

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02106028.2

[51] Int. Cl.

C07J 63/00 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

[45] 授权公告日 2009 年 1 月 7 日

[11] 授权公告号 CN 100448887C

[22] 申请日 2002.4.9 [21] 申请号 02106028.2

[30] 优先权

[32] 2001.4.9 [33] EP [31] 01201296.9

[73] 专利权人 荷兰洛德斯科科兰有限公司

地址 荷兰沃尔默费尔

[72] 发明人 J·弗里茨彻 O·E·罗斯尔

U·施米德 E·施韦策

[56] 参考文献

US5948460A 1999.9.7

CN1045585A 1990.9.26

审查员 刘姝晶

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 温宏艳 杨九昌

权利要求书 3 页 说明书 8 页

[54] 发明名称

三萜类化合物的浓缩物

[57] 摘要

本发明涉及乌索酸或其盐和齐墩果酮酸的浓缩物，其中：(i) 乌索酸和齐墩果酮酸或其食品可接受盐，两者的总量大于 22% (重量)，优选 30 - 65% (重量)；(ii) 糖残基，含量小于 40% (重量)，优选小于 25% (重量)，特别是 1 - 10% (重量) 的量；(iii) 同时乌索酸和齐墩果酮酸或其盐是以大于 3.6、优选 4.0 - 6.0 的重量比例存在；(iv) 余量为其它物质，包括甘油酯类和/或除乌索酸和齐墩果酮酸之外的三萜类化合物。 和这些浓缩物的制备方法。

1. 含有乌索酸和齐墩果酸或它们的食品可接受盐的浓缩物，其中所述的浓缩物含有：

- (i) 乌索酸和齐墩果酸或其食品可接受盐，以浓缩物的总量计，两者的总量大于 22 重量%；
- (ii) 糖残余物，以浓缩物的总量计，含量小于 40 重量%；
- (iii) 同时乌索酸和齐墩果酸或其盐是以乌索酸和齐墩果酸或它们的盐的重量比例为大于 3.6 存在；
- (iv) 余量为其它物质，包括甘油酯类和/或除乌索酸和齐墩果酸之外的三萜类化合物。

2. 按照权利要求 1 的浓缩物，其中所述浓缩物含有乌索酸和齐墩果酸或其食品可接受盐，以浓缩物的总量计，两者的总量为 30-65 重量%。

3. 按照权利要求 1 的浓缩物，其中所述浓缩物含有糖残余物，以浓缩物的总量计，含量小于 25 重量%。

4. 按照权利要求 3 的浓缩物，其中所述浓缩物含有糖残余物，以浓缩物的总量计，含量为 1-10 重量%。

5. 按照权利要求 1 的浓缩物，其中乌索酸和齐墩果酸或其盐是以乌索酸和齐墩果酸或它们的盐的重量比例为 4.0-6.0 存在。

6. 按照权利要求 1 的浓缩物，其中所述的其他物质(iv)是以 15-65 重量%的量存在。

7. 按照权利要求 6 的浓缩物，其中所述的其他物质(iv)是以 25-50 重量%的量存在。

8. 权利要求 1-7 任一项的浓缩物，其中所述的其他物质含有 1-40% 的甘油酯并且剩余的是其他的三萜类化合物，其中其他的萜类化合物含有山楂酸和/或果树酸和/或皮甾酸。

9. 含有有效量的权利要求 1-8 任一项的浓缩物的食品，使食品可以通过该食品的正常日消耗来提供 10-100% 的乌索酸和

齐墩果酸的推荐日摄取量。

10. 食品补剂，含有包封形式的权利要求 1-8 任一项的浓缩物。

11. 权利要求 10 的食品补剂，其中所述的包封材料选自糖类、淀粉类、改性淀粉类、水胶体类、树胶和明胶。

12. 制备具有权利要求 1-8 任一项的的浓缩物的方法，该方法是通过：

(i) 选择含有足够量的乌索酸和齐墩果酸的天然材料；

(ii) 干燥下面的材料，使含水量小于 10 重量 %

a) 步骤 (i) 的天然材料，或

b) 步骤 (iii a) 的研磨或粉碎的湿材料，

(iii) 研磨或粉碎

a) 步骤 (i) 的湿的天然材料，或

b) 步骤 (ii a) 的干燥天然材料，

(iv) 用有机溶剂提取

a) 步骤 (iii b) 得到的研磨或粉碎的材料，或

b) 步骤 (ii a) 得到的研磨或粉碎的材料，并且收集最终浓缩物在溶剂中的提取物。

(v) 除去步骤 (iv a) 或步骤 (iv b) 之后得到的提取物中的溶剂。

13. 权利要求 12 的方法，其中有机溶剂是丙酮、乙酸乙酯或乙醇。

14. 权利要求 12 的方法，其中进行步骤 (ii) 或步骤 (iii) 之前或者随后进行水溶液洗涤，此后通过干燥得到的湿产物，所述的水溶液以水溶液:天然材料大于 2:1 的重量比例使用。

15. 权利要求 14 的方法，其中所述水溶液以水溶液:天然材料为 5:1 至 30:1 的重量比例使用。

16. 权利要求 14 的方法，其中该水溶液是碱的溶液。

17. 权利要求 16 的方法，其中该水溶液具有 8-12 的 pH。

18. 权利要求 14 的方法，其中该水溶液是酸性溶液。

19. 权利要求 18 的方法，其中该水溶液具有 0-2 的 pH。

20. 权利要求 12 的方法，其中进行研磨或粉碎前或随后利用一个中间洗涤步骤、用酸和碱，或反过来，处理直至达到约中性。

21. 权利要求 12-20 任一项所述的方法，其中天然原料在其接受权利要求 12 所述加工步骤 (ii) 或 (iii) 的任何步骤之前用有机溶剂洗涤。

22. 权利要求 21 的方法，其中所述有机溶剂是丙酮、乙酸乙酯或乙醇。

23. 按照权利要求 12-20 任一项的方法，其中所述的天然原料是由苹果果皮得到的。

24. 权利要求 12-20 任一项所述的方法，其中实施所述的研磨或粉碎直至得到粒度小于 20mm 的颗粒为止。

25. 权利要求 24 的方法，其中实施所述的研磨或粉碎直至得到粒度介于 2-20mm 的颗粒为止。

26. 权利要求 12-20 任一项所述的方法，其中所述的采用水溶液的洗涤是在至少 35℃ 的温度下进行。

27. 权利要求 26 的方法，其中所述的采用水溶液的洗涤是在至少 70℃ 的温度下进行。

28. 含有权利要求 1-8 任一项的乌索酸和齐墩果酸或其盐的浓缩物的应用，其中该浓缩物用于改进最终食品中的脂肪或脂肪混合物的结晶行为，从而：

- (i) 提高脂肪混合物或终产物的硬度，和/或
- (ii) 改进脂肪混合物或终产物的可塑性，和/或
- (iii) 改善脂肪混合物或终产物的口服口感，和/或
- (iv) 增强脂肪混合物或终产物的耐热性，和/或
- (v) 加快脂肪混合物或终产物的结晶速率，和/或
- (vi) 提高脂肪混合物和/或终产物的换气特性，和/或
- (vii) 减少冰淇淋涂层的干燥时间。

三萜类化合物的浓缩物

乌索酸和齐墩果酸 (oleanoic acid) 是公知的化合物, 可以由多种果皮中分离出它们。可以采用的果皮的典型示例是苹果果皮, 但更多的来源公开在例如 US 5 948 460 的第 2 栏 1.16-20 行中。在文献(参考例如 JP 09/020674 或 SU 827066 或 de Sousa Menezes 在 Anais da Bras de Cincias, Acad Brasileira de Cincias, Rio de Jan vol 70, 1998, p. 761 或 Bock c. s 在 Die Nahrung vol 10, 1966, p. 409 或 Croteau in Phytochem vol 8, 1969, p. 219) 中, 一种由果皮分离乌索酸和/或齐墩果酸的标准方法是用有机溶剂如丙酮或乙醇进行果皮的提取。然而, 出于多种原因, 人们发现现有技术的结果并不令人满意。已经发现所得的产物具有严重的异味, 这妨碍它们在食品中的应用。而且, 只能够以低收率获得这些化合物, 这可能归因于在果皮中存在大量的未确定有机化合物, 它们可能是单分子或高分子糖残余物, 由此致使提取产品的处理非常困难。此外还发现, 所得产物的纯度显著低于食品应用所能够接受的纯度, 同时这些产物具有不期望的绿色, 使它们无法被应该具有清淡或温和色泽的食品应用所接受。

因此, 我们研究了是否能够发现克服上述缺点并且得到没有这些缺陷的乌索酸和齐墩果酸的浓缩物的途径。

这个研究成功地发现了新的浓缩物, 其含有相对大量的乌索酸和齐墩果酸或其食品可接受盐, 如其碱金属或碱土金属盐, 并且可以直接用在食品中而不存在已知浓缩物的缺点。所以, 本发明首先涉及一种浓缩物, 其中含有相当大量的乌索酸和齐墩果酸或其食品可接受的盐, 其中该浓缩物含有:

- (i) 乌索酸和齐墩果酸或其食品可接受盐, 两者的总量大于 22 % (重量), 优选 30-65 % (重量);
- (ii) 糖残余物, 含量小于 40 % (重量), 优选小于 25 % (重量), 特别是 1-10 % (重量) 的量;
- (iii) 同时乌索酸和齐墩果酸或其盐是以大于 3.6、优选 4.0-6.0 的重量比例存在;
- (iv) 余量为其它物质, 包括甘油酯类和/或除乌索酸和齐墩果酸之外的

三萜类化合物。

所述的糖残余物可以包括单分子糖，如葡萄糖和果糖，但也包括双分子糖，如蔗糖和糖的低聚物。

优选的产物是那些其中其它物质(iv)以 15-65 % (重量)，优选 25-50 % (重量) 的量存在的产物。这些其它物质包括甘油酯和另外的三萜类化合物，特别是含有 1-40 % (重量) 的甘油酯且剩余为另外的三萜类化合物的其它物质，其另外的萜类化合物包括山楂酸和/或果树酸 (pomolic acid) 和/或皮鹿蹄酸 (pirolonic acid)。

含有新浓缩物的食品也是本发明的组成部分，并且因此本发明还涉及含有有效量权利要求 1-3 所述的浓缩物的食品，从而所述食品可以通过该食品的正常日消耗来提供 10-100% 的乌索酸和齐墩果酸的推荐日摄取量。该推荐日摄取量可以是 10mg-4g/kg 体重，这取决于采用所述食品作为保健成分来治疗的缺乏症的类型。有效量是指保健成分的消耗表现出显著效果时的用量。

新的浓缩物也可以以食品补剂的形式使用，因此本发明还涉及含有包封形式的本发明浓缩物的食品补剂。该浓缩物可以包封在食品级或食品可接受材料中；特别是在此所用的包封材料选自糖类、淀粉类、改性淀粉类、水胶体、树胶和明胶。

为了得到一种经济且可行的从天然废料中分离乌索酸和齐墩果酸的有用浓缩物的途径，我们开发出一种新方法。该方法获得较高收率的预期活性成分（存在于该废料中的乌索酸和齐墩果酸），并且同时获得比迄今为止得到的更加纯净形式的上述活性成分。因此按照本发明的另一实施方式，本发明还涉及一种制备具有本发明的组成的浓缩物的方法，该方法通过：

(i) 选择含有足够量的乌索酸和齐墩果酸的天然材料；

(ii) 干燥下面两种材料，使含水量小于 10 % (重量)

a) 步骤 (i) 的天然材料，或

b) 步骤 (iii a) 的磨制或粉碎的湿材料，

(iii) 研磨或粉碎

a) 步骤 (i) 的湿的天然材料，或

b) 步骤 (ii a) 的干燥天然材料，

(iv) 用有机溶剂提取

a) 步骤(iii b)得到的磨制或粉碎材料, 或

b) 步骤(ii a)得到的磨制或粉碎材料,

所述有机溶剂优选丙酮、乙酸乙酯或乙醇, 并且收集最终浓缩物在溶剂中的提取物。

(v) 除去步骤(iv a)或步骤(iv b)之后得到的提取物中的溶剂。

在那些其中希望得到食品可接受盐的情况下, 可以用碱处理上述提取物并且可以分离出盐。

虽然上述方法业已获得了较好的产物和较高的收率, 但我们发现, 如果步骤(ii)或步骤(iii)进行前或者随后进行水溶液洗涤, 此后通过干燥得到的湿产物时, 这些产物和收率可以进一步提高, 所述的水溶液优选以水溶液: 天然材料大于 2:1, 优选 5:1 至 30:1 的重量比例使用。

如果该水溶液是碱的溶液并且优选具有 8-12 的 pH, 或者如果该水溶液是酸性溶液, 优选 pH = 0-2 时, 可以获得进一步的改进。一种方法可以获得最佳结果, 该方法中研磨前或研磨之后利用一个中间洗涤步骤、用酸和碱(或反过来)处理直至达到约中性。由此采用联合的碱/酸处理, 然而这些处理的顺序是无关的。

尽管许多不同来源的起始原料可以用在我们的方法中, 但我们发现, 当利用苹果皮形式的便宜且容易获得的起始原料时可以达到最佳结果。

我们进一步注意到, 在我们的研磨或粉碎步骤之后得到的产物的粒度也会影响本发明方法的效率。如果研磨或粉碎进行直至获得粒度小于 20mm、优选 2-20mm 的颗粒时可以获得最佳结果。

另一个重要的产物参数是水洗过程中的温度。已经发现, 当采用至少 35℃, 特别是至少 70℃ 的温度时可以得到最佳结果。

我们获得的浓缩物可以用于多种不同目的的食品中。譬如, 它们可以用来提供具有乌索酸或齐墩果酸的一种保健功能的食品。然而我们还发现, 这些成分对食品中存在的脂肪的结晶行为产生影响。因此, 按照最后的实施方式, 本发明还涉及乌索酸和齐墩果酸或其盐的浓缩物以及本发明的组合物的应用, 其中所述的浓缩物用来改变最终食品中脂肪或脂肪混合物的结晶行为:

(i) 提高脂肪混合物或终产物的硬度, 和/或

- (ii) 改进脂肪混合物或终产物的可塑性, 和/或
- (iii) 改善脂肪混合物或终产物的口服口感, 和/或
- (iv) 增强脂肪混合物或终产物的耐热性, 和/或
- (v) 加快脂肪混合物或终产物的结晶速率, 和/或
- (vi) 提高脂肪混合物和/或终产物的换气特性, 和/或
- (vii) 减少冰淇淋涂层的干燥时间。

实施例

实施例 1

本实施例说明苹果皮的单独/联合预处理对于乌索酸浓缩物的量和纯度的有益作用。

在 70℃ 的干燥箱中干燥苹果的果皮, 直至残余含水量<3%。由 3000 克湿果皮可以收集到 900 克干燥原料。在带有 1.5mm 筛具的 Retch 磨中研磨该原料。在预处理之前使全部原料通过这种筛具。通过不同的方式预处理上述磨制的果皮。这些单独预处理为:

水,

0.05M Na_2CO_3 ,

0.1N HCL,

0.2M H_3PO_4

联合预处理是:

0.2M H_3PO_4 , 随后 0.05M Na_2CO_3

单独预处理

将 90g 干燥并研磨的苹果果皮悬浮在 1800g 软化水中。将该混合物倾入 2L 的双壁层容器内, 该容器带有搅拌器和温度计。将搅拌器设定在 500rpm, 容器内温度保持在 98℃。在 98℃ 下 8 小时后, 将该混悬液冷却至 30℃, 并且收集到两个离心瓶内。将混悬液在 3000rpm 下离心 15 分钟。倾析出澄清的上层并且弃去, 将沉降物铺在圆盘上并且在 70℃ 的干燥箱内干燥, 直至残余含水量<3% 为止。用带有 1.5mm 筛具的 Retch 膜研磨该干燥的预处理果皮。

还可以用酸或碱性溶液代替软化水完成预处理。条件是:

1710 ml 0.1M HCL, 在 98℃ 下 6 小时,

1710 ml 0.05M Na_2CO_3 , 在 98℃ 下 4 小时,

1710 ml 0.2M H₃PO₄, 在 98℃ 下 6 小时。

联合预处理

除了用 0.2M H₃PO₄ 单独预处理以外, 可以用 0.05M Na₂CO₃ 进行二级预处理。出于这种目的, 将 90g 干燥并磨制的苹果果皮悬浮在 1686ml 软化水和 24ml H₃PO₄ (85%) 中。将该混合物倾入 2L 的双壁层容器内, 该容器带有搅拌器和温度计。将搅拌器设定在 500rpm, 容器内温度保持在 98℃。在 98℃ 下 6 小时后, 将该混悬液冷却至 30℃, 并且收集到两个离心瓶内。将混悬液在 3000rpm 下离心 15 分钟。倾析出澄清的上层并且弃去, 将沉降物铺在圆盘上并在 70℃ 的干燥箱内干燥, 直至残余含水量<3% 为止。用带有 1.5mm 筛具的 Retch 膜研磨该干燥的预处理果皮。

将磷酸处理过的果皮进行 0.05M Na₂CO₃ 的附加处理。将 40g 的这种原料悬浮在 760g 的软化水中并且用浓氢氧化钠调节 pH 至 7.0。加入 4g Na₂CO₃ 并且溶解。98℃ 下, 以 500rpm 搅拌该混悬液 4 小时。该混悬液在 3000rpm 下离心 15 分钟。倾析出澄清的上层并且弃去, 将沉降物铺在圆盘上并在 70℃ 的干燥箱内干燥, 直至残余含水量<3% 为止。用带有 1.5mm 筛具的 Retch 膜研磨该干燥的预处理果皮。

提取

将约 18g 的干燥和磨制的果皮(水<3%)置于索氏提取设备中并且用丙酮提取。提取持续 3 小时。在此期间, 每次提取都重复 18 次。通过真空旋转蒸发器的方式几乎除去全部丙酮。通过置于圆底烧瓶中、在 80℃ 的水浴中并用真空泵在 2 mbar 下维持 1 小时可以除去最后痕量的丙酮。称量该粗的丙酮提取物并且通过气相色谱分析。

分析

首先在 70℃ 下用 BSTFA 硅化(sililate)该粗的丙酮样本(粉末) 4 小时, 此后溶于己烷中, 随后注射到 GC 中。GC 的条件是:

柱: CP-Sil 5 CB 10m* 0.32mm Df = 0.12 载气 He

注射量: 1ul

注射类型: 在柱部分上冷却

冷却时间 10s

压力: 30kPa

注射温度: 80℃, 温度界面 250℃

烘箱加热程序 80℃ (2 分钟)-10℃/分钟-360℃ (15 分钟)

实施例 1 的结果

样品	由 100g 果皮提 取出的 量 (g)	三萜酸的 量/100g 果皮	丙酮提取物的组成 (%)					
			三萜酸		高分子 量的三 萜酸	TAGs	糖	其他
			乌索酸	齐墩果 酸				
未预处理	21.2	5.5	21.1	4.7	14.8	8.6	27.8	23.1
水 98C	20.2	7.9	32.1	7.2	22.2	10.0	7.5	21.0
0.05 M Na ₂ CO ₃	19.4	8.6	36.6	7.8	19.1	10.9	2.4	23.2
0.1 M HCL	28.0	10.9	31.6	7.4	16.1	12	6.6	26.3
0.2 M H ₃ PO ₄	29.8	7.8	21.8	4.3	11.8	8.8	4.5	48.8
联合: 0.2M H ₃ PO ₄ +0.05M Na ₂ CO ₃	22.4	10.0	37.1	7.5	17.6	12.2	3.0	22.6

实施例 2

本实施例说明研磨苹果果皮对乌索酸的可提取量的有益效果。

在 70℃ 的干燥箱中干燥苹果的果皮直至残余含水量 < 3%。由 898 克湿果皮可以收集到 274 克干燥原料。含水量为 2.8%。将这批次的干燥果皮分为 4 份, 每份 68.5g。用 Retch 磨中研磨该原料, 该 Retch 磨带有 24 齿的转鼓, 并且可以使用也可以不使用筛具。每一份用不用的筛具研磨。第一份样品(未研磨)本身接受提取。第二份样品(压碎)研磨但不使用筛具。这些颗粒具有 3-5mm 的直径。第三份样品(1.5mm)是用 1.5mm 的筛具获得。使这份果皮全部通过该筛具。第四份样品(0.2mm)是用 0.2mm 的筛具获得。

提取

按照实施例 1 所述的方法进行丙酮提取。

分析

按照实施例 1 所述的方法进行 GC-FID 分析。

实施例 2 的结果

样品	由 100g 果皮提取的量 (g)	三萜酸量 /100g 果皮	丙酮提取物的组成 (%)					
			三萜酸		高分子量三萜酸	TAGs	糖	其它
			乌索酸	齐墩果酸				
未研磨	15.0	3.0	15.4	4.4	16.0	0.6	44.2	19.4
压碎	19.1	3.2	13.0	3.9	13.1	3.5	47.4	19.1
1.5 mm	22.6	3.6	12.4	3.4	12.5	6.9	46.9	18.1
0.2 mm	27.9	4.9	13.8	3.8	14.2	9.7	41.4	17.1

实施例 3

本实施例说明联合预处理对于进行最低限度加工的苹果果皮的结果。对粗丙酮提取物的量和纯度产生有益效果。有两种加工方案。

a: 用水研磨，酸和碱预处理，随后干燥

b: 酸和碱预处理，随后干燥和研磨

这两种加工方案如下所述。

方案 a:

将 300g 的天然苹果果皮与 1676ml 的软化水和 24ml 的 H₃PO₄ (85 %) 混合。pH 为 1.5。将该混合物倾入 2L 的双壁层容器内，该容器带有搅拌器和温度计。将搅拌器设定在 500rpm，容器内温度保持在 98℃。在 98℃ 下 6 小时后，将该混悬液冷却至 30℃，用浓 NaOH 中和至 pH 7 并且收集到两个离心瓶内。混悬液在 3000rpm 下离心 15 分钟。倾析出澄清的上层并且弃去，把沉降物重新放回容器内。向容器中加入 1700g 水和 9.0g Na₂CO₃ 并且在 98℃ 下搅拌该混合物 4 小时。将果皮冷却至 30℃，收集在两个离心瓶内并且在 3000rpm 下离心 15 分钟。弃去澄清层，将沉降物铺在圆盘上并在 70℃ 的干燥箱内干燥，直至残余含水量 < 3% 为止。用带有 1.5mm 筛具的 Retch 磨研磨该干燥的预处

理果皮。

方案 b:

将 300g 天然苹果果皮与 1676 ml 软化水混合, 并且用胶体磨 (Prestomill PM30) 研磨该果皮和水的混合物。将该混合物倾入 2L 的双壁层容器内, 该容器带有搅拌器和温度计。加入 24ml 的浓 H_3PO_4 (85%)。将搅拌器设定在 500rpm, 容器内温度保持在 98℃。在 98℃ 下 6 小时后, 将该混悬液冷却至 30℃, 用浓 NaOH 中和至 pH 7 并且收集到两个离心瓶内。混悬液在 3000rpm 下离心 15 分钟。倾析出澄清的上层并且弃去, 把沉降物重新放回容器内。向容器中加入 1700g 水和 9.0g Na_2CO_3 , 并且在 98℃ 下搅拌该混合物 4 小时。将果皮冷却至 30℃, 收集在两个离心瓶内并且在 3000rpm 下离心 15 分钟。弃去澄清上层, 将沉降物铺在圆盘上并在 70℃ 的干燥箱内干燥, 直至残余含水量 < 3% 为止。

提取

按照实施例 1 所述的方法进行丙酮提取。

分析

按照实施例 1 所述的方法进行 GC-FID 分析。

实施例 3 的结果

样品	由 300g 湿果皮干燥所得量 (g)	由处理的果皮用丙酮提取的收率 (%)	丙酮提取物的组成 (%)					
			三萜酸		高分子量三萜酸	TAGs	糖	其它
			乌索酸	齐墩果酸				
方案 a	35.9	21.0	38.9	8.0	16.3	10.0	0.3	26.5
方案 b	36.4	17.6	38.7	8.1	17.0	7.2	0.6	28.4

观察到, 碱预处理的另一种效果是改进了器官感觉特性。碱处理的原料表现出明显变淡的色泽和较小的异味。