калия постепенно добавляли к 50 галлонам питьевой водопроводной воды в 55-галлонной бочке из синего полимера. Раствор перемешивали вручную с помощью лопастной мешалки в течение 10 минут при комнатной температуре.

Способ повторяли без включения калия сорбата.

Хотя здесь были показаны и описаны предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения, для специалистов в данной области техники будет очевидно, что

такие варианты осуществления представлены только в качестве примера. Не предполагается, что изобретение ограничивается конкретными примерами, представленными в описании. Хотя изобретение было описано со ссылкой на вышеупомянутую спецификацию, описания и иллюстрации вариантов осуществления в данном документе не предназначены для толкования в ограничивающем смысле. Многочисленные вариации, изменения и замены будут понятны для специалистов в данной области техники без отделения от изобретения. Кроме того, следует понимать, что все аспекты изобретения не ограничиваются конкретными изображениями, конфигурациями или относительными пропорциями, изложенными в настоящей заявке, которые зависят от множества условий и переменных. Необходимо понять, что различные альтернативы вариантам осуществления изобретения, описанным в настоящей заявке, могут быть использованы при практическом применении изобретения. Следовательно, предполагается, что изобретение также будет охватывать любые такие альтернативы, модификации, вариации или эквиваленты.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Синтетический олигосахаридный препарат, содержащий по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 до n (фракции от DP1 до DP n),

где n является целым числом более 3;

где каждая фракция из DP1 и DP2 независимо включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, определяемой масс-спектрометрией.

2. Олигосахаридный препарат по п.1, где относительную распространенность определяют с помощью ЖХ-МС/МС.

3. Олигосахаридный препарат по пп.1 или 2, где относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP монотонно снижается со степенью полимеризации.

4. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-3, где относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций монотонно снижается со степенью полимеризации.

5. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-4, где n составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100.

6. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-5, где фракция DP2 включает менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

7. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-5, где фракция DP2 включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

8. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-5, где фракция DP2 включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

9. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-5, где фракция DP2 включает примерно от 0,5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

10. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-5, где фракция DP2 включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

11. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-10, где фракция DP1 включает менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

12. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-10, где фракция DP1 включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

13. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-10, где фракция DP1 включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

14. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-10, где фракция DP1 включает примерно от 0,5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

15. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-10, где фракция DP1 включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

16. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-15, где фракция DP3 включает менее 15%, менее 12%, менее 11%, менее 10%, менее 9%, менее 8%, менее 7%, менее 6%, менее 5%, менее 4%, менее 3%, менее 2% или менее 1% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

17. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-15, где фракция DP3 включает примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

18. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-15, где фракция DP3 включает примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

19. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-15, где фракция DP3 включает примерно от 0,5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

20. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-15, где фракция DP3 включает примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по

относительной распространенности.

21. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-20, включающий примерно от 2% до 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

22. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-20, включающий примерно от 0,5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

23. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-20, включающий примерно от 1% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

24. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-20, включающий примерно от 5% до 10% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

25. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-24, где фракция DP2 включает более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

26. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-25, где фракция DP1 включает более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

27. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-26, где фракция DP3 включает более 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

28. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-27, содержащий более 0,5%, 0,6%, более 0,8%, более 1,0%, более 1,5%, более 2%, более 3%, более 4%, более 5%, более 6%, более 7%, более 8%, более 9%, более 10%, более 11% или более 12% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

29. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-28, имеющий содержание фракции DP1 примерно от 1% до 40% по массе, при определении жидкостной

хроматографией.

30. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-29, имеющий содержание фракции DP2 примерно от 1% до 35% по массе, при определении жидкостной хроматографией.

31. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-30, имеющий содержание фракции DP3 примерно от 1% до 30% по массе, при определении жидкостной хроматографией.

32. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-31, имеющий содержание фракции DP4 примерно от 0,1% до 20% по массе, при определении жидкостной хроматографией.

33. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-32, имеющий содержание фракции DP5 примерно от 0,1% до 15% по массе, при определении жидкостной хроматографией.

34. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-33, где отношение фракции DP2 к фракции DP1 составляет примерно от 0,02 до 0,40, при определении жидкостной хроматографией.

35. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-34, где отношение фракции DP3 к фракции DP2 составляет примерно от 0,01 до 0,30, при определении жидкостной хроматографией.

36. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-35, где совокупное содержание фракций DP1 и DP2 в олигосахаридном препарате составляет менее 50%, менее 40% или менее 30%, при определении жидкостной хроматографией.

37. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-36, включающий по меньшей мере 10^3 , по меньшей мере 10^4 , по меньшей мере 10^5 , по меньшей мере 10^6 или по меньшей мере 10^9 различных видов олигосахаридов.

38. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-37, где два или более независимых олигосахарида содержат разные ангидро-субъединицы.

39. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-38, где каждый из олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, включает одну или несколько ангидро-субъединиц, являющихся продуктами термической дегидратации моносахаридов.

40. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-39, содержащий одну или несколько ангидро-субъединиц, выбранных из ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтросы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-талозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-

рамнозы, ангидро-ликсозы и ангидро-ксилозы.

41. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-40, включающий одну или несколько субъединиц ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы.

42. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-41, где фракция DP1 включает субъединицы 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы или 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы.

43. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-42, где фракция DP1 включает ангидро-субъединицы как 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы, так и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы.

44. Олигосахаридный препарат по п.43, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, примерно от 9:1 до 1:10, примерно от 8:1 до 1:10, примерно от 7:1 до 1:10, примерно от 6:1 до 1:10, примерно от 5:1 до 1:10, примерно от 4:1 до 1:10, примерно от 3:1 до 1:10, примерно от 2:1 до 1:10, примерно от 10:1 до 1:9, примерно от 10:1 до 1:8, примерно от 10:1 до 1:7, примерно от 10:1 до 1:6, примерно от 10:1 до 1:5, примерно от 10:1 до 1:4, примерно от 10:1 до 1:3, примерно от 10:1 до 1:2 или примерно от 1:1 до 3:1 в олигосахаридном препарате.

45. Олигосахаридный препарат по пп.43 или 44, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, примерно 9:1, примерно 8:1, примерно 7:1, примерно 6:1, примерно 5:1, примерно 4:1, примерно 3:1, примерно 2:1, примерно 1:1, примерно 1:2, примерно 1:3, примерно 1:4, примерно 1:5, примерно 1:6, примерно 1:7, примерно 1:8, примерно 1:9 или примерно 1:10 в олигосахаридном препарате.

46. Олигосахаридный препарат по любому из пп.43-45, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в олигосахаридном препарате.

47. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-46, где фракция DP2 включает по меньшей мере 5 видов олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы.

48. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-46, где фракция DP2 включает примерно от 5 до 10 видов олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы.

49. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-48, включающий один или несколько продуктов карамелизации сахара.

50. Олигосахаридный препарат по п.49, где продукты карамелизации сахара выбраны из группы, состоящей из метанола, этанола, фурана, метилглиоксаля, 2-

метилфурана, винилацетата, гликольальдегида, уксусной кислоты, ацетола, фурфурола, 2-фуранметанола, 3-фуранметанола, 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она, 5-метилфурфурола, 2(5H)-фуранона, 2-метилциклопентенолона, левоглюкозенона, циклического гидроксил-лактона, 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы, диангидроглюкопиранозы и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf).

51. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-50, где более 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, включают ангидро-субъединицу на конце цепи.

52. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий средневесовую молекулярную массу примерно от 300 до 5000 г/моль, при определении с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

53. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий средневесовую молекулярную массу примерно от 300 до 2500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

54. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий средневесовую молекулярную массу примерно от 500 до 2000 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

55. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий средневесовую молекулярную массу примерно от 500 до 1500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

56. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий среднечисленную молекулярную массу примерно от 300 до 5000 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

57. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий среднечисленную молекулярную массу примерно от 300 до 2500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

58. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий среднечисленную молекулярную массу примерно от 500 до 2000 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

59. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий среднечисленную молекулярную массу примерно от 500 до 1500 г/моль, при определении с помощью ВЭЖХ.

60. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий средневесовую молекулярную массу примерно от 2000 до 2800 г/моль.

61. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-51, имеющий среднечисленную молекулярную массу примерно от 1000 до 2000 г/моль.

62. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-61, содержащий моносахаридную субъединицу, выбранную из арабинозы, ликсозы, рибозы, ксилозы, аллозы, альтрозы, маннозы, гулозы, идозы, галактозы, талозы, психозы, фруктозы, сорбозы и тагатозы.

63. Олигосахаридный препарат по любому из пп.1-61, содержащий моносахаридную субъединицу, выбранную из ксилозы, маннозы, галактозы и фруктозы.

64. Питательная композиция, содержащая олигосахаридный препарат по любому из пп.1-63.

65. Питательная композиция по п.64, дополнительно содержащая основную питательную композицию.

66. Питательная композиция по пп.64 или 65, представляющая собой кормовую композицию для животных.

67. Способ, включающий применение у животного питательной композиции, содержащей основную питательную композицию и олигосахаридный препарат по любому из пп.1-63.

68. Способ производства синтетической олигосахаридной композиции, включающий:

(а) нагревание водной композиции, содержащей по меньшей мере один кормовой сахар и катализатор, до заданной температуры в течение периода времени, достаточного для индукции полимеризации указанного по меньшей мере одного кормового сахара; чтобы таким образом получить партию синтетического олигосахаридного препарата; где указанная партия включает по меньшей мере 1 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата; и где указанный синтетический олигосахаридный препарат включает по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DP n), где n является целым числом, равным 3 или более; и где каждая фракция указанного синтетического олигосахаридного препарата включает примерно от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью масс-спектрометрии;

(b) измерение уровня указанного катализатора в указанной производимой партии указанного синтетического олигосахаридного препарата;

(c) сравнение указанного уровня с предварительно определенным критерием

приемлемости; и

(d) формирование по меньшей мере части указанной партии указанного синтетического олигосахаридного препарата, только если уровень указанного катализатора в указанной партии препарата соответствует указанному предварительно определенному критерию приемлемости.

69. Способ производства синтетической олигосахаридной композиции, включающий:

(a) нагревание водной композиции, содержащей по меньшей мере один кормовой сахар и катализатор, до заданной температуры в течение периода времени, достаточного для индукции полимеризации указанного по меньшей мере одного кормового сахара; чтобы таким образом получить партию синтетического олигосахаридного препарата; где указанная партия включает по меньшей мере 1 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата; и где указанный синтетический олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DP n), где n является целым числом, равным 3 или более; и где каждая фракция указанного синтетического олигосахаридного препарата включает от 0,5% до 15% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении масс-спектрометрией;

(b) измерение уровня указанного катализатора в указанной производимой партии указанного синтетического олигосахаридного препарата; и

(c) формирование по меньшей мере части указанной партии указанного синтетического олигосахаридного препарата, только если уровень указанного катализатора в указанном препарате партии равен или меньше 0,1 масс.% от указанной партии;

чтобы таким образом получить синтетическую олигосахаридную композицию.

70. Способ по пп.68 или 69, где указанное формирование включает регуляцию pH указанного синтетического олигосахаридного препарата, получение порошковой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата, получение твердой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата, упаковку указанного синтетического олигосахаридного препарата, маркировку указанного синтетического олигосахаридного препарата, выпуск указанного синтетического олигосахаридного препарата в продажу, или предложение для продажи или продажу указанного синтетического олигосахаридного препарата.

71. Способ по п.70, где указанное формирование включает получение порошковой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата.

72. Способ по п.71, где указанная порошковая форма представляет собой стеклоподобный порошковый состав.

73. Способ по п.71, где указанная порошковая форма представляет собой порошковый состав, загруженный на носитель.

74. Способ по п.70, где указанное формирование включает получение твердой формы указанного синтетического олигосахаридного препарата.

75. Способ по п.74, где указанное формирование включает экструзию указанного синтетического олигосахаридного препарата, чтобы тем самым получить экструдированную твердую форму указанного синтетического олигосахаридного препарата.

76. Способ по любому из пп.68-75, где указанный катализатор выбран из группы, состоящей из (+)-камфор-10-сульфоновой кислоты, 2-пиридинсульфоновой кислоты, 3-пиридинсульфоновой кислоты, 8-гидрокси-5-хиолинсульфоновой кислоты гидрата, α -гидрокси-2-пиридинметансульфоновой кислоты, (β)-камфор-10-сульфоновой кислоты, бутилфосфоновой кислоты, дифенилфосфиновой кислоты, гексилфосфоновой кислоты, метилфосфоновой кислоты, фенилфосфиновой кислоты, фенилфосфоновой кислоты, трет-бутилфосфоновой кислоты, (S)-VAPOL-гидрофосфата, 6-хиолинсульфоновой кислоты, 3-(1-пиридино)-1-пропансульфоната, 2-(2-пиридинил)этансульфоновой кислоты, 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-п,п'-дисульфоновой кислоты моноватриевой соли гидрата, 1,1'-бинафтил-2,2'-диил-гидрофосфата, бис(4-метоксифенил)фосфиновой кислоты, фенил(3,5-ксилил)фосфиновой кислоты, L-цистеиновой кислоты моногидрата, поли(стиролсульфоновой кислоты-со-дивинилбензола), лизина, этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, NERBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), NERES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолинопропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохиновозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой

кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина и триптофана.

77. Способ по любому из пп.68-76, где указанный катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N- (2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, 6-сульфохиновозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина, метионина, фенилаланина, тирозина, и триптофана.

78. Способ по любому из пп.68-77, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение времени, достаточного для достижения равновесия указанной водной композиции, при этом равновесие определяют по относительному стандартному отклонению ряда K_m менее 15%, 10% или 5%, и где
$$K_m = \frac{[DP_m][H_2O]}{[DP_{m-1}][DP1]}$$
, m представляет собой целое число больше 1, и равное n или менее, ряд K_m включает по меньшей мере 5 чисел K_m , $[H_2O]$ представляет собой молярную концентрацию воды, и $[DP1]$, $[DP_{m-1}]$ и $[DP_m]$ представляют собой молярные концентрации олигосахаридов во фракциях $DP1$, DP_{m-1} и DP_m , соответственно.

79. Способ по любому из пп.68-78, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение по меньшей мере 30 минут, 1 часа, 2 часов, 3 часов, 4 часов, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов или 10 часов.

80. Способ по п.79, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение по меньшей мере 6 часов.

81. Способ по п.79, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение по меньшей мере 10 часов.

82. Способ по любому из пп.68-78, где указанное нагревание включает нагревание

указанной водной композиции от 1 до 24 часов, от 1 до 16 часов, от 1 до 8 часов, от 1 до 4 часов, от 1 до 3 часов, от 1 до 2 часов, от 2 до 12 часов, от 2 до 10 часов, от 2 до 8 часов, от 2 до 6 часов, от 2 до 4 часов, от 3 до 8 часов, от 3 до 6 часов, от 3 до 5 часов, от 3 до 4 часов, от 4 до 24 часов, от 4 до 16 часов, от 4 до 12 часов, от 4 до 10 часов, от 4 до 8 часов, от 4 до 6 часов, от 5 до 24 часов, от 5 до 16 часов, от 5 до 12 часов, от 5 до 10 часов, от 5 до 8 часов, от 5 до 6 часов, от 6 до 24 часов, от 6 до 16 часов, от 6 до 12 часов, от 6 до 10 часов или от 6 до 8 часов.

83. Способ по любому из пп.68-78, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции в течение 5-12 часов.

84. Способ по любому из пп.68-83, дополнительно включающий измерение вязкости, содержания воды, среднечисленной молекулярной массы (MW_n), средневесовой молекулярной массы (MW_w), содержания ангидро-субъединиц, распределения степени полимеризации, выделенного водного конденсата, содержания реакционной воды, общего содержания растворенных твердых веществ, остаточного содержания мономера, рН, плотности или цвета указанной водной композиции во время указанного нагревания.

85. Способ по п. 84, где указанное измерение используют для определения указанного периода времени, достаточного для индукции полимеризации.

86. Способ по п.84, где указанное содержание ангидро-субъединиц находится во фракции DP1 или фракции DP2.

87. Способ по п.86, где указанное содержание ангидро-субъединиц определяют с помощью ЖХ-МС/МС.

88. Способ по п.84, где указанную среднечисленную молекулярную массу (MW_n) определяют хроматографией ВЭЖХ/ГПХ.

89. Способ по п.84, где указанную средневесовую молекулярную массу (MW_w) определяют хроматографией ВЭЖХ/ГПХ.

90. Способ по п.84, где указанное общее содержание растворенных твердых веществ определяют титрованием по Карлу Фишеру.

91. Способ по п.84, где указанную вязкость определяют с помощью вискозиметра или реометра.

92. Способ по п.84, где указанное содержание воды определяют с использованием метода выпаривания, метода дистилляции или метода химической реакции.

93. Способ по п.92, где указанный метод химической реакции представляет собой титрование по Карлу Фишеру.

94. Способ по п.84, где указанное содержание воды определяют с использованием

анализатора влажности, ИК-спектроскопии или БИК-спектроскопии.

95. Способ по любому из пп.68-94, где указанная партия включает по меньшей мере 10 кг, 100 кг, 1000 кг, 5000 кг, 10 000 кг, 20 000 кг, 30 000 кг, 40 000 кг, 50 000 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата.

96. Способ по любому из пп.68-95, где указанная партия содержит по меньшей мере 5000 кг указанного синтетического олигосахаридного препарата.

97. Способ по п.68, где указанный предварительно определенный критерий приемлемости представляет собой предварительно определенное содержание в масс.% указанного катализатора в указанной партии.

98. Способ по п.97, где указанное содержание в масс.% составляет менее 1 масс.%, 0,9 масс.%, 0,8 масс.%, 0,7 масс.%, 0,6 масс.%, 0,5 масс.%, 0,4 масс.%, 0,3 масс.%, 0,2 масс.%, или 0,1 масс.%.

99. Способ по любому из пп.68, 97 или 98, где указанный предварительно определенный критерий приемлемости является коммерческой спецификацией выпуска.

100. Способ по любому из пп.68-99, где указанный кормовой сахар включает функционализированные или модифицированные сахара.

101. Способ по п.100, где указанные функционализированные или модифицированные сахара включают аминсахара, сахарные кислоты, амиды сахаров или простые эфиры сахаров, или любую их комбинацию.

102. Способ по пп.100 или 101, где указанные функционализированные или модифицированные сахара включают глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, глюкуроновую кислоту или галактуроновую кислоту, или любую их комбинацию.

103. Способ по любому из пп.68-102, где указанный кормовой сахар включает дезоксисахара.

104. Способ по п.103, где дезоксисахара включают фукозу, рамнозу, дезоксирибозу или фукулозу, или любую их комбинацию.

105. Способ по любому из пп.68-104, где указанный кормовой сахар включает глюкозу, ксилозу, галактозу, маннозу, мальтодекстрин, арабинозу, лактозу, сахарозу или трегалозу, или любую их комбинацию.

106. Способ по любому из пп.68-105, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции, содержащей по меньшей мере два, три, четыре или пять кормовых сахаров и катализатор, до заданной температуры в течение периода времени, достаточного для индукции полимеризации указанного по меньшей мере одного кормового сахара.

107. Способ по п.106, где указанное нагревание включает нагревание указанной водной композиции, содержащей по меньшей мере два кормовых сахара.

108. Способ по п.107, где каждый из указанных по меньшей мере двух кормовых сахаров включает глюкозу, ксилозу, галактозу, маннозу, мальтодекстрин, арабинозу, лактозу, сахарозу или трегалозу, или любую их комбинацию.

109. Способ по п.106, где каждый из указанных по меньшей мере двух, трех, четырех или пяти кормовых сахаров включает глюкозу, ксилозу, галактозу, маннозу, мальтодекстрин, арабинозу, лактозу, сахарозу или трегалозу, или любую их комбинацию.

110. Способ по любому из пп.68-109, дополнительно включающий поддержание содержания воды путем перегонки при атмосферном давлении.

111. Способ по любому из пп.68-109, дополнительно включающий поддержание содержания воды путем добавления воды.

112. Способ по любому из пп.68-109, дополнительно включающий поддержание содержания воды в диапазоне примерно от 2%, 3%, 4% или 5% до примерно 6%, 7%, 8% или 9%, при измерении по среднему содержанию воды до и после реакции.

113. Способ по любому из пп.68-109, дополнительно включающий поддержание содержания воды в диапазоне примерно от 2% до 8%, при измерении по среднему содержанию воды до и после реакции.

114. Способ по любому из пп.68-113, где относительная распространенность олигосахаридов по меньшей мере в 5, 10, 20 или 30 фракциях DP указанного олигосахаридного препарата монотонно снижается с его степенью полимеризации.

115. Способ по любому из пп.68-114, где относительная распространенность олигосахаридов в каждой из n фракций указанного олигосахаридного препарата монотонно снижается с его степенью полимеризации.

116. Способ по любому из пп.68-115, где n составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100.

117. Способ по любому из пп.68-116, где по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18. %, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

118. Способ по любому из пп.68-117, где по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата составляет примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

119. Способ по любому из пп.68-118, где указанный олигосахаридный препарат содержит менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

120. Способ по любому из пп.68-119, где указанный олигосахаридный препарат включает примерно 80-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

121. Способ по любому из пп.68-120, где каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает менее 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

122. Способ по любому из пп.68-120, где каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает примерно 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3%

или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

123. Способ по любому из пп.68-120, где по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

124. Способ по любому из пп.68-120, где по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата включает примерно 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

125. Способ по любому из пп.68-124, где указанный олигосахаридный препарат включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

126. Способ по любому из пп.68-120, где указанный олигосахаридный препарат включает примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности, при измерении с помощью MALDI-MS, ЖХ-МС/МС или ГХ-МС.

127. Способ по любому из пп.68-126, где каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает менее 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% или 2% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

128. Способ по любому из пп.68-127, где каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает примерно 80%-0,5%, 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%,

60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%, 30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

129. Способ по любому из пп.68-128, где по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридов включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

130. Способ по любому из пп.68-129, где каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает более 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

131. Способ по любому из пп.68-130, где по меньшей мере одна фракция указанного олигосахаридного препарата включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

132. Способ по любому из пп.68-131, где указанный олигосахаридный препарат включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

133. Способ по любому из пп.68-132, где каждая фракция указанного олигосахаридного препарата включает более 20%, 21%, 22%, 23%, 24% или 25% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, по относительной распространенности.

134. Способ по любому из пп.68-133, где более 99%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45 %, 40%, 35% или 30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу.

135. Способ по любому из пп.68-134, где примерно 80%-1%, 80%-2%, 80%-3%, 80%-4%, 80%-5%, 80%-10%, 80%-20%, 80%-30%, 80%-40%, 80%-50%, 60%-1%, 60%-2%, 60%-3%, 60%-4%, 60%-5%, 60%-10%, 60%-20%, 60%-30%, 60%-40%, 60%-50%, 40%-1%, 40%-2%, 40%-3%, 40%-4%, 40%-5%, 40%-10%, 40%-20%, 40%-30%, 40%-50%, 30%-1%,

30%-2%, 30%-3%, 30%-4%, 30%-5%, 30%-10%, 30%-20%, 20%-1%, 20%-2%, 20%-3%, 20%-4%, 20%-5%, 20%-10%, 10%-1%, 10%-2%, 10%-3%, 10%-4%, 10%-5%, 5%-1%, 5%-2%, 5%-3% или 5%-4% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, имеют только одну ангидро-субъединицу.

136. Способ по любому из пп.68-135, где указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP1 от 1 до 40% по относительной распространенности.

137. Способ по любому из пп.68-136, где указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP2 от 1 до 35% по относительной распространенности.

138. Способ по любому из пп.68-137, где указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP3 от 1 до 30% по относительной распространенности.

139. Способ по любому из пп.68-138, где указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP4 от 0,1 до 20% по относительной распространенности.

140. Способ по любому из пп.68-139, где указанный олигосахаридный препарат имеет содержание фракции DP5 от 0,1 до 15% по относительной распространенности.

141. Способ по любому из пп.68-140, где указанный олигосахаридный препарат включает фракцию DP2 и фракцию DP1, где отношение указанной фракции DP2 к указанной фракции DP1 составляет 0,02-0,40 по относительной распространенности.

142. Способ по любому из пп.68-141, где указанный олигосахаридный препарат включает фракцию DP3 и фракцию DP2, где отношение указанной фракции DP3 к указанной фракции DP2 в указанном олигосахаридном препарате составляет 0,01-0,30 по относительной распространенности.

143. Способ по любому из пп.68-142, где указанный олигосахаридный препарат включает фракцию DP1 и фракцию DP2, где совокупное содержание указанных фракций DP1 и DP2 в указанном олигосахаридном препарате составляет менее 50, 30 или 10% по относительной распространенности.

144. Способ по любому из пп.68-143, где указанный олигосахаридный препарат включает по меньшей мере 1000, 5000, 10000, 20 000, 30 000, 40 000, 50 000 или 10 0000 различных видов олигосахаридов.

145. Способ по любому из пп.68-144, где по меньшей мере два независимых олигосахаридов из указанного олигосахаридного препарата содержат разные ангидро-субъединицы.

146. Способ по любому из пп.68-145, где указанный олигосахаридный препарат включает по меньшей мере один олигосахарид, содержащий ангидро-субъединицу, которая является продуктом термической дегидратации моносахарида.

147. Способ по любому из пп.68-146, где указанный олигосахаридный препарат включает по меньшей мере один олигосахарид, который содержит субъединицу ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы, ангидро-аллозы, ангидро-альтросы, ангидро-гулозы, ангидро-индозы, ангидро-талозы, ангидро-фруктозы, ангидро-рибозы, ангидро-арабинозы, ангидро-рамнозы, ангидро-ликсозы или ангидро-ксилозы.

148. Способ по любому из пп.68-147, где указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну субъединицу ангидро-глюкозы, ангидро-галактозы, ангидро-маннозы или ангидро-фруктозы.

149. Способ по любому из пп.68-148, где указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну субъединицу 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы или 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы.

150. Способ по любому из пп.68-149, где указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну субъединицу 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и по меньшей мере одну субъединицу 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы.

151. Способ по п.150, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе в указанном олигосахаридном препарате составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2 или от 1:1 до 3:1.

152. Способ по п.150, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе в указанном олигосахаридном препарате составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 или 1:10.

153. Способ по п.150, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе в указанном олигосахаридном препарате составляет примерно 2:1.

154. Способ по п.150, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно от 10:1 до 1:10, от 9:1 до 1:10, от 8:1 до 1:10, от 7:1 до 1:10, от 6:1 до 1:10, от 5:1 до 1:10, от 4:1 до 1:10, от 3:1 до 1:10, от 2:1 до 1:10, от 10:1 до 1:9, от 10:1 до 1:8, от 10:1 до 1:7, от 10:1 до 1:6, от 10:1 до 1:5, от 10:1 до 1:4, от 10:1 до 1:3, от 10:1 до 1:2 или от 1:1 до 3:1 в каждой фракции.

155. Способ по п.150, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1,

1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:8, 1:9 или 1:10 в каждой фракции указанного олигосахаридного препарата.

156. Способ по п.150, где отношение 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы к 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозе составляет примерно 2:1 в каждой фракции указанного олигосахаридного препарата.

157. Способ по п.150, где по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% указанных ангидро-субъединиц в указанном олигосахаридном препарате выбрано из группы, состоящей из 1,6-ангидро- β -D-глюкофуранозы и 1,6-ангидро- β -D-глюкопиранозы.

158. Способ по любому из пп.68-157, где указанный олигосахаридный препарат содержит по меньшей мере одну ангидро-субъединицу, которая представляет собой продукт карамелизации сахара.

159. Способ по п.158, где указанный продукт карамелизации сахара выбран из группы, состоящей из метанола, этанола, фурана, метилглиоксаля, 2-метилфурана, винулацетата, гликольальдегида, уксусной кислоты, ацетона, фурфурола, 2-фуранметанола, 3-фуранметанола, 2-гидроксициклопент-2-ен-1-она, 5-метилфурфурола, 2(5H)-фуранона, 2-метилциклопентенолона, левоглюкозенона, циклического гидроксил-лактона, 1,4,3,6-диангидро- α -D-глюкопиранозы, диангидроглюкопиранозы и 5-гидроксиметилфурфурола (5-hmf).

160. Способ по любому из пп.68-159, где примерно от 0,1% до 5%, от 0,1% до 2% или от 0,1% до 1% указанных ангидро-субъединиц в указанном олигосахаридном препарате являются продуктами карамелизации.

161. Способ по любому из пп.68-160, где по меньшей мере 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, в указанном олигосахаридном препарате включают ангидро-субъединицу на конце цепи.

162. Способ по любому из пп.68-161, где примерно 1%-100%, 1%-99%, 1%-90%, 1%-80%, 1%-70%, 1%-60%, 1%-50%, 1%-40%, 1%-30%, 1%-20%, 1%-10%, 1%-5%, 1%-4%, 1%-3%, 1%-2%, 10%-100%, 10%-99%, 10%-90%, 10%-80%, 10%-70%, 10%-60%, 10%-50%, 10%-40%, 10%-30%, 10%-20%, 20%-100%, 20%-99%, 20%-90%, 20%-80%, 20%-70%, 20%-60%, 20%-50%, 20%-40% или 20%-30% олигосахаридов, содержащих ангидро-субъединицы, в указанном олигосахаридном препарате содержат ангидро-субъединицу на конце цепи.

163. Способ по любому из пп.68-162, где средневесовая молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от

500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1300 г/моль, от 400 до 1200 г/моль, от 400 до 1100 г/моль, от 500 до 1300 г/моль, от 500 до 1200 г/моль, от 500 до 1100 г/моль, от 600 до 1300 г/моль, от 600 до 1200 г/моль или от 600 до 1100 г/моль.

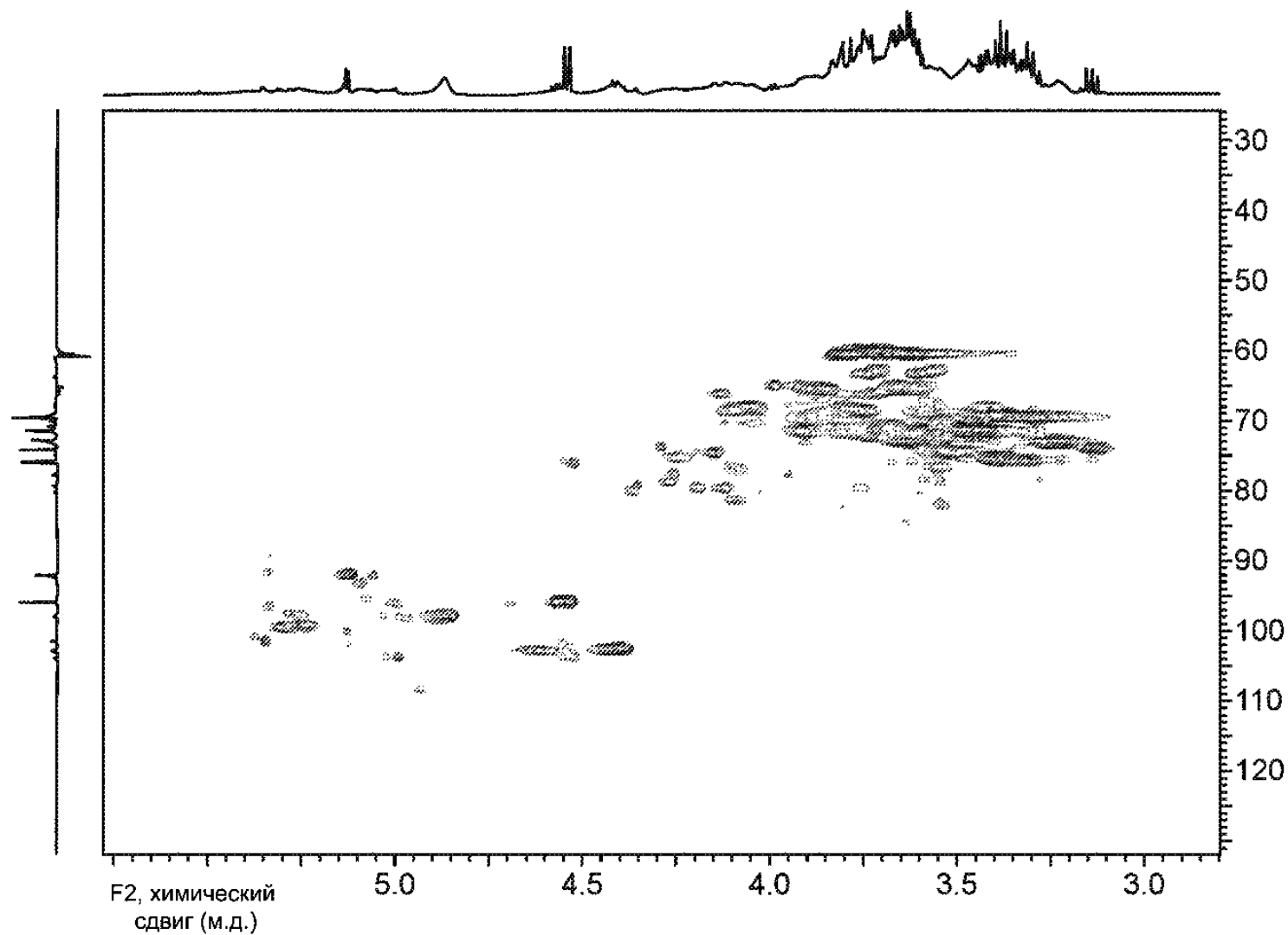
164. Способ по любому из пп.68-162, где среднечисленная молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 300 до 5000 г/моль, от 500 до 5000 г/моль, от 700 до 5000 г/моль, от 500 до 2000 г/моль, от 700 до 2000 г/моль, от 700 до 1500 г/моль, от 300 до 1500 г/моль, от 300 до 2000 г/моль, от 400 до 1000 г/моль, от 400 до 900 г/моль, от 400 до 800 г/моль, от 500 до 900 г/моль или от 500 до 800 г/моль.

165. Способ по любому из пп.68-162, где средневесовая молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 2000 до 2800 г/моль, от 2100 до 2700 г/моль, от 2200 до 2600 г/моль, от 2300 до 2500 г/моль, или от 2320 до 2420 г/моль.

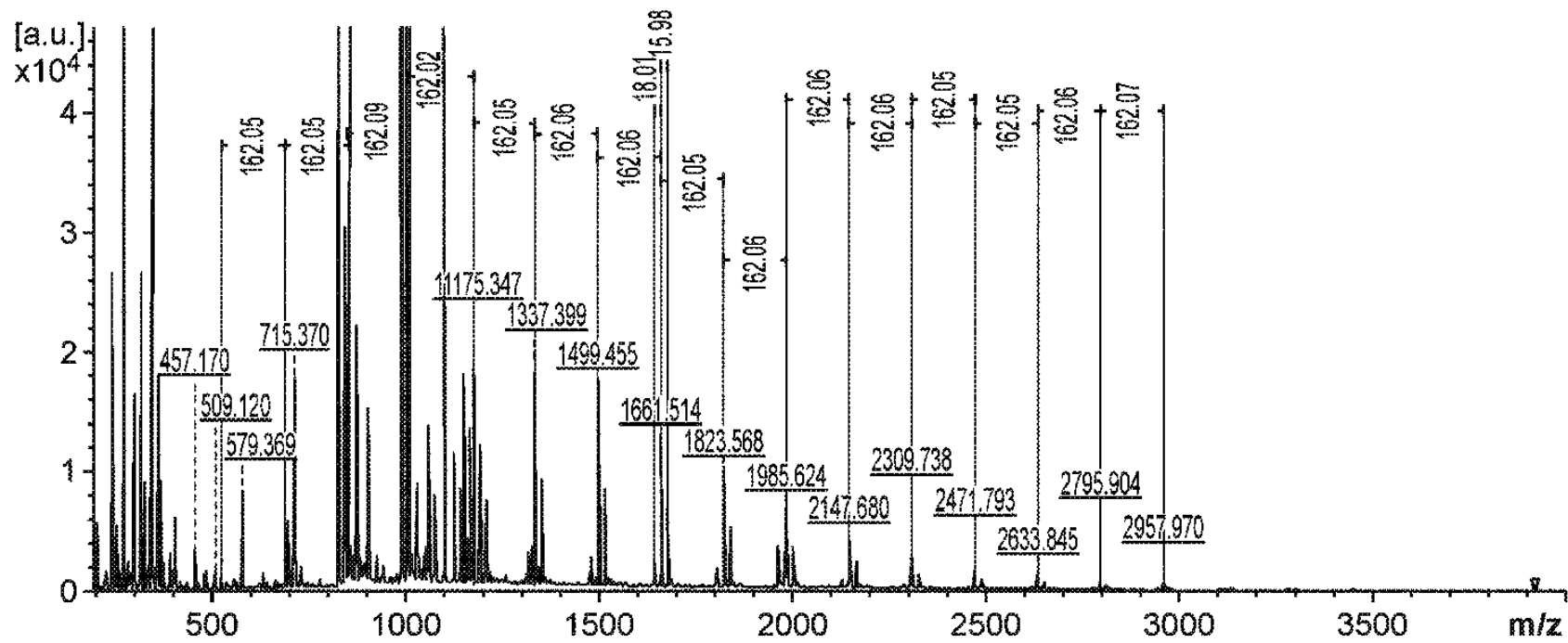
166. Способ по любому из пп.68-162, где среднечисленная молекулярная масса указанного олигосахаридного препарата составляет примерно от 1000 до 2000 г/моль, от 1100 до 1900 г/моль, от 1200 до 1800 г/моль, от 1300 до 1700 г/моль, от 1400 до 1600 г/моль или от 1450 до 1550 г/моль.

167. Способ производства синтетического олигосахаридного препарата, включающий нагревание водной композиции, содержащей один или несколько кормовых сахаров и катализатор, до температуры и в течение времени, достаточных для индукции полимеризации, при этом катализатор выбран из группы, состоящей из этандисульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, изетионовой кислоты, гомоцистеиновой кислоты, НЕРBS (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(4-бутансульфоновой кислоты)), НЕРЕС (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты), 2-гидрокси-3-морфолино-пропансульфоновой кислоты, 2-(N-морфолино)этансульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, метаниазида, нафталин-1-сульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, перфторбутансульфоновой кислоты, б-сульфохиновозы, трифликовой кислоты, 2-аминоэтансульфоновой кислоты, бензойной кислоты, хлоруксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, капроновой кислоты, энантовой кислоты, каприловой кислоты, пеларгоновой кислоты, лауриновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, арахидиновой кислоты, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, серина, треонина, глутамина, цистеина, глицина, пролина, аланина, валина, изолейцина, лейцина,

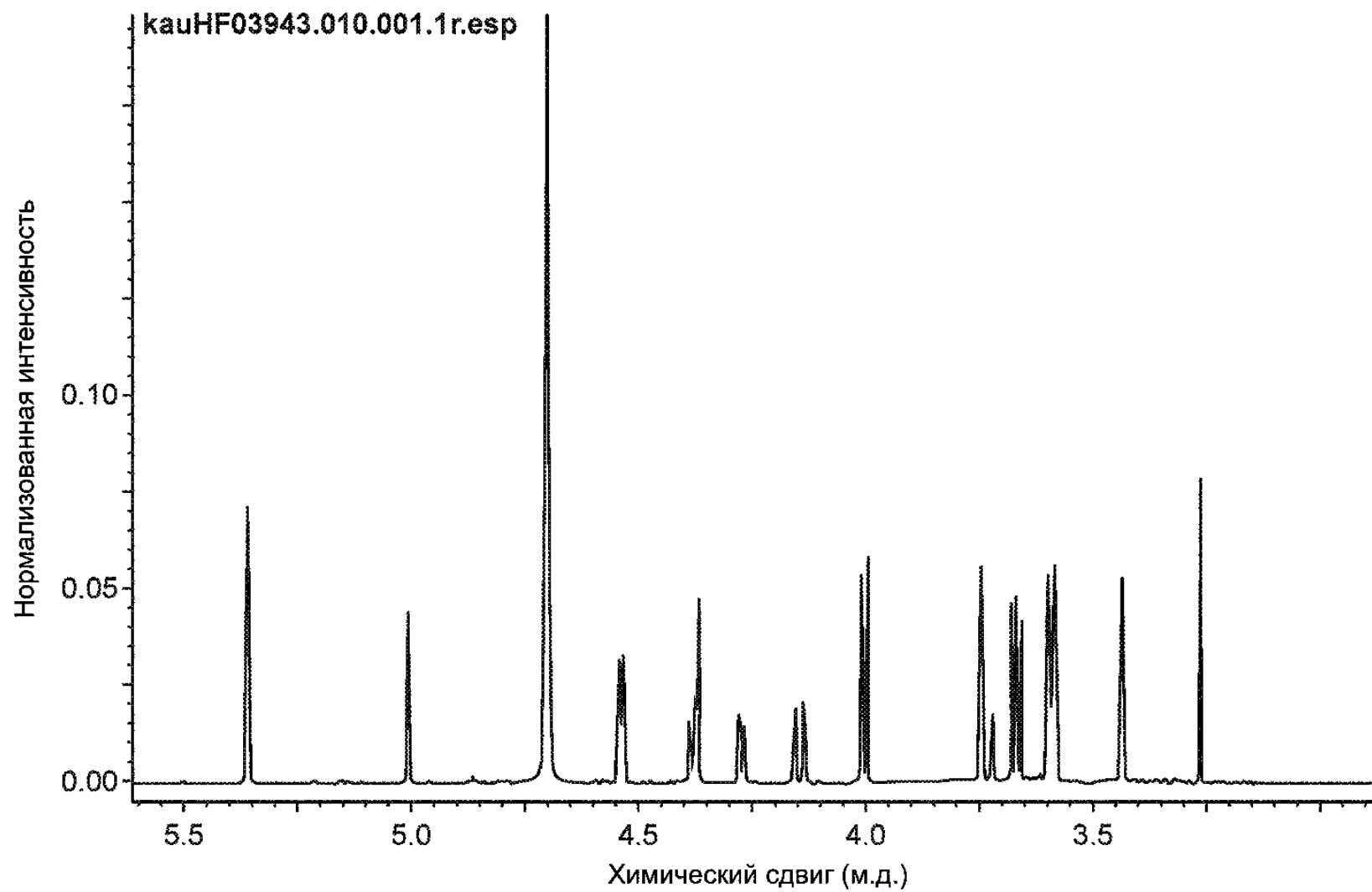
метионина, фенилаланина, тирозина, и триптофана; и где олигосахаридный препарат включает по меньшей мере n фракций олигосахаридов, каждая из которых имеет различную степень полимеризации, выбранную от 1 (фракция DP1) до n (фракция DPn), где n является целым числом, равным 2 или более.



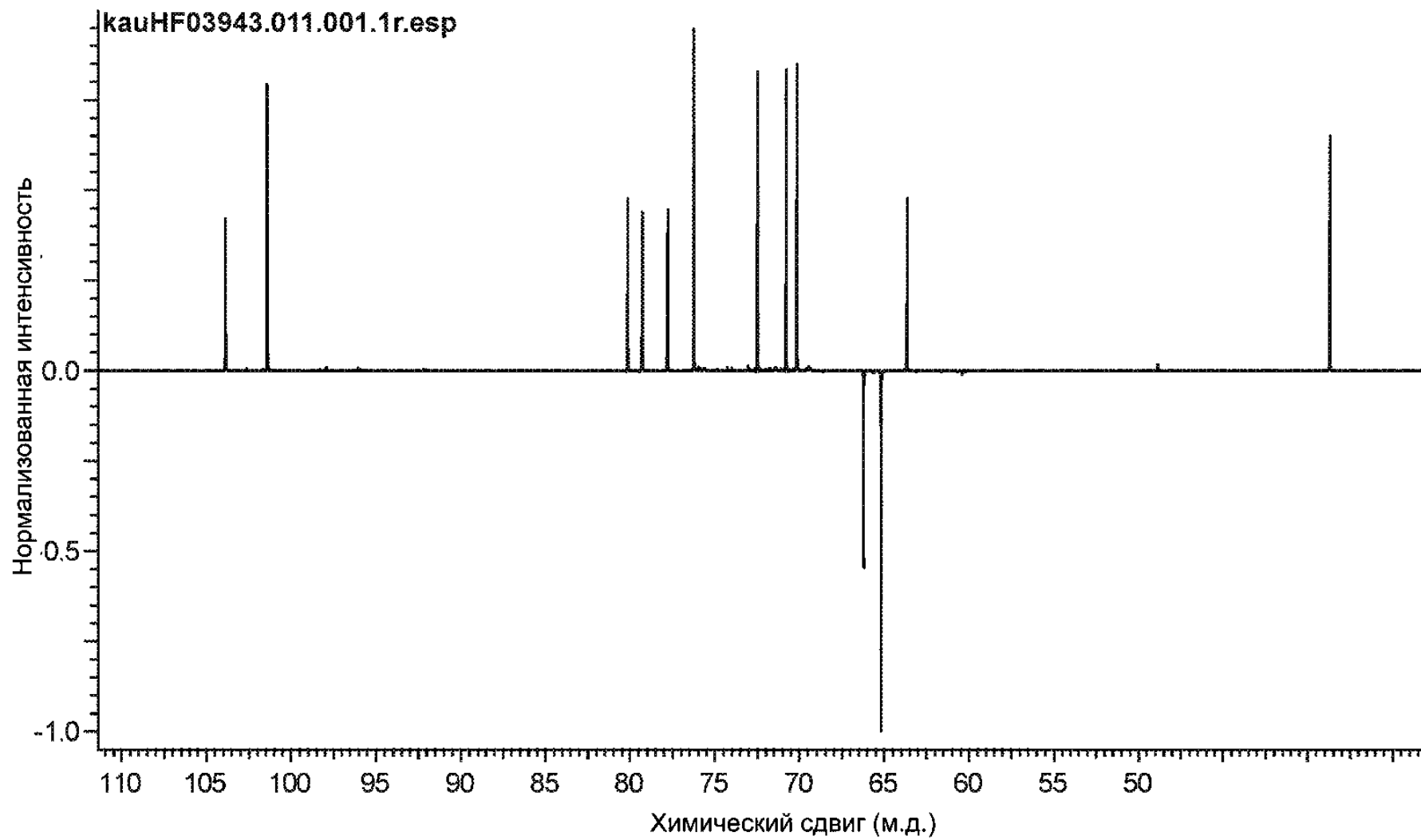
ФИГ. 1



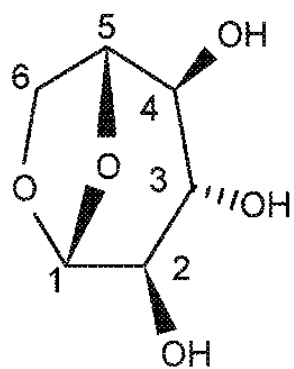
Фиг. 2



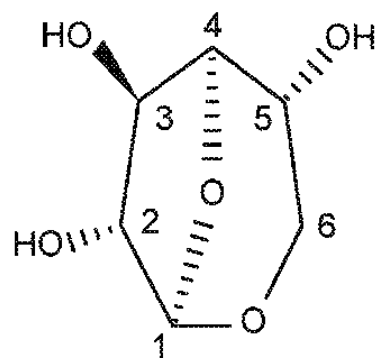
ФИГ. 3



Фиг. 4

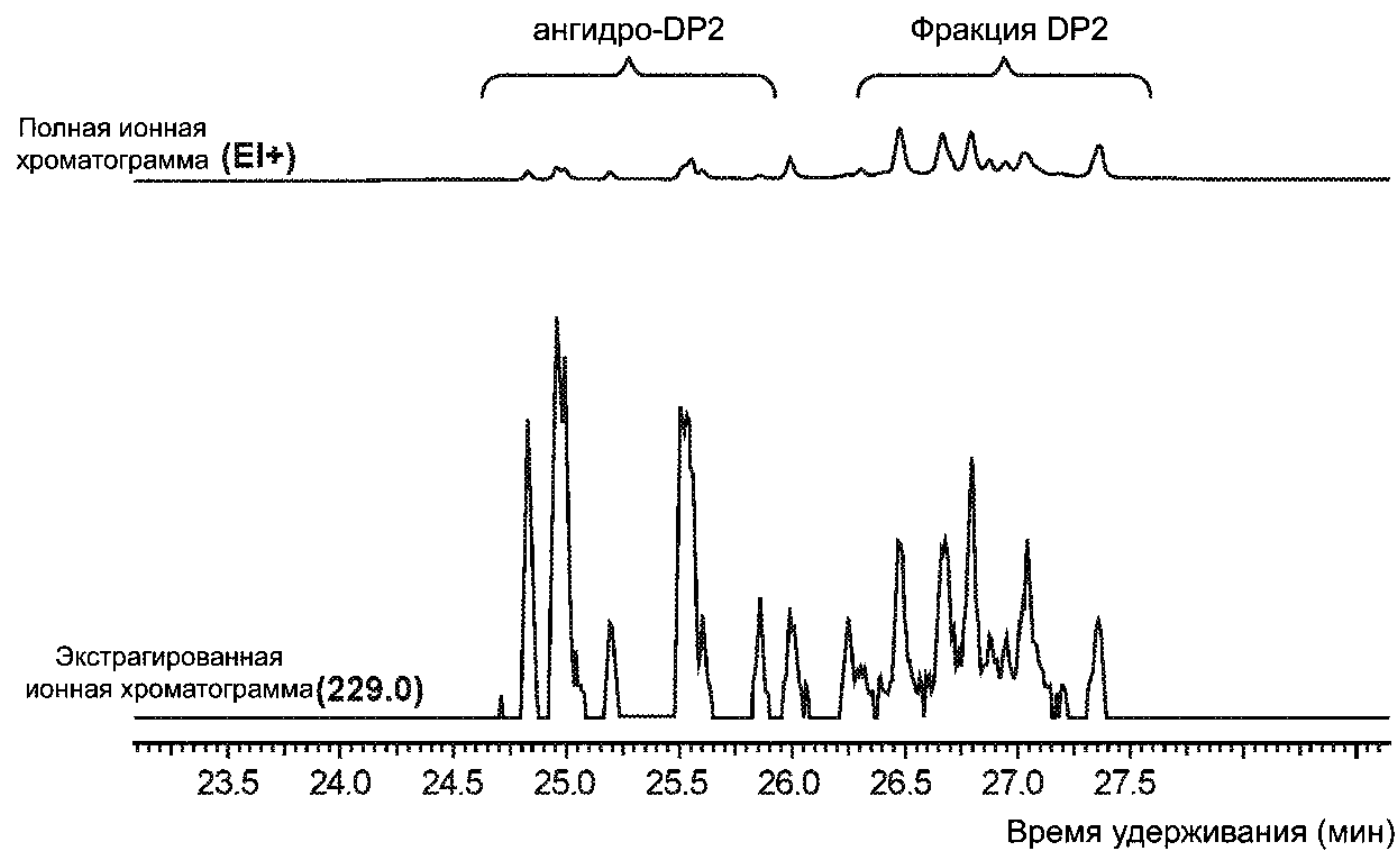


1,6-ангидро-бета-D-
глюкофураноза

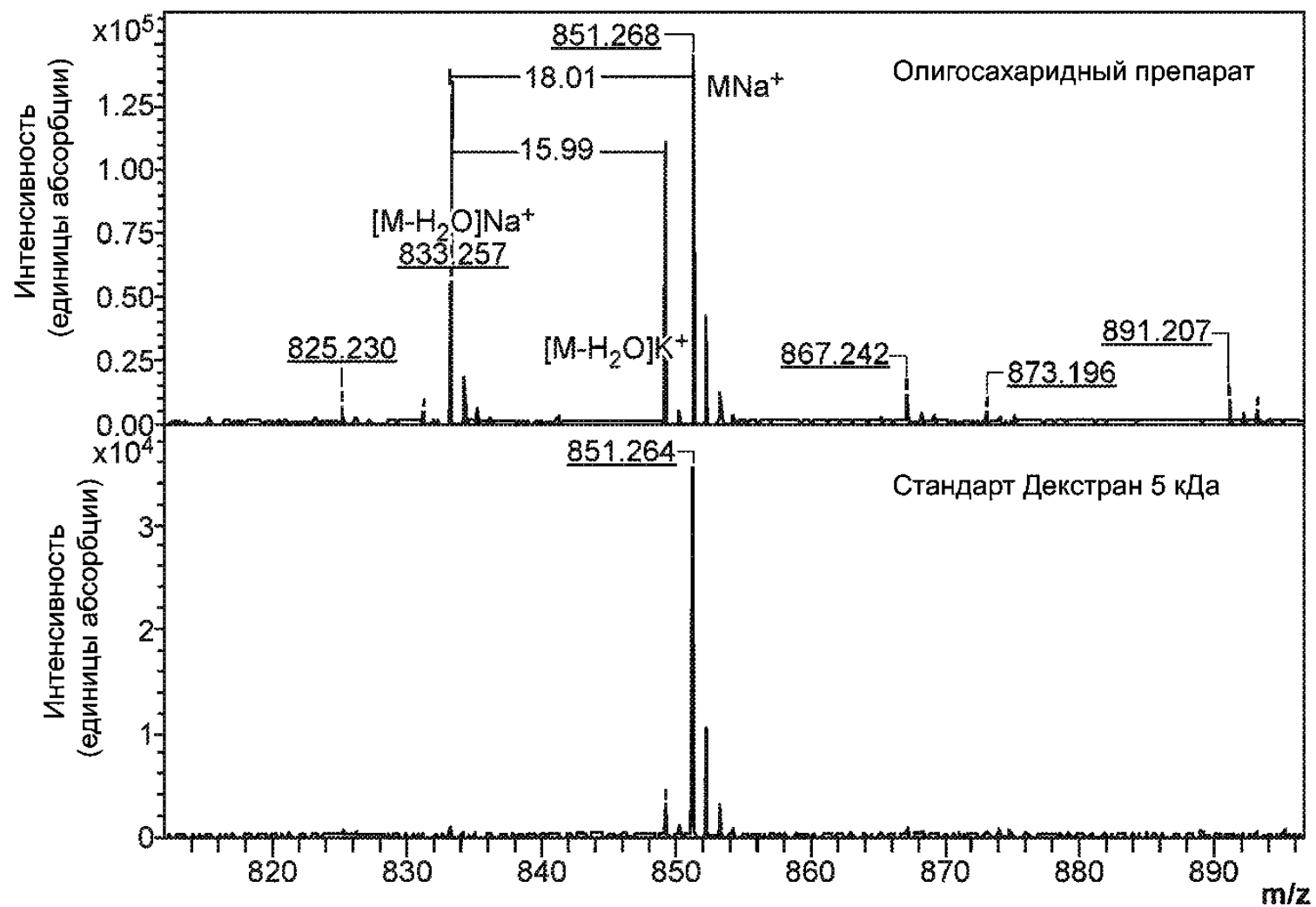


1,6-ангидро-бета-
D-глюкопираноза

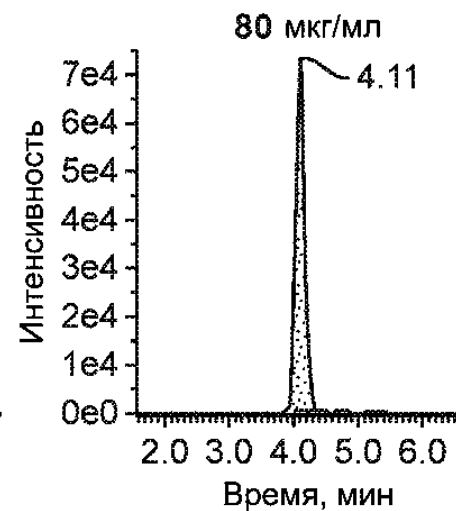
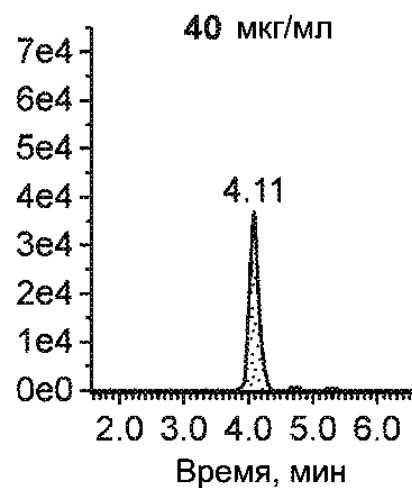
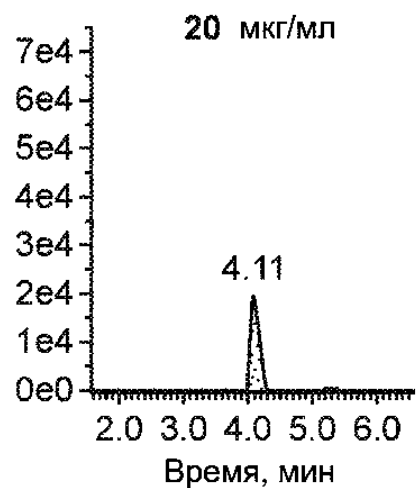
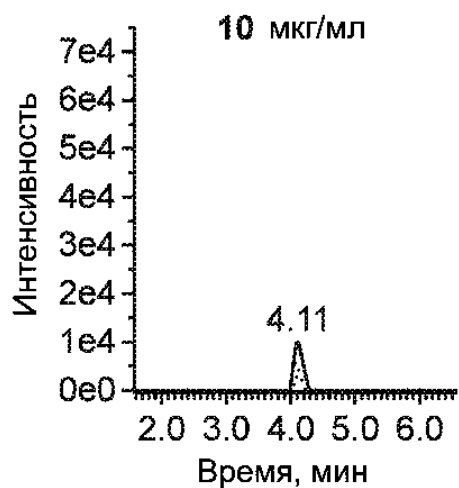
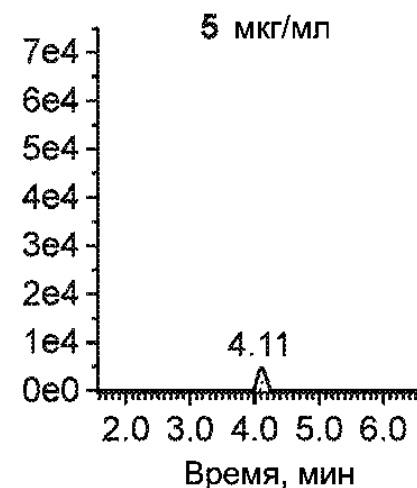
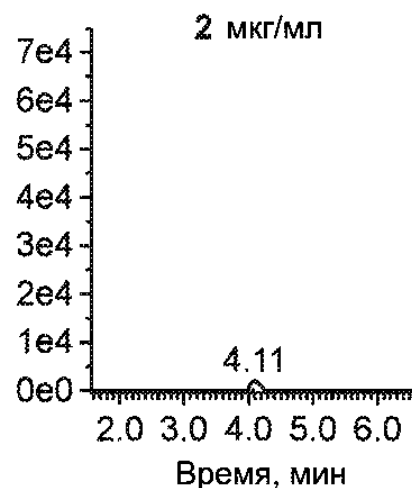
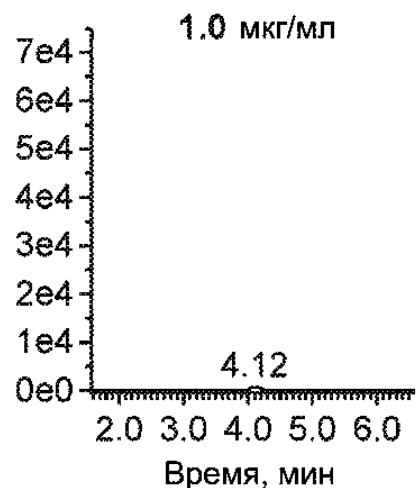
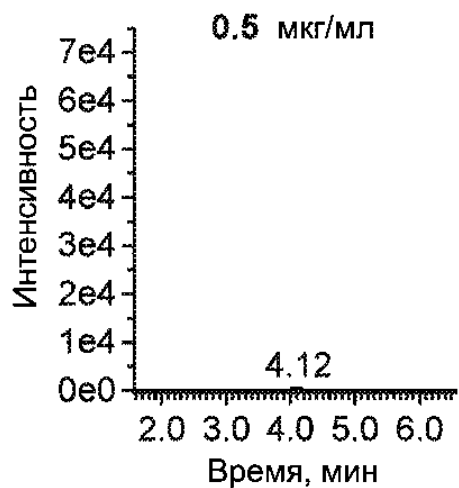
Фиг. 5



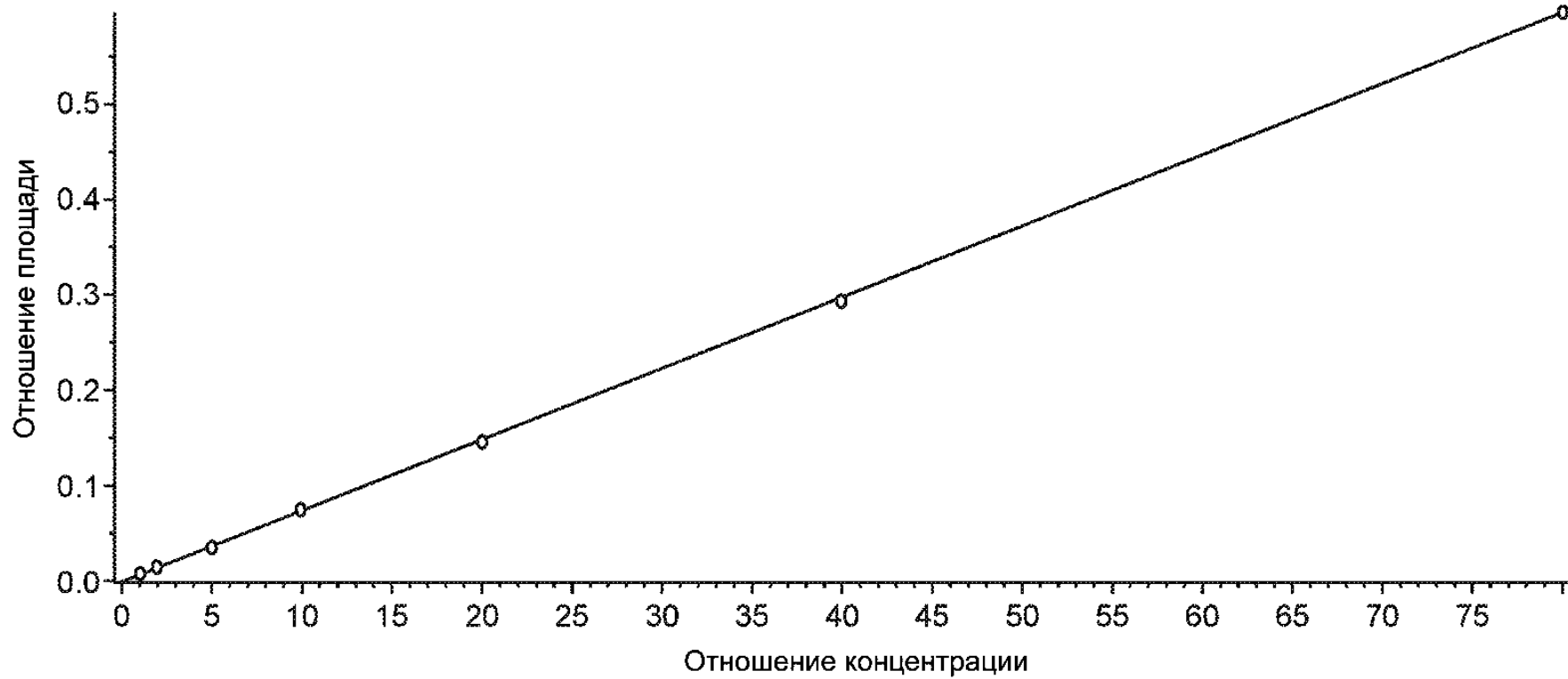
Фиг. 6



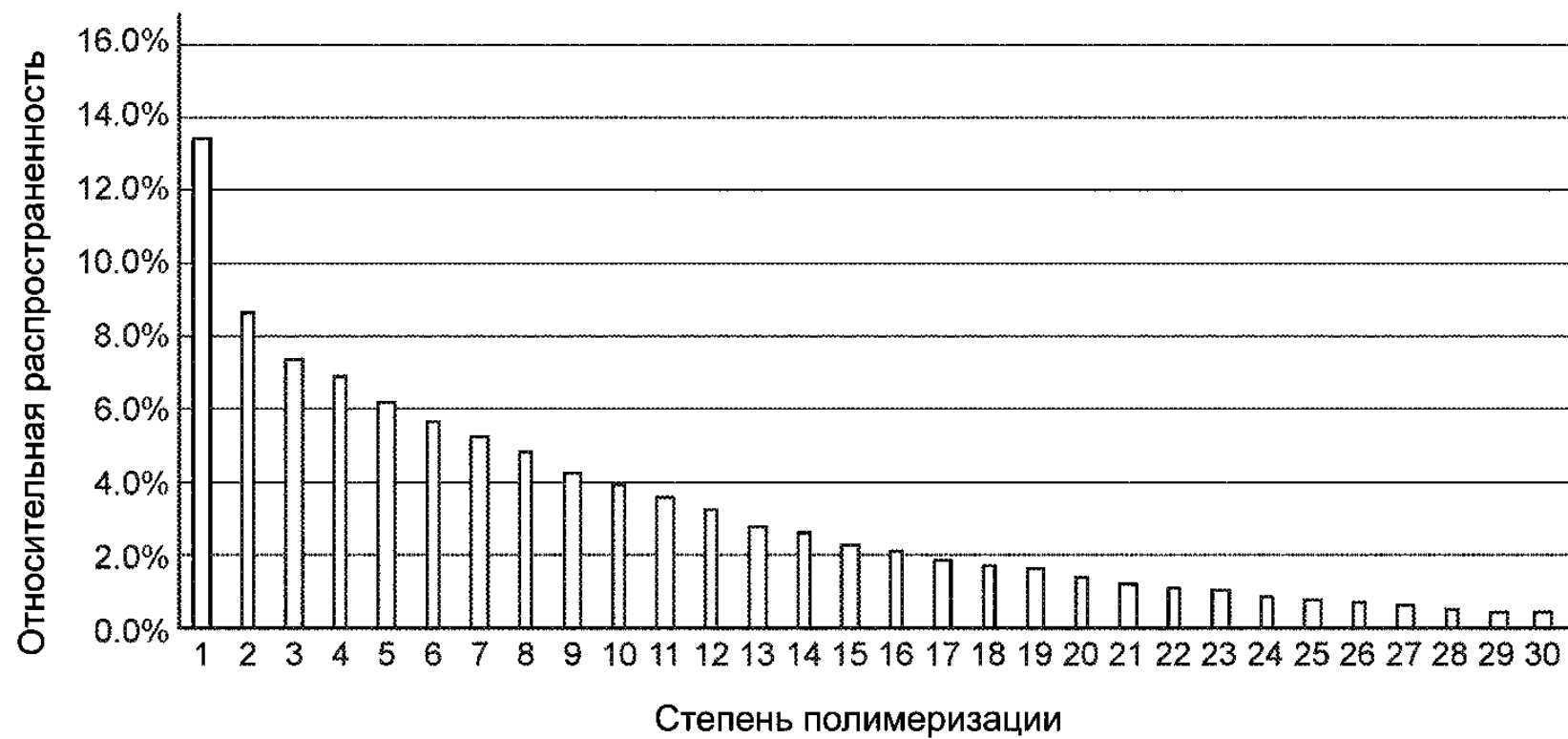
Фиг. 7



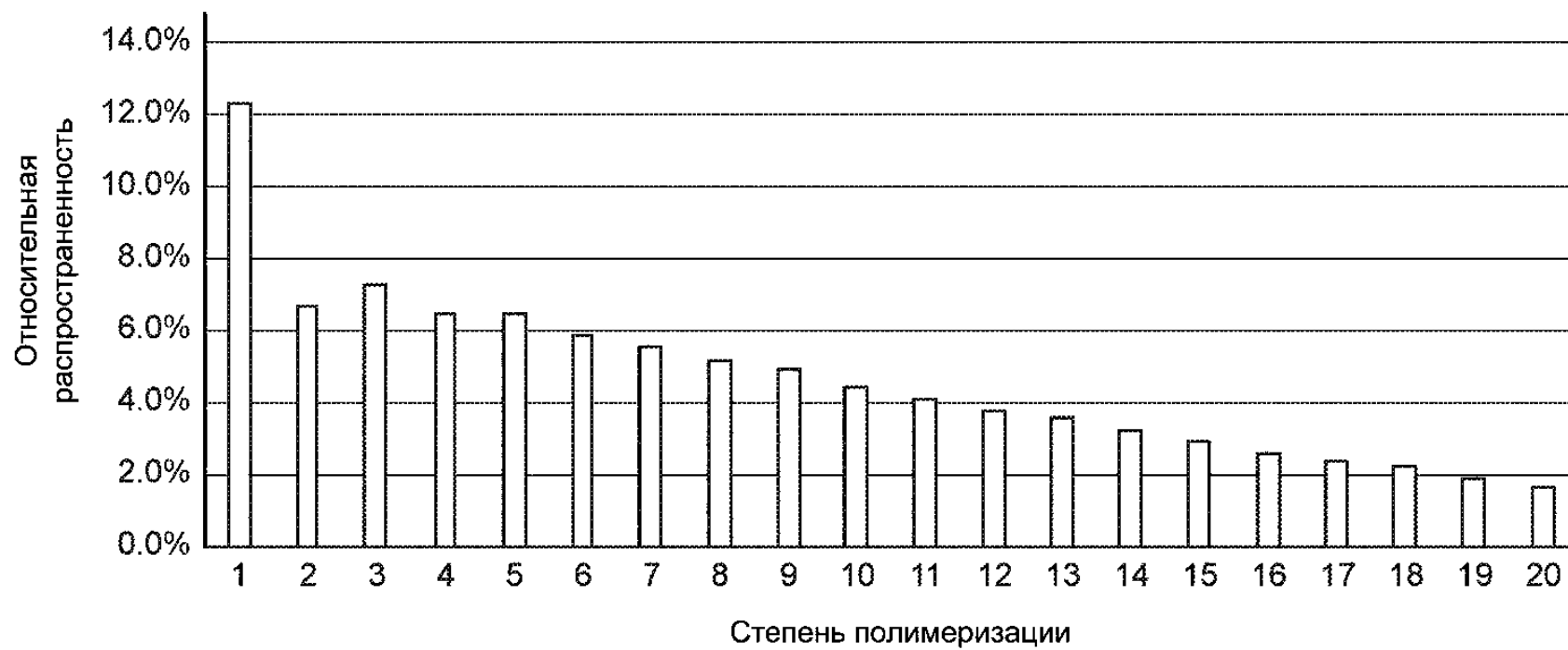
Фиг. 8



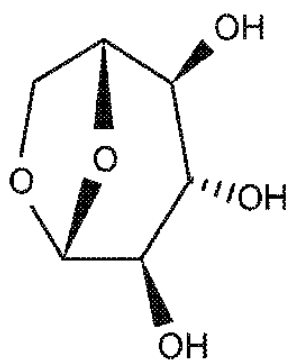
ФИГ. 9



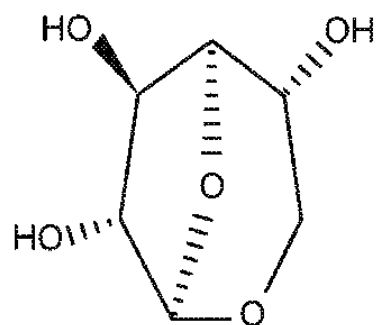
Фиг. 10



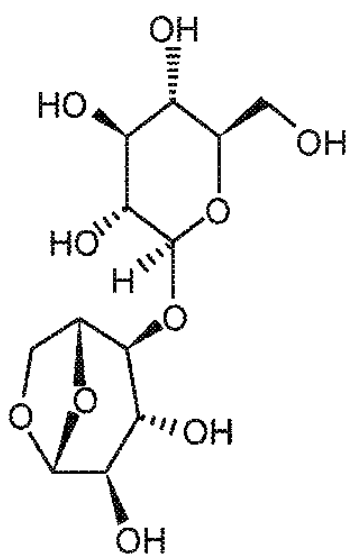
Фиг. 11



Левоглюкозан
CAS 498-07-7

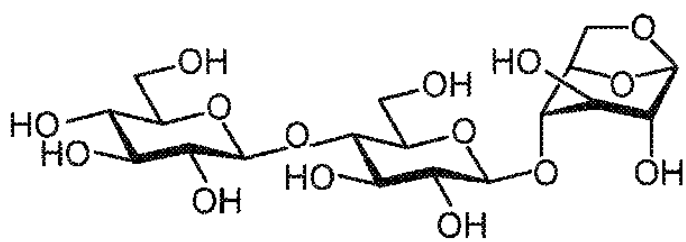


1,6-ангидро-β-D-
глюкофураноза
CAS 7425-74-3,

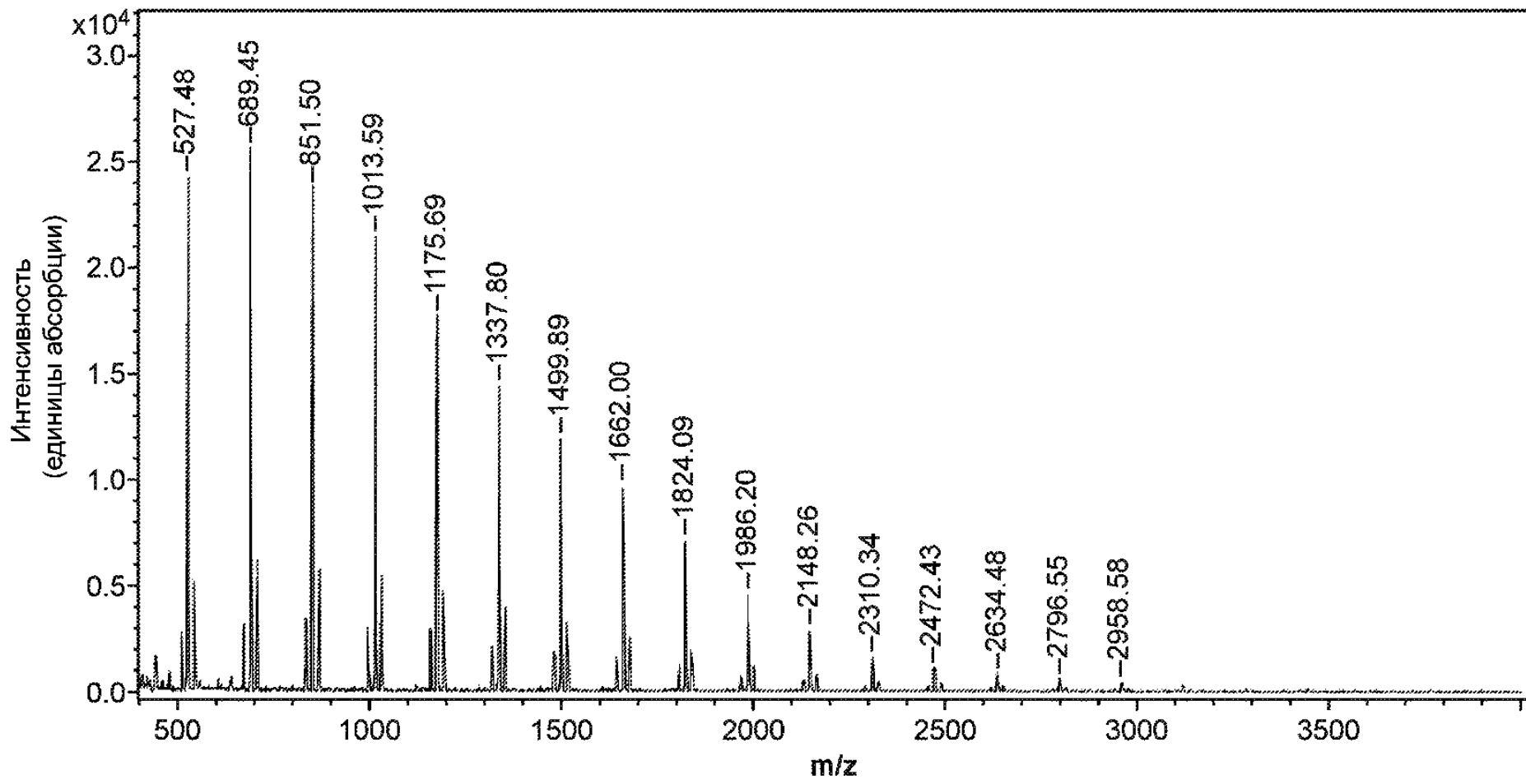


Ангидроцеллобиоза

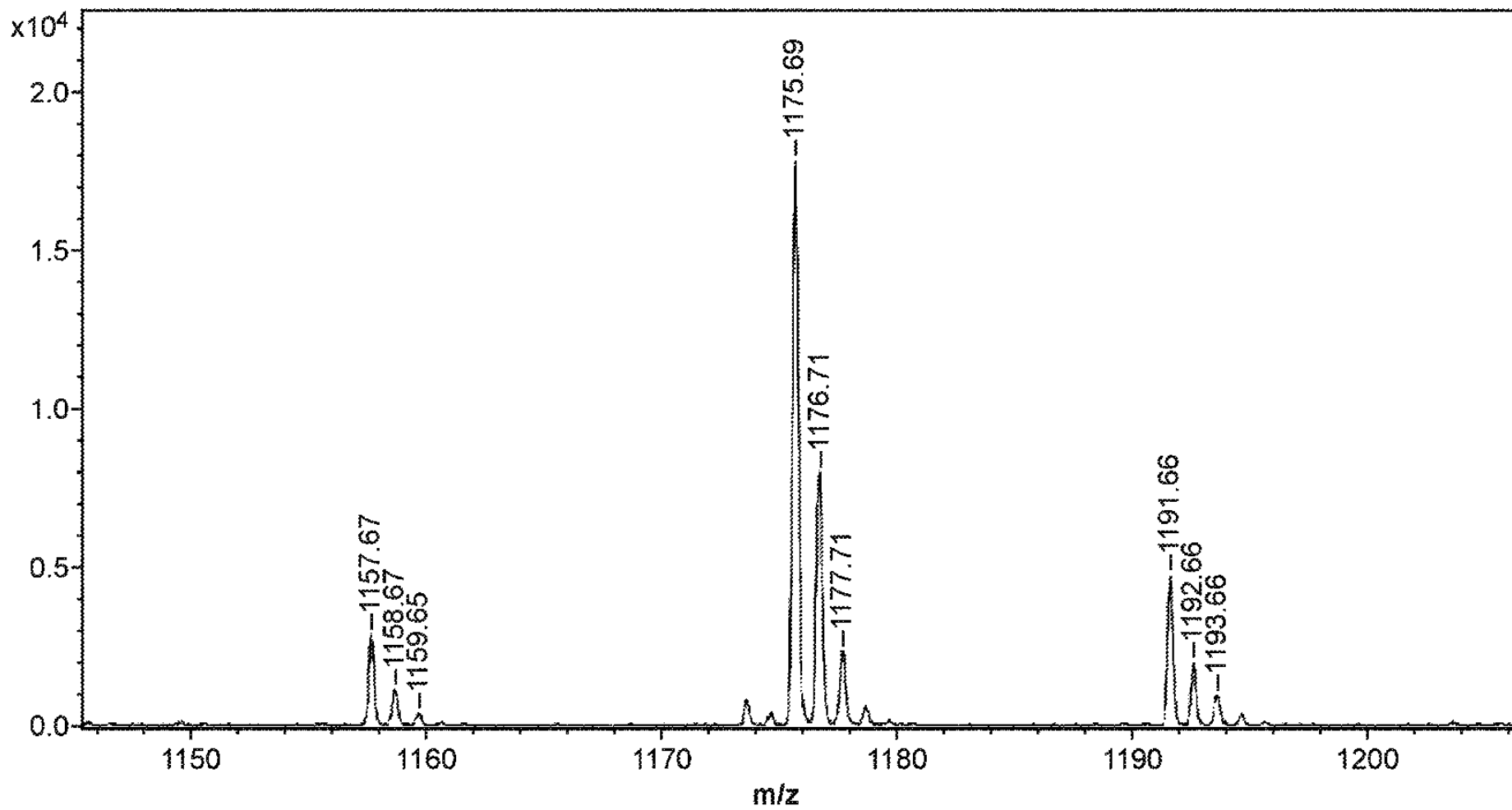
ФИГ. 12



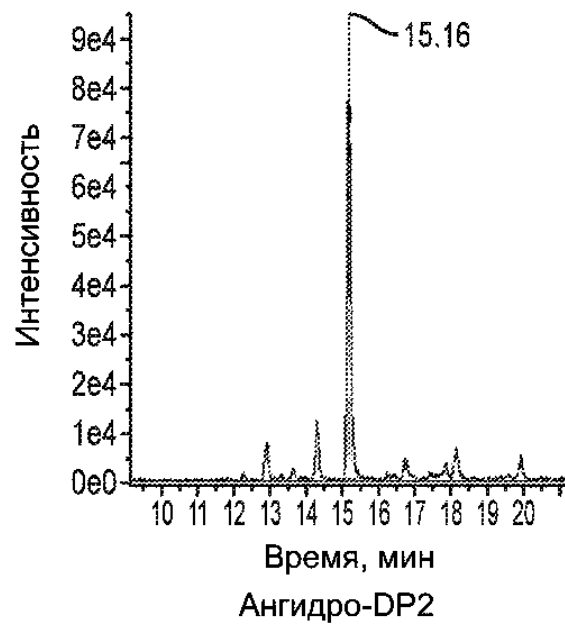
ФИГ. 13



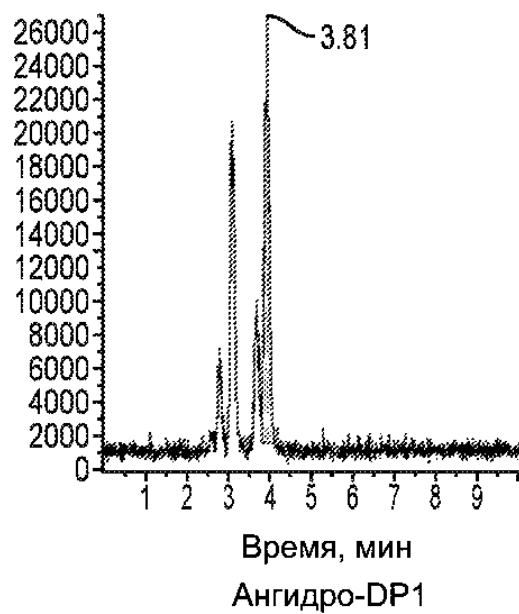
Фиг. 14А



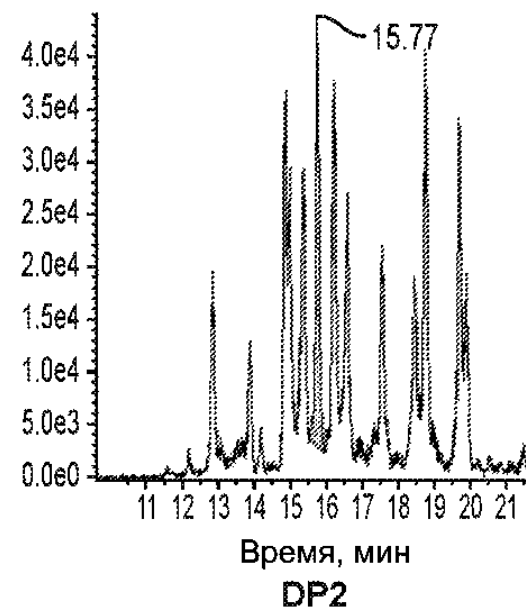
Фиг. 14В



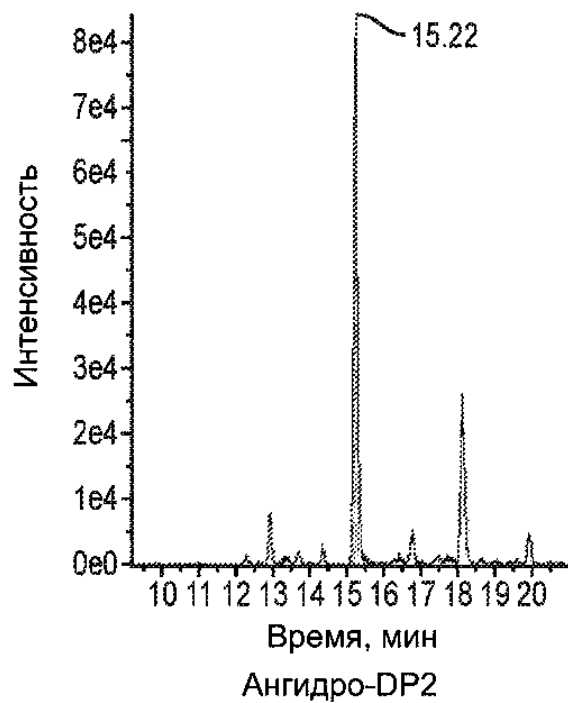
Фиг. 15А



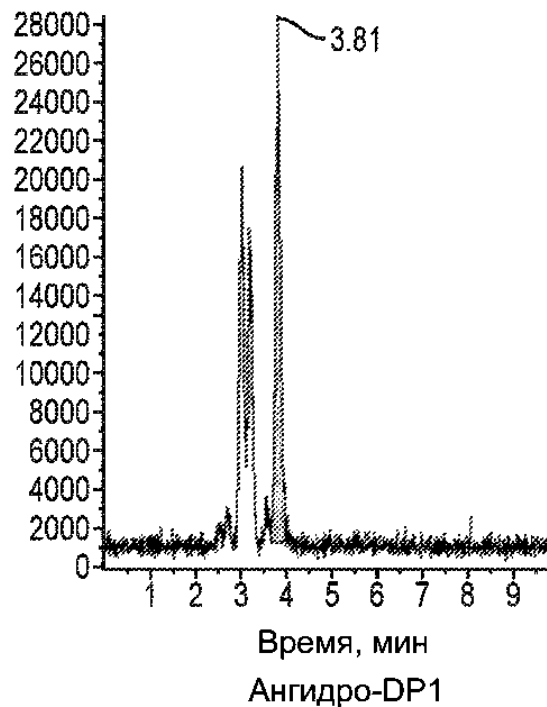
Фиг. 15В



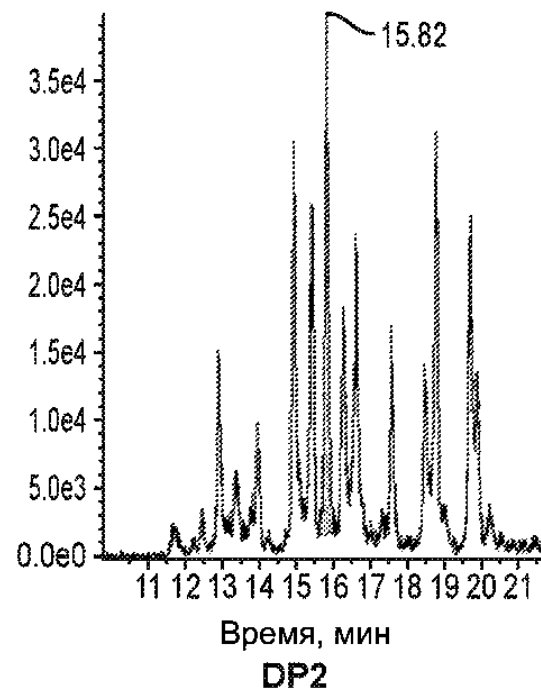
Фиг. 15С



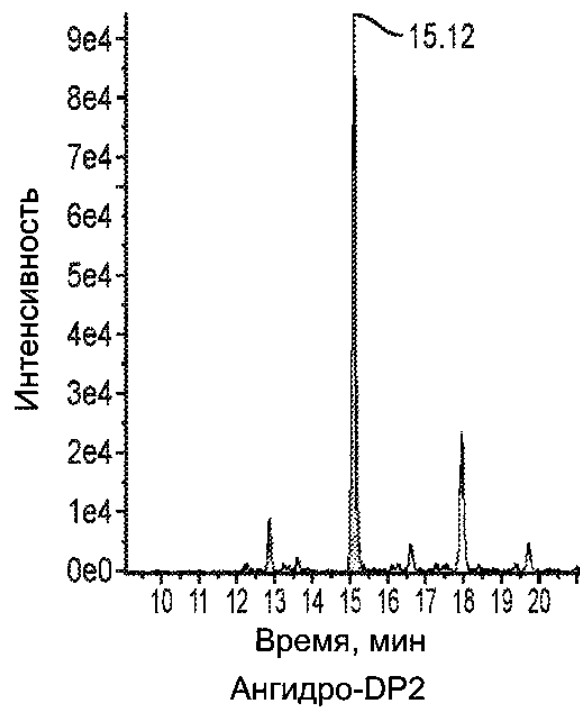
Фиг. 16А



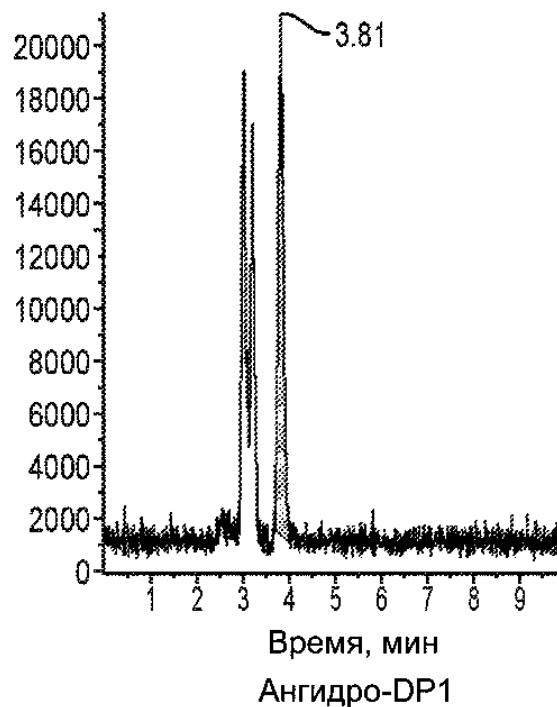
Фиг. 16В



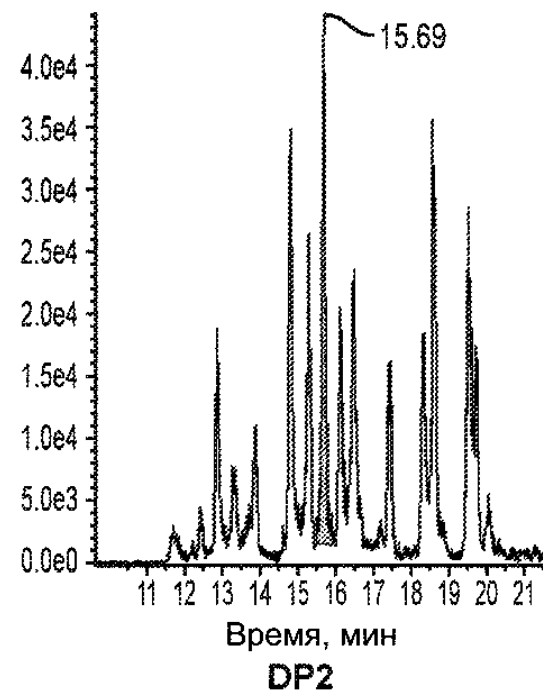
Фиг. 16С



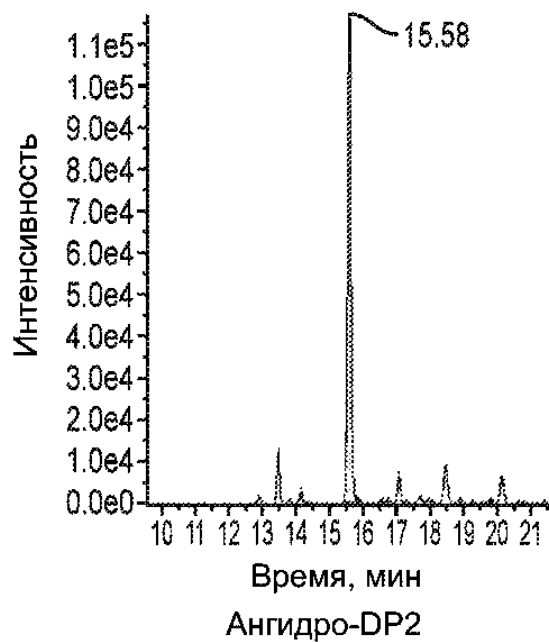
Фиг. 17А



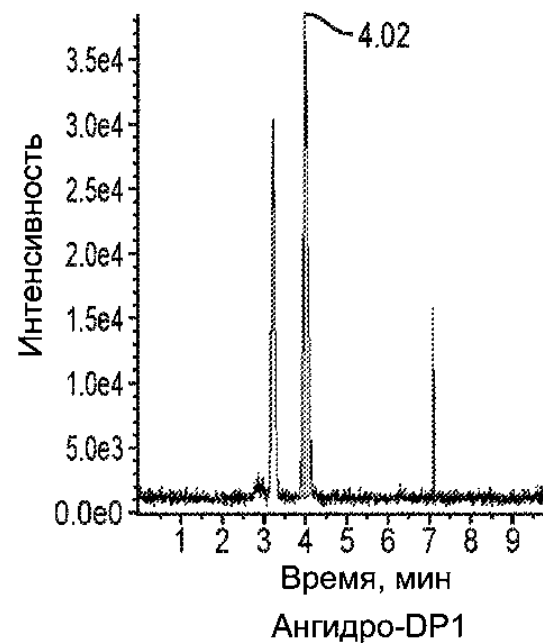
Фиг. 17В



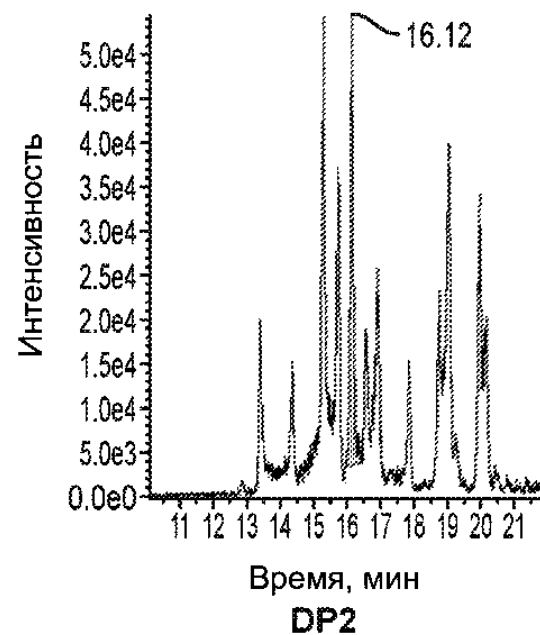
Фиг. 17С



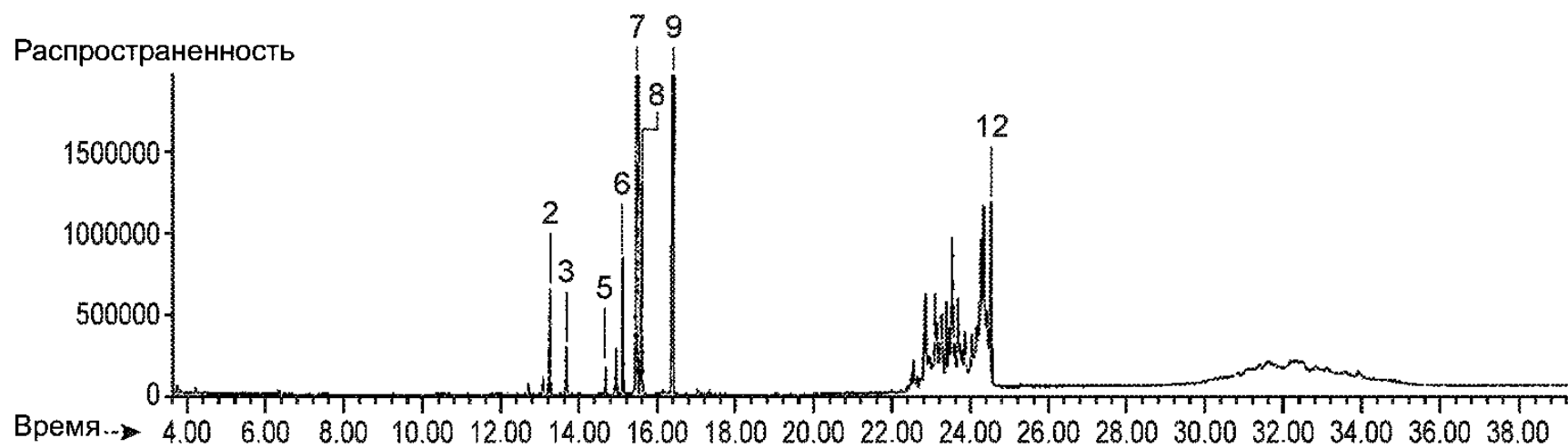
Фиг. 18А



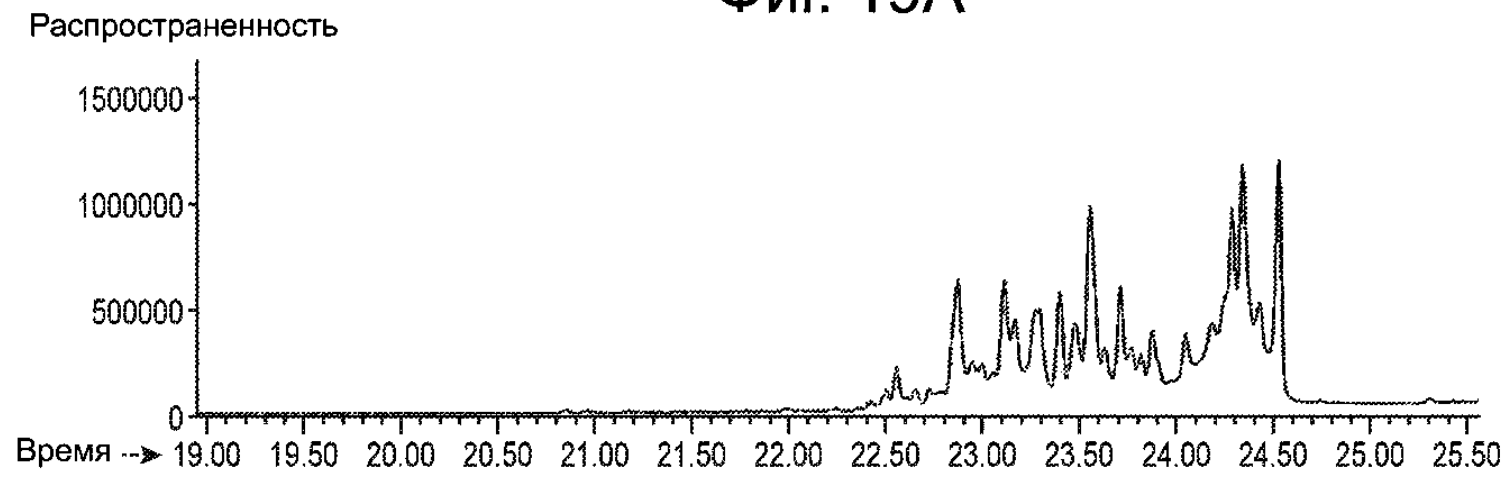
Фиг. 18В



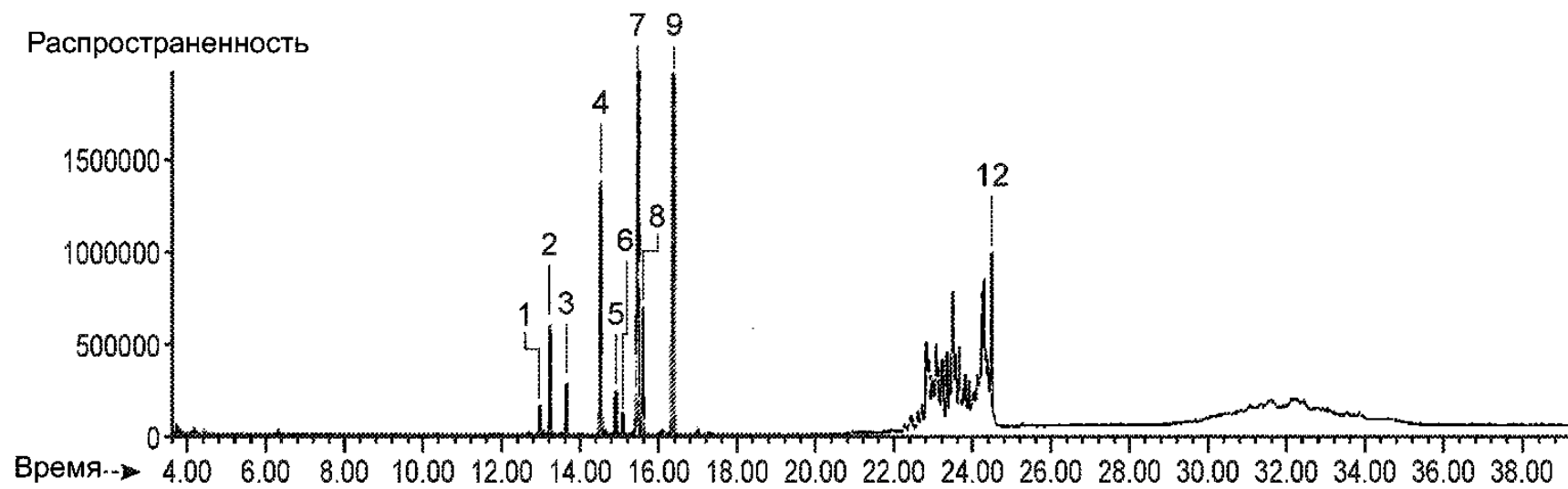
Фиг. 18С



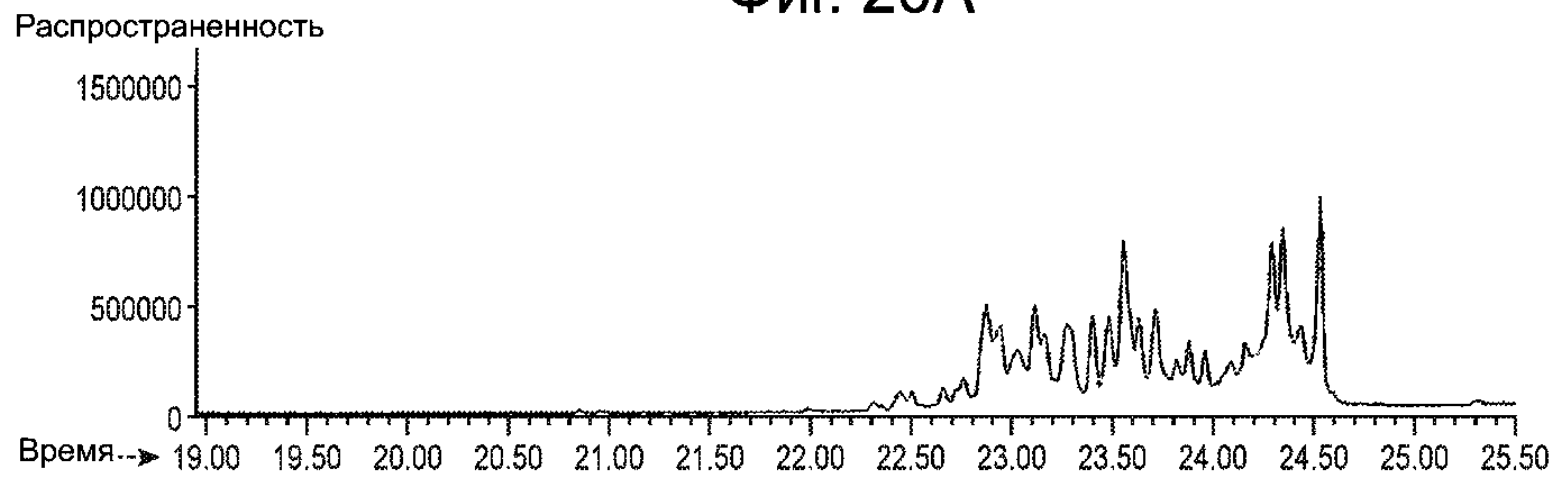
Фиг. 19А



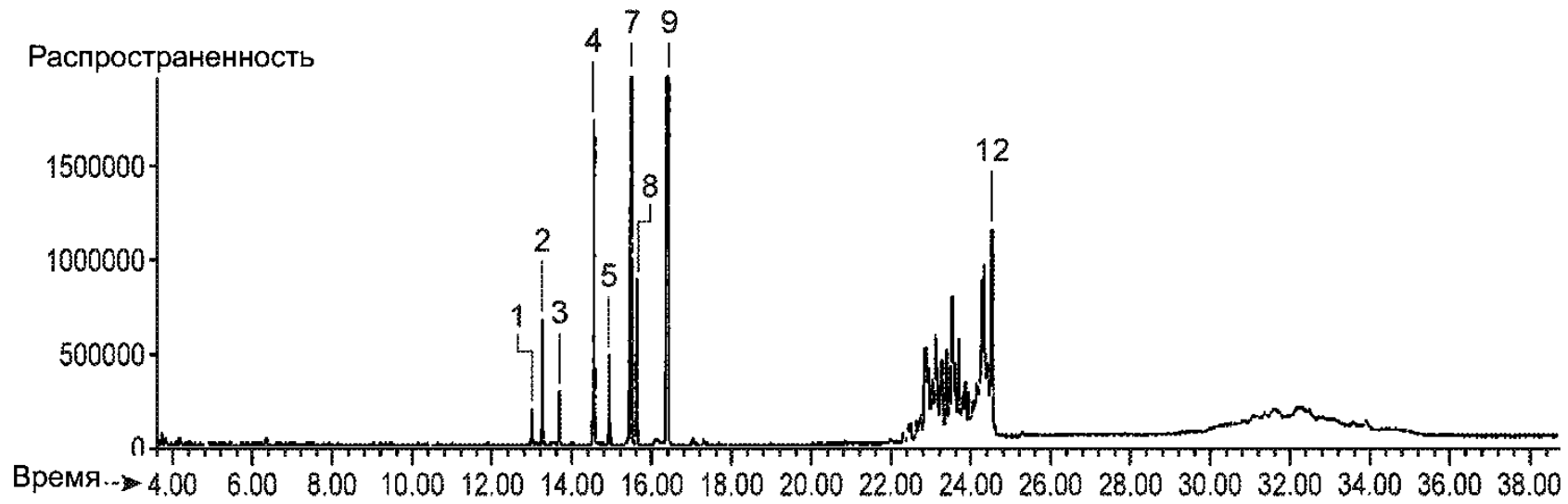
Фиг. 19В



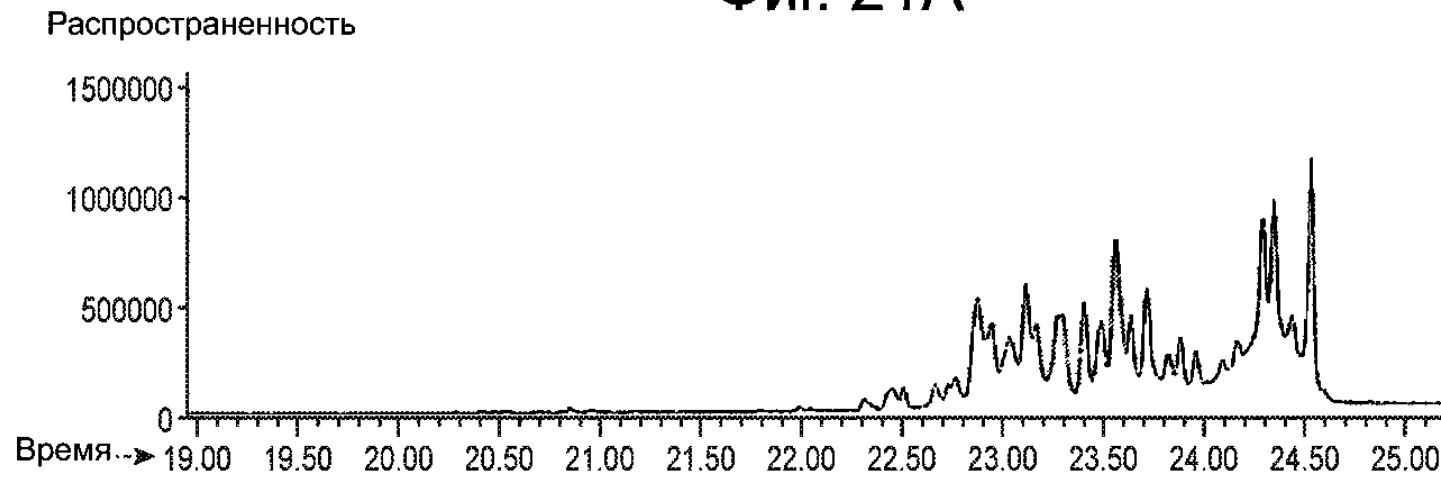
Фиг. 20А



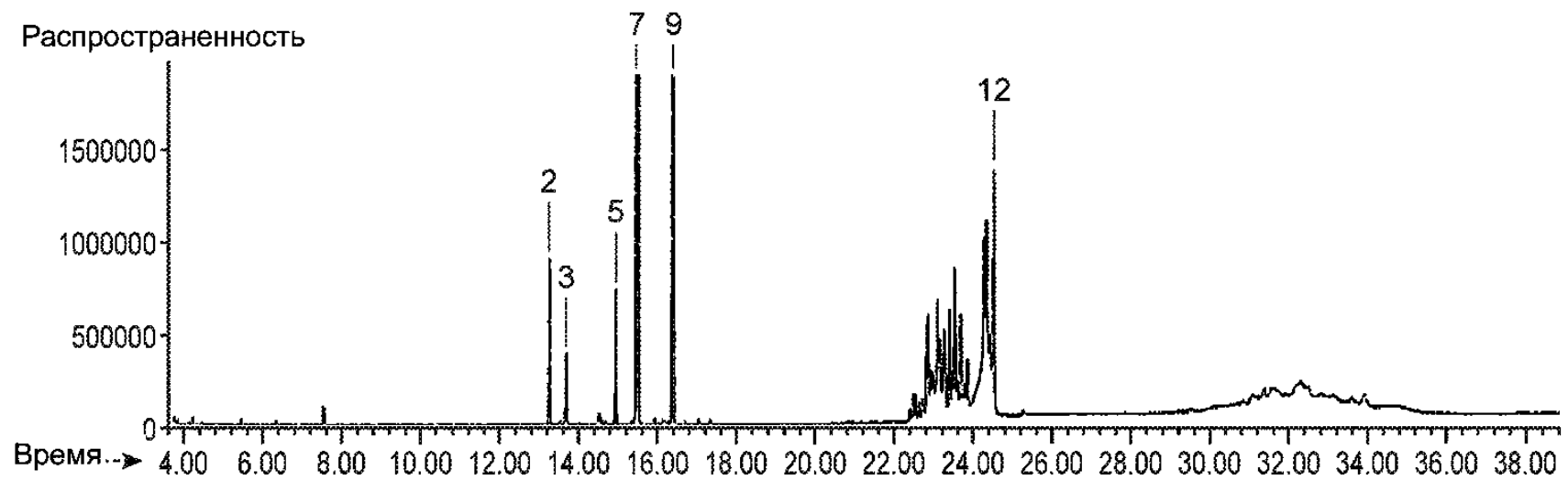
Фиг. 20В



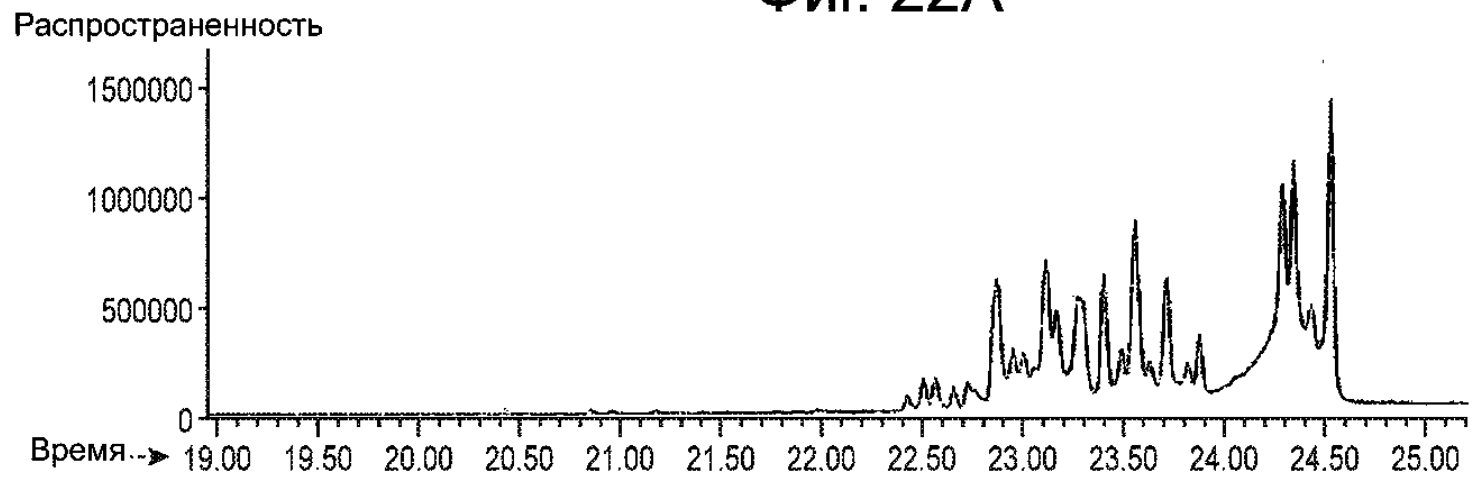
Фиг. 21А



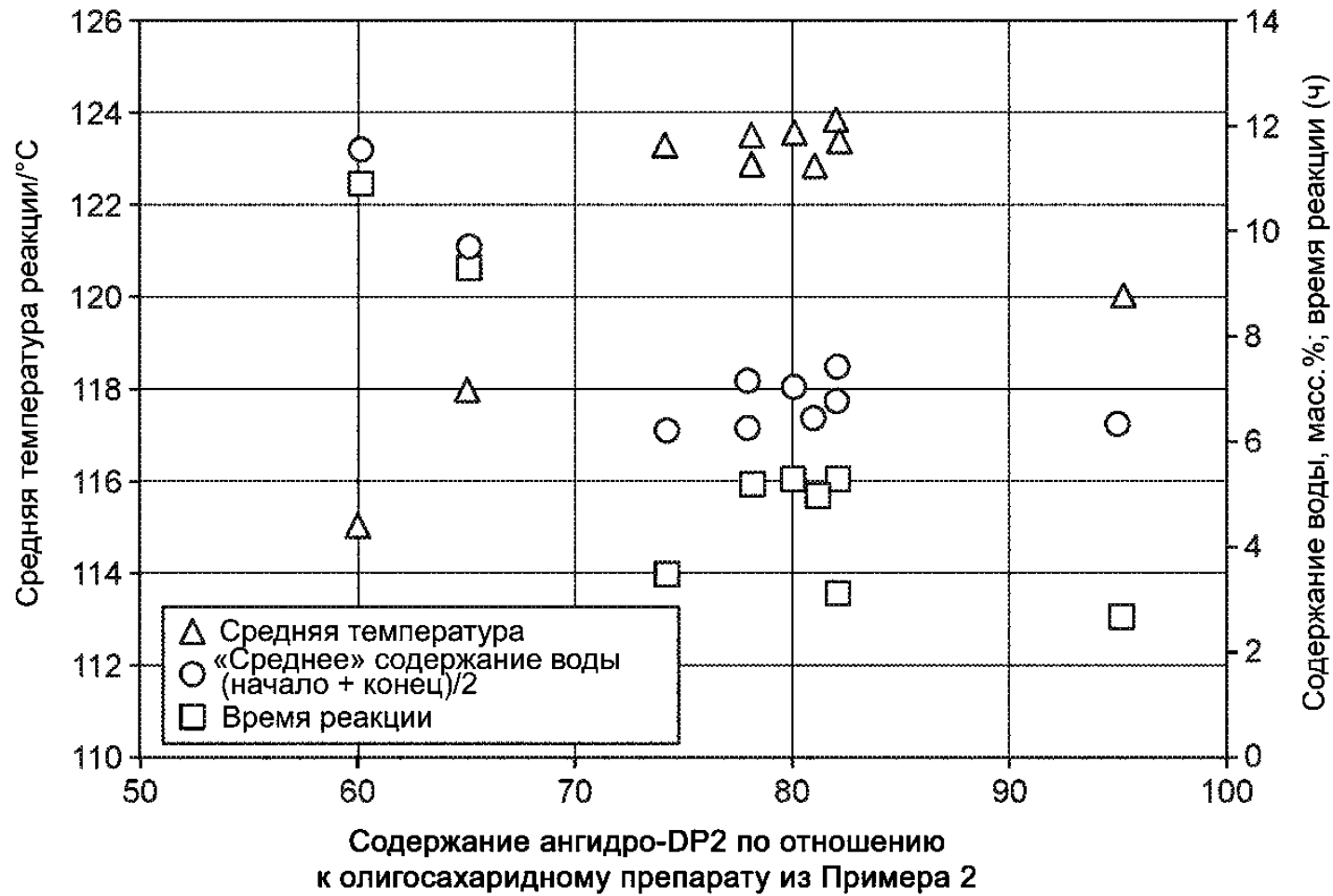
Фиг. 21В



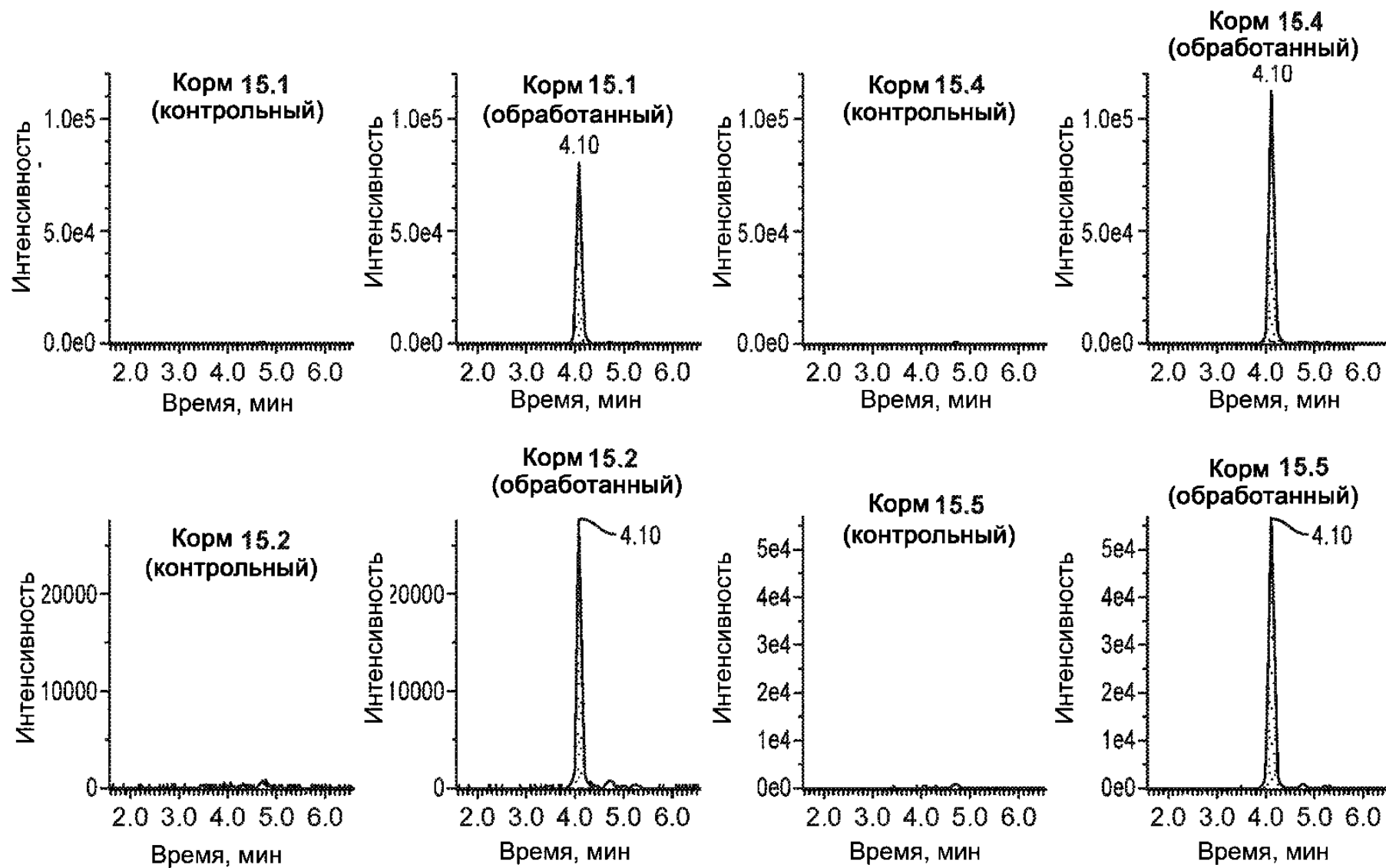
Фиг. 22А



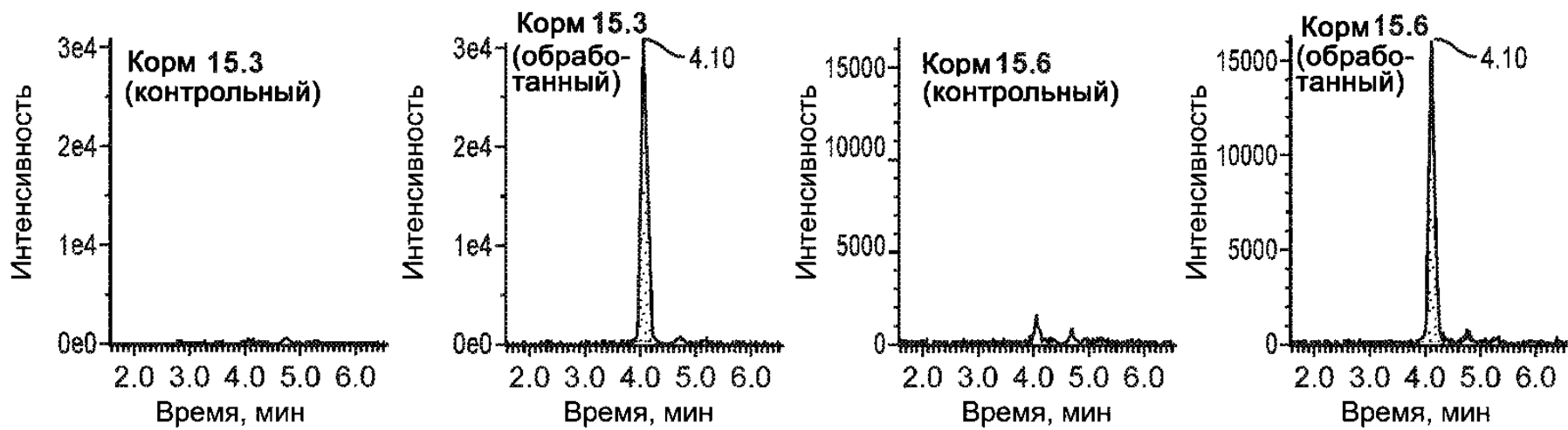
Фиг. 22В



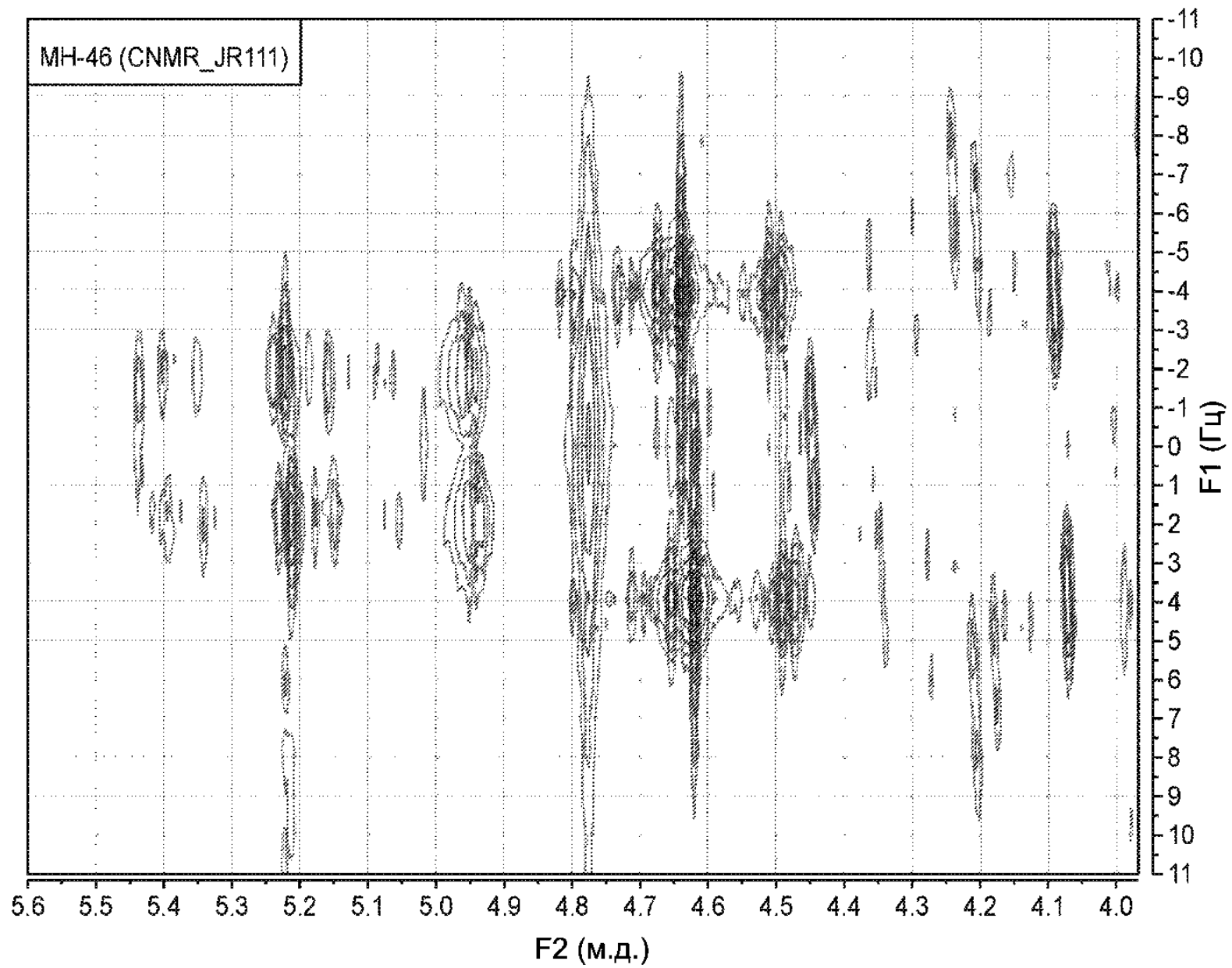
Фиг. 23



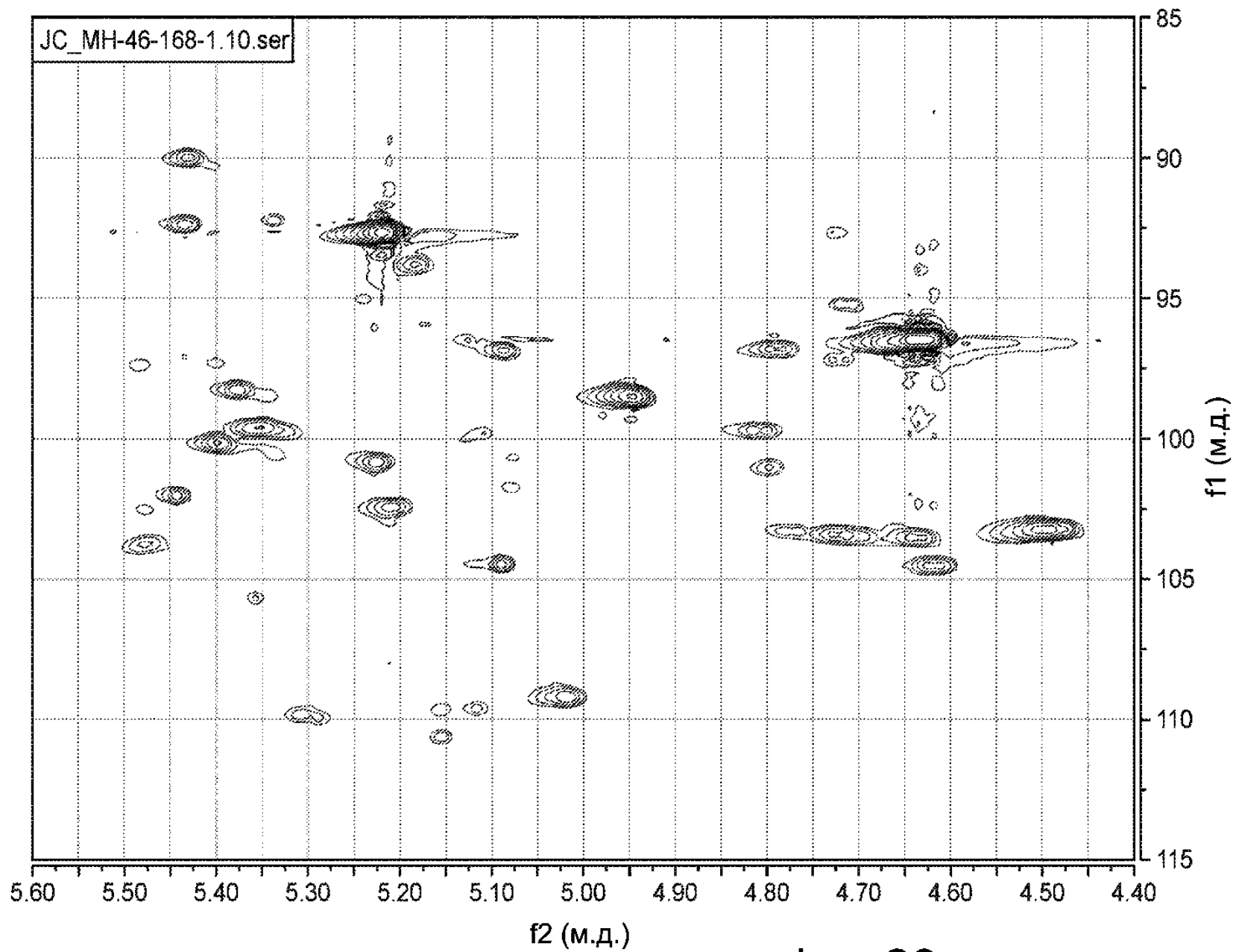
Фиг. 24



Фиг. 24 (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

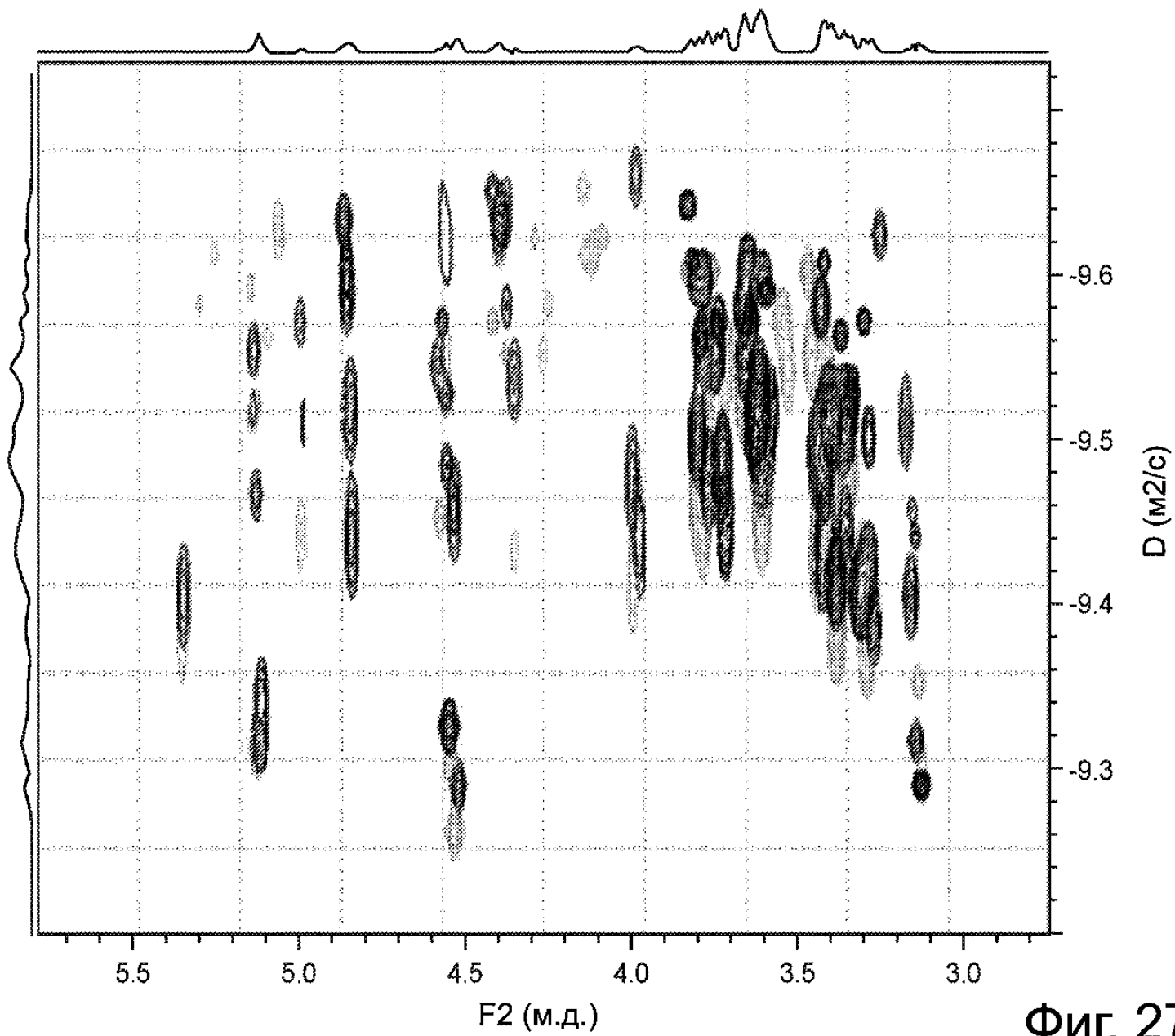


Фиг. 25



27 / 29

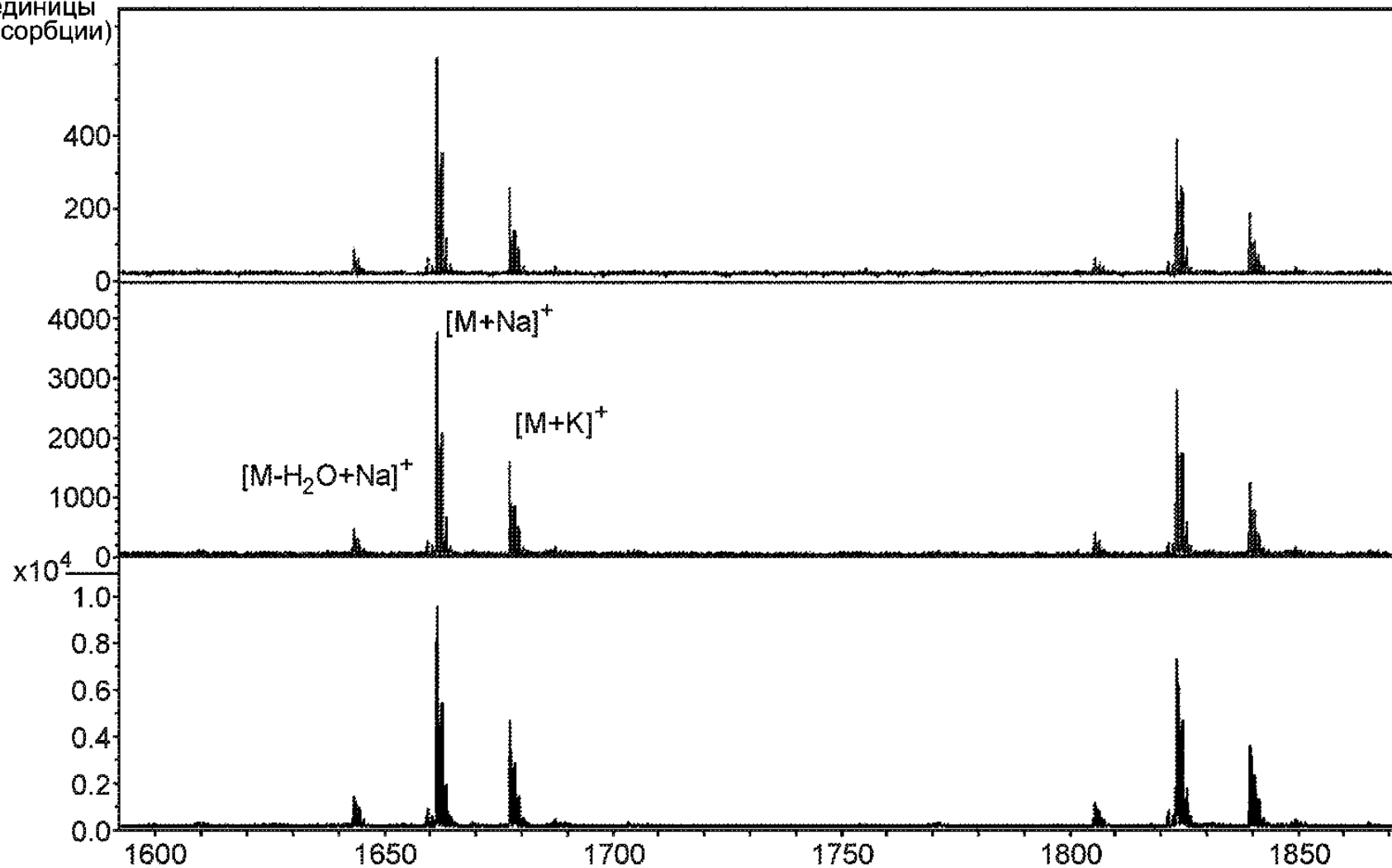
Фиг. 26



28 / 29

Фиг. 27

Интенсивность
(единицы
абсорбции)



29 / 29

Фиг. 28