[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl[7]
A23J 3/16

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 98116764.0

[45]授权公告日 2002 年 11 月 13 日

[11]授权公告号 CN 1094044C

[22]申请日 1998.7.31 [21]申请号 98116764.0

[30]优先权

[32]1998.3.15 [33]US [31]044961

[73]专利权人 蛋白质技术国际公司

地址 美国密苏里

[72]发明人 J·L·霍尔布鲁克 D·H·瓦格尔

[56]参考文献

CN1111946 1995.11.22 A23J1/14

US5506211 1996. 4. 9 A61K31/70

WO8002098 1980.10.16 A23B4/14

审查员 谢 妍

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

代理人 郭建新

权利要求书 6 页 说明书 22 页 附图 0 页

[54]发明名称 含有异黄酮贫乏的植物蛋白材料及含异黄酮材料的植物蛋白组合物

[57]摘要

本发明是一种植物蛋白组合物。该植物蛋白组合物含有一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和一种分散于该异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中的含异黄酮的材料。该组合物可被用于食品中,在获得异黄酮贫乏的植物蛋白材料的营养益处的同时也获得了含异黄酮材料的健康益处。本发明还包括用于生产这种植物蛋白组合物的方法。

ISSN1008-4274

1. 一种植物蛋白组合物，含有：

一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料；以及

一种分散于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中的含异黄酮的材料。

2. 权利要求1的植物蛋白组合物，其中所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料是一种异黄酮贫乏的大豆蛋白材料。

3. 权利要求2的植物蛋白组合物，其中所述异黄酮贫乏的大豆蛋白材料是一种大豆蛋白浓缩物。

4. 权利要求3的植物蛋白组合物，其中所述大豆蛋白浓缩物是一种用乙醇提取的大豆蛋白浓缩物。

5. 权利要求3的植物蛋白组合物，其中所述大豆蛋白浓缩物是一种用含水酸提取的大豆蛋白浓缩物。

6. 权利要求2的植物蛋白组合物，其中所述异黄酮贫乏的大豆蛋白材料是一种大豆蛋白分离物。

7. 权利要求1的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料是一种从含异黄酮类的植物材料中分离出来的材料。

8. 权利要求7的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料分离自一种从下组选出的植物材料：大豆、鹰嘴豆、红三叶草、地下三叶草、落花生、黄芪、marama bean、刀豆、杰克豆、海滨刀豆、角豆树豆、cluster bean、balu、扁豆、草香豌豆、印度巢菜籽、豌豆、羊公豆、四棱豆、豆薯、蚕豆、earth pea、兵豆、滚动豆、苜蓿、黎豆、非洲刺槐豆、因加、塞浦路斯巢菜籽、yebnut、木油树、玻里尼西亚板栗、葛根、油豆树、牧豆树、罗望子、胡芦巴、印度甘草、花生以及这些植物材料的衍生物。

9. 权利要求7的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料是一种所述植物材料的提取物。

10. 权利要求9的植物蛋白组合物，其中所述植物材料的所述提取物是所述植物材料的一种醇类、乙酸乙酯、丙酮、水、乙腈或氯仿提取物。

11. 权利要求9的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料是一种

浓缩的所述植物材料的提取物。

12. 权利要求 11 的植物蛋白组合物，其中所述植物材料是一种大豆材料，浓缩的所述植物材料的提取物是浓缩的大豆可溶物。

13. 权利要求 11 的植物蛋白组合物，其中所述植物材料是一种三叶草材料，浓缩的所述植物材料的提取物是一种浓缩的含水醇类三叶草提取物。

14. 权利要求 9 的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料是一种所述植物材料的提取物的衍生物。

15. 权利要求 14 的植物蛋白组合物，其中所述植物材料的提取物的衍生物是一种由所述提取物浓缩的固体材料。

16. 权利要求 14 的植物蛋白组合物，其中所述植物材料的提取物的衍生物是一种纯化的异黄酮材料。

17. 权利要求 1 的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料含有至少一种合成法形成的异黄酮。

18. 权利要求 1 的植物蛋白组合物，其中所述含异黄酮的材料含有至少一种或多种从下组中选出的异黄酮：染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素、刺芒柄花素、鹰嘴豆芽素 A、染料木苷、黄豆苷、黄豆黄苷、6″-OMal 染料木苷、6″-OAc 染料木苷、6″-OMal 黄豆苷、6″-OAc 黄豆苷、6″-OMal 黄豆黄苷。

19. 权利要求 1 的植物蛋白组合物，其中所述植物蛋白组合物的每克蛋白质中含有 2.5 mg 至 100 mg 的总异黄酮。

20. 权利要求 19 的植物蛋白组合物，其中所述植物蛋白组合物的每克蛋白质中含有 1.5 mg 至 85 mg 的配基异黄酮。

21. 一种用于形成一种植物蛋白组合物的方法，包括：

提供一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料；

提供一种含异黄酮的材料；以及

将所述含异黄酮的材料分散于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

22. 权利要求 21 中所述的方法，其中提供一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料包括提供一种异黄酮贫乏的大豆蛋白材料。

23. 权利要求 22 中所述的方法，其中所述异黄酮贫乏的大豆蛋白材料

是一种大豆蛋白浓缩物。

24. 权利要求23中所述的方法，其中所述大豆蛋白浓缩物是一种用醇类提取的大豆蛋白浓缩物。

25. 权利要求23中所述的方法，其中所述大豆蛋白浓缩物是一种用酸性水溶液提取的大豆蛋白浓缩物。

26. 权利要求22中所述的方法，其中所述异黄酮贫乏的大豆蛋白材料是一种大豆蛋白分离物。

27. 权利要求21中所述的方法，其中制备一种含异黄酮的材料包括从一种含异黄酮的植物材料分离出含异黄酮的材料。

28. 权利要求27中所述的方法，其中所述含异黄酮的材料分离自至少一种从下组中选出的植物材料：大豆、鹰嘴豆、红三叶草、地下三叶草、落花生、黄芪、marama bean、刀豆、杰克豆、海滨刀豆、角豆树豆、cluster bean、balu、扁豆、草香豌豆、印度巢菜籽、豌豆、羊公豆、四棱豆、豆薯、蚕豆、earth pea、兵豆、滚动豆、苜蓿、黎豆、非洲刺槐豆、因加、塞浦路斯巢菜籽、yebnut、木油树、玻里尼西亚板栗、葛根、油豆树、牧豆树、罗望子、胡芦巴、印度甘草、花生以及这些植物材料的衍生物。

29. 权利要求27中所述的方法，其中所述含异黄酮的材料分离自所述的植物材料，方法是使用一种异黄酮可溶于其中的提取剂提取所述的植物材料并从所述植物材料中分离出所述提取剂以形成一种含异黄酮的提取物。

30. 权利要求29中所述的方法，其中所述提取剂选自下组物质：水；低分子量的醇类；乙酸乙酯；丙酮；乙腈；氯仿；以及它们的混合物。

31. 权利要求29中所述的方法，其中所述含异黄酮的提取物在从所述植物材料中分离出来后被浓缩。

32. 权利要求29中所述的方法，其中所述含异黄酮的材料是一种所述提取物的衍生物。

33. 权利要求29中所述的方法，其中所述植物材料的含异黄酮的提取物的衍生物是一种由所述提取物浓缩的固体材料。

34. 权利要求29中所述的方法，其中所述植物材料的含异黄酮的提取

物的衍生物是一种纯化的异黄酮材料。

35. 权利要求21中所述的方法，其中提供一种含异黄酮的材料包括提供浓缩的大豆可溶物。

36. 权利要求21中所述的方法，其中提供一种含异黄酮的材料包括提供一种含有至少一种或多种选自下组的异黄酮的材料：染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素、刺芒柄花素、鹰嘴豆芽素A、染料木苷、黄豆苷、黄豆黄苷、6″-OMal 染料木苷、6″-OAc 染料木苷、6″-OMal 黄豆苷、6″-OAc 黄豆苷、6″-OMal 黄豆黄苷。

37. 权利要求21中所述的方法，其中将所述含异黄酮的材料分散于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中包括将所述含异黄酮的材料混合于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

38. 权利要求21中所述的方法，其中将所述含异黄酮的材料分散于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中，这样在每克异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中存在2.5 mg至100 mg的总异黄酮。

39. 权利要求31中所述的方法，其中将所述含异黄酮的材料分散于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中，这样在每克异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中存在1.5 mg至85 mg的配基异黄酮。

40. 一种用于形成植物蛋白组合物的方法，包括：

提供一种含蛋白质和异黄酮的植物材料；

用一种能够溶解异黄酮的提取剂提取所述的植物材料以形成一种含异黄酮的提取物；

从所述含异黄酮的提取物中分离出异黄酮贫乏的植物蛋白材料；

由所述提取物形成一种含异黄酮的材料；

将所述含异黄酮的材料分散于所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

41. 权利要求40中所述的方法，其中提供一种含蛋白质和异黄酮的植物材料包括提供一种大豆材料。

42. 权利要求41中所述的方法，其中所述大豆材料选自大豆片状粉末、大豆粉、大豆渣或大豆粗粉。

43. 权利要求40中所述的方法，其中所述提取剂选自水；低分子量的

醇类；乙酸乙酯；丙酮；乙腈；氯仿；以及它们的混合物。

44. 权利要求40中所述的方法，其中所述提取剂与所述植物材料的重量比为2:1至16:1。

45. 权利要求40中所述的方法，其中所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料分离自所述含异黄酮的提取物，方法是将所述植物材料与所述提取剂离心，并从所述植物蛋白材料中倾析出所述的提取物。

46. 权利要求40中所述的方法，其中所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料分离自所述含异黄酮的提取物，方法是从所述植物蛋白材料中过滤出所述提取物。

47. 权利要求40中所述的方法，其中所述提取剂是一种能溶解所述植物材料中的所述蛋白质和所述异黄酮的含水碱性提取剂。

48. 权利要求47中所述的方法，还包括在从所述含异黄酮的提取物中分离出所述异黄酮贫乏的蛋白材料之前，从不溶性植物材料中分离出所述含水碱性提取剂的步骤。

49. 权利要求47中所述的方法，其中从所述含异黄酮的提取物中分离出所述异黄酮贫乏的蛋白材料包括：将所述含水碱性提取剂的pH调至约为所述提取剂中的所述蛋白质的等电点以沉淀所述异黄酮贫乏的蛋白材料，并且在pH约为所述蛋白质的等电点时从所述含水提取剂中分离出所述沉淀的异黄酮贫乏的蛋白材料以生产一种植物蛋白分离物和一种含异黄酮的提取物。

50. 权利要求40中所述的方法，其中所述植物材料是用一种含水醇类提取剂提取的，而且植物蛋白浓缩物分离自所述含异黄酮的提取物。

51. 权利要求40中所述的方法，其中所述植物材料是用一种pH约为所述植物材料中所述蛋白质的等电点的酸性水溶液来提取的，而且植物蛋白浓缩物分离自所述含异黄酮的提取物。

52. 权利要求40中所述的方法，其中所述含异黄酮的材料通过浓缩所述提取物由所述提取物形成。

53. 权利要求40中所述的方法，其中所述含异黄酮的材料由所述提取物形成，方法是在所述提取物中再结晶所述含异黄酮的材料并将所述再结

晶的含异黄酮的材料从所述提取物中分离。

54. 权利要求40中所述的方法，其中所述含异黄酮的材料由所述提取物形成，方法是使所述提取物与一种能够以化合物特异性方式与异黄酮和非异黄酮化合物可释放地结合的吸附材料相接触，而且，在所述提取物与所述吸附材料接触后，用一种所述异黄酮能溶解于其中的洗脱剂洗脱所述吸附材料，并收集所述洗脱剂中含有纯化的异黄酮材料的级分。

55. 一种食品组合物，包括：

一种食品材料；以及

一种植物蛋白组合物，其中含有一种含异黄酮的材料分散于其中的异黄酮贫乏的植物蛋白材料。

56. 权利要求55中的食品组合物，其中所述食品材料是饮料。

57. 权利要求55中的食品组合物，其中所述食品材料是一种肉类。

58. 权利要求55中的食品组合物，其中所述食品材料是一种块状营养食品。

59. 权利要求55中的食品组合物，其中所述食品材料是一种干酪。

60. 权利要求55中的食品组合物，其中所述食品材料是一种酸奶。

61. 权利要求55中的食品组合物，其中所述植物蛋白组合物中的所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料是一种大豆蛋白分离物。

62. 权利要求55中的食品组合物，其中所述植物蛋白组合物中的所述异黄酮贫乏的植物蛋白材料是一种大豆蛋白浓缩物。

含有异黄酮贫乏的植物蛋白材料及含异黄酮材料的植物蛋白组合物

本发明涉及含有异黄酮的植物蛋白组合物，尤其涉及含有一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和分散于这种蛋白材料中的一种含异黄酮材料的植物蛋白组合物，以及生产这种组合物的方法。

含有蛋白质的植物材料被工业化处理以生产诸如植物蛋白浓缩物和植物蛋白分离物的植物蛋白材料。通常生产的植物蛋白材料包括大豆蛋白浓缩物、大豆蛋白分离物、豌豆蛋白材料以及从豆科植物中提取的蛋白材料。植物蛋白被广泛地用于食品工业中，在许多食品中它被作为蛋白强化成分或功能性成分。例如，植物蛋白材料被用于诸如肉类、营养饮料、汤、干酪、烘烤产品及酸奶这些食品中。

多种含有蛋白质的植物材料在其自然的、未经处理的状态下也含有植物雌激素异黄酮。异黄酮是天然存在于多种植物中的酚类化合物，其作用是在某些植物的根系中帮助固氮以及作为天然的抗寄生虫防护剂。

在生产用于食品的诸如植物蛋白浓缩物和植物蛋白分离物的植物蛋白材料时，重点是得到一种基本上由蛋白质组成的材料。在用含有蛋白质和异黄酮的植物材料生产植物蛋白材料时，大部分的异黄酮被从植物蛋白材料中分离出来，得到了一种异黄酮含量被贫化的富含蛋白质的物质。例如，通过用醇类水溶液或用 pH 约为蛋白质等电点的酸性水溶液洗涤植物材料可形成植物蛋白浓缩物。例如参见 大豆蛋白产品，特性、营养功能及应用，第 3-6 页 (大豆蛋白协会出版, 1987)。酸或醇类水溶液的洗涤会从蛋白质和其它诸如植物纤维的不溶性物质中除去溶于洗液的物质，其中包括植物材料中的大部分异黄酮和碳水化合物，剩下的就是含 65wt%至 90wt%蛋白质的蛋白浓缩物材料，但其中的异黄酮浓度被大大降低了。

蛋白分离物是通过用水或碱性水溶液来提取含有蛋白质的植物材料形成的，该水溶液的作用是溶解可溶性蛋白质和诸如碳水化合物及异黄酮的

其它可溶于该水溶液中的物质。将含有可溶性蛋白质的提取物与不溶的植物纤维分开，然后将提取物的pH调节至约为蛋白质的等电点以沉淀该蛋白质。然后将蛋白质从提取物和包含大部分的异黄酮的仍溶于提取物的物质中分离出来以形成一种含90wt%或更多蛋白质的蛋白分离物。用水洗涤蛋白分离物以进一步从蛋白质中除去可溶于水的物质。例如参见 大豆蛋白产品，特性、营养功能及应用，第3-6页 (大豆蛋白协会出版，1987)。与从中得到蛋白质分离物的植物材料相比，所得到的蛋白分离物在异黄酮浓度上大大降低了。

在生产蛋白浓缩物和植物蛋白分离物时，将异黄酮从植物蛋白材料中除去是这类材料处理过程的一个目标，因为异黄酮与诸如大豆的植物蛋白材料的苦味有关。例如，日本专利No.59-232052A提供了一种从大豆蛋白材料中除去异黄酮的方法，做法是使蛋白材料与一种吸附树脂相接触以生产出具有更好味道的大豆蛋白。用醇类提取植物蛋白材料以从蛋白质中除去可溶于醇类的组分是尤为优选的，因为醇类提取能生产出比用水提取味道更好的植物蛋白材料，部分原因是因为醇类能相当有效地将异黄酮化合物从植物蛋白材料中除去。例如参见日本专利No.63-245,648A。

然而最近异黄酮又被认为是一种对人体有多种益处的化合物。有人认为异黄酮在阻止或延缓诸如前列腺癌和乳腺癌之类的癌症时是有效的，如下面的文献所述：染料木黄酮对人乳腺癌细胞生长的抑制，与雌激素受体和多重抗药基因无关，Peterson和Barnes，生物化学和生物物理学研究，通讯，第179卷第1期第661-67页 (1991年8月30日)；染料木黄酮和鹰嘴豆芽素抑制人前列腺癌细胞生长而不抑制表皮生长因子酪氨酸自磷酸化，Peterson和Barnes，前列腺，第22卷第335-45页，(1993)；以及乳腺癌模型中大豆对乳房肿瘤的抑制，Barnes等人，日常饮食中的诱变剂和致癌物，第239-53页 (1990)。有人推测在日本妇女中的低乳腺癌发生率是由于她们的食物中有大量异黄酮：大豆植物雌激素摄取和癌症危险，Herman等人，大豆在预防和治疗慢性疾病中的作用第一届国际研讨会，第757S-770S页 (1994年2月20-23日)。异黄酮还被认为可以减弱或防止绝经期症状：日本日常饮食中植物雌激素与绝经期，Adlercreutz等人，柳叶刀，第339卷，第1233页 (1992年5月16日)。另外，异黄酮还被认

为是人类和非人类灵长动物的血管舒张剂，同时具有心脏保护功能：大豆植物雌激素和染料木黄酮对冠状血管舒张的促进， Honore 等人，循环，92:1:349 (1995)。

为获取异黄酮的医疗益处，最近的努力集中在从植物材料中分离和回收异黄酮。下列专利描述了从诸如野葛(pueraria lobata)、豆科植物及大豆的植物材料中分离异黄酮的各种方法：美国专利 Nos. 4,428,876; 5,702,752; 5,679,806; 4,390,559; 4,366,248; 4,366,082; 4,264,509; 4,232,122; 4,157,984; 日本专利 Nos. 1-258669A; 5-170756A; 41-90720A; 62-126186A; 62-126185A; 以及 PCT 专利申请 No. WO 93/23069 。所分离出的异黄酮可用作药物或食品添加组合物，这描述于美国专利 No. 5,516,528; 5,424,331; 5,569,459; 5,654,011 和 PCT 专利申请 No. WO93/23069 。

尽管提纯后的异黄酮组分可用于药物组合物和食品添加剂中以治疗和预防各种症状，然而最近的研究表明，单独通过异黄酮或异黄酮基本上被除去的植物蛋白材料是不能提供从含有大量异黄酮的植物蛋白材料中可获得的对健康的某些益处的。服用含有大量异黄酮的大豆蛋白材料已显示出可以减少非人类灵长动物的冠心病显著因子总胆固醇和低密度胆固醇（ LDL-胆固醇），据推测大豆异黄酮在低胆固醇效应中起高达 70%的作用，它还在具有更高胆固醇水平的人类中显示出具有相同的作用。例如参见 大豆蛋白摄取对血清中脂类影响的代谢分析， Anderson 等人，新英格兰医学杂志，第 333 卷，第 5 期，第 276-82 页(1995)。然而，在绝经期和接近绝经期的妇女中，服用含有从大豆中提纯的异黄酮的片剂显示出对总胆固醇和 LDL-胆固醇没有影响。在绝经期和接近绝经期的妇女中大豆异黄酮改进全身动脉柔顺性而不影响血浆中的脂类， Nestel 等人，动脉硬化、血栓症和血管生物学，第 17 卷，第 12 期(1997 年 12 月)。同样地，含有极少量异黄酮的用醇类提取的大豆蛋白也显示出对总胆固醇和LDL胆固醇的影响很小或没有影响。 Anthony ， 。

为了使残存于诸如植物蛋白浓缩物或植物蛋白分离物的处理过的植物蛋白材料中的异黄酮发挥最大的保健功效也进行了这样的努力，即将其中残存的异黄酮转化成其最有效的生物活性形式。例如，美国专利 No. 5,637,562 提供了一种用于生产富含配基异黄酮的植物蛋白浓缩物的方法，

其中通过对异黄酮糖苷中糖苷部分的酶切使异黄酮糖苷转化成了更具生物活性的配基异黄酮。PCT 专利申请 No. PCT/US94/10697 公开了一种用于生产富含配基异黄酮的植物蛋白分离物的方法，作法是在从含有可溶性蛋白质和异黄酮的提取物中沉淀蛋白材料之前将异黄酮糖苷转化成配基异黄酮。

本发明提供了一种植物蛋白组合物，它含有一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和一种分散于该植物蛋白材料中的含异黄酮材料。本发明的植物蛋白组合物可有任选量的异黄酮分散于其中，分散于其中的异黄酮的量优选是能使植物蛋白组合物有效地治疗或预防所针对的不利健康状况。

另一方面，本发明是一种生产植物蛋白组合物的方法，其中提供了一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和一种含异黄酮的材料，而且含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

还有一方面，本发明是一种生产植物蛋白组合物的方法，其中提供了一种含有蛋白质和异黄酮的植物材料，并且用一种能够溶解异黄酮的提取剂来提取以产生含有异黄酮的提取物。然后从含有异黄酮的提取物中分离出异黄酮贫乏的植物蛋白材料，由提取物形成了一种含异黄酮的材料。然后将含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

在一个最优选的实施方案中，异黄酮贫乏的植物蛋白材料是用醇类提取的植物蛋白材料，这样就能制备一种好味道的植物蛋白材料。

本发明的植物蛋白组合物包括一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和一种分散于该异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中的含异黄酮的材料。

异黄酮贫乏的植物蛋白材料

用于组合物中的异黄酮贫乏的植物蛋白材料是这样一种植物蛋白材料，它可以被用作食品中的蛋白强化成分或功能性成分。被用作食品中的蛋白强化成分的植物蛋白材料包括用于提供食品中补充蛋白的植物蛋白材料和用于提供食品中全部蛋白成分的植物蛋白材料。被用作食品中的功能成分的植物蛋白材料包括用于向食品提供乳化性能的植物蛋白材料、用于

结合食品中的脂肪、油脂或水的植物蛋白材料以及用于向食品提供胶凝性能的植物蛋白材料。

用于本发明组合物中的异黄酮贫乏的植物蛋白材料是从含有蛋白质和异黄酮的植物材料中得到的。此处所使用的术语“异黄酮贫乏的”，是将植物蛋白材料中的异黄酮浓度与从中得到这种植物蛋白材料的植物材料中的异黄酮浓度相比较而言的。优选的异黄酮贫乏的植物蛋白材料是大豆蛋白材料、羽扇豆(lupin)蛋白材料、豆科植物蛋白材料或豌豆蛋白材料。最优选的异黄酮贫乏的植物蛋白材料是大豆蛋白材料。

异黄酮贫乏的植物蛋白材料优选是一种植物蛋白浓缩物或一种植物蛋白分离物。此处所使用的术语“植物蛋白浓缩物”，除了是从含有异黄酮和蛋白质的植物材料得到的之外，与一般意义上的植物蛋白浓缩物具有相同的含义。特别地，此处所指的植物蛋白浓缩物是通过如下方法从含有异黄酮和蛋白质的植物材料得到的物质：用 pH 约为植物材料中蛋白质等电点的水溶液或用醇类溶液来洗涤或提取植物材料，以及将洗液或提取液与植物材料分离以提供植物蛋白浓缩物。用于本发明的植物蛋白浓缩物的蛋白质干重含量为大约 65wt%至大约 90wt%。

此处所使用的术语“植物蛋白分离物”， 除了是从含有异黄酮和蛋白质的植物材料得到的之外，与一般意义上的植物蛋白分离物具有相同的含义。特别地，此处所指的植物蛋白分离物是通过如下方法从含有异黄酮和蛋白质的植物材料得到的物质： 1) 用水或 pH 约 7 至约 11 的碱性水溶液提取植物材料以使蛋白质和异黄酮溶于提取剂中； 2) 将提取剂与不溶的植物材料分离； 3) 通过将提取物的 pH 调至约为蛋白质的等电点使蛋白质从分离的提取物中沉淀出来； 4) 将提取物与沉淀的蛋白质分离； 5) 任选地，但却是优选地，用水和/或醇类洗涤分离后的蛋白质。用于本发明的植物蛋白分离物的蛋白质干重含量至少是 90wt%。

在一个特别优选的实施方案中，植物蛋白浓缩物或植物蛋白分离物是用醇类提取或洗涤的物质，因为醇类提取能提供特别适合用于食品中的蛋白材料。在生产植物蛋白浓缩物时可用醇类溶液来提取它，或者在用等电水溶液洗涤形成植物蛋白浓缩物后再用醇类提取。在从含水碱性提取物中沉淀和分离出植物蛋白分离物后，再用一种醇类提取或洗涤它。植物蛋白

浓缩物或分离物优选使用食品级醇类提取或洗涤，最优选使用含大约55wt%至大约90wt%乙醇的乙醇水溶液。

含异黄酮的材料

用于组合物中的含异黄酮材料可以是从含异黄酮的植物材料中分离出的物质。含异黄酮的材料包括下列植物材料的一种或几种，但不只限于此：大豆(soy bean)、鹰嘴豆(chick pea)、红三叶草(red clover)、地下三叶草(subterranean clover)、落花生(ground pea)、黄芪(milk vetch)、marama bean、刀豆(sword bean)、杰克豆(jack bean)、海滨刀豆(seaside sword bean)、角豆树豆(carobean)、cluster bean、balu、扁豆(hyacinth bean)、草香豌豆(grass pea)、印度巢菜籽(Indian vetch)、豌豆(garden pea)、羊公豆(djenko bean)、四棱豆(goa bean)、豆薯(yam bean)、蚕豆(broad bean)、earth pea、兵豆(lentil)、滚动豆(jumping pea)、苜蓿(alfalfa)、黎豆(velvet bean)、非洲刺槐豆(African locust bean)、因加(inga)、塞浦路斯巢菜籽(cyprus vetch)、yebnut、木油树(tallow tree)、玻里尼西亚板栗(Polynesian chestnut)、葛根(kudzu root)(野葛(Pueraria lobata))、油豆树(oil bean tree)、牧豆树(mesquite)、罗望子(tamarind)、胡芦巴(fenugreek)、印度甘草(Indian liquorice)、花生(ground nut)以及这些植物材料的衍生物，包括脱脂大豆片状粉末、大豆粉以及大豆粗粉。最优选地，含异黄酮的材料是从大豆或三叶草材料中提取的，因为这些植物含有特别高的异黄酮浓度。

在一个实施方案中，组合物中的含异黄酮材料是植物材料的富含异黄酮部分，它被与植物材料的其它部分分开。在一个优选的实施方案中，植物材料是大豆材料，大豆材料的富含异黄酮部分是它的胚轴，将它分离来作为含异黄酮的材料。大豆的胚轴占完整大豆总重量的很小一部分(约2%)，但却富含异黄酮，尤其是黄豆苷原。可以通过下述方法使胚轴与完整大豆分离，即对大豆脱壳，将大豆材料过筛(筛孔的大小足以使较小的胚轴与剩余的大豆材料分离)而将胚轴与剩余的大豆材料分离。优选将分离的胚轴材料研磨以形成粉末，它可被用作本发明组合物中的含异黄酮材料。

在另一个实施方案中，本发明组合物中的含异黄酮材料可以是上述一种或多种植物材料的提取物，其中用可溶解异黄酮的提取剂对植物材料进

行提取，并且将含异黄酮的提取物与不溶性植物材料分开。用于产生含异黄酮材料提取物的优选的提取剂包括但不限于：水；低分子量的醇类，包括甲醇、乙醇、异丙醇、丙醇、异丁醇和丁醇；乙酸乙酯；丙酮；乙腈；氯仿；以及它们的混合物。最优选地，提取剂是含大约 55vol%至大约90vol%醇的含水乙醇或含水甲醇提取剂。

在一个优选的实施方案中，本发明组合物中含异黄酮的材料是上述一种或多种植物材料的上述一种或多种提取物的衍生物。这里所使用的“提取物的衍生物”是指一种或固体或液体的物质，通过使提取物经受能改变其物理化学结构的条件，就能从提取物中回收这种物质。例如，此处所使用的衍生物包括提取物的浓缩形态、从提取物中回收的固体残渣、通过高效液相色谱("HPLC")从提取物中回收的纯化的异黄酮材料、由提取物再结晶得到的含异黄酮的材料或用另一种提取剂从提取物中提取的含异黄酮的材料。

在本发明的一个优选的实施方案中，含异黄酮的材料是含异黄酮植物材料的提取物的衍生物，其中含异黄酮的材料是通过浓缩提取物得到的。根据提取物的浓缩程度，通过浓缩提取物形成的含异黄酮的材料可以是液体或固体物质。在本发明一个优选的实施方案中，含异黄酮的材料是含异黄酮的三叶草的浓缩的含水醇提取物。在本发明的另一个优选的实施方案中，本发明的含异黄酮的材料是浓缩的大豆可溶物，其按本技术领域内的一般意义使用。

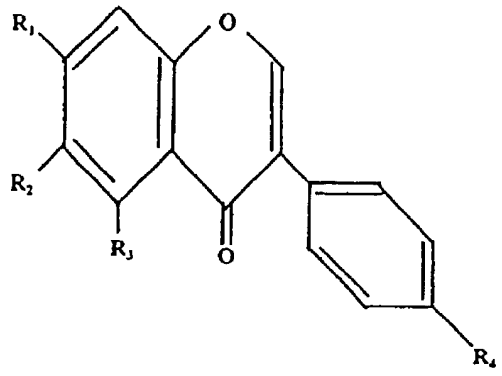
在本发明的又一个优选的实施方案中，含异黄酮的材料是含异黄酮的植物材料提取物的衍生物，它包含从提取物中再结晶的含异黄酮的材料。优选地，再结晶的含异黄酮的材料是从上述一种或多种含异黄酮植物材料的含水醇提取物得到的，其中再结晶的异黄酮材料通过如下方法从提取物中回收，即浓缩提取物、冷却浓缩后的提取物以沉淀异黄酮材料以及将沉淀后的含异黄酮的材料与提取物分离开。

在本发明的又一个优选的实施方案中，含异黄酮的材料是含异黄酮的植物材料提取物的衍生物，它包含通过 HPLC 或反相 HPLC 从提取物中分离的含异黄酮材料。可以通过 HPLC 或反相 HPLC 来得到含异黄酮的材料，方法是用一种可溶解异黄酮的洗脱剂将含异黄酮材料的提取物经一种

吸附树脂洗脱，该树脂以化合物特异方式与异黄酮和杂质可释放地结合，然后收集含异黄酮的洗脱剂级分。可以将含异黄酮的洗脱剂级分合并和浓缩以得到纯化的含异黄酮的材料。在一个优选的实施方案中，用反相 HPLC 得到含异黄酮的材料，其中洗脱剂选自含水乙醇或甲醇、乙腈、乙酸乙酯、丙酮或其组合。

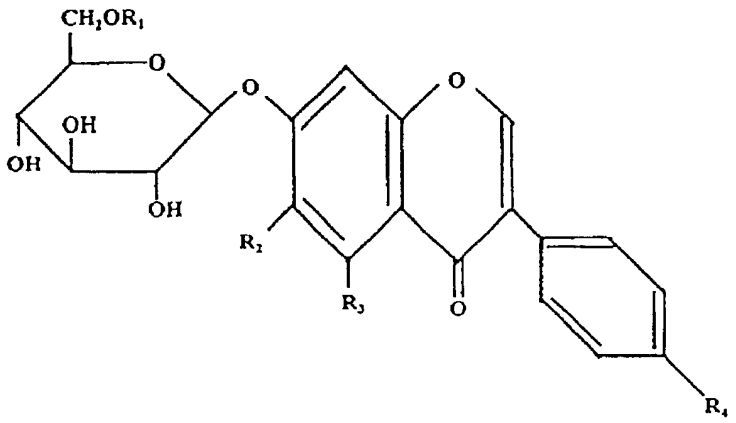
包含于含异黄酮材料中的异黄酮是天然存在于植物材料中的异黄酮，然而通过分离过程或是通过特意改变异黄酮共轭物、异黄酮糖苷和配基异黄酮的相对浓度可能使这些物质的相对浓度与从中分离异黄酮的植物材料中这些物质天然存在的浓度不同。在一个优选的实施方案中，含异黄酮的材料包含选自染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素、鹰嘴豆芽素 A 或刺芒柄花素这些配基异黄酮中的至少一种，或染料木苷、黄豆苷或黄豆黄苷(glycitin)这些异黄酮糖苷中的至少一种，或 6"-OMal 染料木苷、6"-OAc 染料木苷、6"-OMal 黄豆苷、6"-OAc 黄豆苷、6"-OMal 黄豆黄苷这些异黄酮共轭物中的至少一种，或它们的混合物，其中“Mal”代表“丙二酰基”，“Ac”代表“乙酰基”。配基异黄酮、异黄酮糖苷和异黄酮共轭物的结构示于下面的分子式 1 和 2 中。

分子式 1 - 配基异黄酮



化合物	R_1	R_2	R_3	R_4
染料木黄酮	OH	H	OH	OH
鹰嘴豆芽素 A	OH	H	OH	OCH_3
刺芒柄花素	OH	H	H	OCH_3
黄豆苷原	OH	H	H	OH
黄豆黄素	OH	OCH_3	H	OH

分子式 2- 异黄酮共轭物或 异黄酮糖苷



化合物	R_1	R_2	R_3	R_4
染料木苷	H	H	OH	OH
6"-OMal 染料木苷	$COCH_2CO_2H$	H	OH	OH
6"-OAc 染料木苷	$COCH_3$	H	OH	OH
黄豆苷、	H	H	H	OH
6"-OMal 黄豆苷	$COCH_2CO_2H$	H	H	OH
6"-OAc 黄豆苷	$COCH_3$	H	H	OH
黄豆黄苷	H	OCH_3	H	OH
6"-OMal 黄豆黄苷	$COCH_3$	OCH_3	H	OH

用于本发明组合物中的含异黄酮的材料还可以包括或者就是合成法制备的异黄酮，它选自染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素、鹰嘴豆芽素 A、刺芒柄花素或它们相应的糖苷或共轭物。合成法制备的异黄酮可以被直接分散于组合物中的异黄酮贫乏的植物蛋白材料中，或被混合于一种普通的、惰性的食品级载体中，例如纤维素、淀粉、面粉或其它经常使用的载体。

染料木黄酮可根据已知的合成方法生产，例如由 Baker 等人(化学会志 (J. Chem. Soc.)，第 3115 页(1928))、Narasimhachari 等人(科学与工业研究杂志 (J. Sci. Ind. Res.)，第 12 卷，第 287 页，(1953))、Yoder 等人(爱荷华科学院院报 (Proc. Iowa Acad. Sci.)，第 61 卷，第 271 页(1954))以及 Zemplen 等人(匈牙利科学院化学学报 (Acta. Chim. Acad. Sci. Hung.)，第 19 卷，第 277 页(1959))提供的方法，这些文献都被并入本文作参考。染料木苷可通过 Zemplen 等人(Ber.，第 76B 卷，第 1110 页(1943))的方法用合成法制备，并入本文作参考。染料木黄酮的异黄酮共轭物 6"-OMal 染料木黄酮和 6"-OAc 染料木黄酮可以通过分别用丙二酰基或乙酰基酸酐皂化染料木苷这一一般的方法来制备。

黄豆苷原可以通过由 Baker 等人(化学会志 (J. Chem. Soc.), 第 274 页(1933))、Wesley 等人(Ber., 第 66 卷, 第 685 页(1933))、Mahal 等人(化学会志 (J. Chem. Soc.), 第 1769 页(1934))、Baker 等人(化学会志 (J. Chem. Soc.), 第 1852 页(1953))、或 Farkas 等人(Ber., 第 90 卷, 第 2940 页(1957))提供的方法用合成法制备, 这些文献都被并入本文作参考。黄豆苷可通过 Farkas 等人(Ber., 第 92 卷, 第 819 页(1959))的方法用合成法制备, 并入本文作参考。黄豆苷原的异黄酮共轭物 6"-OMal 黄豆苷和 6"-OAc 黄豆苷可以通过分别用丙二酰基或乙酰基酸酐皂化黄豆苷这一一般的方法来制备。

刺芒柄花素可用 Wessely 等人(Ber. 第 66 卷, 第 685 页(1933))或 Kagel 等人(Tet. Letters, 第 593 卷(1962))所提供的方法用合成法制备, 这些文献都被并入本文作参考。

植物蛋白组合物含有足量的分散于异黄酮贫乏植物蛋白材料中的含异黄酮材料, 这样就能够为消费这些含有植物蛋白组合物的食品或饮料的人提供有益的健康帮助。优选地, 植物蛋白组合物含有提供这种益处所必需的最小的异黄酮含量。优选地, 在植物蛋白组合物中, 每克异黄酮贫乏的植物蛋白材料含有大约 2.5 mg 至 100 mg 的总异黄酮或大约 1.5 mg 至 85 mg 的配基异黄酮。

在另一方面, 本发明是一种用于生产含有一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和一种含异黄酮材料的植物蛋白组合物的方法。该方法包括提供一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料并提供一种含异黄酮的材料, 以及将含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

提供一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料

通过如下方法提供一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料: 提供一种含蛋白质和异黄酮的植物材料, 以某种方式将蛋白材料与植物材料分离, 与植物材料中异黄酮的初始浓度相比, 这种方式减少了蛋白材料中异黄酮的含量。含有蛋白质和异黄酮的植物材料包括大豆及大豆的衍生物, 例如全脂和脱脂大豆片状粉末、大豆粉、大豆渣、大豆粗粉; 油籽, 例如油菜籽; 白羽扇豆、豆科植物; 以及各种豌豆和豆子, 包括落花生、鹰嘴豆、草香

豌豆、豌豆、 earth pea 、 marama bean 、刀豆、杰克豆、角豆树豆、 cluster bean 、扁豆、羊公豆、四棱豆、豆薯、蚕豆、滚动豆以及黎豆。含有蛋白质和异黄酮的植物材料可以是经过处理的形式，例如可以是粉状、渣状、粗粉状或饼状。

可以使用任何方法将蛋白材料从植物材料中分离，该方法产生了蛋白质重量比浓度比植物材料高的物质，与植物材料相比，该方法也减少了分离后的蛋白材料中异黄酮的含量。使用生产植物蛋白浓缩物和植物蛋白分离物的一般方法来制备异黄酮贫乏的植物蛋白材料是尤为优选的。

异黄酮贫乏的植物蛋白浓缩物可通过用 pH 约为蛋白质等电点的水溶液或用醇溶液洗涤含有蛋白质和异黄酮的植物材料来制备。优选地，初始的植物材料是一种被制成饼状或粉状的经过处理的植物材料，而且可以经处理除去了植物材料中的脂肪。洗液从植物材料中除去了可溶性的碳水化合物、异黄酮、灰分和其它的物质。

如果使用的是水洗液，该洗液的制备方法是用合适的酸性或碱性试剂将水的 pH 调至约为蛋白质的等电点。蛋白质的等电点通常在弱酸性 pH 下，优选使用食品级的诸如盐酸的矿物酸将水溶液调至约为等电点。

如果使用的是醇洗液，该醇洗液应该是食品级的试剂，而且优选是乙醇水溶液。乙醇水溶液可含有大约 55vol%至大约 90vol%的乙醇。醇洗液是生产异黄酮贫乏的植物蛋白浓缩物的优选洗液，因为采用醇洗生产的植物蛋白浓缩物通常比用水洗生产的植物蛋白浓缩物有更好的味道。

植物材料应该与足量的洗液相接触以形成一种蛋白质干重含量为 65wt%至 90wt%的植物蛋白浓缩物。洗液和植物材料的重量比可为大约 2:1 至大约 20:1，优选是从大约 5:1 至大约 10:1。优选地，将植物材料在洗液中搅拌一段时间以便从植物材料中除去溶于洗液的物质。然后将洗液从植物材料中倾析除去以提供植物蛋白浓缩物。

异黄酮贫乏的植物蛋白分离物可用如下方法制备：用水或含水的碱性提取剂来提取含异黄酮和蛋白质的植物蛋白材料以使蛋白质和异黄酮溶于提取剂中，将提取物与诸如植物纤维的不溶性植物材料分离开，通过将提取物的 pH 调至约为蛋白质的等电点使提取物中的蛋白质沉淀，然后将沉淀的蛋白质从提取物中分离出来。初始的植物材料也优选是一种被制成片状

或粉状的经过处理的植物材料，而且任选地，该材料已经被除去了脂肪。

提取剂是 pH 为大约 7 至大约 11 的水溶液。如果需要的话，也可以使用常用的碱性试剂来升高提取剂的 pH，优选的碱性试剂包括氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化铵。提取剂的最优选的 pH 为大约 9 至大约 10，原因是植物材料中的蛋白质更易溶解在有相对较高 pH 的水溶液中。应该避免使用过碱的提取剂，比如 pH 高于 11 的提取剂，原因是高碱性条件将导致蛋白质形成有毒的赖氨酰基丙氨酸(lysinoalanine)化合物。

提取剂与植物材料的重量比应足以从植物材料中提取出大量的蛋白质。优选地，提取剂与植物材料的重量比为大约 4:1 至大约 20:1，更优选为大约 8:1 至大约 16:1。

可使用一般的提取方法来提取。在一个实施方案中，提取方法是逆流提取法。在另一个实施方案中，提取方法为两步提取法，其中首先用第一部分的提取剂提取植物材料，再用第二部分的提取剂提取植物材料，然后将第一和第二部分提取剂合并。

提取后将提取剂与植物材料分离以使溶解的蛋白质与诸如植物纤维、纤维素和不溶性半纤维素的不溶性植物材料分开。可使用一般的分离方法将提取剂与不溶性植物材料分开，例如倾析、离心并从不溶性材料中移走上清液，或者过滤。

在将提取剂从不溶性植物材料中分出以形成含溶解的蛋白质的提取物后，通过将提取物的 pH 调至约为蛋白质的等电点使提取物中的蛋白质从提取物沉淀出来。蛋白质的等电点通常在弱酸性 pH 下，例如大豆蛋白的等电点 pH 为 4.5，所以通过向提取物中加入足量的酸性试剂来调节提取物的 pH 以沉淀蛋白质。优选的酸性试剂是食品级的矿物酸，例如盐酸和磷酸。

然后将沉淀的蛋白质从提取物中分离出来以得到异黄酮贫乏的植物蛋白分离物。从提取物中分离蛋白质的过程使蛋白质与大部分的异黄酮分离开来，原因是大部分的异黄酮在蛋白材料的等电点处溶于提取物中。可使用一般的固液分离方法来进行分离，例如离心并倾析出上清液，或者过滤。分离出的蛋白分离物含有至少 90wt%的蛋白质。

可用水或醇类溶液洗涤分离出的异黄酮贫乏的蛋白分离物以进一步将残存在蛋白分离物中的可溶于水或醇的物质除去。洗液与蛋白分离物的重

量比优选为大约2:1至大约15:1，可多次洗涤蛋白材料以确保将杂质除去。在一个优选的实施方案中，洗液是乙醇浓度为55%至大约90%的含水乙醇洗液，原因是醇洗植物蛋白材料通常能制备出比水洗味道更好的蛋白材料。

提供一种含异黄酮的材料

含异黄酮的材料可以通过从含异黄酮的植物材料中分离出含异黄酮的材料来提供，或通过合成法制备一种或多种掺入含异黄酮材料中的异黄酮来提供。如果合成法制备的异黄酮要被包括在含异黄酮的材料之中，可以使用上述合成法制备异黄酮化合物的方法之一来制备异黄酮。

如果要使含异黄酮的材料中含有从植物材料中分离的异黄酮，就要制备一种含异黄酮的植物材料。上面已经非限制性地列出了含异黄酮的植物材料。

为了分离出含异黄酮的材料，通过对植物材料进行处理以使异黄酮易于与提取剂接触可以制备植物材料。可通过研磨或粉碎植物并将可能会影响异黄酮分离的植物成分除去的方法来处理植物材料。例如，为了分离含异黄酮的材料，可对大豆材料进行研磨，然后用已烷提取来脱脂。在分离含异黄酮的材料之前，对诸如三叶草的在叶子中含有大量异黄酮的多叶植物是不需进行研磨或粉碎的。然而，在分离含异黄酮的材料之前对任何植物材料进行粉碎是优选的。

通过使用一种至少能部分溶解异黄酮的提取剂来提取植物材料，从植物材料中分离出含异黄酮的材料。优选的提取剂包括但不限于：水；低分子量的醇类，包括甲醇、乙醇、异丙醇、丙醇、异丁醇、丁醇；乙酸乙酯；丙酮；乙腈；氯仿；及其混合物。尤为优选的提取剂是含大约55vol%至大约90vol%醇的甲醇水溶液和乙醇水溶液。

可以使用一般的提取方法来进行提取。在一个实施方案中，为了将异黄酮提取到提取剂中，将植物材料和提取剂在室温下(22℃)共同搅拌30分钟至24小时。在另一个实施方案中，异黄酮的提取是通过将植物材料和提取剂加热大约15分钟至大约5小时，温度范围约为35℃至提取剂的回流温度。在一个优选的实施方案中，在大约60℃至大约70℃的温度下将植

物材料在60% - 85%的甲醇水溶液中回流大约1小时至大约2小时以将异黄酮提取到甲醇水溶液中。在另一个优选的实施方案中，在大约70℃至大约80℃的温度下将植物材料在60% - 85%的乙醇水溶液中回流大约1小时至大约2小时以将异黄酮提取到乙醇水溶液中。

然后可以将含有异黄酮的提取剂与植物材料分离以提供一种含异黄酮的材料，可以将它分散在所提供的异黄酮贫乏的植物蛋白材料中以提供本发明的植物蛋白组合物。可以使用一般的固液分离方法进行分离。在一个实施方案中，将提取剂和植物材料离心，然后将含有异黄酮的上清提取物从植物材料中倾析出来。在另一个实施方案中，提取剂和植物材料的分离是将植物材料和提取剂过滤，然后收集作为滤液的富含异黄酮的提取物。

可对富含异黄酮的提取物进行进一步处理以从中得到含异黄酮的材料。在本发明的一个实施方案中，为得到浓缩的提取物的衍生物，可通过除去提取物中部分或全部溶剂的办法来浓缩富含异黄酮的提取物。可通过一般的方法浓缩富含异黄酮的提取物。例如，为浓缩提取物，可通过加热蒸发掉提取物中的溶剂，也可通过在低压下放置足够长的时间以除去提取物中部分或全部的溶剂，或者优选地将两者结合起来。

也可以从富含异黄酮的提取物得到再结晶的含异黄酮的材料。首先可按照上述的方法将提取物浓缩。然后可任选地向浓缩的提取物中加入温度优选为大约4℃至大约20℃的冷水。如果向浓缩的提取物中加入了水，加入的水与浓缩的提取物的重量比优选为大约0.5:1至大约4:1。提取物随后被冷却至大约0℃至大约20℃以使含异黄酮的材料结晶。然后通过一般的固液分离方法可将再结晶的含异黄酮的材料回收，优选是从剩余的提取物中过滤。

也可以通过色谱法，优选是通过HPLC从富含异黄酮的提取物得到高度纯化的含异黄酮的材料。如果需要的话可将提取物浓缩，或者直接使用未经进一步浓缩的提取物。开始时要对提取物或浓缩后的提取物进行过滤以除去可能会堵塞HPLC柱的不溶物。优选地，对提取物的过滤是通过一个Whatman No. 5过滤器，然后通过一个0.45 μ过滤器。

HPLC柱的制备是通过用特定的吸附材料填充市售的普通HPLC柱完成的，该材料能以化合物特异性方式与异黄酮和非异黄酮杂质可释放地结

合。吸附材料可以是任何反相 HPLC 填充材料，然而优选的填充材料应根据负载能力、分离效率及费用来选择。这样一种优选填充材料是购自瑞典诺贝尔工业公司 Eka Nobel 的 Kromasil C18 16 μ m 100A 的珠状颗粒。

然后可以使过滤或浓缩后的提取物通过填充的 HPLC 柱，直至柱子的所有结合位点都被异黄酮完全饱和为止，可以通过检测从柱子中流出的液体中异黄酮的出现来得知这一点。然后可以用一种洗脱剂来洗脱 HPLC 柱，例如可用含水醇、乙腈、乙酸乙酯、丙酮、水或其组合来使异黄酮与提取物中的其它化合物分离。

在一个特别优选的实施方案中，洗脱剂是乙醇水溶液。含水乙醇中，醇体积百分含量可以为大约 10%至 90%。如果把单一浓度的乙醇作为洗脱剂，含水乙醇中优选的醇含量为大约 50vol%。然而更优选地是使用分步的梯度洗脱剂，其中首先用具有低醇含量的一种含水乙醇洗脱剂来洗脱柱子，然后用具有更高醇含量的连续含水乙醇洗脱剂来洗脱。例如，第一洗脱剂可以是 20%的乙醇水溶液，第二洗脱剂可以是 50%的乙醇水溶液，最终的洗脱剂可以是 80%的乙醇水溶液。

从柱子的流出液中收集含异黄酮材料的级分。对流出液中含异黄酮级分的确定优选使用 262 nm 处的 UV 吸收，并与流出液中含非异黄酮材料的级分分离。然后将收集到的含异黄酮材料级分合并以提供纯化的含异黄酮的材料。可通过加热、减压、或其组合来蒸发合并后的含异黄酮材料级分中的洗脱剂，这样就产生了一种固态的纯化的含异黄酮的材料。

将含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中

可根据一般的方法将含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。如果含异黄酮的材料是液体，可以在搅拌植物蛋白材料的过程中将含异黄酮的材料喷洒在其上。优选地，在被喷洒到植物蛋白材料上时，液态含异黄酮的材料是被雾化的。也可以将液态含异黄酮的材料倾入异黄酮贫乏的植物蛋白材料并与蛋白质一同混合。

如果含异黄酮的材料是固体，在被分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料中之前，优选将该固体材料研磨成粉末。然后可以将该粉末直接与植物蛋白材料相混合。优选将富含异黄酮的粉末材料与植物蛋白材料共同搅拌以

将含异黄酮的材料均匀地分散在蛋白质材料之中。

如果异黄酮贫乏的植物蛋白材料是分散于液体之中的，或呈浆状或是溶液，那么就可以将固态或液态的含异黄酮的材料加入到异黄酮贫乏的植物蛋白材料的浆液或溶液之中并混合。优选地，通过搅拌使含异黄酮的材料与异黄酮贫乏的植物蛋白材料的浆液或溶液相混合，例如使用搅拌桨。

在另一个实施方案中，可以将固态含异黄酮的材料与一种液体分散剂相混合并涂覆在异黄酮贫乏的植物蛋白材料之上，所述分散剂优选是豆油或卵磷脂。可以这样使用含有含异黄酮材料的液体分散剂：通过直接将液体分散剂加入到植物蛋白材料之中并混合的方法，例如使用螺条混合器，或通过在搅拌植物蛋白质材料的过程中将液体分散剂喷洒在其上的方法。

另一方面，本发明是一种生产植物蛋白组合物的方法，该组合物包含一种异黄酮贫乏的植物蛋白材料和一种含异黄酮的材料，其中异黄酮贫乏的植物蛋白材料和含异黄酮的材料都是从同一种植物材料中得到的。该方法包括下列步骤：提供一种含蛋白质和异黄酮的植物蛋白材料，用能有效溶解异黄酮的提取剂来提取植物材料以形成一种含异黄酮的提取物，将异黄酮贫乏的植物蛋白材料与含异黄酮的提取物分离，由提取物形成一种含异黄酮的材料，以及将含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。

提供了一种含蛋白质和异黄酮的植物材料，优选是通过从上面列出的含异黄酮和蛋白质的植物材料中选择一种植物材料。在一个优选的实施方案中，植物材料是大豆材料，包括处理或未处理过的大豆材料。在一个最优选的实施方案中，植物材料是大豆片状粉末、大豆粉或大豆粗粉材料。

植物材料是用一种能有效溶解异黄酮的提取剂来提取的，上面非限制性地列出了这类提取剂。在一个实施方案中，在生产植物蛋白浓缩物的过程中用上述的提取剂提取植物材料，其中在提取剂中含有异黄酮，而蛋白质不溶于提取剂。在另一个实施方案中，在生产植物蛋白分离物的过程中用上述的提取剂提取植物材料，其中在提取剂中含有异黄酮和蛋白质，而且将它们与不溶于提取剂的植物材料分离。

然后将异黄酮贫乏的植物蛋白材料从含异黄酮的提取物中分离。在一个实施方案中，异黄酮贫乏的材料是一种植物蛋白浓缩物，它分离自如上

面对植物蛋白浓缩物的描述的含异黄酮的提取物或洗液。在另一个实施方案中，异黄酮贫乏的材料是一种植物蛋白分离物，它分离自如上面对植物蛋白分离物的描述的含异黄酮的提取物，方法是使提取物中的植物蛋白材料沉淀并将沉淀的蛋白材料从提取物中分离出来。

然后就由提取物形成了含异黄酮的材料。含异黄酮的材料是提取物的衍生物，其中含异黄酮的材料可以由提取物得到，方法是浓缩提取物、使提取物中含异黄酮的材料再结晶、或者从提取物中纯化含异黄酮的材料，如上面对从提取物提供含异黄酮材料的描述。在本发明的这个实施方案中，含异黄酮的材料不应是提取物本身，因为使提取物与通过提取过程产生的异黄酮贫乏的植物蛋白材料重新结合将使初始植物材料中所有的成分再次结合，这样就不会产生改进了味道或功能的植物蛋白材料了。

然后就可以将含异黄酮的材料分散于异黄酮贫乏的植物蛋白材料之中。可以按照上述的方法将含异黄酮的材料分散于植物蛋白材料中。

本发明的植物蛋白组合物可用于各种食品中以强化营养和提供各种功能。例如，可将植物蛋白组合物加入下列食品中，但不限于：肉类，例如肉馅、乳化的肉，腌制的肉；饮料，例如营养饮料、运动饮料、蛋白质强化饮料、果汁、牛奶、牛奶替代物以及减肥饮料；块状营养食品；干酪，例如硬干酪和软干酪、乳脂干酪以及酪农干酪；冷冻甜食，例如冰淇淋、冻牛奶、低脂冷冻甜食以及无乳冷冻甜食；酸奶；汤；布丁；烤制食品；色拉调料；以及调味液和酱，例如蛋黄酱和酸饮料。

下列 1-4 的配方显示了可以使用本发明的植物蛋白组合物生产的食品或饮料。用于配方中的植物蛋白组合物是一种含异黄酮的材料分散于其中的大豆蛋白分离物，其中含异黄酮的材料含有分子式 1 和分子式 2 的几种异黄酮化合物。在下列实施例中的植物蛋白组合物中，每克蛋白质通常含有大约 2.5 至大约 5 毫克的总异黄酮。

配方 1

可直接饮用的饮料

一种可直接饮用的饮料由下述成分构成：

成分	组合物中的重量百分含量

水	80 - 85
植物蛋白组合物	10 - 15
蔗糖	5 - 8
可可粉	0.1 - 1
维生素/矿物质	0.1 - 1
调味剂	0.1 - 1
纤维素凝胶	0.1 - 0.5

可直接饮用的饮料每份为8盎斯，其中含有大约20克的植物蛋白组合物，该组合物中含有大约50至大约100毫克的异黄酮化合物。

配方2

粉末状饮料

一种粉末状的饮料由下列成分组成：

成分	组合物中的重量百分含量
植物蛋白组合物	85 - 90
蔗糖	8 - 15
麦芽糖糊精	1 - 5
维生素/矿物质	0.5 - 2
天冬糖精	0 - 0.5
调味剂	0 - 0.5

可将30克的粉末状饮料加入到水中形成一份饮品，其中含有大约25克的植物蛋白组合物，该组合物中含有大约62至大约125毫克的异黄酮化合物。

配方3

块状食品

一种块状食品由下列成分组成：

成分	组合物中的重量百分含量
植物蛋白组合物	20 - 30
淀粉糖浆	35 - 45

大米糖浆固体	7 - 14
甘油	1 - 5
可可粉	2 - 7
复合涂层	15 - 25

这种块状食品每份为 70 克，其中含有大约 15 克的植物蛋白组合物，该组合物中含有大约37至大约75毫克的异黄酮化合物。

配方 4

酸奶

一种酸奶由下列成分组成:

成分	组合物中的重量百分含量
水	65 -75
植物蛋白组合物	5 - 15
蔗糖	3 - 8
玉米淀粉	1 - 5
糊精	0.3 - 1
纤维素凝胶	1 - 3
培养菌(酸奶菌)	0.01 - 0.1
水果	10 - 20
维生素/矿物质	0.05 - 0.3

这种酸奶每份为 170 克，其中含有大约 8 克的植物蛋白组合物，该组合物中含有大约20至大约40毫克的异黄酮化合物。

下述非限制性的实施例例举了本发明的植物蛋白组合物及生产这种组合物的方法。

实施例 1

在第一个实验中，形成了一种异黄酮贫乏的大豆蛋白分离物。在一个提取罐中将 150 磅脱脂的大豆片状粉末与 1500 磅被加热至 33 ℃的水混合成浆状。向大豆片状粉末浆液中加入足量的氢氧化钙(约 1.3wt%)以将浆液的 pH 调节至 9.7 。将大豆片状粉末提取 30 分钟，然后通过离心使水溶液

与被提取过的大豆片状粉末分离。保持含水提取物的同时将提取过的豆饼残渣再次分散于900磅被加热至33℃的水中。此时提取过的片状粉末浆液的pH为9.0。通过离心收集第二次的含水提取物，并将第一次与第二次的提取物合并。向合并后的含水提取物中加入85%的磷酸以将pH调至4.5(大豆蛋白的等电点)以使蛋白质沉淀。然后将沉淀的蛋白质从合并后的含水提取物中分离出来，并用100磅的含水乙醇(80%)洗涤以形成异黄酮贫乏的蛋白分离物。

实施例2

在第二个实验中，形成了一种异黄酮贫乏的大豆蛋白浓缩物。将100磅脱脂的大豆片状粉末放入盛有1000磅被加热至35℃的含水乙醇(80%)的混合罐中。在混合罐中将豆饼与含水乙醇搅拌30分钟。通过离心并倾析上清液从大豆片状粉末材料中除去含水乙醇提取物，提供了异黄酮贫乏的大豆蛋白浓缩物。

实施例3

由一种乙醇提取的异黄酮贫乏的大豆蛋白浓缩物形成了一种异黄酮贫乏的大豆蛋白分离物。一种乙醇提取的异黄酮贫乏的大豆蛋白浓缩物是根据实施例2中的描述形成的。在一个提取罐中将用乙醇提取的大豆蛋白浓缩物与700磅被加热至33℃的水混合成浆状。向浆液中加入足量的氢氧化钙以将浆液的pH调节至9.7。将浆液提取45分钟，然后通过离心使含有可溶性大豆蛋白的含水提取物与浆液中的不溶性物质分开。保持含水提取物的同时将提取过的不溶性物质再次分散于450磅被加热至33℃的水中。通过离心收集第二次的含水提取物，并将第一次与第二次的提取物合并。向合并后的提取物中加入足量的盐酸以将其pH调至4.5以使溶解的蛋白质沉淀。然后将沉淀的蛋白质从合并后的提取物中分离出来，并用70磅的水洗涤以形成一种异黄酮贫乏的大豆蛋白分离物。

实施例4

由脱脂的大豆片状粉末材料形成了一种含异黄酮的材料。将100磅脱

脂的大豆片状粉末材料放入盛有 1000 磅被加热至 35 ℃的含水乙醇(80%)的混合罐中。在混合罐中将豆饼与含水乙醇搅拌 30 分钟。通过离心从大豆片状粉末材料中分离出富含异黄酮的含水乙醇提取物。通过减压下将提取物加热至 45 ℃，直至基本上除去其中的全部乙醇来浓缩含水乙醇提取物。浓缩的提取物含有约 50wt%的固体，而且是一种含异黄酮的材料。

实施例 5

形成了一种再结晶的含异黄酮的材料。按实施例 4 形成了 200 磅浓缩的含水乙醇提取物。向该浓缩的提取物中加入 180 磅温度为 13 ℃的冷水。将浓缩后的提取物/水的混合物在 7 ℃下保持 24 小时，含异黄酮的材料被以结晶固体材料的形式从溶液中回收。

实施例 6

形成了一种纯化的含异黄酮的材料。按实施例 4 形成了 900 磅含水乙醇提取物，不同的是与大豆片状粉末分离后该提取物并没有被浓缩。将提取物过滤，然后将其加载在 HPLC 柱上，该柱子用得自瑞典诺贝尔工业公司 Eka Nobel 的 Kromasil C18 16μm 100Å 的珠状颗粒填充。用 3 倍于柱体积的 30%的含水乙醇来洗脱柱子，然后用 3 倍于柱体积的 50%的含水乙醇，然后用 3 倍于柱体积的 80%的含水乙醇。从柱子的流出液中收集含异黄酮的那些洗脱剂级分，其中通过 262 nm 处的 UV 吸收来检测异黄酮。将含异黄酮的洗脱剂级分合并，通过减压下将各级分加热至 50 ℃使其浓缩成一种固体残渣。收集该固体残渣以提供一种纯化的含异黄酮的材料。

实施例 7

一种含异黄酮的材料得自红三叶草。将红三叶草干燥并放入盛有被加热至 80 ℃的乙醇水溶液(75%)的混合罐中。将三叶草与乙醇水溶液混合 10 小时，同时将混合物的温度维持在 80 ℃。将三叶草与提取物混合后，通过将混合物离心并倾析富含异黄酮的上清液来回收富含异黄酮的提取物。通过减压下将富含异黄酮的提取物加热至 60 ℃来将其浓缩，浓缩时间应足以除去提取物并留下富含异黄酮的残渣。

实施例 8

通过将实施例 4 - 8 中形成的任何一种含异黄酮的材料分散于实施例 1 中形成的大豆蛋白分离物中形成本发明的植物蛋白组合物。将大豆蛋白分离物放入混合罐中并向大豆蛋白质中加入含异黄酮的材料。将大豆蛋白分离物与含异黄酮的材料共同混合 30 分钟，然后回收植物蛋白组合物。

实施例 9

通过将实施例 4 - 8 中形成的任何一种含异黄酮的材料分散于实施例 2 中形成的大豆蛋白浓缩物中形成本发明的植物蛋白组合物。将大豆蛋白浓缩物放入混合罐中并向大豆蛋白浓缩物中加入含异黄酮的材料。将大豆蛋白浓缩物与含异黄酮的材料共同混合 30 分钟，然后回收植物蛋白组合物。

实施例 10

通过将实施例 4 - 8 中得到的任何一种含异黄酮的材料分散于实施例 3 中形成的大豆蛋白分离物中形成本发明的植物蛋白组合物。将大豆蛋白分离物放入混合罐中并向大豆蛋白质中加入含异黄酮的材料。将大豆蛋白分离物与含异黄酮的材料共同混合 30 分钟，然后回收植物蛋白组合物。

应该理解的是，上面只是本发明优选的实施方案，在不背离所附权利要求书中限定内容的主旨和范围的情况下，可对其进行各种改动和变化，对权利要求书的解释应依据包括等同原则在内的专利法原则。