



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101087621 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 02

(21) 申请号 200580038862. 2

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2005. 04. 14

A61K 47/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

(56) 对比文件

271412/2004 2004. 09. 17 JP

JP 特开 2004-254646 A, 2004. 09. 16, 说明书第 [0004] 段、第 [0005] 段、第 [0015] 段。

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2007. 05. 14

审查员 李林

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/US2005/012823 2005. 04. 14

(87) PCT 申请的公布数据

W02006/036208 EN 2006. 04. 06

(73) 专利权人 味之素通用食品株式会社

地址 日本东京都

专利权人 卡夫食品环球品牌有限责任公司

(72) 发明人 浅野一郎 藤井繁佳 武藤胜仁

高尾和泉 尾崎和人 中室贤一

松岛俊行

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

司 72001

代理人 刘冬 梁谋

权利要求书 1 页 说明书 13 页 附图 2 页

(54) 发明名称

具有身体脂肪减少功能的组合物以及含该组合物的食物和饮料

(57) 摘要

提供能有效提供身体脂肪减少作用和有效减少体重的甘露寡糖组合物。所述甘露寡糖组合物通过甘露聚糖原料的水解来提供。所述甘露寡糖包含约 1 至约 10 个单糖,且至少约 60%重量的单糖是甘露糖。

1. 甘露寡糖组合物在用于减少人身体脂肪比率或腹部脂肪的非治疗性方法中的用途, 所述甘露寡糖组合物包含 1 至 10 个单糖, 其中至少 60% 重量的单糖是甘露糖, 所述甘露寡糖组合物能有效减少身体脂肪比率达至少 4% 和减少腹部脂肪达至少 10%, 其中所述甘露寡糖以每天 1-10g 的速度口服给予。

2. 权利要求 1 的用途, 其中所述甘露寡糖组合物还包含至少一种选自以下的单糖: 葡萄糖、半乳糖、果糖及其混合物。

3. 权利要求 1-2 中任一项的用途, 其中所述甘露寡糖是通过甘露聚糖原料的水解所提供的水解物。

## 具有身体脂肪减少功能的组合物以及含该组合物的食物和 饮料

[0001] 本发明涉及甘露寡糖组合物和含甘露寡糖的食物和饮料。更具体的说,甘露寡糖可通过甘露聚糖原料的水解来产生,并掺入食物和饮料中。甘露寡糖能有效减少身体脂肪特别是腹部脂肪。

### 背景

[0002] 近年来,西式饮食、缺乏锻炼和较大的压力导致体重增加和肥胖。超重和肥胖是疾病例如高血糖、高血压和糖尿病的危险因素。已提供饮食疗法来限制体重增加和治疗肥胖。很多这些饮食疗法是天然产物或源自天然产物。

[0003] 咖啡工业是加工和生产大量天然产物的工业的一个实例。可溶咖啡和罐装咖啡的制造者排放大量的咖啡废渣。这些残渣通常被焚烧或作为工业废弃物处理。咖啡豆和所产生的咖啡残渣含水不可溶性  $\beta$ -甘露聚糖。来自水解的咖啡甘露聚糖的甘露寡糖(MOS)是不可消化的寡糖。本发明利用甘露聚糖来提供具有脂肪减少作用的组合物。

### 概述

[0004] 提供能有效提供身体脂肪减少作用的甘露寡糖组合物。甘露寡糖组合物可加入到食物组合物,特别是饮料中,通过口服消费。甘露寡糖的给予能有效减少总身体脂肪(以身体脂肪比率表示)达至少约4%,优选约4%至约8%,减少腹部脂肪达至少约10%,优选约10%至约15%,并减轻体重。

[0005] 提供包含约1至约10个单糖的甘露寡糖。至少约60%重量的单糖是甘露糖,优选至少约70%重量的单糖是甘露糖,最优选至少约80%重量的单糖是甘露糖。甘露寡糖也可包含一种或者多种单糖,如葡萄糖、半乳糖、果糖及它们的混合物。甘露寡糖组合物可掺入食物、饮料、饲料、药物和化妆品中。提供作为水解物的甘露寡糖组合物,所述水解物通过甘露聚糖原料的水解形成。甘露聚糖原料从包括以下的来源提供:生咖啡豆、炒咖啡豆、咖啡废渣、干椰子肉粉(copra meal)、椰子片(copra flake)、椰子、Huacra palm、薯蓣、魔芋、百合、水仙、甘草、刺槐豆胶、瓜尔豆胶及它们的混合物。在一个重要的方面,甘露聚糖原料的来源从咖啡原料特别是咖啡废渣提供。

[0006] 可使用水解方法例如酸水解法、热水解法、酶水解法、微生物发酵水解法和它们的组合,生产含甘露寡糖的水解物。热水解法可在约200°C至约220°C,优选约210°C的温度下进行。水解物可通过与活性炭、吸附树脂、离子交换树脂、离子交换膜及它们的组合接触,进行脱色、除臭和/或浓缩。

[0007] 在另一个方面,提供包含所述甘露寡糖的食物组合物。在这个方面,食物组合物每100克包含至少约1克甘露寡糖。甘露寡糖可掺入各种固体食品 and / 或饮料中。在一个重要的方面,甘露寡糖掺入咖啡中。

[0008] 也提供生产甘露寡糖组合物的方法。所述方法包括水解甘露聚糖原料,原料的量能有效形成含甘露寡糖的水解物,其中每个甘露寡糖具有约1至约10个单糖,且至少约60%重量的单糖是甘露糖,优选至少约70%重量的单糖是甘露糖,最优选至少约80%重量的单糖是甘露糖。甘露聚糖原料可从生咖啡豆、炒咖啡豆、咖啡废渣、干椰子肉粉、椰子片、

椰子、Huacra palm、薯蓣、魔芋、百合、水仙、甘草、刺槐豆胶、瓜尔豆胶及它们的混合物提供。一种优选的甘露聚糖原料来源是咖啡废渣。可使用水解方法例如酸水解法、热水解法、酶水解法、微生物发酵水解法及它们的组合来生产含甘露寡糖的水解物。一种优选的水解方法是热水解法。所产生的水解物可用活性炭、吸附树脂、离子交换树脂、离子交换膜及它们的组合进行除臭、脱色和 / 或浓缩。所产生的水解物可作为含水组合物来使用, 或者加以干燥或冻干。

[0009] 在另一个重要的方面, 提供减少身体脂肪比率和腹部脂肪的方法。所述方法包括给予甘露寡糖组合物, 给予的量能有效减少总身体脂肪比率达至少约 4%, 优选约 4% 至约 8%, 减少腹部的身体脂肪比率达至少约 10%, 优选约 10% 至约 15%。甘露寡糖可作为食物组合物例如饮料 (如咖啡) 的一部分, 以每天约 1-10 克, 优选每天约 2-8 克, 更优选每天约 3-6 克的速率口服给予。

#### 附图简述

[0010] 图 1 说明对照组和 MOS 组中从 CT 扫描图计算出的相对腹部总身体脂肪面积的变化。

[0011] 图 2 说明对照组和 MOS 组的相对腹部皮下脂肪面积的变化。

[0012] 图 3 说明对照组和 MOS 组的相对腹部内脏脂肪面积的变化。

[0013] 图 4 显示 MOS 对胰脂肪酶的作用。

[0014] 图 5 说明在口服给予高脂肪饮食后 MOS 对人血浆甘油三酯 (triglycerol) 水平的作用。

#### 详述

[0015] 提供能提供脂肪减少作用, 可认为在减轻肥胖方面具有生理学功能的组合物。所述组合物是主要包含甘露糖单位的寡糖。这些基于甘露糖的寡糖或者说甘露寡糖无致癌性, 热量低; 它们被肠道微生物群落选择性利用, 抑制血清脂质水平并促进矿物质吸附。

#### 定义

[0016] 提供的甘露寡糖是寡糖。本文所用的“寡糖”指单糖的聚合物, 聚合度 (DP) 为至少 1, 优选 DP 为约 1 至约 10, 更优选 DP 为约 2 至约 9, 更优选 DP 为约 2 至约 6。DP 为 1 的甘露寡糖在技术上来讲是单糖, 但也称为寡糖, 因为寡糖的混合物可能包含某些单糖单位。甘露寡糖通常会包含多种具有不同聚合度的寡糖。

#### 甘露聚糖原料

[0017] 本文所用的“甘露聚糖”指包含甘露糖单糖残基的多糖。甘露糖残基可以是 D-甘露糖、半乳甘露聚糖、葡甘露聚糖及它们的混合物的形式。包含甘露糖的多糖可完全由甘露糖单糖残基形成, 或者可以是甘露糖单糖残基与其它单糖例如半乳糖、葡萄糖和果糖的组合。

[0018] 甘露寡糖可通过甘露聚糖的水解来生产。甘露聚糖的来源包括生咖啡豆、炒咖啡豆、咖啡废渣、干椰子肉粉、椰子片、椰子、Huacra palm、薯蓣、魔芋、百合、水仙、甘草、刺槐豆胶、瓜尔豆胶及它们的混合物。可从椰子中获得干椰子肉粉和椰子片。南非 Areaceae (棕榈科) 植物 Huacra Palm、魔芋甘露聚糖和中国魔芋甘露聚糖都是甘露聚糖的来源。

[0019] 在一个重要的方面, 焙炒和磨碎的咖啡豆和煮咖啡后残留的咖啡废渣是优选的甘

露聚糖来源。可利用任何来源的任何类型咖啡豆。可使用的咖啡的实例包括Arabica咖啡、Robusta咖啡、Liveria咖啡等。可利用单一类型的咖啡,或者不同类型的咖啡的掺合料。也可使用质量或大小较次的咖啡豆,包括很少或没有商业价值的咖啡豆。在另一个重要的方面,可由咖啡提取残渣提供甘露聚糖,所述残渣是在用生产液体咖啡或速溶咖啡的常规方法对焙炒和磨碎的咖啡豆进行提取处理后获得的。

#### 甘露聚糖原料的水解

[0020] 甘露聚糖原料的水解可使用水解方法来进行,所述水解方法可包括酸水解法、热水解法、酶水解法、微生物发酵水解法及它们的组合。使用酸和/或高温的水解方法在日本专利申请昭61-96947及平02-200147中描述,这两个专利申请通过引用结合到本文中。此外,酸水解法在美国专利第4,508,745号中描述,高温水解法在EP0363529中描述,这两个专利通过引用结合到本文中。

[0021] 可在反应容器中,加酸或不加酸和加压或不加压水解咖啡废渣。水解也可在任何其它适合于这种处理的反应容器,例如活塞流反应器中进行。水解能有效将DP为10-40或更高的甘露聚糖水解成DP为1-10的寡糖。

[0022] 酶水解可通过将甘露聚糖原料悬浮于含水介质中,并加入合适的市售酶例如纤维素酶和半纤维素酶来进行。可使用本领域普通技术人员公知的标准条件来进行酶水解。

[0023] 也可使用微生物发酵来水解甘露聚糖原料。甘露聚糖原料可用能产生可水解甘露聚糖的酶的微生物来发酵。可使用能产生诸如纤维素酶和半纤维素酶的酶的微生物。合适的微生物的一个实例是担子菌纲(Basidiomycota)微生物。

[0024] 所产生的甘露聚糖原料水解物可原样使用,或者用活性炭、吸附树脂、离子交换树脂、离子交换膜及它们的组合进一步纯化。水解物的脱色和/或除臭可通过将水解物与活性炭或任何其它相似类型的吸附树脂材料接触来实现。可使用离子交换树脂和/或离子交换膜进行脱盐和脱酸。也可联合使用这些方法。如要较高的剂量水平,或者当水解物要用于某些类型的食物或饮料时,则可进行进一步的纯化。

#### 临床试验

[0025] 在用MOS制剂进行的试验中,MOS组与开始时相比在12周时体重和腰围倾向于减少。平均起来,体重减轻在约0.5至约1.0kg的范围,腰围下降约1.5至约3.0cm。MOS组中用DEXA测出的身体脂肪比率与开始时相比在12周时减少约4%至约8%,且在观察期结束时与安慰组有显著差异。MOS组在12周时CT扫描测出的腹部总脂肪面积和内脏脂肪面积比安慰组显著减少,脂肪测量值比研究开始时平均减少约10%至约15%。以相对比较为基础对CT扫描脂肪测量值进行表征,进一步证实腹部区域的显著变化。结果显示,含MOS的咖啡饮料能减少人的身体脂肪比率和腹部脂肪,随时间推移可表现为体重减少。

[0026] 虽然不是有意拘泥于任何理论限制,但腹部脂肪的减少可能是由于一个或多个下列原因:(1)MOS的肠道发酵产物丙酸可抑制肝脏中的脂肪酸合成,(2)MOS可抑制脂质在小肠中的吸收,导致积聚在体内的脂肪被代谢,和(3)脂肪通过粪便的排泄可能增加,从而减少腹部脂肪。

#### 实施例

##### 实施例 1:MOS 临床试验 - 研究 1

##### 1. MOS 制备

将咖啡废渣在 220℃ 温度下的反应器中进行水解。水解物用活性炭粉末 (Umehachi ;Taihei Chemicals, 日本大阪) 脱色, 用阳离子交换树脂 (SKIB ;Mitsubishi Chemicals, 日本东京) 和阴离子交换树脂 (WA30 ;Mitsubishi Chemicals) 脱盐。使用活性炭色谱法, 以分步梯度的水和 10.0% (v/v) 乙醇除去单糖。将纯化溶液在旋转蒸发器中浓缩, 冻干。MOS 混合物 (聚合度 (dp) 2 :21.2%, dp3 :22.2%, dp4 :21.2%, dp5 :16.2%, dp6 或更高 :19.2%) 用于临床试验。

## 2. 试验饮料

咖啡饮料的组成如下所示:

表 1

<b>g/100ml</b>	<b>对照咖啡</b>	<b>MOS 咖啡</b>
<b>咖啡固形物</b>	<b>1.1</b>	<b>1.1</b>
<b>人造甜味料</b>	<b>0.017</b>	<b>0.017</b>
<b>MOS</b>	<b>--</b>	<b>1.0</b>
<b>玉米糖浆固形物</b>	<b>1.0</b>	<b>--</b>

将咖啡饮料装入 900ml PET (聚对苯二甲酸乙二醇酯) 瓶中。试验饮料每 100ml 含 1g MOS。每个受试者每天摄入 300ml 的试验咖啡饮料 (含 MOS 3.0g)。玉米糖浆固形物作为代替 MOS 的安慰剂加入对照咖啡饮料中。将试验咖啡饮料制备成相同的咖啡固形物水平, 这样两者之间在口味上没有不同。这两种饮料也制备成咖啡因水平相等, 因为已公知咖啡因可增加能量消耗。咖啡因水平分别是, 对照咖啡 45.4mg/100ml, 试验咖啡 46.8mg/100ml。

## 3. 受试者和试验计划

本研究设计为安慰剂对照的双盲试验。志愿者进行医学和体格检查。采集禁食血样用于血清脂质分析。

选择三十名志愿者 (男 15 名, 女 15 名)。他们按日本肥胖学会 (Japan Society for the Study of Obesity) 对肥胖的分类属于 1 类肥胖 ( $25\text{kg}/\text{m}^2 < \text{BMI} < 30\text{kg}/\text{m}^2$ ), 且属于高胆固醇血症类 (血清总胆固醇水平  $> 180\text{mg}/100\text{ml}$ )。由一名不涉及本研究的医生根据 BMI 和血清总胆固醇水平将他们分为两组。

经过一周的观察期后, 给予受试者咖啡饮料 12 周。他们在开始日及 4、8 和 12 周后拜访门诊。他们在每次拜访门诊时进行医学和体格检查。采集禁食血样和尿样, 并使用计算机断层扫描 (CT 扫描) 测量腹部脂肪面积。

受试者每天用量杯量取 300ml 咖啡饮料 (含 MOS 或安慰剂), 不加入牛奶或奶油饮用。不限制摄入时间。指示受试者在整个研究中他们不能以任何方式改变他们的日常饮食。此外, 限制他们服食会影响血液脂质水平的食物和药物。要求他们每次拜访门诊时从早上 9:00 直至检查结束除喝水外不能进行饮食。

## 4. 饮食数据记录

向受试者提供一个称重仪、一个一次性照相机和一个计步器。要求受试者在拜访门诊之前 3 天每天对所有各餐 (包括两餐之间的小吃、每盘菜的重量) 进行记录, 给每餐食物照相并计算步行的步数。使用 Microsoft Excel Add-in “Excel Eiyou-kun ver. 3.0” (Kenpakusya; 日本东京) 从进餐记录和照片计算营养摄入量。志愿者还记录他们每天的酒精摄入量。

5. 体格检查进行体格检查以记录身高、体重、臀围和腰围以及皮下脂肪的厚度。根据日本肥胖学会的方法 (Tokunaga 等, Int. J. Obesity, 7, 437-445 (1983)), 在呼气 and 站立体位测量臀围和腰围。使用卡尺测量臂和肩胛下的皮下脂肪厚度。根据下式计算体重指数 (BMI) :  $BMI (Kg/m^2) = [ 体重 (Kg) ] / [ 身高 (m) ]^2$ 。

6. 腹部脂肪面积的测量使用 Tokunaga 方法 (Int. J. Obesity, 7, 437-445 (1983)), 通过 CT 扫描进行腹部脂肪面积的测定。所有的 CT 扫描图均用 CT-W450 (Hitachi Medico Inc., 日本) 获得。使用管电压 : 120kV, 管电流 : 90mA, 窗位 : 0 和窗宽 : 1000 拍摄 X- 射线照片。使用内脏脂肪测量 PC 软件 “Fat Scan ver. 2” (N2 System Inc., 日本) 从 CT 照片测定总脂肪面积、皮下脂肪面积和内脏脂肪面积。

### 7. 血液分析

本研究血液分析包括白细胞、红细胞、血红蛋白、MCV、MCH、MCHC 和血小板。使用血液生化检验测量总蛋白、A/G 比率、白蛋白、总胆红素、AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、LFH、 $\gamma$ -GTP、总胆固醇、HDL- 胆固醇、LDL- 胆固醇、甘油三酯、尿酸、血尿素氮、肌酸酐、Na、K、Cl、Ca、IP、Mg、饥饿血糖、总脂质、非酯化脂肪酸、脂质过氧化物、HbA<sub>1c</sub> 和胰岛素。

8. 统计分析分析结果以平均值和标准误差表示。各组之间平均值的比较, 当数据的差异符合正态分布时使用配对 t 检验进行分析, 当数据的差异不符合正态分布时使用 Wilcoxon 符号秩检验 (Wilcoxon signed-rankstest) 进行分析。试验期间脂肪面积的方差表示为与 0 周时数据相比的相对值。对两组之间平均值的差异进行方差分析, 然后使用 Student t 检验或 Welch t 检验进行计算。P 值 < 0.05 认为显著。

9. 试验期间的饮食对分为两组的 29 名受验者进行统计分析 ; 其中一组 15 名受验者给予对照饮料 ( 以下称 “对照组”), 另一组 14 名受验者给予含 MOS 的饮料 ( 以下称 “试验组”)。一名受验者被排除出从试验组, 因为他在试验期间饮食模式非常不规律。给予记录显示, 对照组摄入率为 99.9%, 试验组为 99.7%, 表明两组之间没有显著差异。受验者承认试验期间没有大量摄入酒精或药物。饮食研究的结果揭示, 试验期间两组的饮食几乎没有显著差异。每日平均能量摄入量  $\pm$  标准误差, 对照组为  $1997 \pm 77kcal/ 天$ , 试验组为  $2066 \pm 72kcal/ 天$ 。计步器所示的运动水平表明试验期间任一组都没有显著变化。

10. 副作用试验期间任何时候对受验者身体状况没有观察到与给予试验饮料相关的副作用。试验期间医生会诊没有鉴别到由于给予饮料所致的主观 / 客观症状或异常观察结果。

### 11. 体格测量

表 2 受验者摄入试验饮料前的情况

	<u>组别</u>	<u>总计</u>	<u>男</u>	<u>女</u>
受试者数量	对照	15	7	8
	MOS	14	7	7
年龄	对照	55.7 ± 2.8	53.1 ± 14.1	57.9 ± 7.2
	MOS	49.6 ± 2.9	46.0 ± 11.5	53.1 ± 9.8
身高	对照	157.2 ± 2.1	163.2 ± 5.8	151.9 ± 5.7
	MOS	160.3 ± 2.3	167.5 ± 1.8	153.2 ± 5.8
体重	对照	66.9 ± 1.8	71.8 ± 6.3	62.5 ± 4.8
	MOS	69.2 ± 2.0	74.5 ± 3.9	63.9 ± 6.5
BMI	对照	27.0 ± 0.2	26.9 ± 0.8	27.1 ± 1.0
	MOS	26.9 ± 0.4	26.6 ± 1.4	27.1 ± 1.4
体温	对照	36.2 ± 0.1	36.3 ± 0.3	36.1 ± 0.5
	MOS	36.0 ± 0.1	36.1 ± 0.4	35.8 ± 0.4
腰围	对照	86.3 ± 1.2	89.1 ± 2.6	83.8 ± 4.7
	MOS	86.5 ± 1.5	88.6 ± 4.2	84.4 ± 6.1
臀围	对照	96.8 ± 1.0	96.1 ± 3.3	97.4 ± 4.2
	MOS	97.8 ± 0.9	97.3 ± 2.3	98.2 ± 4.1
臂皮下脂肪厚度	对照	1.8 ± 0.1	1.4 ± 0.4	2.1 ± 0.3
	MOS	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.1	2.0 ± 0.2
肩胛下皮下脂肪厚度	对照	2.3 ± 0.2	2.7 ± 1.1	2.0 ± 0.3
	MOS	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.3	2.3 ± 0.3
SBP <sup>a</sup>	对照	127.5 ± 4.4	128.1 ± 15.6	127.0 ± 19.4
	MOS	131.8 ± 3.3	132.9 ± 11.8	130.7 ± 13.6
SBP <sup>b</sup>	对照	79.9 ± 2.3	81.6 ± 9.7	78.4 ± 8.6
	MOS	82.4 ± 2.3	84.3 ± 8.6	80.4 ± 9.9
脉搏	对照	69.3 ± 2.2	67.1 ± 6.9	71.3 ± 9.8
	MOS	67.8 ± 1.6	67.7 ± 6.6	67.9 ± 5.6

数值表示为平均值和标准误差。

a 收缩压

b 舒张压

没有鉴别到对照组和试验组之间的显著差异。试验期间体格测量的变化如下所示：  
表 3 给予期间体格检查项目的变化

		0 周	4 周	8 周	12 周
体重(kg)	对照	66.9 ± 1.8	66.3 ± 1.8	66.5 ± 1.9	66.3 ± 1.9
	MOS	69.2 ± 2.0	68.8 ± 1.9	68.6 ± 2.0	68.7 ± 2.0
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	对照	27.0 ± 0.2	26.8 ± 0.3	26.9 ± 0.3	26.8 ± 0.3
	MOS	26.9 ± 0.4	26.7 ± 0.3	26.6 ± 0.4	26.7 ± 0.3
腰围(cm)	对照	86.3 ± 1.2	85.6 ± 1.3*	85.1 ± 1.2**	85.1 ± 1.4*
	MOS	86.5 ± 1.5	86.0 ± 1.4	85.1 ± 1.6	84.8 ± 1.5 *
臀围(cm)	对照	96.8 ± 1.0	96.4 ± 1.0*	96.5 ± 1.0	96.2 ± 1.1
	MOS	97.8 ± 0.9	97.6 ± 0.9	96.4 ± 1.2	96.1 ± 1.2
臂皮下脂肪厚度 (cm)	对照	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1
	MOS	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1
肩胛下皮下脂肪厚 度(cm)	对照	2.3 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.3 ± 0.2
	MOS	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1 *

数值表示为平均值和标准误差。

\*,\*\* 分别与 0 周摄入前有显著差异,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ 。

任何一组的体重、BMI 或臀伸展侧中间部分的皮下脂肪都没有显著差异。当与给予饮料前比较时, 两组的腰围减少都具有统计学显著性, 但没有鉴别到两组之间的显著差异。试验组靠近背部肩胛下的皮下脂肪厚度在 12 周时比给予开始时显著减少 ( $p < 0.05$ ), 但两组之间没有显著差异。两组之间的差异认为是极微的和不可见的。

#### 12. CT 扫描测出的腹部脂肪面积

一名对照组受试者和一名试验组受试者由于腰围过大而不能获得完全的 CT 扫描图像, 故被排除出脂质截面分析。对 27 名受试者进行统计分析, 14 名来自对照组, 13 名来自试验组。试验期间腹部脂肪面积的变化如表 4 所示。

表 4 给予期间腹部脂肪面积的变化

	0 周	4 周	8 周	12 周	重复测量的 ANOVA 的 P 值(试验期间)
对照	274.5 ± 11	263 ± 12.5	261 ± 11.6	265.5 ± 11.1	
总脂肪面积 Δ(自 0 周) (cm <sup>2</sup> )		-11.3 ± 7.1	-13.8 ± 6.8	-8.9 ± 6.1	0.00003
MOS	281.5 ± 19.1	266.3 ± 19.8	251.0 ± 21.6**	248.9 ± 19.2**	
Δ(自 0 周)		-15.2 ± 7.7	-30.5 ± 4.4	-32.6 ± 5.4††	
对照	181.6 ± 12.3	169.8 ± 13.0	171.4 ± 12.5*	174.6 ± 13.1	
皮下脂肪面 Δ(自 0 周) 积(cm <sup>2</sup> )	±	-11.7 ± 5.7	-10.1 ± 4.3	-7.0 ± 6.0	0.00024
MOS	173.4 ± 15.1	166.1 ± 15.1	156.7 ± 15.7**	154.5 ± 14.8**	
Δ(自 0 周)	±	-7.3 ± 4.4	-16.8 ± 3.7	-18.9 ± 3.3	
对照	92.9 ± 8.4	93.1 ± 6.6	89.2 ± 8.3	91.0 ± 9.7	
内脏脂肪面 Δ(自 0 周) 积(cm <sup>2</sup> )	±	0.4 ± 4.4	-3.7 ± 4	-9.0 ± 6.1	0.01928
MOS	108 ± 11	100 ± 10.8	94.4 ± 11.3**	94.4 ± 11.9**	
Δ(自 0 周)	±	-7.9 ± 5.2	-13.7 ± 2.9	-13.7 ± 3.9†	

数值表示为平均值和标准误差。

\*,\*\* 分别与 0 周摄入前有显著差异,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ 。

†, †† 分别与对照组有显著差异,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ 。

在给予开始(0 周)时没有鉴别到两组之间在总脂肪面积、皮下脂肪面积和内脏面积方面的显著差异。在脂肪面积分析的试验期间,对照组的皮下脂肪面积在第 8 周时与给予开始时比较显著减少 ( $p < 0.05$ )。试验组在第 8 周和第 12 周时鉴别到总脂肪面积、皮下脂肪面积和内脏脂肪面积方面的显著减少 ( $p < 0.01$ )。与 0 周摄入前相比的减少量 MOS 组大于对照组。与对照组相比,试验组第 8 周 ( $p < 0.05$ ) 和第 12 周 ( $p < 0.01$ ) 时在总脂肪面积方面明显显示出显著较低的值(图 1)。与对照组相比,试验组第 12 周时在皮下脂肪面积和内脏脂肪面积方面也显示出显著减少(两者都是  $p < 0.05$ )(图 2 和 3)。

13. 血液试验结果两名试验组受试者被排除出血液分析,由于他们在第 12 周拜访门诊时从早上 9:00 起吃早餐和软饮料。试验期间血液检验的数值变化在表 5 中表示,血液生化检验的数值变化在表 6 中表示。

表 5 给予期间血液检验结果

	正常范围	单位	组	0周	4周	8周	12周
白细胞	3500-9700	/μL	对照	6553 ± 1015	6544 ± 1156	6313 ± 1483	6303 ± 1279
			MOS	6748 ± 1721	6490 ± 1608	6415 ± 1658	6872 ± 1279
红细胞	M438-577	× 10 <sup>4</sup> /μL	对照	464.9 ± 40.5	468.5 ± 42.6	457.1 ± 40.4*	460.9 ± 38.6
	F376-516		MOS	486.6 ± 32.3	487.4 ± 31.1	475.1 ± 34.1*	475.3 ± 38.6**
血红蛋白	M13.6-18.3	g/100ml	对照	14.17 ± 1.52	14.29 ± 1.65	14.00 ± 1.48	14.12 ± 1.45
	F11.2-15.2		MOS	14.92 ± 0.95	14.82 ± 0.90	14.70 ± 0.96*	14.58 ± 1.45**
血细胞比容	M40.4-51.9	%	对照	44.29 ± 4.39	44.61 ± 4.69	43.31 ± 4.60**	43.59 ± 4.15*
	F34.3-45.2		MOS	45.94 ± 2.92	46.31 ± 2.55	45.19 ± 2.68	44.81 ± 4.15*
MCV	M83-101	fL	对照	95.3 ± 3.7	95.2 ± 3.0	94.7 ± 3.9	94.6 ± 3.3
	F80-101		MOS	94.4 ± 3.5	95.0 ± 3.4	95.2 ± 2.6	94.4 ± 3.3
MCH	M28.2-4.7	pg	对照	30.47 ± 1.37	30.46 ± 1.31	30.61 ± 1.28	30.62 ± 1.19
	F26.4-34.3		MOS	30.69 ± 0.84	30.45 ± 0.96	30.95 ± 0.74	30.67 ± 1.19
MCHC	M31.8-36.4	%	对照	32.01 ± 1.47	32.02 ± 0.71	32.35 ± 0.51	32.38 ± 0.79
	F31.3-36.1		MOS	32.50 ± 0.91	32.01 ± 1.01	32.53 ± 0.58	32.54 ± 0.79
血小板	14.0-37.9	× 10 <sup>4</sup> /μL	对照	24.32 ± 4.43	25.09 ± 5.41	23.32 ± 3.99	24.53 ± 4.87
			MOS	23.02 ± 4.85	23.85 ± 4.54	22.58 ± 4.82	23.56 ± 4.87

数值表示为平均值和标准误差。

\*,\*\* 分别与0周摄入前有显著差异,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ 。

表6 给予期间血液生化检验结果

	正常范围	单位	组	0周	4周	8周	12周
总蛋白	6.5-8.2	g/100ml	对照	7.48 ± 0.09	7.46 ± 0.33	7.33 ± 0.35**	7.34 ± 0.28**
			MOS	7.53 ± 0.09	7.51 ± 0.19	7.53 ± 0.26	7.40 ± 0.28
A/G 比率	1.30-2.00	-	对照	1.45 ± 0.19	1.43 ± 0.16	1.45 ± 0.16	1.49 ± 0.16
			MOS	1.51 ± 0.18	1.44 ± 0.15	1.45 ± 0.17	1.48 ± 0.16
白蛋白	3.7-5.5	g/100ml	对照	4.41 ± 0.24	4.38 ± 0.24	4.33 ± 0.22*	4.37 ± 0.14
			MOS	4.50 ± 0.19	4.42 ± 0.24	4.44 ± 0.29	4.41 ± 0.14*
总胆红 素	0.2-1.0	mg/100ml	对照	0.79 ± 0.22	0.71 ± 0.21	0.74 ± 0.24	0.79 ± 0.25
			MOS	0.72 ± 0.20	0.67 ± 0.18	0.74 ± 0.22	0.81 ± 0.25
AST (GOT)	10-40	U/l	对照	25.9 ± 9.9	25.0 ± 9.2	25.0 ± 8.2	24.6 ± 7.0
			MOS	22.8 ± 10.2	20.4 ± 7.0	22.5 ± 7.6	23.3 ± 7.0
ALT (GPT)	5-45	U/l	对照	28.1 ± 16.7	28.1 ± 19.0	25.5 ± 11.4	28.1 ± 11.7
			MOS	28.3 ± 17.8	25.2 ± 9.7	25.8 ± 13.2	28.0 ± 11.7
ALP	104-338	U/l	对照	238.7 ± 64.4	245.9 ± 75.6	228.4 ± 65.3	228.5 ± 64.2
			MOS	214.3 ± 55.5	223.3 ± 52.8	209.2 ± 52.6	208.1 ± 64.2
LDH	120-145	U/l	对照	205.5 ± 25.5	210.3 ± 29.0	215.1 ± 25.4*	202.2 ± 23.8
			MOS	206.3 ± 50.7	201.6 ± 41.2	210.6 ± 43.6	196.6 ± 23.8*
γ-GTP (F8-32)	M 16-73 (F8-32)	U/l	对照	37.2 ± 27.1	39.9 ± 28.9	35.6 ± 23.2	41.9 ± 30.6
			MOS	38.7 ± 21.7	36.2 ± 20.2	32.1 ± 15.1*	39.0 ± 30.6
T- 胆固醇	150-219	mg/100ml	对照	236.9 ± 28.2	235.3 ± 22.8	233.9 ± 30.2	243.5 ± 26.6
			MOS	223.2 ± 30.3	233.3 ± 32.7	219.4 ± 30.6	224.5 ± 26.6
HDL- Cho	M40-80 F40-90	mg/100ml	对照	52.8 ± 11.7	52.5 ± 13.2	52.5 ± 12.7	51.3 ± 13.7
			MOS	56.6 ± 13.3	55.0 ± 13.6	56.1 ± 13.1	54.7 ± 13.7
LDL- Cho	70-139	mg/100ml	对照	163.1 ± 30.3	151.3 ± 26.5	157.4 ± 28.5	156.8 ± 23.0
			MOS	151.3 ± 26.0	152.2 ± 23.8	146.4 ± 28.7	141.8 ± 23.0*
甘油三 酯	50-149	mg/100ml	对照	127.5 ± 56.6	153.0 ± 100.3	146.8 ± 70.0	142.3 ± 84.9
			MOS	105.9 ± 52.5	139.0 ± 77.5	119.3 ± 52.2	113.2 ± 84.9

在给予开始(0周)时,没有鉴别到两组之间在血液检查和血液生化检查的任何项目上的显著差异。对于涉及人血清脂质的检查项目,试验组的血液检查和血液生化检查结果显示,第12周相比于给予开始时 LDL-胆固醇显著下降( $p < 0.05$ )。虽然没有鉴别到两组之间的显著差异,与对照组相比,试验组在第12周时倾向于显示出较低的总胆固醇浓度( $p < 0.054$ )和 LDL-胆固醇( $p < 0.062$ )值。尽管与给予开始时相比,涉及人血清脂质的项目之外的其它项目存在某些统计学上显著的差异,但这种差异仍在标准范围内。

#### 实施例2:含甘露寡糖的液体咖啡的作用

进一步分析实施例1中 BMI > 26.4 的试验组受验者(2男5女)的数据。如表所示,饮用含 MOS 的液体咖啡后,体重、身体脂肪比率和 BMI 显著下降。因此证实含 MOS 的液体咖啡(3g/300ml)在人体中具有减少身体脂肪或者说抗肥胖的作用。

表含 MOS 的液体咖啡的摄入对体重、身体脂肪比率和 BMI 的作用

摄入周期	0 周	4 周	8 周	12 周
体重 (Kg)	68.8±8.1	68.0±7.5	67.9±2.2*	67.8±2.2*
身体脂肪比率 (%)	35.4±4.5	33.7±4.5**	32.3±1.3*	33.8±1.1*
BMI	27.8±0.7	27.5±0.8	27.5±0.3*	27.4±0.3□

\*\* 与摄入前有显著差异 ( $p < 0.01$ )

\* 与摄入前有显著差异 ( $p < 0.05$ )

□与摄入前有显著差异 ( $p < 0.10$ )

### 实施例 3 :MOS 临床试验 - 研究 2

除使用两个剂量 (MOS 3.0 或 6.0g/天) 的 MOS 外,本研究与实施例 1 所述的研究相似。所有测量与实施例 1 所述相同,另增加双能量 X-射线吸收测定法 (DEXA)。

本研究设计为安慰剂对照的双盲试验。志愿者进行医学和体格检查。在研究开始之前采集禁食血样用于血清脂质分析。

选择七十二名志愿者 (36 名男性 ;36 名女性) 作为试验的受试者。按日本肥胖学会对肥胖的分类,将志愿者归类为 1 类肥胖 ( $25\text{kg/m}^2 < \text{BMI} < 30\text{kg/m}^2$ )。由一名不涉及本研究的医生根据 BMI 和初始身体脂肪比率将他们分为三组。

经过一周的观察期后,给予受试者咖啡饮料 12 周。受试者每天用量杯量取 300ml 咖啡饮料 (含 MOS 或安慰剂),不加入牛奶或奶油饮用。饮料随用餐饮用。指示受试者在整个研究中他们不能以任何方式改变他们的日常饮食。此外,限制他们服食会影响血液脂质水平的食物和药物。

受试者在第 0 日、然后在第 4、8 和 12 周后拜访门诊。要求他们在每次拜访门诊时,从早上 9:00 直至检查结束除喝水外不吃喝任何东西。受试者在每次拜访门诊时进行医学和体格检查。用双能量 X-射线吸光测定法 (DEXA) 测量总身体脂肪比率。此外,在第 0 天和第 12 周,采集禁食血样和尿样,并使用计算机断层扫描 (CT 扫描) 测量腹部脂肪面积。

本研究 2 的结果与研究 1 (实施例 1) 的结果部分相似。总体重、腰围、身体脂肪比率、腹部脂肪和内脏脂肪的降低都发生在 MOS 组。此外,与研究开始时相比, MOS 组在 12 周时用 DEXA 测出的总身体脂肪平均下降 6%,且与对照组有显著差异。基于到目前为止的实验工作结果,没有记录到与剂量相关的反应。

### 实施例 4 :MOS 对胰脂肪酶活性的作用

按实施例 1 所示制备 MOS 组合物。用于本实施例的甘露寡糖 (MOS) 组合物的 DP 分布为 DP1 : 2.4% ;DP2 :26.6% ;DP 3 :20.2% ;DP 4 :17.8% ;DP 5 :10.9% ;DP 6 :8.9% ;DP 7 :6.0% ;DP8 :3.6% ;DP 9 :1.9%和 DP 10 :1.7%。糖链中甘露糖残基的含量为 90%。

#### 胰脂肪酶活性的测量

脂肪酶的活性通过测量油酸从三油精的释放速度来测定。简要地说,将三油精 (80mg)、磷脂酰胆碱 (10mg) 和牛磺胆酸 (5mg) 在 9ml 0.1M N-三(羟甲基)甲基-2-氨基乙磺酸 (TES) 缓冲液 (pH 7.0, 含 0.1mNaCl) 中的悬浮液超声处理 5 分钟。将这一超声处理过的底物悬浮液 (100  $\mu$  l) 与 50  $\mu$  l (10 单位) 的胰脂肪酶和 100  $\mu$  l 各种浓度的 MOS 溶液 (终体积 250  $\mu$  l)

在 37℃ 下温育 30 分钟。用常规方法测定释放出的油酸量。温育混合物加入到氯仿和正庚烷（含 2% (v/v) 甲醇）的 1 : 1 (v/v) 混合物的 3ml 等分试样中, 并通过水平振荡试管 10 分钟进行萃取, 抽吸除去上层水相。然后将铜试剂 (1ml) 加入下层有机相中。将试管振荡 10 分钟, 混合物在 2000g 离心 10 分钟, 将 0.5ml 的上层有机相（含萃取出的游离脂肪酸的铜盐）用 0.5ml 0.1% (w/v) 浴铜灵的氯仿溶液（含 0.05% (w/v) 3(2)-叔丁基-4-羟基茴香醚）处理。然后在 480nm 处测量吸光度。脂肪酶活性以每小时每毫升反应表示。如图 4 所示, MOS 在 1-5mg/ml 浓度时以剂量依赖性方式抑制胰脂肪酶活性, 在 5mg/ml 浓度时抑制约 70% 的活性。这些体外结果提示 MOS 是脂质吸收的强抑制剂。

#### 实施例 5 : 人体研究中摄入高脂肪饮食后的血浆甘油三酯

十名健康的人志愿者（全部男性）分为 2 组, 并采用双盲交叉设计。每组给予第一批 MOS 或安慰剂。一周后, 反过来给予第二批（安慰剂或 MOS）。他们禁食过夜后, 口服给予 200g 由含牛油和猪油（脂肪含量 40g）的玉米肉汤、加或不加 MOS (3g) 所组成的高脂肪饮食。口服给予前和给予后 (1h、2h、3h、4h、5h 和 6h) 从静脉采集血液并测量甘油三酯。如图 5 所示, 在给予 3 小时后血浆甘油三酯的增加受到显著抑制。在高脂肪饮食中摄入 MOS 能有效减少餐后血浆甘油三酯的增加。这些结果提示 MOS 摄入能有效减少人体的脂肪摄取。

#### 实施例 6 : 甘露寡糖对身体脂肪比率的作用

用健康的日本受验者（6 名男性和 7 名女性）研究 MOS 对人身体脂肪比率的作用。由 6 名受验者组成的一组以 1.0g/天服用 MOS。由 7 名受验者组成的另一组以 3.0g/天服用 MOS。基于身体脂肪比率的变化进行评价。身体脂肪比率用电阻抗法进行分析。下表显示 MOS 摄入对身体脂肪比率的作用的结果。

如下表所示, 服用 MOS 后身体脂肪比率下降。由此证实 MOS (1.0g/天和 3.0g/天) 在人体中具有减少身体脂肪的作用。

	身体脂肪比率的变化 (%)	
	MOS 1.0g/天	MOS 3.0g/天
N	6	7
初始	31.1 ± 5.9	31.4 ± 4.3
第 2 周	30.7 ± 4.4	31.2 ± 4.7
第 4 周	30.1 ± 5.1	30.3 ± 4.7**

与摄入前有显著差异 (p, 0.05)

#### 实施例 7 : 含甘露寡糖的液体咖啡的作用

使用与实施例 6 所述相同的含 MOS 咖啡样品, 用 10 名健康的日本受验者研究含 MOS 的液体咖啡对人体重和身体脂肪比率的作用。受验者饮用含 MOS 的液体咖啡, 连续 4 周每天饮用 900ml 液体咖啡（即每天 3 瓶, 共 9g MOS/天）。如同实施例 6 根据体重、身体脂肪比率和 BMI 的变化进行评价。下表显示含 MOS 的液体咖啡的摄入对体重、身体脂肪比率和 BMI 的作用的结果。

如表所示, 饮用含 MOS 的液体咖啡后体重、身体脂肪比率和 BMI 显著下降。由此证实含 MOS 的液体咖啡在人体中具有减少身体脂肪的作用或者说抗肥胖作用。

含 MOS 的液体咖啡对体重、身体脂肪比率和 BMI 的作用

---

		0 周	第 2 周	第 4 周
体重	kg	59.5±12.2	58.9±12.0*	59.1±12.2*
身体脂肪比率	%	24.2±4.3	23.8±4.8	23.4±4.6*
BMI		24.4±2.9	22.2±2.9*	22.2±3.0*

n = 10, \* 与摄入前有显著差异 (p < 0.05)

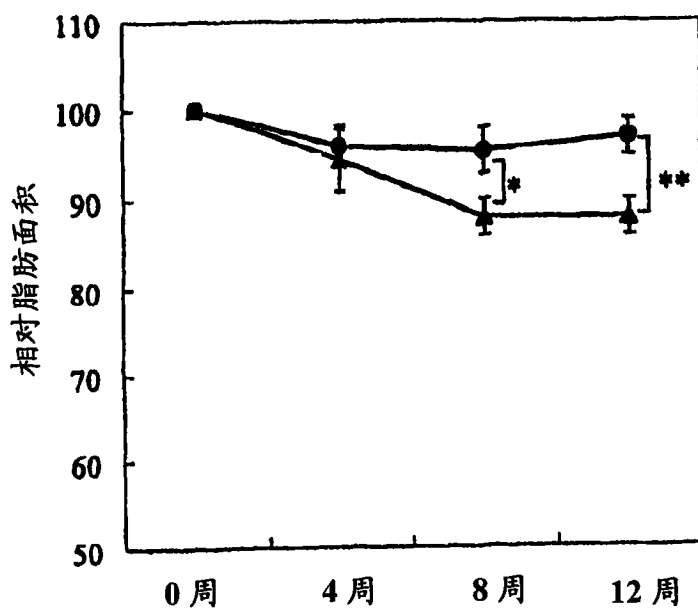


图1 给予试验期间对照组 - ● - 和 MOS 组 - ▲ - 的相对腹部总脂肪面积的变化。  
\*, \*\* 分别与对照组有显著差异,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ 。

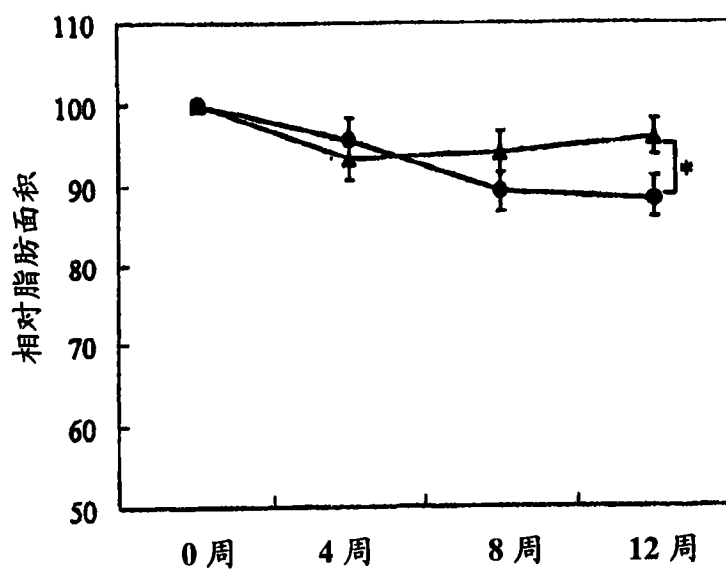


图2 给予试验期间对照组 - ● - 和 MOS 组 - ▲ - 的相对腹部皮下脂肪面积的变化。  
\*, \*\* 与对照组有显著差异,  $p < 0.05$ 。

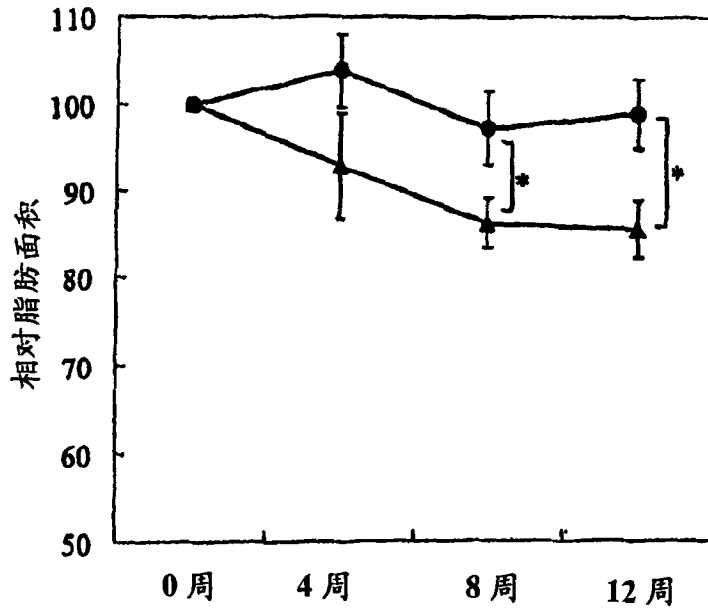


图 3 给予试验期间对照组 - ● - 和 MOS 组 - ▲ - 的相对腹部内脏脂肪面积的变化。  
\*, \*\* 与对照组有显著差异,  $p < 0.05$ 。

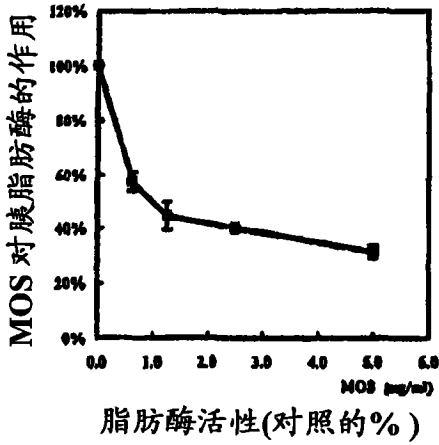


图 4

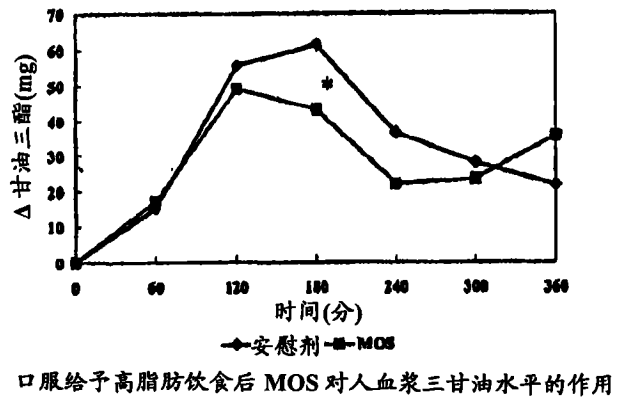


图 5