

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 562**

51 Int. Cl.:

C07H 17/07 (2006.01)

A61K 8/60 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61K 36/00 (2006.01)

A61K 36/75 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.12.2008 E 08867275 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2012 EP 2223930**

54 Título: **Procedimiento para la producción de material que contiene eriocitrina**

30 Prioridad:

27.12.2007 JP 2007337778

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

07.03.2013

73 Titular/es:

**POKKA CORPORATION (100.0%)
4-2-29, SAKAE NAKA-KU
NAGOYA-SHI AICHI 460-8415, JP**

72 Inventor/es:

**HIRAMITSU, MASANORI;
OMORI, TOSHIKAZU;
YAMAGUCHI, KENJI y
BESSHO, HIROAKI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 397 562 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Procedimiento para la producción de material que contiene eriocitrina

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un material que contiene eriocitrina obtenido de un cítrico, el cual se usa de manera favorable, por ejemplo, en productos alimenticios o bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos, y a un procedimiento para la producción de la misma.

Antecedentes de la invención

10 Los frutos cítricos son conocidos por ser ricos en antioxidantes, tales como eriocitrina, 6,8-di-C-glucosildiosmetina, y 6-C-glucosildiosmetina, pertenecientes a polifenoles. Estos antioxidantes obtenidos de materiales naturales pueden usarse de manera favorable en diversos productos industriales tales como productos alimenticios o bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos. Estos antioxidantes pueden extraerse a partir de frutos cítricos de acuerdo con procedimientos previamente conocidos descritos en los Documentos de Patente 1 a 3.

15 Los Documentos de Patente 1 y 2 describen respectivamente un procedimiento para la producción de un material que contiene polifenol, el cual comprende la purificación, usando tratamiento con resina de fase inversa o cromatografía líquida, de un extracto obtenido a partir de un material cítrico usando agua, un disolvente orgánico, o un disolvente mezclado de los mismos.

20 El Documento de Patente 3 describe un procedimiento para la producción de un material alimenticio que contiene eriocitrina en una alta concentración. El procedimiento descrito en el Documento de Patente 3 comprende: obtención de un extracto a partir de al menos uno de zumos, pieles, y resto exprimido de frutos cítricos usando un extractante; aplicación del extracto a una resina de adsorción sintética porosa de manera tal que la eriocitrina es adsorbida sobre esta resina; para la eliminación de las impurezas, lavado, con agua, de la resina de adsorción sintética que comprende la eriocitrina adsorbida sobre la misma; y, a continuación, separación y recuperación de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción sintética usando un disolvente orgánico.

25 Los procedimientos de producción descritos en los Documentos de Patente 1 y 2 implican el fraccionamiento basado en la cromatografía líquida de alta eficacia para aumentar la pureza del polifenol en el material que contiene polifenol obtenido. Sin embargo, este procedimiento, el cual es complicado y requiere mucho tiempo, da como resultado un incremento en el coste de producción del material que contiene polifenol. Como alternativa, el procedimiento de producción descrito en el Documento de Patente 3 implica, para la eliminación de impurezas, el lavado, con agua, de la resina de adsorción sintética que comprende la eriocitrina adsorbida sobre ella. Sin embargo, los alimentos suplementados con el material que contiene eriocitrina obtenido, en particular, los alimentos suplementados con este material a una alta concentración, tienen aún amargor u otros sabores desagradables y dejan un sabor residual desagradable en la boca después de haber sido ingeridos. El material que contiene eriocitrina producido mediante el procedimiento descrito en el Documento de Patente 3 tiene un peculiar sabor de tipo de medicina de hierbas chinas (sabor de fármaco bruto) atribuido al calor aplicado en las etapas de extracción, concentración, y purificación. Además, los materiales que contienen polifenoles en general tienden a tener sabores desagradables o pardeamiento debido a cambios a lo largo del tiempo. De acuerdo con ello, es difícil alcanzar el mantenimiento de calidad a largo plazo.

Documento de Patente 1: Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta Pública Nº. 9-48969

Documento de Patente 2: Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta Pública Nº. 10-245552

40 Documento de Patente 3: Publicación de Patente Japonesa Abierta a Consulta Pública Nº. 2000-217560

Divulgación de la invención

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina obtenida de un cítrico, que tenga bajos contenidos de componentes responsables del deterioro en la calidad del material que contiene eriocitrina.

45 Para lograr el objetivo,

50 Un aspecto de la presente invención proporciona un procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina, el cual comprende las etapas de: preparación de un extracto cítrico que contiene eriocitrina a partir de un fruto cítrico usando un extractante; y separación de la eriocitrina procedente del extracto cítrico. La etapa de separación de eriocitrina procedente del extracto cítrico comprende las etapas de: puesta en contacto el extracto cítrico con una resina de adsorción sintética porosa de tal manera que la eriocitrina en el extracto cítrico es adsorbida sobre la resina de adsorción sintética porosa, comprendiendo la resina de adsorción sintética porosa una resina de fenol-formaldehído como una estructura principal y conteniendo grupos hidroxilo fenólico y amino; y elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción sintética porosa usando un disolvente de elución.

El material que contiene eriocitrina producido de acuerdo con la presente invención puede usarse para proporcionar un producto alimenticio o bebida, un producto farmacéutico, y un cosmético que comprende dicho material que contiene eriocitrina formulado en ella.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

5 En lo que sigue a continuación, se describirá una realización de la presente invención. Un material que contiene eriocitrina de la presente descripción contiene, en una alta concentración, eriocitrina que tiene excelentes efectos antioxidantes. Este material que contiene eriocitrina se agrega fundamentalmente para uso, por ejemplo, en productos alimenticios o bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos. El material que contiene eriocitrina se produce usando frutos cítricos como una materia prima. Preferiblemente, el material que contiene eriocitrina está fundamentalmente compuesto de eriocitrina. La frase "fundamentalmente compuesto de eriocitrina" significa que un contenido de eriocitrina ocupa el más alto porcentaje de materia sólida soluble en el material que contiene eriocitrina. Preferiblemente, el contenido de eriocitrina es del 20% en peso o superior, más preferiblemente del 50% en peso o superior, en la materia sólida soluble.

15 La eriocitrina, también denominada eriodictiol-7-rutinósido, es un glicósido flavonoide en el que la rutinosa (L-ramnosil-D-glucosa) está unida con eriodictiol ($C_{15}H_{12}O_6$; también denominado 3',4',5,7-tetrahidroxiflavanona) que pertenece a las flavanonas, un grupo de flavanoides.

Los ejemplos de frutos cítricos usados como una materia prima para el material que contiene eriocitrina incluyen frutos cítricos altamente aromáticos (por ejemplo, limón (*Citrus limon*), lima (*Citrus aurantifolia*), *Citrus depressa*, *Citrus sudachi*, *Citrus junos*, naranja amarga (*Citrus aurantium*), y *Citrus sphaerocarpa*), uvas (*Citrus paradisi*), naranja navel (*Citrus sinensis* var. *brasiliensis*), naranja de Valencia (*Citrus sinensis* cv. Valencia), naranja amarga, *Citrus hassaku*, *Citrus unshui*, *Citrus iyo*, *Citrus reticulata*, *Citrus natsudaidai* Hayata f. *Kawanonatsudaidai*, y pomelo (*Citrus máxima* o *Citrus grandis*). Entre ellos, son preferibles los frutos del limón y lima los cuales son especialmente ricos en eriocitrina. El material que contiene eriocitrina contiene eriocitrina obtenida de uno o más de estos frutos cítricos.

25 La eriocitrina está contenida en una gran cantidad en las pieles de los frutos cítricos. En este contexto, los frutos cítricos abarcan pieles, zumos, segmentos de pulpa, bolsas de zumos y semillas. Las pieles de los frutos cítricos contienen, además de eriocitrina, componentes olorosos responsables de peculiares olores de tipo de medicina de hierbas chinas (olores de fármacos brutos), de componentes de sabores responsables del amargor u otros sabores desagradables, y componentes coloreados responsables de la generación de turbidez o reducción real de la frescura. Estos componentes del olor, sabor, y coloreados son generalmente fácilmente extraídos conjuntamente con la eriocitrina a partir de las pieles de frutos cítricos usando, por ejemplo, agua o alcohol.

El material que contiene eriocitrina de la presente realización está reducido en cuanto a olores peculiares de tipo de medicina de hierbas chinas causado por el calor aplicado en las etapas de extracción, concentración, y purificación y olores desagradables causados por cambios a lo largo del tiempo. En consecuencia, el material que contiene eriocitrina es de uso adecuado en productos alimenticios o bebidas, cosméticos y productos farmacéuticos que tienen formas de dosificación para administración oral o transdérmica. Más aún, el material que contiene eriocitrina, cuando se ingiere oralmente, ofrece un fuerte amargor u otros sabores desagradables y deja un fuerte sabor residual desagradable en la boca. En consecuencia, el material que contiene eriocitrina es de uso adecuado de manera particular en productos alimenticios y bebidas y productos farmacéuticos que tienen formas de dosificación para administración oral.

Los materiales que contienen eriocitrina se producen, en primer lugar, mediante la obtención de un extracto cítrico que contiene eriocitrina a partir de frutos cítricos (o porciones de los mismos). Cuando se usan porciones de los frutos cítricos como una materia prima, las pieles o los restos exprimidos de los frutos cítricos son los preferibles. En este caso, se obtiene fácilmente un extracto cítrico rico en eriocitrina. El resto exprimido es el residuo dejado después de exprimir los zumos procedentes de los frutos cítricos. Este resto contiene pieles, segmentos de pulpa, una porción de sacos de zumo, semillas, y una cantidad pequeña excedente de los zumos no exprimidos. Cuando el resto exprimido se usa como una materia prima, preferiblemente se elimina el exocarpio (flavedo). Para mejorar la eficacia de la extracción, la materia prima preferiblemente se fracciona previamente, por ejemplo, mediante cortado, pulverizado, o molido. Por ejemplo, puede usarse un procesador de alimentos para fraccionar la materia prima.

50 El extracto cítrico se obtiene a partir de los frutos cítricos usando un disolvente orgánico o agua como extractante. El disolvente orgánico puede ser un disolvente polar, por ejemplo, alcohol (por ejemplo, metanol, etanol, butanol, propanol, e isopropanol), glicerina, o ácido acético glacial o puede ser un disolvente no polar, por ejemplo, hexano o acetato de etilo. El extractante puede usarse solo o en combinación con dos o más de los disolventes. Cuando el material que contiene eriocitrina se agrega para uso a productos alimenticios o bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos, el agua o etanol es preferible desde el punto de vista de aplicabilidad, el coste de producción del material que contiene eriocitrina, y la eficacia de extracción de eriocitrina. La temperatura de extracción (temperatura del extractante) no está particularmente limitada y puede ser la temperatura ambiente, por ejemplo, 5 a 45°C. La extracción puede llevarse a cabo bajo condiciones o bien estáticas o bien de agitación. El tiempo de extracción es preferiblemente de 30 minutos o mayor para la extracción de una cantidad suficiente de eriocitrina. Para incrementar la

eficacia de extracción de eriocitrina e incrementar la transparencia del extracto cítrico obtenido, puede agregarse igualmente pectinasa dentro del extractante para lograr la degradación de la pectina contenida en la materia prima, simultáneamente con la extracción de eriocitrina.

5 El extracto cítrico así obtenido a partir de los frutos cítricos se somete a separación sólido-líquido para la eliminación de la materia sólida contenida en el extracto cítrico obtenido. La separación sólido-líquido puede llevarse a cabo usando un procedimiento conocido en la técnica, tal como separación por centrifugación o por membrana. La centri-
10 fugación es preferible por motivos de su conveniencia. Antes de la separación sólido-líquido usando separación por centrifugación o por membrana, puede eliminarse previamente gran cantidad de materia sólida tal como pieles del extracto cítrico mediante filtración por malla o decantación. El extracto cítrico (solución del extracto) así separado de la materia sólida mediante eliminación a base de la separación sólido-líquido se concentra o diluye con agua, si es necesario. La concentración del extracto cítrico puede llevarse a cabo usando un procedimiento conocido en la técnica, tal como concentración por vacío, concentración por membrana, o concentración por congelación. Cuando se usa etanol como el extractante y tiene una concentración que excede del 20% en volumen en el extracto cítrico, el extracto cítrico se concentra o diluye preferiblemente con agua para ajustar la concentración de etanol en el mismo al 20% en volumen o inferior.

El extracto cítrico así separado de la materia sólida mediante eliminación a base de la separación sólido-líquido se concentra o diluye con agua, si es necesario, y, a continuación, se somete a la separación de la eriocitrina usando una resina de adsorción sintética porosa. Específicamente, se usa una resina de adsorción de fenol-formaldehído (primera resina de adsorción sintética porosa) que comprende una resina de fenol-formaldehído como una estructura principal y que tiene grupos hidroxilo fenólico y amino como grupos funcionales, y el extracto cítrico se pone en contacto con la resina de adsorción de fenol-formaldehído de manera tal que la eriocitrina contenida en el extracto cítrico es adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. A continuación, la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído se eluye usando un disolvente de elución para obtener una fracción de eriocitrina. La eriocitrina no es solamente adsorbida físicamente sobre la superficie de la resina de adsorción de fenol-formaldehído sino también químicamente y adsorbida mediante intercambio de iones por la acción del grupo amino que es un grupo débilmente básico y el grupo hidroxilo fenólico que es un grupo débilmente ácido en la resina de adsorción de fenol-formaldehído en las regiones ácidas y neutras. Las resinas de adsorción sintéticas porosas generales tiene un tamaño de poro más grande (varias decenas a varios cientos de angstroms) que la del carbón activo y, en consecuencia, pueden adsorber sobre ellas sustancias que tienen un tamaño molecular relativamente grande. La resina de adsorción de fenol-formaldehído puede ser, por ejemplo, o bien HOKUETSU HS o bien HOKUETSU KS fabricadas por Ajinomoto Fine-Techno Corp., Inc.

El contacto del extracto cítrico con la resina de adsorción de fenol-formaldehído se lleva a cabo mediante la aplicación del extracto cítrico a la resina de adsorción de fenol-formaldehído empaquetada en una columna. La resina de adsorción de fenol-formaldehído así puesta en contacto con el extracto cítrico preferiblemente se lava.

35 El lavado de la resina de adsorción de fenol-formaldehído está destinado a eliminar impurezas distintas de la eriocitrina de la resina de adsorción de fenol-formaldehído y se lleva cabo vertiendo un disolvente de lavado a la resina de adsorción de fenol-formaldehído en la columna, poniéndole en contacto, de esta forma, con el extracto cítrico. Preferiblemente, el disolvente de lavado no eluye la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. Específicamente, el disolvente de lavado puede ser agua o un disolvente orgánico, el cual puede ser el mismo que el usado como el extractante. El disolvente de lavado se pone en contacto con la resina de adsorción de fenol-formaldehído de manera tal que las impurezas son eluidas dentro del disolvente de lavado, en tanto que la eriocitrina permanece durante la adsorción en la resina de adsorción de fenol-formaldehído sin ser eluida dentro del disolvente de lavado. Esto es debido a que en presencia del disolvente de lavado, la adsorción de algunas impurezas sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído es más débil que la adsorción de la eriocitrina sobre la misma. La temperatura del disolvente de lavado no está particularmente limitada y puede ser la temperatura ambiente, por ejemplo, 5 a 40°C. Sin embargo, la temperatura del disolvente de lavado es preferiblemente de 40 a 100°C para eliminar más eficazmente las impurezas. Cuando se usa alcohol acuoso como el agente de lavado, el disolvente de lavado tiene preferiblemente una concentración en alcohol del 20% en volumen o inferior, para la reducción de la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído dentro del disolvente de lavado.

La elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído usando el disolvente de elución se lleva a cabo lavando, si es necesario, la resina de adsorción de fenol-formaldehído en la columna, puesta en contacto, de esta forma, con el extracto cítrico y, a continuación, vertiendo un disolvente de elución a la resina de adsorción de fenol-formaldehído. Como resultado de ello, se obtiene una fracción de eriocitrina, es decir, un eluido de eriocitrina. El disolvente de elución que se ha usado para la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído puede ser un disolvente orgánico, por ejemplo, alcohol (por ejemplo, metanol, etanol, butanol, propanol, e isopropanol), acetona, hexano, cloroformo, glicerina, o ácido acético glacial o puede ser agua. El disolvente de elución puede usarse solo o en combinación de dos o más de los disolventes. Cuando el material que contiene eriocitrina se agrega para uso en productos alimenticios o bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos, el etanol o agua es preferible desde el punto de vista de aplicabilidad, del coste de producción del material que contiene eriocitrina, y de la eficacia de recuperación de eriocitrina. Cuando se usa etanol acuoso como el disolvente de elución, el disolvente de elución tiene, preferiblemente, una concentración en etanol del 20 al 90% en

volumen, más preferiblemente del 40 al 85% en volumen, particularmente de manera preferible del 60 al 80% en volumen. En el disolvente de elución que tiene una concentración en etanol del 20% en volumen o superior, la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído se eluye de manera particularmente eficaz. En el disolvente de elución que tiene una concentración en etanol del 90% en volumen o inferior, los componentes responsables del deterioro del aroma del material que contiene eriocitrina son eluidos en cantidades mucho menores.

El eluido de eriocitrina así obtenido puede usarse como el material que contiene eriocitrina o bien directamente o bien después de concentrarse, secarse, o diluirse con agua, si es necesario. La concentración y secado del eluido de eriocitrina puede llevarse a cabo usando un procedimiento conocido en la técnica, tal como concentración por vacío, concentración por membrana, crioconcentrado, secado en vacío, o liofilizado.

El extracto cítrico antes de ser sometido a la separación de la eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído puede someterse a separación de la eriocitrina usando otra resina de adsorción sintética porosa, si es necesario. Como alternativa, el eluido de eriocitrina obtenido sometiendo el extracto cítrico a la separación de la eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído puede someterse a la separación de la eriocitrina usando otra resina de adsorción sintética porosa. En ambos casos, se logra una calidad superior del material que contiene eriocitrina y un contenido en eriocitrina superior en el material que contiene eriocitrina. Preferiblemente, la separación de eriocitrina usando otra resina de adsorción sintética porosa que es diferente de la resina de adsorción de fenol-formaldehído se lleva a cabo antes de la separación de la eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído. La separación de la eriocitrina usando otra resina de adsorción sintética porosa que es diferente de la resina de adsorción de fenol-formaldehído se lleva a cabo usando una resina de adsorción sintética porosa (segunda resina de adsorción sintética porosa) que comprende al menos una seleccionada entre resinas de adsorción estirénicas y acrílicas. Específicamente, el extracto cítrico o el eluato de eriocitrina se pone en contacto con la segunda resina de adsorción sintética porosa de manera tal que la eriocitrina contenida en el extracto cítrico o el eluato de eriocitrina es adsorbido sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa. A continuación, la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa se eluye usando un disolvente de elución para obtener una fracción de eriocitrina.

La segunda resina de adsorción sintética porosa puede ser, por ejemplo, cualquiera de entre DUOLITE S-861, DUOLITE ES-865, AMBERLITE XAD-4, AMBERLITE XAD-7, y AMBERLITE XAD-16 todas ellas fabricadas por Rohm and Haas Co., o cualquiera de entre DIAION HP20, DIAION HP2MG, SEPABEADS SP207, SEPABEADS SP700, y SEPABEADS SP825 todas ellas fabricadas por Mitsubishi Chemical Corp.

El contacto del extracto cítrico o del eluido de eriocitrina con la segunda resina de adsorción sintética porosa se lleva a cabo aplicando el extracto cítrico o el eluido de eriocitrina a la segunda resina de adsorción sintética porosa empaquetada en una columna. La segunda resina de adsorción sintética porosa así puesta en contacto con el extracto cítrico o el eluido de eriocitrina preferiblemente se lava.

El lavado de la segunda resina de adsorción sintética porosa está destinado a eliminar impurezas distintas de la eriocitrina de la segunda resina de adsorción sintética porosa y se lleva cabo vertiendo un disolvente de lavado a la segunda resina de adsorción sintética porosa en la columna, poniéndola en contacto, de esta forma, con el extracto cítrico o el eluido de eriocitrina. Preferiblemente, el disolvente de lavado no eluye la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa. Específicamente, el agente de lavado puede ser agua o un disolvente orgánico, el cual puede ser el mismo que el usado como el extractante. La temperatura del disolvente de lavado no está particularmente limitada y puede ser la temperatura ambiente, por ejemplo, 5 a 40°C. Sin embargo, la temperatura del disolvente de lavado es preferiblemente de 40 a 100°C para eliminar más eficazmente las impurezas. Cuando se usa alcohol acuoso como el agente de lavado, el disolvente de lavado tiene preferiblemente una concentración en alcohol del 20% en volumen o inferior, para la reducción de la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa dentro del disolvente de lavado.

La elución de la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa usando el disolvente de elución se lleva a cabo lavando, si es necesario, la segunda resina de adsorción sintética porosa en la columna, puesta en contacto, de esta forma, con el extracto cítrico o el eluido de eriocitrina y, a continuación, vertiendo un disolvente de elución a la segunda resina de adsorción sintética porosa. Como resultado de ello, se obtiene una fracción de eriocitrina, es decir, un eluido de eriocitrina. El disolvente de elución que se ha usado para la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa puede ser un disolvente orgánico, por ejemplo, alcohol (por ejemplo, etanol), acetona, hexano, cloroformo, glicerina, o ácido acético glacial o puede ser agua. El disolvente de elución puede usarse solo en combinación de dos o más de los disolventes. Cuando el material que contiene eriocitrina se agrega para uso en productos alimenticios o bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos, el etanol o agua es preferible desde el punto de vista de aplicabilidad, del coste de producción de la materia que contiene eriocitrina, y de la eficacia de recuperación de eriocitrina. Cuando se usa etanol acuoso como el disolvente de elución, el disolvente de elución tiene, preferiblemente, una concentración en etanol del 20 al 50% en volumen, más preferiblemente del 30 al 40% en volumen. En el disolvente de elución que tiene una concentración en etanol del 20% en volumen o superior, la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa se eluye de manera particularmente eficaz. En el disolvente de elución que tiene una concentración en etanol del 50% en volumen o inferior, los componentes responsables del deterioro del aroma del material que contiene eriocitrina son eluidos en cantidades mucho menores.

El eluido de eriocitrina obtenido sometiendo el extracto cítrico a la separación de eriocitrina usando la segunda resina de adsorción sintética porosa, puede posteriormente someterse a la separación de eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído. En este caso, cuando el eluido de eriocitrina sometido a la separación de eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído tiene una concentración en etanol que supera el 20% en volumen, el eluido de eriocitrina preferiblemente se diluye o concentra previamente para ajustar la concentración en etanol en la misma al 20% en volumen o inferior. Como alternativa, el eluido de eriocitrina obtenido sometiendo el extracto cítrico a la separación de eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído puede posteriormente someterse a la separación de eriocitrina usando la segunda resina de adsorción sintética porosa. En este caso, cuando el eluido de eriocitrina aplicado a la segunda resina de adsorción sintética porosa tiene una concentración en etanol que supera el 20% en volumen, el eluido de eriocitrina preferiblemente se diluye o concentra previamente para ajustar la concentración del etanol en la misma al 20% en volumen o inferior.

El material que contiene eriocitrina de la presente realización está formulada principalmente para uso, por ejemplo, en productos alimenticios y bebidas (por ejemplo, bebidas, bebidas alcohólicas, alimentos, alimentos sanos, bebidas sanas, y suplementos nutricionales), productos farmacéuticos, cuasi fármacos, productos farmacéuticos para animales, piensos, y cosméticos, para demostración *in vivo* de los excelentes efectos antioxidantes de la eriocitrina.

Los ejemplos de los productos alimenticios y bebidas en los cuales puede formularse el material que contiene eriocitrina incluyen: bebidas suaves tales como té negro, té de cebada, té verde, té oolong, mezcla de tés, té de hierbas silvestres, té de hierbas, café, bebida de zumo de fruta, bebidas de vegetales, cacao, leche de soja, bebida para deportistas, bebida carbonatada, y bebidas de leche; productos de repostería tales como golosinas, galletas, y aperitivos; y bebidas alcohólicas tales como cóctel, licores blancos, combinaciones cítricas, cerveza, y vino. El material que contiene eriocitrina puede igualmente formularse en otros alimentos que contienen un agente gelificante tal como pectina, carrageno o diversos condimentos. El producto alimenticio o la bebida que comprende el material que contiene eriocitrina formulada en él puede contener además aditivos, tales como azúcares (por ejemplo, glucosa, sacarosa, fructosa, lactosa, dextrina, fibra dietética, y polisacáridos) acidulantes, aromas, edulcorantes (por ejemplo, estevia, aspartamo, y alcohol azúcar), agentes colorantes, estabilizadores, vitaminas, aminoácidos, minerales diversos, y grasa y aceite de plantas o animales, apropiadamente formulados en ellos sin alterar las ventajas de la presente invención.

Cuando el material que contiene eriocitrina se usa como un producto farmacéutico, el material que contiene eriocitrina puede administrarse no solamente mediante administración oral, sino también mediante otros diversos procedimientos tales como administración intramuscular y transdérmica. La forma farmacéutica del material que contiene eriocitrina que se usa como un producto farmacéutico no está particularmente limitada y puede ser, por ejemplo, polvos, polvos secos, gránulos, comprimidos, cápsulas, píldoras, supositorios, soluciones, o inyecciones. El material que contiene eriocitrina que se usa como un producto farmacéutico puede contener además aditivos, tales como excipientes, bases, emulsionantes, disolventes, o estabilizadores, formulados en él mismo.

De acuerdo con la presente realización, pueden obtenerse las ventajas mostradas más adelante.

En la presente realización, la separación de eriocitrina del extracto cítrico se lleva a cabo usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído que comprende una resina de fenol-formaldehído como una estructura principal que tiene grupos hidroxilo fenólico y amino. De esta forma, los componentes obtenidos de pieles, etc., de frutos cítricos, tales como componentes olorosos, amargos y coloreados, responsables del deterioro de la calidad del material que contiene eriocitrina son eliminados de manera eficaz. De acuerdo con ello, el material que contiene eriocitrina obtenido es de alta calidad y contiene eriocitrina en una alta concentración. Más específicamente, el material que contiene eriocitrina obtenido en la presente realización apenas tiene olores desagradables, amargor y astringencia incrementados, o pardeamiento causado por cambios a lo largo del tiempo y es excelentemente estable a lo largo del tiempo.

En la presente realización, la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído se eluye usando el etanol acuoso que tiene una concentración en etanol del 20 al 90% en volumen. Esto permite la eliminación de manera eficaz de los componentes responsables del deterioro en el aroma y el aspecto del material que contiene eriocitrina, al tiempo que permite la elución y recuperación de manera eficaz de la eriocitrina.

En la presente realización, antes o después de la separación de eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído, la etapa de separación de eriocitrina se lleva a cabo preferiblemente usando la segunda resina de adsorción sintética porosa que comprende al menos una seleccionada entre resinas de adsorción estirénicas y acrílicas. Esto permite la separación o eliminación más eficaz de los componentes responsables del deterioro en el aroma y el aspecto de la materia que contiene eriocitrina y permite un contenido adicional superior de eriocitrina en el material que contiene eriocitrina.

El material que contiene eriocitrina obtenido en la presente realización puede formularse en productos alimenticios y bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos, y dichos productos alimenticios y bebidas, productos farmacéuticos, y cosméticos tienen olor, sabor, y color de alta calidad, a pesar de la alta concentración de eriocitrina contenida en los mismos. Por esto, son en consecuencia ingeridos o usados fácilmente.

5 Cuando el resto exprimido dejado después de exprimir los zumos procedentes de frutos cítricos se usa como una materia prima para el material que contiene eriocitrina, puede obtenerse una gran cantidad del extracto cítrico que contiene eriocitrina de manera extremadamente fácil. El resto exprimido del fruto cítrico se genera en una gran proporción a partir de la producción de productos de bebidas que contienen zumo de fruto cítrico. En consecuencia, este puede obtenerse a un bajo coste. Además, la reutilización del resto exprimido de frutos cítricos es ventajoso desde el punto de vista de la Food Recycling Law.

La realización puede cambiarse o modificarse tal como sigue a continuación.

10 La separación de eriocitrina usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído no solamente se lleva a cabo una vez sino que, además, puede repetirse dos o más veces. Igualmente, la separación de eriocitrina usando la resina de adsorción sintética porosa que comprende al menos una seleccionada entre resinas de adsorción estirénicas y acrílicas no se lleva a cabo una vez sino que puede igualmente repetirse dos o más veces. En este caso, se logra además la eliminación de impurezas.

La forma del material que contiene eriocitrina no está particularmente limitada y puede ser, por ejemplo, una forma líquida o en polvo.

15 A continuación, la presente invención se describirá adicionalmente de manera específica con referencia a Ejemplos y Ejemplos Comparativos.

<Producción de material que contiene eriocitrina>

Ejemplo 1

20 Se pulverizaron 2 kg de restos exprimidos de limón, y este material pulverizado se sumergió en 10 litros de agua como un extractante y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos para obtener una solución de extracto de limón. La solución de extracto de limón obtenida se filtró a través de una malla (tamaño de la malla: 500 µm/malla 32) y, a continuación, se centrifugó a 9.000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante después de centrifugación se sometió a ultrafiltración a un corte de peso molecular de 20.000, obteniéndose un filtrado transparente (solución de extracto bruto).

25 El filtrado obtenido se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS fabricada por Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción de fenol-formaldehído. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 80% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contiene eriocitrina del Ejemplo 1.

Ejemplo 2

35 Se agregó agua al material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo 1 para preparar 2 litros de una solución, la cual, a su vez, se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción estirénica (AMBER-LITE XAD-16 fabricada por Rohm and Haas Co.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción estirénica. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción estirénica. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo 2.

Ejemplo 3

45 Se pulverizaron 2 kg de restos exprimidos de limón, y esta materia pulverizada se sumergió en 10 litros de agua como un extractante y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos para obtener una solución de extracto de limón. La solución de extracto de limón obtenida se filtró a través de una malla (tamaño de la malla: 500 µm/malla 32) y, a continuación, se centrifugó a 9.000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante después de centrifugación se sometió a ultrafiltración a un corte de peso molecular de 20.000, obteniéndose un filtrado transparente (solución de extracto bruto).

50 El filtrado obtenido se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS fabricada por Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción de fenol-formaldehído. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo 3.

Ejemplo 4

Se agregó agua al material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo 3 para preparar 2 litros de una solución, la cual, a su vez, se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción estirénica (AMBERLITE XAD-16 fabricada por Rohm and Haas Co.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción estirénica. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción estirénica. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo 4.

10 Ejemplo Comparativo 1

Se obtuvo un material que contenía eriocitrina mediante los mismos procedimientos que en el Ejemplo 1, excepto que se usó una resina de adsorción estirénica (AMBERLITE XAD-16 fabricada por Rohm and Haas Co.) en lugar de la resina de adsorción de fenol-formaldehído y que se usó etanol acuoso con una concentración del 40% en volumen como un disolvente de elución en lugar del etanol acuoso con una concentración en etanol del 80% en volumen.

15 Ejemplo 5

Se agregó agua al material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo Comparativo 1 para preparar 2 litros de una solución, la cual, a su vez, se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS fabricada por Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción de fenol-formaldehído. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo 5.

25 Ejemplo 6

Se agregó agua al material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo Comparativo 1 para preparar 2 litros de una solución, la cual, a su vez, se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS fabricada por Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción de fenol-formaldehído. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 80% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo 6.

35 Ejemplo Comparativo 2

Se agregó agua al material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo Comparativo 1 para preparar 2 litros de una solución, la cual, a su vez, se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción estirénica (AMBERLITE XAD-16 fabricada por Rohm and Haas Co.). A continuación, se vertieron 600 ml de agua y 600 ml de etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen como disolventes de lavado en orden a la columna a fin de lavar la resina de adsorción estirénica. A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción estirénica. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo Comparativo 2.

Ejemplo Comparativo 3

El filtrado transparente (solución de extracto bruto) obtenido en el Ejemplo 1, se aplicó a una columna empaquetada con 200 ml de una resina de adsorción de fenol-formaldehído (AMBERLITE XAD-761 fabricada por Rohm and Haas Co.). A continuación, se vertió 1 litro de etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen como un disolvente de elución a la columna para eluir la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído. El eluido así obtenido se concentró en vacío para la eliminación del etanol, obteniéndose un material que contenía eriocitrina del Ejemplo Comparativo 3. En este contexto, la AMBERLITE XAD-761 tiene una resina de fenol-formaldehído como estructura principal y grupos hidroxilo fenólico y metilol como grupos de intercambio de iones y tiene un tamaño de poro promedio de 600 angstroms.

<Evaluación de calidad sobre materiales que contenían eriocitrina>

Los materiales que contienen eriocitrina de los Ejemplos 1 a 6 y los Ejemplos Comparativos 1 a 3 se ajustaron a una concentración igual de 1.800 ppm determinada usando cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Estos se mi-

5 dieron por separado para determinar la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm y los valores Brix de las concentraciones del material sólido soluble y además se evaluaron para determinar el aroma. Las mediciones de absorbancia se llevaron a cabo usando un espectrómetro de doble haz modelo U-2000 fabricado por Hitachi, Ltd. La evaluación del aroma se llevó a cabo evaluando olores de fármacos brutos y amargores mediante una valoración sensorial de una escala de 7 puntos de -, ±, +, ++, +++, +++++, y ++++++. El número mayor de + representa olores de fármacos brutos o amargores más fuertes. En la Tabla 1 se muestran los resultados de la medición y evaluación.

Tabla 1

Clasificación	Eriocitrina (ppm)	Brix	Eriocitrina/Brix	Absorbancia (420 nm)	Aroma	
					Olor de fármaco bruto	Amargor
Ejemplo 1	1.800	2,5	720	1,082	++	+++
Ejemplo 2	1.800	0,9	2.000	1,073	+	++
Ejemplo 3	1.800	1,1	1.636	1,080	+	++
Ejemplo 4	1.800	0,8	2.250	1,014	±	+
Ejemplo 5	1.800	0,6	3.000	0,448	±	±
Ejemplo 6	1.800	0,8	2.250	0,604	+	+
Ejemplo Comparativo 1	1.800	1,3	1.385	2,253	++++	++++
Ejemplo Comparativo 2	1.800	1,3	1.385	1.690	+++	+++
Ejemplo Comparativo 3	1.800	1,4	1,286	2,587	++	++

Los resultados mostrados en la Tabla 1 demostraron lo siguiente.

- 10 -El material que contenía eriocitrina del Ejemplo 1 obtenido usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS) se confirmó que tiene mejor aroma y menos coloración que los del material que contiene eriocitrina de los Ejemplos Comparativos 1 y 2 obtenidos usando solamente la resina de adsorción estirénica (AMBERLITE XAD-16).
- 15 -El material que contenía eriocitrina del Ejemplo 2 obtenido usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído y, a continuación, la resina de adsorción estirénica (AMBERLITE XAD-16) se confirmó que tiene mucho mejor aroma y mucha menos coloración.
- El material que contenía eriocitrina del Ejemplo 2 se confirmó, tal como puede observarse a partir del gran valor de eriocitrina/Brix, que tiene un contenido en eriocitrina superior debido a la eliminación de impurezas.
- 20 -Los materiales que contenían eriocitrina de los Ejemplo 3 y 4 obtenidos usando etanol acuoso con una concentración relativamente baja en etanol para la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS) se confirmó que tienen aroma más favorable, menos coloración y un valor de eriocitrina/Brix más grande que los de los materiales que contienen eriocitrina de los Ejemplos 1 y 2 obtenidos usando etanol acuoso con una concentración relativamente alta en etanol.
- 25 -El material que contenía eriocitrina del Ejemplo Comparativo 3 obtenido usando la resina de adsorción de fenol-formaldehído (AMBERLITE XAD-761) que es diferente de la resina de adsorción de fenol-formaldehído que tiene grupos hidroxilo fenólico y amino se confirmó que redujo de manera insuficiente la coloración.
- 30 -Los materiales que contenían eriocitrina de los Ejemplo Comparativos 1 y 2 obtenidos usando la resina de adsorción estirénica en lugar de la resina de adsorción de fenol-formaldehído tenían aroma desfavorable, redujeron de manera insuficiente la coloración y un valor de eriocitrina/Brix pequeño. Por el contrario, los materiales que contenían eriocitrina de los Ejemplos 5 y 6 obtenidos usando la resina de adsorción estirénica y, a continuación, la resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS) tenían mejor aroma, menos coloración y un valor de eriocitrina/Brix más alto.

-En conclusión, es evidente que se obtiene un material que contiene eriocitrina de alta calidad que tiene aroma y color favorable usando la resina e adsorción de fenol-formaldehído que tiene grupos hidroxilo fenólico y amino.

<Producción de bebida aromatizada con limón que contiene material que contiene eriocitrina>

5 **Ejemplo 7**

Se formularon 70 g de sacarosa y 2 g de citrato trisódico en 20 g de zumo de limón concentrado transparente (Brix 40). Se agregó a ello el material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo 2 a una concentración final de eriocitrina de 600 ppm, y se agregó agua para preparar 1 litro de una solución. Esta solución se esterilizó a 85°C durante 30 segundos y, a continuación, se envasó en caliente en botellas en una cantidad de 100 ml/botella para obtener una bebida aromatizada con limón del Ejemplo 7. La bebida aromatizada con limón se dejó reposar a 60°C durante 3 días para acelerar los cambios a lo largo del tiempo. A continuación, la bebida aromatizada con limón se midió para determinar la absorbancia a una longitud de onda a 420 nm y además se evaluó el aroma. La evaluación del aroma se llevó a cabo evaluando olores desagradables y amargores mediante valoración sensorial sobre una escala de 7 puntos de -, ±, +, ++, +++, +++++, y ++++++. El número mayor de + representa olores desagradables o amargores más fuertes. En la Tabla 2 se muestran la medición y los resultados de la evaluación.

Ejemplo Comparativo 4

Se formularon 70 g de sacarosa y 2 g de citrato trisódico en 20 g de zumo de limón concentrado transparente (Brix 40). Se agregó a ello el material que contenía eriocitrina obtenido en el Ejemplo Comparativo 2 a una concentración final de eriocitrina de 600 ppm, y se agregó agua para preparar 1 litro de una solución. Esta solución se esterilizó a 85°C durante 30 segundos y, a continuación, se envasó en caliente en botellas en una cantidad de 100 ml/botella para obtener una bebida aromatizada con limón del Ejemplo Comparativo 4. La bebida aromatizada con limón se dejó reposar a 60°C durante 3 días para acelerar los cambios a lo largo del tiempo. A continuación, la bebida aromatizada con limón se sometió a la medición de absorbancia y evaluación del aroma de la misma manera que en la bebida aromatizada con limón del Ejemplo 7. En la Tabla 2 se muestran los resultados.

25 Tabla 2

Clasificación	Absorbancia (420 nm)	Aroma	
		Olor desagradable	Amargor
Ejemplo 7	0,317	+	+
Ejemplo Comparativo 4	0,451	+++	++

Tal como se muestra en la Tabla 2, la bebida aromatizada con limón del Ejemplo 7 se confirmó que tiene menos coloración o deterioro del aroma causado por cambios a lo largo del tiempo que la bebida aromatizada con limón del Ejemplo Comparativo 4.

30 <Estudio sobre el disolvente de elución>

Cuando se produce el material que contenía eriocitrina del Ejemplo 1 usando etanol acuoso con una concentración en etanol del 80% en volumen como disolvente de elución, la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción de fenol-formaldehído se eluyó incrementando secuencialmente la concentración en etanol del disolvente de elución, es decir, usando secuencialmente, como disolvente de elución, etanol acuoso con una concentración en etanol del 10% en volumen, etanol acuoso con una concentración en etanol del 20% en volumen, etanol acuoso con una concentración en etanol del 30% en volumen, etanol acuoso con una concentración en etanol del 40% en volumen, etanol acuoso con una concentración en etanol del 60% en volumen, etanol acuoso con una concentración en etanol del 80% en volumen, y etanol al 100%. Los materiales que contenían eriocitrina resultantes, que se obtuvieron para cada concentración en etanol de la solución de disolvente, se ajustaron a la misma concentración en eriocitrina de 1800 ppm. Estos se midieron por separado para determinar la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm y los valores Brix de las concentraciones de materias sólidas solubles y además se evaluaron para determinar el aroma. Más aún, cada filtrado transparente (solución de extracto bruto) se midió antes de aplicarlo a la columna empaquetada con la resina de adsorción de fenol-formaldehído (HOKUETSU HS) para determinar los contenidos en eriocitrina usando HPLC. En base a los contenidos, se determinaron las proporciones de recuperación de eriocitrina. La evaluación del aroma se llevó a cabo evaluando olores de fármacos brutos y amargor mediante valoración sensorial sobre una escala de 7 puntos de -, ±, +, ++, +++, +++++, y ++++++. El número mayor de + representa olores de fármacos brutos o amargores más fuertes. En la Tabla 3 se muestran la medición y los resultados de la evaluación.

Tabla 3

Disolventes de elución	Eriocitrina (ppm)	Brix	Eriocitrina/Brix	Absorbancia (420 nm)	Aroma		Proporción de recuperación de eriocitrina
					-	±	
10% en volumen de etanol	1.800	2,1	857	0,700	-	±	5,8%
20% en volumen de etanol	1.800	1,9	947	0,648	±	+	20,4%
30% en volumen de etanol	1.800	1,4	1.286	1,000	±	+	40,6%
40% en volumen de etanol	1.800	1,1	1.636	1,080	+	++	49,0%
60% en volumen de etanol	1.800	1,8	1.000	1,136	+	++	73,2%
80% en volumen de etanol	1.800	2,5	720	1,082	++	+++	80,0%
100% en volumen de etanol	1.800	2,6	692	1,372	+++	++++	96,1%

5 Tal como se muestra en la Tabla 3, se confirmó que la concentración en etanol más baja en el disolvente de elución tiende a proporcionar menos coloración y mejor aroma en el material que contiene eriocitrina obtenido. Además, se confirmó que la concentración en etanol más alta en el disolvente de elución tiende a proporcionar una mayor proporción de recuperación de eriocitrina. Sin embargo, se confirmó igualmente que una concentración en etanol demasiado baja o una concentración en etanol demasiado alta en el disolvente de elución, tal como puede observarse a partir del pequeño valor de eriocitrina/Brix, da como resultado una eliminación insuficiente de impurezas. De acuerdo con ello, considerando todas las circunstancias, se demostró que la concentración en etanol en el disolvente de elución era de manera particular preferiblemente de 60 a 80% en volumen. Cuando se usó HOKUETSU KS fabricada por Ajinomoto Fine-Techno Co., Inc. como resina de adsorción de fenol-formaldehído en lugar de HOKUETSU HS, se obtuvieron los mismos resultados (datos no mostrados).

10

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina, caracterizado porque comprende las etapas de:
- 5 preparación de un extracto cítrico que contiene eriocitrina a partir de un fruto cítrico usando un extractante; y
- separación de la eriocitrina del extracto cítrico, en el que la etapa de separación de eriocitrina del extracto cítrico comprende las etapas de:
- 10 puesta en contacto del extracto cítrico con una resina de adsorción sintética porosa de manera tal que la eriocitrina en el extracto cítrico es adsorbida sobre la resina de adsorción sintética porosa, comprendiendo la resina de adsorción sintética porosa una resina de fenol-formaldehído como una estructura principal y conteniendo grupos hidroxilo fenólico y amino; y
- elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción sintética porosa usando un disolvente de elución.
- 15 2. El procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el disolvente de elución es etanol acuoso que tiene una concentración en etanol del 20 al 90% en volumen.
3. El procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que en la etapa de separación de eriocitrina del extracto cítrico, se repite dos o más veces una etapa que implica la puesta en contacto del extracto cítrico con la resina de adsorción sintética porosa y posteriormente la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la resina de adsorción sintética porosa.
- 20 4. El procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la resina de adsorción sintética porosa y el disolvente de elución son una primera resina de adsorción sintética porosa y un primer disolvente de elución, respectivamente, y en el que la etapa de separación de eriocitrina del extracto cítrico comprende además las etapas de:
- 25 puesta en contacto de un eluido obtenido mediante la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la primera resina de adsorción sintética porosa usando el primer disolvente de elución con una segunda resina de adsorción sintética porosa, de manera tal que la eriocitrina en el eluido es adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa, comprendiendo la segunda resina de adsorción sintética porosa al menos una seleccionada entre resinas de adsorción estirénicas y acrílicas; y
- 30 elución de la eritrosina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa usando un segundo disolvente de elución.
5. El procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la resina de adsorción sintética porosa y el disolvente de elución son una primera resina de adsorción sintética porosa y un primer disolvente de elución, respectivamente, y en el que la etapa de separación de eriocitrina del extracto cítrico comprende además las etapas de:
- 35 puesta en contacto del extracto cítrico con una segunda resina de adsorción sintética porosa, de manera tal que la eriocitrina en el extracto cítrico es adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa, comprendiendo la segunda resina de adsorción sintética porosa al menos una seleccionada entre resinas de adsorción estirénicas y acrílicas; y
- 40 elución de la eritrosina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa usando un segundo disolvente de elución, en el que la etapa de puesta en contacto del extracto cítrico con la primera resina de adsorción sintética porosa se lleva cabo poniendo en contacto un eluido obtenido mediante la elución de la eriocitrina adsorbida sobre la segunda resina de adsorción sintética porosa usando el segundo disolvente de elución con la primera resina de adsorción sintética porosa.
- 45 6. El procedimiento para la producción de un material que contiene eriocitrina de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, en el que el segundo disolvente de elución es etanol acuoso con una concentración en etanol del 20 al 50% en volumen.