

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2012 年 2 月 2 日 (02.02.2012)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2012/013112 A1

- (51) 国际专利分类号:
A23L 1/333 (2006.01) A23L 1/28 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2011/076780
- (22) 国际申请日: 2011 年 7 月 1 日 (01.07.2011)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201010236666.9 2010 年 7 月 26 日 (26.07.2010) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 大连理工大学 (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国辽宁省大连甘井子凌工路 2 号土木水利学院, Liaoning 116024 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 修志龙 (XIU, Zhilong) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市甘井子区凌工路 2 号大连理工大学生命科学与技术学院, Liaoning 116024 (CN)。 杨向春 (YANG, Xiangchun) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市甘井子区凌工路 2 号大连理工大学生命科学与技术学院, Liaoning 116024 (CN)。 惠欢庆 (YU, Huanqing) [CN/CN]; 中国辽宁省大连甘井子凌工路 2 号大连理工大学生命科学与技术学院, Liaoning 116024 (CN)。 李晓晖 (LI, Xiaohui) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市甘井子区凌工路 2 号大连理工大学生命科学与技术学院, Liaoning 116024 (CN)。
- (74) 代理人: 大连理工大学专利中心 (PATENT CENTER OF DUT); 中国辽宁省大连甘井子凌工路 2 号大连理工大学专利中心, Liaoning 116024 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: METHOD FOR EXTRACTING EFFECTIVE INGREDIENTS FROM SEA CUCUMBER BY SALTING OUT

(54) 发明名称: 盐析萃取海参中有效成分的方法

(57) Abstract: Disclosed is a method for extracting effective ingredients from a sea cucumber by salting out, belonging to the technical field of seafood product processing. Certain electrolytes and common organic solvents are directly added into a sea cucumber extraction solution, thus forming an organic solvent/salt multiphase salting-out extraction system through the hydration of salt ions. Due to the difference in solubility, effective ingredients having different polarities in the sea cucumber are distributed in different proportions into each phase, thus separating and concentrating the effective ingredients. Salt and hydrophilic organic substances of low molecular weight are added, in a certain ratio, into the sea cucumber extraction solution, the solution is stirred evenly, and then allowed to stand or is centrifuged, thus forming a dual water phase; salt, hydrophilic organic substances of low molecular weight and hydrophobic organic substances are then added, in a certain ratio, into the sea cucumber extraction solution, the solution is stirred evenly, and allowed to stand or is centrifuged, thus forming a three-liquid phase salting-out extraction system. The novel salting-out extraction method provided by the present invention is used for simultaneously extracting and separating multiple effective ingredients from a sea cucumber, has the advantages of convenient operation, mild conditions and low cost, and can effectively reduce the toxic effect of heavy metals.

(57) 摘要: 本发明公开了一种盐析萃取海参中有效成分的方法, 属于海产品深加工技术领域。向海参提取液中, 直接加入某些电解质和普通有机溶剂, 利用盐离子的水化作用, 形成有机溶剂/盐多相盐析萃取体系。根据溶解度差异, 海参中极性不同的有效成分在各相中的分配不同, 实现有效成分的分离与浓缩。将盐与亲水性低分子有机物按一定比例加入到海参提取液中, 搅拌均匀, 静置或离心, 形成双水相; 另外将盐、亲水性低分子有机物以及疏水性有机物按一定比例加入到海参提取液中, 搅拌均匀, 静置或离心, 形成三液相盐析萃取体系。本发明开发了一种同时提取与分离海参多种有效成分、操作简便、条件温和、成本低廉、并有效降低重金属毒害作用的新型盐析萃取方法。

WO 2012/013112 A1

说明书

发明名称：盐析萃取海参中有效成分的方法

- [1] 技术领域
- [2] 本发明属于海产品深加工技术领域，涉及一种从海参中盐析萃取有效成分的方法，特别涉及双水相和三液相萃取海参有效成分的方法。
- [3] 背景技术
- [4] 海参是人们熟悉的一种海产珍品，被称为‘海中人参’，具有很高的营养价值和药用价值。海参体内不但富含氨基酸、必需脂肪酸、维生素和化学元素等人体所需的 50 多种营养成分，还含有多种生物活性物质，如海参皂苷、海参多糖、海参胶原蛋白、多不饱和脂肪酸、脑苷脂类以及海参经酶解产生的海参肽等。这些成分均有很高的营养价值和药用价值，如：必需脂肪酸对增强人体免疫力和人脑的机能具有重要作用；海参皂苷具有抗肿瘤、抗真菌、抗放射、抗原虫的作用以及免疫调节和抗疲劳等作用；海参多糖具有抗凝血、抗肿瘤、免疫调节、延缓衰老等多种生物活性；海参蛋白具有生血、养血、保护胃粘膜及抗溃疡作用，还有抗过敏、降血压、降胆固醇、抗衰老、促进伤口愈合和促进钙质吸收等生物学功能。由于各种成分均具有很高的营养价值和药用价值，因此在医药、保健、食品等领域有着广泛的应用。
- [5] 目前海参有效成分的提取多采用鲜海参做原料，经酶解法和碱提醇沉法提取海参多糖，或用酸沉结合多级醇沉的方法以及利用酶解结合盐析的方法提取蛋白质。这些方法都是针对某种海参活性物质（如蛋白质或者多糖）进行提取分离，通常没有综合考虑海参其它的有效活性物质，容易造成珍贵资源浪费，加之提取分离方法复杂导致产品成本偏高。而海参加工蒸煮液中含有与海参自身几乎相同的组成，如 10-30 g/l 蛋白和 150-300 g/l 粗多糖，将这些有效成分提取出来无疑可以显著提高海参制品的附加值。
- [6] 利用海参加工蒸煮液提取与分离有效成分已有一些报道。如 赵前程等用等电点沉降和分级醇沉的方法从海参加工蒸煮液中获得粗蛋白和多糖（中国专利：CN101585873A）；袁文鹏等人采用醇沉技术从海参煮汁中回收多糖（

CN101343332)；姜玉宝研究了醇沉、脱盐、蒸馏等方法回收海参煮汁中的油（CN101473979A）。虽然这些技术能在一定程度上达到分离的目的，但也存在明显的缺陷：一是上述方法只针对一、二种活性物质，其它海参有效成分容易在提取分离过程中损失；二是用的较多的醇沉技术乙醇用量大，生产周期长，活性成分损失多，给后期纯化精制也增加了难度。

- [7] 针对上述存在的问题，开发简易高效的提取分离海参多种有效成分的方法具有重要的实用价值。多相盐析萃取技术是一种能同时萃取多种有效成分、操作简单、条件温和、可连续操作、易于放大的提取分离方法。其中由亲水性低分子有机物与盐形成的新型双水相萃取技术具有价格低廉、溶剂回收容易、分相时间短等优势，因此在生物基化学品、氨基酸、抗生素、天然产物、中药成分等的提取中得到了广泛的应用。申请人所在的课题组做了大量的研发工作（中国专利：CN 101531652A；CN 101012151A；Biotechnology Letters，2008，30：2079-2084；2009，31：371-376）。而由疏水性有机物 / 亲水性低分子有机物 / 盐形成的三液相体系可同时萃取两种以上极性相差较大的有效成分，操作简单、条件温和、分相时间短等。申请人所在课题组将该技术应用于天然产物的提取分离，取得了理想的效果（中国专利：CN101637667；Process Biochemistry, 2010，45: 752-756）。但在海参有效成分的提取分离中尚无文献报道，本发明尝试应用多相盐析萃取体系萃取海参中的有效成分。

- [8] 发明内容

- [9] 为解决现有海参有效成分提取中存在的目标产物单一、其它有效成分损失大、成本高、操作过程繁琐、生产周期长、溶剂耗量大等问题，本发明提供了一种亲水性低分子有机物 / 盐形成的新型双水相体系及疏水性有机物 / 亲水性低分子有机物 / 盐 / 水三液相体系从海参加工蒸煮液中同时提取分离多种有效成分的方法。

- [10] 本发明的技术方案如下：

- [11] 一种盐析萃取分离海参有效成分的方法，其操作步骤如下：向海参提取液中，直接加入某些电解质和普通有机溶剂，利用盐离子的水化作用，形成有机溶

剂 / 盐多相盐析萃取体系。根据溶解度差异，海参中极性不同的有效成分在各相中的分配不同，从而实现有效成分的分离与浓缩。如：将盐与 亲水性低分子有机物 按一定比例加入到海参提取液中，搅拌均匀，静置或离心，形成双水相：海参醇溶性有效成分富集在上相，蛋白质和多糖主要分配到上相和下相之间的固相中，重金属则被富集在下相；另外将盐、 亲水性低分子有机物以及疏水性有机物 按一定比例加入到海参提取液中，搅拌均匀，静置或离心，形成三液相盐析萃取体系： 海参油脂富集在上相，少量可溶性蛋白和多糖分配在中相， 绝大部分 蛋白和多糖分配在中相与下相之间的固相中，同时重金属被富集在下相。

[12] 其中双水相体系中盐的质量百分数为 10~30%， 亲水性低分子有机物的质量百分数为 15~40%， 萃取温度为 15~40℃，搅拌、静置分相的时间为0.1~4.0 h， 或者在 2000 ~ 8500 rpm 下离心 5 ~ 20 min；三液相体系盐的质量百分数为 10~30%， 亲水性低分子有机物的质量百分数为 15~40%，疏水性有机物的质量百分数为 10~40%，搅拌均匀、静置分相 0.1~4.0 h 或者在 2000 ~ 8500 rpm 下离心 5 ~ 20 min， 萃取温度为 15~40℃。

[13] 所适用的海参提取液是指含有海参有效成分的液体，包括鲜海参汁液或其浓缩液，也可以是海参加工蒸煮液或其浓缩液。海参加工蒸煮液是指蒸煮海参所得废液。

[14] 所选用的 亲水性低分子有机物 为 乙醇、乙二醇、正丙醇、异丙醇、1，2- 丙二醇、1，3- 丙二醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇、1，2- 丁二醇、1，3- 丁二醇、1，4- 丁二醇、2，3- 丁二醇、丙酮中的一种或几种组合；所选用的盐为氯化钠、氯化锂、硫酸铵、硫酸钠、碳酸钠、碳酸钾、醋酸钠、醋酸钾、磷酸钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、柠檬酸钠、柠檬酸钾、草酸钠、草酸钾中的一种或几种组合；所选用的疏水性有机物为乙酸甲酯、乙酸乙酯、正己烷。

[15] 其中 萃取操作可以是一次萃取、多次萃取、连续萃取或逆流萃取。

[16] 本发明的有益效果是和现有的提取分离方法相比较，本发明利用多相盐析萃取体系对极性不同的多种有效成分进行同步提取与分离，获得了海参油、醇溶性

有效成分（以乙醇为萃取剂可制作海参酒）、粗蛋白和多糖等多种产品，完成目标产物的初步纯化。经过萃取后获得的固相冷干粉中有害重金属离子（砷、汞、铅、镉）的含量显著降低，有益离子（钙、铁，镁、锌）大部分保留。整个生产工艺操作简单、生产成本低、周期短、萃取条件温和、有机溶剂廉价易回收、粘度低传质分相快、易于产业化、产品符合食品安全的要求。

[17] 具体实施方式

[18] 实施例中所用的海参加工蒸煮液浓缩液是通过下述方法得到。

[19] 用 100 目滤网对海参蒸煮废液进行粗过滤，将滤液离心，再将离心上清液进行超滤浓缩脱盐、灭菌、灭酶，之后再离心过滤，最后经三效浓缩后即得海参蒸煮浓缩液。

[20] 实施例中蛋白的浓度用凯氏定氮法（GB 5009.5-85）确定；多糖用 DNS 法测定；油脂按国标法（GB/T 5009.6 - 2003）测定；金属离子按国标用原子吸收光谱法检测：Fe、Mg（GB/T 5009.90-2003），Zn（GB/T 5009.14-2003），Cd（GB/T 5009.15-2003），Se（GB/T 5009.93-2003），Pb（GB/T 5009.12-2003），As（GB/T 23372-2009），Hg（GB/T 5009.17-1996），Ca（GB/T 5009.92-2003），Cu（GB/T 5009.13-2003）。

[21] 实施例 1：碳酸钠 / 乙醇体系萃取海参中的有效成分

[22] 步骤 1 向海参加工蒸煮液浓缩液中加入无水碳酸钠和乙醇，使其浓度达到 16 % 和 21 %（w/w），搅拌摇匀，放在 37 °C 水浴中静置 10min 形成双水相，并在 5000rpm 下离心 10min，使分相完全。测定各相的蛋白和多糖表明，有 90.3 % 的糖和 96.1 % 的蛋白分配在固相。

[23] 步骤 2 取出上、下相界面层间的固相，将其冷冻干燥制成粉末。

[24] 步骤 3 将制得的粉末样品经消化处理，进行金属离子的测定，测定结果显示，金属汞、铅、砷未检出；镉的含量为 2.865 mg/L，降低到原浓缩液冷干粉的 60 %；硒的含量为 0.150 mg/L；钙的含量为 2785 mg/L；铜的含量为 3.7 mg/L；铁的含量为 95.6 mg/L；镁的含量为 867.5 mg/L；锌的含量为 9.2 mg/L。

[25] 实施例 2：三液相萃取海参有效成分

- [26] 步骤 1 向海参加工蒸煮液浓缩液中加入无水碳酸钠和乙醇，使其浓度达到 16 % 和 21 % (w/w) ，再加入正己烷使其浓度达到无水碳酸钠、乙醇、正己烷总质量的 28 % (w/w) ，搅拌摇匀，放在 37 °C 水浴中 静止 10min 形成三液相，并在 5000rpm 下离心 10min ，使其分相完全。测定各相的蛋白和多糖表明，有 96.9 % 的蛋白和 71.2 % 的糖分配在固相。
- [27] 步骤 2 取出上相将正己烷蒸发得到油脂，经三液相萃取得到的海参油提取率为 63.3 % 。
- [28] 实施例 3 ：硫酸铵 / 叔丁醇体系萃取海参中有效成分
- [29] 步骤 1 向海参加工蒸煮液浓缩液中加入硫酸铵 (30 % w/v) 和叔丁醇 (1:1.5 ，海参加工蒸煮液 v : 叔丁醇 v) ，搅拌摇匀，放在室温静止 0.5h 形成双水相。
- [30] 步骤 2 将双水相的 187ml 上相取出，在 37 °C 下旋转蒸发除去叔丁醇，得到 海参醇溶性有效成分。
- [31] 步骤 3 取出上、下相界面层间的固相，将其冷冻干燥制成粉末 。
- [32] 步骤 4 将制得的粉末样品经高氯酸 、 浓硝酸 消化处理，进行金属离子的测定，测定结果显示有害重金属镉的含量为 0.620 mg/L ，降低到原浓缩液冷干粉的 13 % 。

权利要求书

[权利要求 1]

1. 一种盐析萃取分离海参中有效成分的方法，其特征在于：

(1) 将盐与 亲水性低分子有机物 水溶液按比例直接加入到海参提取液中，搅拌均匀，静置分相或离心分相，形成双水相：海参醇溶性有效成分富集在上相，蛋白质和多糖主要分配到上相和下相之间的固相中，重金属则被富集在下相；双水相体系中盐的质量百分数为 10~30%，亲水性低分子有机物的质量百分数为 15~40%，萃取温度为 15~40℃，静置分相的时间为 0.1~4.0h 或者在 2000 ~ 8500 rpm 下离心 5 ~ 20 min；

(2) 将盐、亲水性低分子有机物以及疏水性有机物 按比例加入到海参提取液中，搅拌均匀，静置或离心，形成三液相盐析萃取体系：海参油脂富集在上相，少量可溶性蛋白和多糖分配在中相，绝大部分蛋白和多糖分配在中相与下相之间的固相中，同时重金属被富集在下相；

三液相体系中盐的质量分数为 10~30%，亲水性低分子有机物的质量百分数为 15~40%，疏水性有机物的质量百分数为 10~40%，静置分相 0.1~4.0 h 或者在 2000 ~ 8500 rpm 下离心 5 ~ 20 min，萃取温度为 15~40℃。

2. 根据权利要求 1 所述的一种盐析萃取分离海参有效成分的方法，其特征在于：所述的海参提取液是指含有海参有效成分的液体，包括鲜海参汁液、鲜海参汁液浓缩液、海参加工蒸煮液或海参加工蒸煮液浓缩液。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种盐析萃取分离海参有效成分的方法，其特征在于：所选用的亲水性低分子有机物为乙醇、乙二醇、正丙醇、异丙醇、1, 2-丙二醇、1, 3-丙二醇、正丁醇、异丁醇、叔丁醇、1, 2-丁二醇、1, 3-丁二醇、1, 4-丁二醇、2, 3-丁二醇、丙酮中的一种或几种组合。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种盐析萃取分离海参有效成分

的方法，其特征在于：所选用的盐为氯化钠、氯化锂、硫酸铵、硫酸钠、碳酸钠、碳酸钾、醋酸钠、醋酸钾、磷酸钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、柠檬酸钠、柠檬酸钾、草酸钠、草酸钾中的一种或几种组合。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种盐析萃取分离海参有效成分的方法，其特征在于：所选用的疏水性有机物为乙酸甲酯、乙酸乙酯或正己烷。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种盐析萃取分离海参有效成分的方法，其特征在于：萃取操作是一次萃取、多次萃取、连续萃取或逆流萃取。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/076780

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A23L 1/333, A23L 1/28, A23L 1/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, GOOGLE: sodium chloride, potassium chloride, lithium chloride, ammonium sulfate, sodium sulfate, potassium carbonate, potassium phosphate, potassium dihydrogen phosphate, dipotassium hydrogen phosphate, extract+, SEA W PUMPKIN, SEA W CUCUMBER, TREPANG, HOLOTHURIAN, ORGANIC, SALT, alcohol or glycol or ethanol or glycol or propanol or isopropanol or propylene or glycol or butanol or isobutano or butanediol or butanediol or acetone. sodium acetate, potassium acetate, sodium citrate, potassium citrate, sodium oxalate, potassium oxalate, methyl acetate, ethyl acetate, hexane, ethylene glycol, isobutanol, tert-butyl alcohol

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN101531652A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 16 September 2009 (16.09.2009) the claims	1-6
X	CN101637667A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 03 February 2010 (03.02.2010) the claims	1-6
PX	CN101897448A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 01 December 2010 (01.12.2010) the claims	1-6
A	CN101451157A (DALIAN HAIYANTANG BIOLOGY CO., LTD.) 10 June 2009 (10.06.2009) the whole document	1-6
A	CN101012151A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 08 August 2007 (08.08.2007) the whole document	1-6
A	JP63128001 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 31 May 1988 (31.05.1988) the whole document	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 16 September 2011 (16.09.2011)	Date of mailing of the international search report 13 October 2011 (13.10.2011)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P.R.China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Fax No: (86-10) 62019451	Authorized officer AN Yuping Telephone No. (86-10) 82245312

International application No.
PCT/CN2011/076780

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/076780

A. (Continuation of second sheet) CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L 1/333 (2006.01) i

A23L 1/28 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2011/076780

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A23L 1/333, A23L 1/28, A23L 1/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))WPI, EPDOC, CNPAT, CNKI, GOOGLE: 海参, 刺参, 参, 有机物, 乙醇, 乙二醇, 正丙醇, 异丙醇, 丙二醇, 正丁醇, 异丁醇, 叔丁醇, 丁二醇, 丙酮, 盐, 氯化钠, 氯化钾, 氯化锂, 硫酸铵, 硫酸钠, 碳酸钾, 醋酸钾, 磷酸钾, 磷酸二氢钾, 磷酸氢二钾, 柠檬酸钠, 柠檬酸钾, 草酸钠, 草酸钾, 盐, 萃取, 提取, extract+, SEA W PUMPKIN, SEA W CUCUMBER, TREPANG, HOLOTHURIAN , ORGANIC, SALT, alcohol or glycol or ethanol or glycol or propanol or isopropanol or propylene or glycol or butanol or isobutano or butanediol or butanediol or acetone. sodium acetate, potassium acetate, sodium citrate, potassium citrate, sodium oxalate, potassium oxalate, methyl acetate, ethyl acetate, hexane

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN101531652A (大连理工大学) 16.9 月 2009 (16.09.2009) 权利要求书	1-6
X	CN101637667A (大连理工大学) 03.2 月 2010 (03.02.2010) 权利要求书	1-6
PX	CN101897448A (大连理工大学) 01.12 月 2010 (01.12.2010) 权利要求书	1-6
A	CN101451157A (大连海晏堂生物有限公司) 10.6 月 2009 (10.06.2009) 全文	1-6
A	CN101012151A (大连理工大学) 08.8 月 2007 (08.08.2007) 全文	1-6
A	JP63128001 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 31.5 月 1988 (31.05.1988) 全文	1-6

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
16.9 月 2011 (16.09.2011)

国际检索报告邮寄日期
13.10 月 2011 (13.10.2011)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

受权官员

安玉苹
电话号码: (86-10) **82245312**

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2011/076780

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN101531652A	16.09.2009	无	
CN101637667A	03.02.2010	无	
CN101897448A	01.12.2010	无	
CN101451157A	10.06.2009	无	
CN101012151A	08.08.2007	无	
JP63128001 A	31.05.1988	无	

续: 第 2 页 A. 主题的分类

A23L 1/333 (2006.01) i

A23L 1/28 (2006.01) i