

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A23F 5/02 (2006.01)

A23F 5/16 (2006.01)



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03826640.7

[45] 授权公告日 2008 年 10 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 100425149C

[22] 申请日 2003.4.16 [21] 申请号 03826640.7

[86] 国际申请 PCT/US2003/011950 2003.4.16

[87] 国际公布 WO2004/098303 英 2004.11.18

[85] 进入国家阶段日期 2005.12.16

[73] 专利权人 VDF 未来制剂公司

地址 美国伊利诺伊州

[72] 发明人 D·米尔科维克 B·迪尔

V·米尔科维克

[56] 参考文献

CN1108069A 1995.9.13

US6376001B1 2002.4.23

US5178832A 1993.1.12

审查员 邢维玲

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 刘健 段晓玲

权利要求书 2 页 说明书 13 页

[54] 发明名称

低真菌毒素的咖啡果产品

[57] 摘要

优选在半成熟状态采收咖啡果并将其快干来提供各种营养产品的基料。这样的咖啡果及其部分可以特别地由其非常低浓度的真菌毒素来表征，真菌毒素包括各种黄曲霉毒素、串珠镰孢菌毒素、赭曲毒素和/或呕吐毒素(DON, 脱氧瓜萎镰菌醇)。

1. 一种食品，其包括咖啡果的制剂，所述咖啡果被快干以使得咖啡果的真菌毒素含量为低于 20ppb 的总黄曲霉毒素，低于 10ppb 的总赭曲毒素，和低于 5ppm 的总串珠镰孢菌毒素，其中所述快干在 0-48 小时内在 100 至 180°F 的温度下进行，使得残余的水分含量不高于 20 % (wt/wt)。
2. 权利要求 1 的食品，其中咖啡果的制剂包括咖啡果的研磨碎块。
3. 权利要求 2 的食品，其中咖啡果的制剂包括咖啡果研磨碎块的提取物。
4. 权利要求 1 的食品，其中咖啡果的制剂包括咖啡果豆、咖啡果果肉、咖啡果粘液和咖啡果果壳中的至少一种。
5. 权利要求 1 的食品，其中咖啡果的制剂包括咖啡果豆、咖啡果果肉、咖啡果粘液和咖啡果果壳中至少一种的提取物。
6. 权利要求 1 的食品，其中咖啡果是半成熟咖啡果并主要为绿色，带有低于 25% 的红色。
7. 权利要求 1 的食品，其中咖啡果是半成熟咖啡果并主要为红色，带有低于 25% 的绿色。
8. 权利要求 1 的食品，其中咖啡果是半成熟咖啡果并主要为红色，带有低于 5% 的污点面积。
9. 权利要求 1 的食品，其中将咖啡果在干燥器中使用热空气来快干。
10. 权利要求 1 的食品，其中将咖啡果在干燥器中使用太阳辐射来快干。
11. 权利要求 1 的食品，其中将咖啡果暴露于大气和日光中的至少一种下来快干咖啡果。
12. 权利要求 1 的食品，其中食品是由咖啡果泡制的茶。
13. 权利要求 1 的食品，其中食品是含有咖啡果提取物的饮料。
14. 权利要求 1 的食品，其中食品是含有咖啡果提取物的液体或固体形式的营养补充剂。
15. 由粉碎的快干的咖啡果泡制的茶，其中所述快干在 0-48 小时内在 100 至 180°F 的温度下进行，使得残余的水分含量不高于 20

% (wt/wt), 以及其中咖啡果具有的真菌毒素含量为低于 20ppb 的总黄曲霉毒素, 低于 10ppb 的总赭曲毒素, 和低于 5ppm 的总串珠镰孢菌毒素。

16. 权利要求 15 的茶, 其具有至少 10mg/oz 的多酚浓度。

17. 权利要求 15 的茶, 其中咖啡果是半成熟咖啡果。

18. 快干的咖啡果, 其具有的真菌毒素含量为低于 20ppb 的总黄曲霉毒素, 低于 10ppb 的总赭曲毒素, 和低于 5ppm 的总串珠镰孢菌毒素, 其中所述快干在 0-48 小时内在 100 至 180°F 的温度下进行, 使得残余的水分含量不高于 20% (wt/wt)。

19. 权利要求 18 的快干的咖啡果, 其中咖啡果是半成熟咖啡果。

## 低真菌毒素的咖啡果产品

### 发明领域

本发明的领域是食品，尤其是由完整的快干半成熟咖啡果 (coffee cherry) 或其碎块/部分制得的食品。

### 发明背景

将咖啡树的各个部分用于营养目的已有相当长时间了（参见例如 Pendergrast, M. *Uncommon Grounds*. Basic Books: New York, 1999）。例如，将咖啡树叶和新鲜、成熟的咖啡果煮沸来制茶。其它实例中，将咖啡果的果肉发酵来生产葡萄酒，如中国专利 CN1021949 中所述的。再一公知的实例中，从咖啡果中取出咖啡树的种子（即，咖啡豆）、干燥、烘焙、研磨并用热水提取来提供许多消费者喜欢的饮料——咖啡。

令人遗憾的是，咖啡果，尤其是果肉和果壳在霉菌、真菌或其它微生物存在下易于快速腐败，因此通常几乎都含有显著含量的真菌毒素（参见例如，Pittet, A., Tornare, D., Huggett, A., Vaini, R. *Liquid Chromatographic Determination of Ochratoxin A in Pure and Adulterated Soluble Coffee Using an Immunoaffinity Column Cleanup Procedure*. *J. Agric. Food Chem.* 1996, 44, 3564-3569; 或 Bucheli, P., Kanchanomai, C., Meyer I., Pittet, A. *Development of Ochratoxin A during Robusta (Coffea canephora) Coffee Cherry Drying*. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1358-1362)。因此，从咖啡果肉、果壳、粘液和/或整个咖啡果制得的饮料通常不能获得公认为作为饮料配料（尽管一种产品做广告为“咖啡果茶” [<http://www.paradiserelocation.com/paradisetogo/foodproducts.htm>]，实际上该产品由咖啡果肉制得，且最近测出含有相当大含量的真菌毒素）。

甚至在除去果肉、粘液和果壳的情况中，真菌毒素仍然存在咖啡豆上和/或咖啡豆中。因此，尽了相当大的努力来使咖啡豆和其它食品解毒。例如，在真菌毒素已经存在的食品中，使用各种溶剂从食品中

提取选定的真菌毒素，方法描述于 Canella 等的美国专利 4,436,756 中。另一方面，各种真菌毒素可以从食品吸收到矿物质载体上，如 Alonso-Debolt 的美国专利 5,935,623 中所述的。

仍然是其它方法中，使用酶降解选定的真菌毒素，如 Duvick 等的美国专利 5,716,820 中所述的。'820 参考文献中的发明者甚至考虑可以克隆编码该酶的基因，然后来产生认为较少真菌毒素污染的转基因植物。或者，可以使用微生物来酶促破坏食品中发现的真菌毒素，如 Duvick 等的美国专利 6,025,188 中所述的。

在存在于植物或其它食品上的微生物还没有产生真菌毒素的情况下，可以使用控制微生物生长或微生物中真菌毒素产生的杀虫剂或其它组合物。例如，Emerson 等在美国专利 5,639,794 中描述了皂苷作为增效剂来控制植物和动物病原体繁殖和/或生长的用途。或者，如 Bland 的美国专利 4,199,606 中所述的，可以使用载体上的丙酸作为各种微生物的扩散性生长抑制剂。可以使用更多已知的组合物（参见例如，Subbian 的美国专利 5,698,599 或 Leary 的美国专利 3,798,323）来抑制或至少减少微生物中真菌毒素的合成。

或者，可以将含有真菌毒素的食品和未污染的食品混合来达到可接受的浓度和/或低于食品中真菌毒素的最大允许量（参见例如 Herrman, T. 和 Trigo-Stockli, D.; *Mycotoxins in Feed Grains and Ingredients*; Kansas State University, 2002 年 5 月），或（至少可能地）在非食品产品中使用含有真菌毒素的咖啡果产品。仍然是其它用途中，将没有考虑相关真菌毒素含量的咖啡果产品焚烧，因此至少部分破坏了真菌毒素，如美国专利 4,165,752、GB2026839 或 CA1104410 中所述的。在此，发明者教导了将咖啡果压缩、脱水、研磨并烘焙来产生可以点燃抽吸的产品。

然而，虽然大多数已知方法将真菌毒素浓度至少降低至一定程度，但是各种缺陷仍然存在。其中，另外的处理步骤需要专用设备，因此增加了加工时间和成本。此外，尤其在使用杀虫剂和/或杀菌剂的情况下，出现了残留毒性化合物的新问题。

因此，尽管咖啡果及其组分具有多种有益特征，但是完整的咖啡果通常不用作食品，因为通常成熟和过熟的果实中存在相当大量的真菌毒素。因此，仍然需要来提供用于咖啡果的改良方法和组合物，尤

其是用于人和动物食用的含有低或无真菌毒素含量咖啡果的产品。

### 发明概述

本发明涉及包括快干(优选半成熟(Sub-ripe))咖啡果或其部分的组合物和方法,其中咖啡果是基本上没有,或含有非常低含量的真菌毒素。

本发明主题的一方面中,食品含有咖啡果的制剂,所述咖啡果被快干以使得咖啡果的真菌毒素含量为低于20ppb的总黄曲霉毒素,低于10ppb的总赭曲毒素,和低于5ppm的总串珠镰孢菌毒素。该食品中优选的制剂包括快干的咖啡果的豆、果肉、粘液和/或果壳,或咖啡果的研磨碎块,或其提取物。进一步优选咖啡果是半成熟咖啡果。优选的食品包括由快干(优选半成熟)的咖啡果泡制的茶,或含有咖啡果提取物的饮料。或者,合适的食品还包括含有咖啡果提取物的液体或固体形式的营养补充剂。

所考虑的半成熟咖啡果主要为绿色,带有低于25%的红色,更优选主要为红色,带有低于25%的绿色,更优选主要为红色,带有低于5%的污点面积。可以使用各种方法将(半成熟)咖啡果快干。然而,通常优选使用热风或暴露于日光和/或大气下使咖啡果快干。

本发明主题的另一方面中,从捣碎的或研磨的快干(优选半成熟)的咖啡果或其部分泡制茶,其中咖啡果含有的真菌毒素含量为低于20ppb的总黄曲霉毒素,低于10ppb的总赭曲毒素,和低于5ppm的总串珠镰孢菌毒素,且优选具有至少10mg/oz的多酚浓度(最优选绿原酸对咖啡因的比例至少为2.7)。

因此,从另一观点看,考虑的是快干的咖啡果或其部分含有的真菌毒素含量为低于20ppb的总黄曲霉毒素,低于10ppb的总赭曲毒素,和低于5ppm的总串珠镰孢菌毒素,优选具有至少2%的(wt/wt)绿原酸含量和至少3.2%(wt/wt)的多酚含量。

从以下本发明优选实施方案的详细描述,本发明的各种目的、特征、方面和优势将变得更清楚。

### 发明详述

本发明者已经发现了可以从完整的、基本上没有损坏的咖啡果制

得低真菌毒素或甚至无真菌毒素的茶和其它食品，该咖啡果优选是在半成熟期采收的，且其中在采收后将咖啡果快干。在其它优点当中，本发明者发现这样的咖啡果显著降低了已知产生真菌毒素的霉菌和真菌感染咖啡果的可能性。更进一步，本发明者发现半成熟的咖啡果（与完全未成熟的咖啡果相反）提供了咖啡果产品（如咖啡果茶）中理想水平的风味和香味特征，以及相对高含量的多酚、多糖和其它营养物。

如在此所用的术语“食品”指的是人和/或动物为了营养、维持健康、改善健康和/或休养目的而摄取的任何产品。特别优选的食品包括人食用的那些，其中这样的食品可以是固体食品（例如膳食补充剂、点心棒、袋泡茶等）或液体产品（例如，茶或其它饮料、糖浆或酏剂等）。

如在此所用的，术语“咖啡果”指的是咖啡树（*Cofffea spec.*, Family Rubiaceae）的果实，其中外果皮和外中果皮（即，果肉）围绕内中果皮（即，粘液）和内果皮（即，果壳），其依次围绕种子（即，豆）。因此，术语咖啡果特指整个咖啡果，其可以包括或不包括果的茎杆。

术语“半成熟咖啡果”指的是还没有达到成熟期的咖啡果，其通常由对真菌感染存在和/或真菌毒素存在的易感度来表征的。因此，半成熟咖啡果是处于成熟期的，其中咖啡果-当快干时-将呈现真菌毒素含量为低于 20ppb 的总黄曲霉毒素，低于 5ppb 的总串珠镰孢菌毒素，低于 5ppm 的总呕吐毒素，和低于 5ppb 的赭曲毒素。因此，优选在采收的 0-48 小时内（更优选 6-24 小时）将快干的咖啡果干燥，使得残余的水分含量不高于 20% (wt/wt)，且更通常不高于 6-12% (wt/wt)。

从另一观点看，半成熟咖啡果通常完全或几乎完全（至少咖啡果的 95%）是红色的（或一些情况下是黄色的），且通常包括各种表面损伤（例如，斑痕、切口和/或孔，覆盖咖啡果多于 5% 的面积）。因此，半成熟咖啡果通常呈现至少一些绿色（至少 5%，更优选至少 10%）且通常没有任何表面损伤（例如，斑痕、切口和/或孔，覆盖咖啡果低于 5% 的面积）。半成熟咖啡果的特征还在于它们将保留在咖啡树上用于随后一轮的采收，其中咖啡果是手采收的并用于生产咖啡豆。或者，可以使用带有 CCD 设备的颜色分选仪器在定量颜色基础上来鉴定并选择半成熟咖啡果，其中咖啡果是大量采收的和自动分选的。

应当进一步认识到虽然以下方面和实施例中大多使用半成熟状态的咖啡果，在此认为完全成熟的咖啡果也是合适的，尤其是其中这样的成熟咖啡果是基本上没有表面损伤（即，不高于5%的面积）或微生物感染的（即，侵染使得真菌毒素含量为低于20ppb总黄曲霉毒素，低于5ppb的总串珠镰孢菌毒素，低于5ppm的总呕吐毒素，和低于5ppb的赭曲毒素，基于干重）。因此，所有考虑的食品和/或咖啡果可以包括各种比例的完全成熟的和半成熟的咖啡果。例如，合适的比例包括100%成熟:0%半成熟，优选90%成熟:10%半成熟，更优选75%成熟:25%半成熟，再更优选50%成熟:50%半成熟，最优选低于25%成熟:高于75%半成熟。

如在此进一步所用的，术语“快干”咖啡果意思是在限制霉菌、真菌和/或酵母生长至一定程度的条件下干燥整个咖啡果，使得干燥的咖啡果呈现的真菌毒素含量为低于20ppb总黄曲霉毒素，低于5ppb的总串珠镰孢菌毒素，低于5ppm的总呕吐毒素，和低于5ppb的赭曲毒素。因此，通常在采收的0-48小时内（更优选在6-24小时）干燥快干的咖啡果，使得残余的水分含量不高于20%（wt/wt），更优选不高于6-12%（wt/wt）。

如在此进一步所用的术语“真菌毒素”指的是在霉菌、真菌和/或酵母中形成的任何毒性产物，当摄取时该毒性产物对人或动物呈现显著的毒性。因此，特别考虑的真菌毒素包括黄曲霉毒素（尤其是B1、B2、G1和G2）、串珠镰孢菌毒素（尤其是B1、B2和B3）、赭曲毒素、脱氧瓜萎镰菌醇（DON、呕吐毒素）、T-2毒素和玉米赤霉烯酮。因此术语“总黄曲霉毒素”指的是所有黄曲霉毒素变种的总和，术语“总串珠镰孢菌毒素”指的是所有串珠镰孢菌毒素变种的总和，术语“总赭曲毒素”指的是所有赭曲毒素变种的总和。

本发明主题的一实例方面中，完整的未损伤半成熟（例如半成熟或几乎成熟）的咖啡果是手采收的，且在约一小时内使用干空气干燥机在约140°F下干燥直至获得恒重。所获得的咖啡果通常具有显著的保存稳定性，对真菌感染的高抗性以及比湿咖啡果低的运输重量。

通常考虑半成熟咖啡果可以来自各种来源，且半成熟咖啡果的特定用途至少部分决定了特定来源。然而，优选半成熟咖啡果源自单个咖啡品种（例如，阿拉伯咖啡（*coffea arabica*）），其在相似生长

条件下（例如，遮荫生长）下栽培。在其它优点当中，考虑咖啡果的单一来源将有助于半成熟咖啡果的快干。然而，应当认识到，一旦半成熟咖啡果得到了快干，可以将各种咖啡品种和/或各种生长条件的咖啡果混合来获得具有特别优选特征的混合物。

此外，应当认识到根据咖啡果的特定产品或用途，可以适当改变咖啡果的成熟度。例如，当希望从整个咖啡果中提取多酚和/或绿原酸时，可以使用半成熟（阶段1和阶段2）的咖啡果。另一方面，当咖啡果用于生产咖啡茶且风味和香气是首要的时候，可以挑选几乎成熟的咖啡果。仍然是进一步考虑的方面中，可以使用未成熟的咖啡果，或各种成熟度的任何合适混合物。尤其当咖啡果是成熟的咖啡果时，考虑整个咖啡果是无表面损伤的，包括裂缝、裂痕、孔或其它开口。然而，虽然不是优选的，也可以使用带有表面损伤的咖啡果。虽然不限本发明的主题，通常优选在干燥前用水或其它水溶液（例如，稀的次氯酸盐溶液）洗涤半成熟咖啡果（或咖啡果混合物）来除去土壤颗粒和其它碎屑。

优选在采收后立即至采收后约两天进行快干直至获得恒重（或直至咖啡果的外果肉已经干燥）。因此，根据可获得的特定热源，通常优选在约100至180°F的温度下将快干进行约6-48小时。例如，当电（或其它）能容易获得时，可以将半成熟咖啡果在温热空气干燥机中的固定或旋转鼓中干燥，或在折射窗干燥处理中干燥。或者，还可以将半成熟咖啡果冻干。另一方面，尤其当能源不容易获得的时候，可以将半成熟咖啡果晒干。然而，与特定的干燥方法无关，应当认识到将半成熟咖啡果快干来防止已经存在和/或侵染咖啡果（例如，通过感染或孢子形成）的真菌、霉菌和/或酵母产生真菌毒素。因此，在干净的和无真菌毒素污染源的表面上干燥半成熟咖啡果是有利的。本发明主题的再一可替换方面中，还可以将半成熟咖啡果冰冻和存储/运输直至进行快干。

然后所获得的快干半成熟咖啡果无需进一步真菌毒素的脱毒而用于多种食品中。例如，当整个快干半成熟咖啡果用于食品中时，可以将咖啡果和另一可食用的物质混合（例如，和谷物混合用于动物饲料，或用巧克力涂覆用于人食用）。另一特别优选的实施例中，将快干半成熟咖啡果磨碎并用作食品添加剂或作为泡制咖啡果茶的基料（例

如，用作散装茶，优选研磨至 500-3000 $\mu\text{m}$  的大小，或用作袋泡茶，优选研磨至 200-1000 $\mu\text{m}$  的大小）。

或者，可以认识到只有一部分快干咖啡果可以用于食品中。例如，当咖啡果是几乎成熟状态时，可以考虑从种子分离果肉、粘液和/或壳，然后将种子（任选地和其它种子混合）烘焙成商品级咖啡豆。然后将快干半成熟咖啡果残留的果肉、粘液和/或壳用作食品添加剂或提取一种或多种所需成分（例如，多酚）的基料。

仍然是所获得的快干半成熟咖啡果更多考虑的用途，考虑咖啡果（或其部分）可以用作提取多种有益成分的原料。例如，可以用水溶剂（例如，水、水-醇混合物）或非水溶剂（例如，临界点  $\text{CO}_2$ ，二甲基甲酰胺）来提取快干半成熟咖啡果来分离一种或多种可以用于食品中的成分。例如，快干半成熟咖啡果可以提供多酚、绿原酸和/或咖啡因的极好来源。

如在此所用的术语“多酚”指的是植物产生的各种组的化合物，其中化合物包括共价连接有至少一个 OH 基的酚环，更优选共价连接有至少两个 OH 基的酚环。例如，代表性的多酚包括鞣花酸、鞣酸、香草醛、咖啡酸、绿原酸、阿魏酸、儿茶素类（例如，表儿茶素没食子酸酯、表培儿茶素）、黄酮醇（例如，花青素、槲皮酮、山奈酚）和各种其它类黄酮及其甙和缩酚酸。此外，考虑的多酚还可以是寡聚或聚合形式（例如，寡聚原花色素或稠合的鞣酸）。

本发明主题的另一优选方面中，本发明者考虑完整快干半成熟咖啡果在生产各种饮料中的用途。例如，观察到由未成熟（绿色）和半成熟阶段 1 完整快干咖啡果制得的茶具有相对低的香气和风味特征。因此，未成熟（绿色）和半成熟阶段 1 完整快干咖啡果的提取物或至少部分浓缩的茶可以作为低风味的添加剂加入可购得的饮料中来提高营养特性。

随着成熟度提高，快干半成熟咖啡果中明显具有更多的香气和风味。因此，半成熟阶段 2 和几乎成熟的完整咖啡果制得的茶具有高的香气和水果风味，且本发明者考虑半成熟和几乎成熟的咖啡果在快干后可以直接使用并研磨，通过其自身或放入茶包后成为“完整咖啡果茶”。如以下所说明的，这样的茶将提供高含量的多酚，通常每 6oz. 杯 60-70mg。此外，和由烘焙咖啡制得的饮料相比较（通常约 0.4），

从完整快干半成熟咖啡果制得的茶通常具有相对高的绿原酸对咖啡因比例（通常约 2-4.5）。因此，应当认识到从快干半成熟咖啡果制得的茶比焙烤的咖啡具有更多的营养（基于多酚和绿原酸）。

因此，本发明者考虑包括快干咖啡果（优选半成熟）制剂的食品，使得咖啡果的真菌毒素含量为低于 20ppb 的总黄曲霉毒素，低于 10ppb 的总赭曲毒素，和低于 5ppm 的总串珠镰孢菌毒素。或者，考虑的真菌毒素含量还可以为总黄曲霉毒素为 20-50ppb，但是更优选低于 15ppb，再更优选低于 10ppb，最优选低于 5ppb。相似考虑的真菌毒素含量还包括 10-30ppb，但是更优选低于 5ppb，再更优选低于 3ppb，最优选低于 2ppb 的总赭曲毒素。同样，考虑的真菌毒素含量还包括 5-20ppm，但是更优选低于 15ppm，再更优选低于 10ppm，且最优选低于 5ppm 的总串珠镰孢菌毒素和/或呕吐毒素。

如以上已经讨论的，半成熟咖啡果的制剂可以包括完整咖啡果，包括完整咖啡果的研磨碎块，或包括快干半成熟咖啡果的豆、果肉、粘液和/或果壳。或者，应当认识到制剂还可以包括完整快干半成熟咖啡果（或其碎块或部分）的提取物。

考虑的食品尤其包括由所述快干半成熟咖啡果（或其碎块或部分）制得的饮料，或已经加入了所述快干半成熟咖啡果（或其碎块或部分）的提取物的饮料。相似地，进一步考虑的食品包括已经加入了所述快干半成熟咖啡果（或其碎块或部分）的提取物或碎片的焙烤商品（例如，面包、饼干等）、点心（例如，糖果或能量棒）、谷类食品和其它固体营养物。或者，考虑的食品还包括含有快干半成熟咖啡果提取物的液体或固体形式的营养补充剂。

根据特定目的，应当认识到这样的食品可以由快干半成熟咖啡果制得，咖啡果主要为绿色，带有低于 25% 的红色，更优选低于 25% 的绿色，最优选快干半成熟咖啡果主要为红色（不低于 90%，最优选不低于 95%），带有低于 5% 的污点面积。仍然进一步考虑的组合物和方法描述于我们在或约 2003 年 4 月 16 日申请的共同未决的美国专利申请中，发明名称为“用于咖啡果产品的方法”，其在此引入作为参考。

## 实施例

提供以下的实施例使本领域普通技术人员来制造和使用根据本发

明主题的组合物，且用来说明在此概述的实例组合物和方法。

### 完整咖啡果的采收

通过视觉估计整个咖啡果的绿色和红色（或黄色，其中适用的）量来决定咖啡果的成熟度。随着咖啡果成熟，绿色的咖啡果通常大小将变大，并随后产生增加量的红色。为了本发明的实施例，在四个成熟度阶段采收咖啡果：完全或几乎完全绿色（未成熟；通常咖啡果低于5%是红色或黄色的），主要是绿色的，带有一些红色（半成熟，阶段1；通常咖啡果低于25%是红色或黄色的），主要是红色的，带有一些绿色（半成熟，阶段2；通常咖啡果低于25%是绿色的），和未破碎、无污点的红色（几乎成熟；通常咖啡果低于10%是绿色的；污点、切割或其它破损表面积的面积低于5%）。尽可能多地采收完整的、未破碎的和未切割的咖啡果。

### 完整咖啡果的快干

按照以下方法在采收后1-12小时内空气干燥机的分离轨道上干燥咖啡果来制备用于样品提取的完整咖啡果。将称重的（400-600g）咖啡果放入烧杯中并用自来水洗涤两次，接着用蒸馏水洗涤一次。将所洗涤的咖啡果放在空气干燥机的轨道上来排水，然后在150-160°F干燥16-18小时至恒重。当以一小时间隔的两次连续称重差异低于1g时停止干燥。通常干完整咖啡果的产量为160-220g。进一步的分析显示干咖啡果中残留的水分含量为6-12%。

### 真菌毒素分析

为了测定完整咖啡果在未成熟、半成熟和几乎成熟阶段（参见以上）用于营养产品（尤其是用于茶中）中的能力，测量选定的真菌毒素的含量并与比较产品以及咖啡制造中的红色、成熟咖啡果副产品相比较。在以下表1中可以清楚地看到，所有半成熟采收阶段的快干咖啡果具有低于1ppb检测极限的真菌毒素含量（如测量的黄曲霉毒素和赭曲毒素）。

在独立实验室中通过ELISA和HPLC两者的分析来测定真菌毒素浓度。基于以下的结果，本发明者推断不同半成熟采收阶段的所有样品

适于直接用于人和动物食用的营养产品中。相反，从带有污点的（通常高于 20% 的咖啡果表面）红色成熟咖啡果生产咖啡中的副产品（主要由咖啡果的果肉、粘液和果壳组成）具有相当大含量的黄曲霉毒素和赭曲毒素。相似地，比较产品“Paradise to Go Tea”（由咖啡果果肉制得）呈现了两位数浓度的真菌毒素。

成熟度	颜色	黄曲霉毒素	赭曲毒素
未成熟，快干	绿色	<1ppb	<1ppb
半成熟阶段 1，快干	主要绿色，带有一些红色	<1ppb	<1ppb
半成熟阶段 2，快干	主要红色，带有一些绿色	<1ppb	<1ppb
几乎成熟，快干	红色，污点面积 <5%	<1ppb	<1ppb
成熟（咖啡生产中的副产品）	红色，污点面积 >20%	>200ppb	>500ppb
Paradise to Go Tea（干物质）	N/A	>25ppb	>40ppb

表 1

快干半成熟完整咖啡果的多酚（PP）、绿原酸（CG）和咖啡因（CF）分析

进一步的系列实验中，测量了不同成熟阶段的快干完整咖啡果的总多酚、绿原酸和咖啡因的含量，并与绿色以及烘焙咖啡豆进行了比较。表 2 总结了该分析的结果。

有趣地，虽然所有半成熟采收阶段的快干咖啡果的多酚（PP）含量比绿色或烘焙咖啡豆的低一些，快干半成熟咖啡果仍然保留了显著量的多酚。相似地，与烘焙咖啡相比较，不同半成熟阶段的快干完整咖啡果的绿原酸（CG）含量保留在相当高的水平，但是和绿色豆相比较要低一些。所有半成熟采收阶段的快干咖啡果的咖啡因（CF）含量基本上在绿色和烘焙咖啡豆的咖啡因含量之间（应当指出所给的所有数据是以干物质为基础的并没有标准化成豆的干重）。

**多酚分析:** 将干的完整咖啡果 (或绿色豆或烘焙豆) (1.00g) 在旋转钢刀咖啡研磨机中研磨 30 秒钟来产生磨碎的样品。将磨碎的样品加入 100mL 蒸馏水中, 并将所得到的混合物在锥形烧瓶中加热至沸腾 30 分钟。除去加热器并使混合物冷却至室温。将所得到的悬浮液转移至 100mL 量筒中并加入水使体积为 100mL。然后将混合物转移回锥形烧瓶中, 简短搅拌, 并使固体沉淀。将上清液液的等份试样 (~ 3mL) 通过 0.45 $\mu$ m 的 Acrodisc 过滤器来过滤, 用蒸馏水使用容量瓶将所得到的澄清溶液进行 1:10 稀释 (9.00mL 蒸馏水稀释 1.00mL)。

如下使用 Folin-Ciocalteu 方法来测量稀释溶液的多酚含量。将 1mL 稀释的溶液加入试管中, 和 1mL 0.2N Folin-Ciocalteu's 试剂 (Sigma 溶液, 2N, 用水 1:10 稀释) 混合, 并在室温下静置 5 分钟。加入 1mL 1N 的 NaHCO<sub>3</sub> 并将反应混合物在室温下放置 2 小时。使用 UV-可见分光光度计测定多酚含量, 儿茶酸为标准,  $\lambda_{\max} = 750\text{nm}$ , 蒸馏水作为空白。

**绿原酸:** 使用以上制得的过滤澄清溶液的 HPLC 分离使用本领域公知的标准分析和分离实验方案进行绿原酸的测定。相似地, 使用上述制得的过滤澄清溶液的 HPLC 分离使用本领域公知的标准分析和分离实验方案进行咖啡因测定 (实例实验方案参见例如 Bispo M. S. 等, J. Chromatogr. Sci.; 2002 年 1 月; 40(1): 45-8, 或 Nakakuki, H. 等, J. Chromatogr. A.; 1999 年 7 月 2 日; 848(1-2): 523-7)。

成熟度	颜色	%PP	%CG	%CF	CG/CF
未成熟, 快干	绿色	3.80	2.64	1.03	2.56
半成熟阶段 1, 快干	主要绿色, 带有一些红色	3.28	2.70	1.00	2.70
半成熟阶段 2, 快干	主要红色, 带有一些绿色	3.54	2.00	0.70	2.86
几乎成熟, 快干	红色, 污点面积 < 5%	3.35	N/D	N/D	N/D
绿色咖啡豆	绿色	4.58	3.31	0.95	3.48
烘焙咖啡豆	褐色	3.93	0.50	1.20	0.42

表 2

### 快干半成熟完整咖啡果泡制茶的多酚 (PP)、绿原酸 (CG) 和咖啡因 (CF) 分析

将快干完整咖啡果在旋转钢刀咖啡研磨机中研磨 10-30 秒钟来产生磨碎的样品。向磨碎的样品 (1.00g) 中加入 90mL (约 3 流体 oz.) 蒸馏水, 并将所得到的混合物在锥形烧瓶中静置 10 分钟来产生咖啡茶。将上清液液的等份试样 (~ 3mL) 通过 0.45 $\mu$ m 的 Acrodisc 过滤器来过滤, 用蒸馏水使用容量瓶将所得到的澄清溶液进行 1:10 稀释 (9.00mL 蒸馏水稀释 1.00mL)。使用如上所述的 Folin-Ciocalteu 方法来测量所制得的咖啡果茶的多酚含量 (以干物质为基础, 咖啡因当量)。表 3 总结了结果。

成熟度	溶剂	%PP	%CG	%CF	CG/CF
未成熟, 快干	水	10.93	8.61	3.04	2.83
半成熟阶段 1, 快干	水	9.38	7.58	2.72	2.78
半成熟阶段 2, 快干	水	8.51	6.74	1.71	3.95
几乎成熟, 快干	水	6.92	1.34	0.29	4.61

表 3

### 不同成熟度的完整咖啡果茶的泡制

为了香气和口味测试, 使用以下的方法来制备不同成熟度的完整咖啡果茶。将完整的干咖啡果 (10-20g) 在旋转钢刀咖啡研磨机中研磨 10-30 秒钟来产生磨碎的样品。将磨碎的咖啡果 (2.0g) 放入瓷杯中并加入接近沸腾的水 (6oz., 190-200°F)。搅拌浆液并放置 3 分钟, 评价这时的上清液香气和口味。结果显示于表 4 中。

成熟度	颜色	香气	口味	PP/60Z. 茶
未成熟, 快干	绿色	无	几乎没有口味	76mg
半成熟阶段 1, 快干	主要为绿色, 带有一些红色	非常淡的 果香	轻微的果味	66mg
半成熟阶段 2, 快干	主要为红色, 带有一些绿色	淡果香	淡果味	71mg
几乎成熟, 快干	红色, 污点面 积<5%	果香	富含果味	67mg

表 4

因此, 已经公开了低真菌毒素含量咖啡果产品的特定实施方案和应用。然而, 对本领域技术人员显而易见的是除了那些已经描述的以外, 许多更多的修改是可能的, 而不脱离在此的本发明概念。因此, 本发明的主题没有受到限制, 除了所附权利要求的精神。此外, 在说明书和权利要求两者的解释中, 所有术语应当以与内容相一致的最可能宽的方式来解释。尤其是, 术语“包括”和“包含”应当解释为以非穷举的方式涉及要素、成分或步骤, 表明所涉及的要素、成分或步骤可以存在或利用, 或和其它没有特意涉及的要素、成分或步骤组合。