(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 1556699 B
(45)授权公告日 2010.05.12

(21)申请号 02818486.6

(22)申请日 2002.07.23

(30)优先权数据
60/307,530 2001.07.24 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2004.03.22

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2002/023555 2002.07.23

(87)PCT申请的公布数据
WO2003/010116 EN 2003.02.06

(73)专利权人 嘉吉有限公司
地址 美国明尼苏达州威扎达市

(72)发明人 A·B·哈尔 B·H·希尔伯特

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
代理人 张宣红

(51)Int.Cl.
A61K 31/353(2006.01)
C07D 311/30(2006.01)
C07D 311/32(2006.01)
C07D 311/36(2006.01)
C07D 311/38(2006.01)
A23J 1/14(2006.01)

(56)对比文件
CN 1111946 ,1995.11.22, 权利要求 1 － 4、7,说明书第 2 － 3 页 .
作者姓名：陆蕴如主编 .《中药化学》卷号： 版本号 :1. 出版者名称：学苑出版社 ,1995,10-13.

审查员 修文

权利要求书 2 页 说明书 18 页

(54)发明名称

分离酚类化合物的方法

(57)摘要

本发明提供用于从含酚类化合物的植物原料的水性提取物中分离酚类化合物，尤其是异黄酮的组合物和方法。所述方法包括 :(a) 提供第一 pH 小于 10 的水性植物提取物，所述水性植物提取物包含许多酚类化合物 ;(b) 用第一有机溶剂提取所述水性植物提取物，产生第一有机提取物 ;(c) 用 pH 大于 10 的水相提取所述第一有机提取物，产生富含苯酚的水相 ;(d) 将所述富含苯酚的水相调至 pH 小于 9 ;(e) 从所述富含苯酚的水相中分离酚类化合物。

CN 1556699 B

1. 一种用于分离酚类化合物的方法，所述方法包括如下步骤：

(a) 提供第一 pH 大于 10 的水性植物提取物，所述水性植物提取物包含许多酚类化合物；

(b) 用有机溶剂洗涤所述水性植物提取物；

(c) 将水性植物提取物的 pH 调至小于 9；

(d) 从所述水性植物提取物中分离所述酚类化合物；

所述的酚类化合物选自：异黄酮、类黄酮、花色素、黄酮、黄烷醇、黄烷酮和原花色素；

所述的有机溶剂包括：1- 丁醇、叔丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、己烷、庚烷、辛烷、异己烷、二乙醚、甲基乙基酮、和二异丙醚。

2. 权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述水性植物提取物来自大豆。

3. 权利要求 2 所述的方法，其特征在于，所述水性植物提取物来自脱脂大豆胚芽。

4. 权利要求 3 所述的方法，其特征在于，所述酚类化合物是异黄酮。

5. 权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述酚类化合物选自异黄酮、黄烷醇、和黄烷酮。

6. 一种用于分离酚类化合物的方法，所述方法包括：

(a) 提供第一 pH 小于 10 的水性植物提取物，所述水性植物提取物包含许多酚类化合物；

(b) 用第一有机溶剂提取所述水性植物提取物，产生第一有机提取物；

(c) 用 pH 大于 10 的水相提取所述第一有机提取物，产生富含苯酚的水相；

(d) 将所述富含苯酚的水相调至 pH 小于 9；

(e) 从所述富含苯酚的水相中分离酚类化合物；

所述的酚类化合物选自：异黄酮、类黄酮、花色素、黄酮、黄烷醇、黄烷酮和原花色素

所述第一有机溶剂包括：1- 丁醇、叔丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、己烷、庚烷、辛烷、异己烷、二乙醚、甲基乙基酮、和二异丙醚。

7. 权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述水性植物提取物来自大豆。

8. 权利要求 7 所述的方法，其特征在于，所述水性植物提取物来自脱脂大豆胚芽。

9. 权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述酚类化合物是异黄酮。

10. 权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述酚类化合物选自异黄酮、黄烷醇、和黄烷酮。

11. 权利要求 9 所述的方法，其特征在于，步骤 (e) 包括用第二有机溶剂提取所述富含苯酚的水相，产生第二有机提取物；

所述第二有机溶剂包括：1- 丁醇、叔丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、己烷、庚烷、辛烷、异己烷、二乙醚、甲基乙基酮、和二异丙醚。

12. 权利要求 11 所述的方法，其特征在于，所述方法还包含如下步骤：除去第二有机提取物中的有机溶剂，产生异黄酮产物。

13. 权利要求 11 所述的方法，其特征在于，所述第一和第二有机溶剂分别选自 1- 丁醇、或乙酸乙酯。

14. 权利要求 13 所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：在步骤 (b) 前，将所述水性植物提取物的 pH 升至 10 以上，然后就将 pH 降至 6-8。

15. 一种组合物，所述组合物包含：

(a) 两种或多种异黄酮，其中，异黄酮占所述组合物的 15％以上（按重量计），

(b) 所述组合物在这样的混合物中的溶解度为 80％或以上：该混合物包含在水中的 0.03 重量％的所述组合物。

16. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述异黄酮占所述组合物的 15-60％。

17. 权利要求 16 所述的组合物，其特征在于，所述异黄酮占所述组合物的 35-55％。

18. 权利要求 17 所述的组合物，其特征在于，所述组合物的溶解度大于 90％。

19. 权利要求 18 所述的组合物，其特征在于，所述组合物的溶解度大于 95％。

20. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，在燃烧所述组合物时，测定的灰分含量小于 25％。

21. 权利要求 20 所述的组合物，其特征在于，在燃烧时，灰分含量小于 10％。

22. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物的 L 颜色值大于 65。

23. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物的 a 颜色值小于 4。

24. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物的 L 颜色值大于 75，a 颜色值小于 2。

25. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物包含黄豆苷和染料木苷，所述黄豆苷和染料木苷的重量百分率之比大于 1，其中所述黄豆苷和染料木苷以糖苷配基或糖基化形式存在。

26. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物包含黄豆苷和染料木苷，所述黄豆苷和染料木苷的重量百分率之比大于 2，其中所述黄豆苷和染料木苷以糖苷配基或糖基化形式存在。

27. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物包含 glycitin 和染料木苷，所述 glycitin 和染料木苷的重量百分率之比大于 1，其中所述 glycitin 和染料木苷以糖苷配基或糖基化形式存在。

28. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物包含黄豆苷、glycitin 和染料木苷，所述黄豆苷和染料木苷的重量百分率之比大于 1，所述 glycitin 和染料木苷的重量百分率之比大于 1，其中所述黄豆苷、glycitin 和染料木苷以糖苷配基或糖基化形式存在。

29. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，所述组合物包含黄豆苷、glycitin 和染料木苷，所述黄豆苷和染料木苷的重量百分率之比大于 2，所述 glycitin 和染料木苷的重量百分率之比大于 2，其中所述黄豆苷、glycitin 和染料木苷以糖苷配基或糖基化形式存在。

30. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于，95％以上的异黄酮呈游离糖苷的形式。

31. 权利要求 29 所述的组合物，其特征在于，98％以上的异黄酮呈游离糖苷的形式。

32. 权利要求 15 所述的组合物，其特征在于：

a) 所述组合物的溶解度大于 90％，

b) 燃烧时，灰分含量小于 10％，

c) 所述组合物的 L- 色值大于 75，a- 色值小于 2。

d) 所述组合物包含黄豆苷、glycitin 和染料木素，黄豆苷和染料木苷的重量百分率之比大于 2，glycitin 和染料木苷的重量百分率之比大于 2，

e)95％以上的异黄酮呈游离糖苷的形式。

分离酚类化合物的方法

发明领域

[0001] 本发明涉及从植物原料中分离酚类化合物的方法，更具体的是，本发明涉及从植物原料如大豆提取物中分离异黄酮的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 植物是生物活性化合物的天然仓库。获得这种丰富多样的化合物的主要困难在于难以分离各种化合物。异黄酮是一类人们感兴趣的含有酚的植物类黄酮化合物，被认为对哺乳动物具有许多有利于健康的作用。例如，异黄酮对于绝经期及围绝经期妇女出现的症状有疗效。目前，15％的绝经期妇女都在接受激素取代疗法(HRT)，该疗法使用动物雌激素。来自动物雌激素的HRT产品很有效，并且作用于所有的雌激素受体。这种疗效与患乳腺癌及其它并发症的危险增大有关。由于植物异黄酮对雌激素受体的亲和力较低，优选它们来代替动物雌激素。此外，一些研究表明异黄酮甚至可以防止或延缓某些癌症，如乳腺癌和前列腺癌，并且具有降低血清胆固醇的作用。

[0004] 尽管植物异黄酮具有有利的疗效，但是许多患者并没有增加异黄酮的摄入，尤其是可从大豆食物中获得的那些，这是因为在许多国家中各种基于大豆的食物已经受到限制，并且由于许多人发现大豆食物的味道和颜色是苦的，且不能引起食欲。因此，要求提供一种从各种植物原料中分离异黄酮的方法，改善其纯度、颜色、味道、溶解度以及保存稳定性，以促进这些有益养分掺入各种食物、饮料、食物补充物及药品中。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明提供用于分离酚类化合物的方法，所述方法包括如下步骤：

[0007] (a)提供第一pH大于10的水性植物提取物，所述水性植物提取物包含许多酚类化合物；

[0008] (b)用有机溶剂洗涤所述水性植物提取物；

[0009] (c)将水性植物提取物调至pH小于9；

[0010] (d)从所述水性植物提取物中分离所述酚类化合物。

[0011] 本发明还提供用于分离酚类化合物的方法，所述方法包括：

[0012] (a)提供第一pH小于10的水性植物提取物，所述水性植物提取物包含许多酚类化合物；

[0013] (b)用第一有机溶剂提取所述水性植物提取物，产生第一有机提取物；

[0014] (c)用pH大于10的水相提取所述第一有机提取物，产生富含苯酚的水相；

[0015] (d)将所述富含苯酚的水相调至pH小于9；

[0016] (e)从所述富含苯酚的水相中分离酚类化合物。

[0017] 本发明也提供一种组合物，所述组合物包含：

[0018] (a)两种或多种异黄酮，其中，异黄酮占所述组合物的15％以上（按重量计），

[0019] (b)所述组合物在混合物中的溶解度约80％或以上，所述混合物在水中包含约0.03％组合物（按重量计）。

[0020] 本发明也提供一种异黄酮组合物，其中，在燃烧所述组合物时，灰分含量小于约

25%。本发明也提供一种异黄酮组合物，其中所述组合物的 L- 色值大于约 65。

[0021] 本发明也提供一种异黄酮组合物，其中，所述组合物包含黄豆苷和染料木苷，黄豆苷和染料木苷的重量百分比大于 1，且所述黄豆苷和染料木苷以糖苷配基或糖基化形式存在。

[0022] 本发明也提供一种异黄酮组合物，其中，

[0023] a) 所述组合物的溶解度大于约 90%，

[0024] b) 燃烧时，灰分含量小于约 10%，

[0025] c) 所述组合物的 L- 色值大于约 75，a- 色值小于 2。

[0026] d) 所述组合物包含黄豆苷、glycitin 和染料木苷，黄豆苷和染料木苷的重量百分比大于 2，glycitin 和染料木苷的重量百分比大于 2，

[0027] e)95%以上的异黄酮呈游离的糖苷形式。

[0028] 除非另有说明，本文所用的所有技术和科学术语具有如本发明所属领域的技术人员通常理解的相同意思。虽然也可以使用类似于或相等于本文所述的方法和材料来实施本发明，但是以下描述了合适的方法和材料。本文所述的所有出版物、专利申请、专利全文纳入供参考。在有矛盾时，将参照本说明书包括定义。此外，所述原料、方法以及实施例仅用于说明，而不是用于限制本发明。

[0029] 以下将详细描述本发明的一个或多个实施方式。本发明的其它特征、目的和优点从说明详述和权利要求书中显而易见。

[0030] 详细说明

[0031] 本发明提供用于从含酚类化合物的植物原料的水性提取物中分离酚类化合物，尤其是异黄酮的方法。本发明也提供异黄酮的组合物。所述方法利用温度、溶剂和 pH 范围从含异黄酮的粗水性植物提取物中发现的主要杂质中分离酚类化合物。选择性分配、提取、纯化、分离和转化所需异黄酮促使所需异黄酮的回收率、稳定性和纯度提高。所得异黄酮组合物的颜色、气味、香味、溶解度和储存期得到提高。

[0032] 本发明使用调节溶液和混合物的 pH 值的方法。可以使用任何已知的碱来升高水溶液或混合物的 pH，包括氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化铯、氢氧化锂或氨。可以使用许多已知的有机或无机酸来降低水溶液或混合物的 PH 值，包括乙酸、盐酸、硫酸、磷酸、硝酸、草酸、亚硫酸或者亚氯酸。

[0033] 酚类化合物，尤其是含异黄酮的水性植物提取物可以通过本领域熟知的方法由含这种化合物的任何植物原料制备。含酚类化合物或者多酚化合物的植物原料包括但不限于果实、蔬菜、谷物、坚果、茶、酒、禾本科植物等。本发明的方法可以使用含酚类化合物（在 pH ＞ 10 时稳定）的任何植物原料。所述含异黄酮的植物原料包括大豆、鹰嘴豆、红三叶草、地下三叶草、落花生、黄芪、marama 豆、刀豆、洋刀豆、海滨刀豆、carao 豆、瓜尔豆、balu、扁豆、香草豌豆、印度野豌豆、青豆、今可豆、四棱豆、西印度豆薯、蚕豆、花生、滨豆、跳豆、苜蓿、绒毛黧豆、非洲角豆荚、音加属豆科、塞浦路斯豌豆、yebnut、鸟柏树、波利尼西亚粟树、野葛根、油豆树、牧豆树、罗望子、胡芦巴、印度甘草和野豆的植物和植物副产物，以及这种植物原料的制品如脱脂豆片、豆粉、大豆胚芽粉和豆渣。

[0034] 如本文所述，术语“酚类化合物”包括含酚类亚单位的化合物。所述亚单位可以连接、键合或稠合到任何其它类型的分子结构上。优选的酚类化合物包括来自植物提取物的

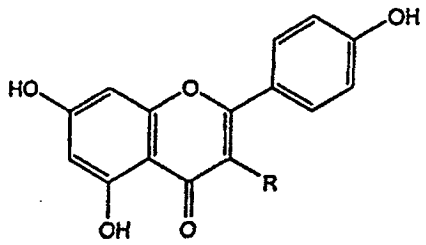
酚类化合物（植物酚类化合物）。其它优选的酚类化合物包括酚类亚单位上具有一个以上羟基取代基的化合物，或者具有一个以上酚类亚单位的化合物（多酚化合物）。尤其优选的多酚化合物来自植物提取物（植物多酚化合物）。多酚化合物包括但不限于酚酸和类黄酮。

[0035] 如本文所述，本领域技术人员容易理解术语“类黄酮”（见例如，H.Merken 和 G..Beecher，J.of Agricultural and Food Chemistry，第48卷，No.3.，2000），包括但不限于花色素、黄酮/黄酮醇、黄烷酮以及原花色素。

[0036] 类黄酮通式

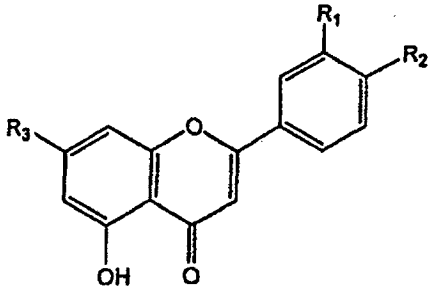
[0037] （在黄酮中 R = H，在黄酮醇中 R = OH）

[0038]



[0039] 黄烷酮通式

[0040]



[0041]

黄烷酮	R1	R2	R3
Didymin	H	OMe	ORut
圣草次苷 (Eriocitrin)	OH	OH	ORut
圣草酚 (Eriodictyol)	OH	OH	OH
橙皮素 (Hesperetin)	OH	OMe	OH
橙皮苷 (Hesperidin)	OH	OMe	ORut
Isoakuranetin	H	OMe	OH
柚苷配基 (Naringenin)	H	OH	OH

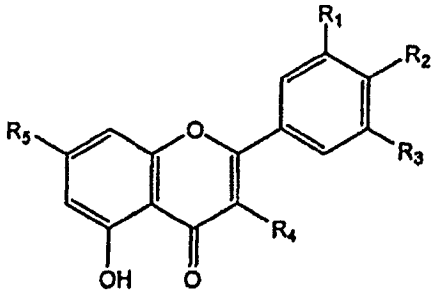
黄烷酮	R1	R2	R3
柚皮苷 (Naringin)	H	OH	ONeo
柚皮芸香苷 (Narirutin)	H	OH	ORut
新圣草次苷 (Neoeriocitrin)	OH	OH	ONeo
新橙皮苷 (Neohesperidin)	OH	OMe	ONeo
松属素 (Pinocembrin)	H	H	OH
枸桔苷 (Poncirin)	H	OMe	ONeo

[0042] Rut ＝芸香糖苷 (rutinoside)

[0043] Neo ＝ neosesperidose

[0044] 黄酮醇通式

[0045]



[0046]

黄酮醇	R1	R2	R3	R4	R5
紫云英苷 (Astragalin)	H	OH	H	OGlu	OH
金丝桃苷 (Hyperoside)	OH	OH	H	OGal	OH
异栎素 (Isoquercitrin)	OH	OH	H	OGlu	OH
异鼠李亭 (Isorhamnetin)	OMe	OH	H	OH	OH
茨非素 (Kaempferide)	H	OMe	H	OH	OH
茨非醇 (Kaempferol)	H	OH	H	OH	OH
杨梅黄酮 (Myricetin)	OH	OH	OH	OH	OH

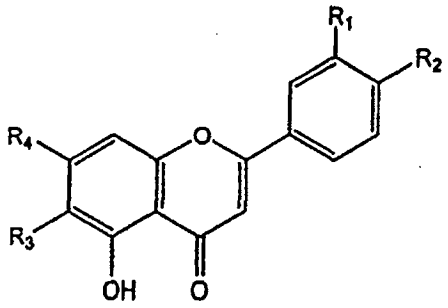
黄酮醇	R1	R2	R3	R4	R5
栎精 (Quercetin)	OH	OH	H	OH	OH
栎素 (Quercitrin)	OH	OH	H	ORham	OH
鼠李亭 (Rhamnetin)	OH	OH	H	OH	OMe
芸香苷 (Rutin)	OH	OH	H	ORut	OH

[0047] Rut ＝芸香糖 Gla ＝半乳糖

[0048] Glu ＝葡萄糖 Rham ＝鼠李糖

[0049] 黄酮通式

[0050]



[0051]

黄酮	R1	R2	R3	R4
芹菜配基 (Apigenin)	OH	H	H	OH
贝加因 (Baicalein)	H	H	OH	OH
柯因 (Chrysin)	H	H	H	OH
香叶木苷 (Diosmin)	OMe	OH	H	ORut
芫花素 (Genkwanin)	OH	H	H	OMe
异漆树苷 (Isorhoifolin)	OH	H	H	ORut
Lureolin	OH	OH	H	OH
漆树苷 (Rhoifolin)	OH	H	H	ONeo

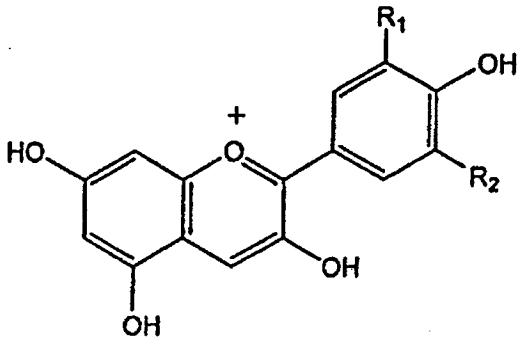
黄酮	R1	R2	R3	R4
柚木柯因 (Tectochrysin)	H	H	H	OMe

[0052] Rut ＝芸香糖 Gla ＝半乳糖

[0053] Glu ＝葡萄糖 Rham ＝鼠李糖

[0054] 花色素通式

[0055]

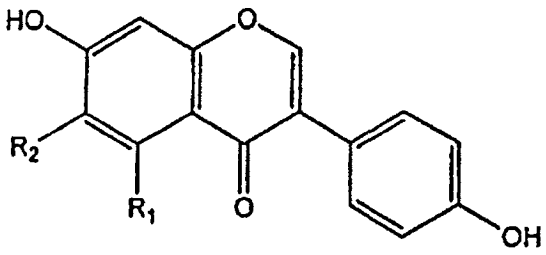


[0056]

花色素	R1	R2
花青素 (Cyanidin)	H	OH
翠雀素 (Delphinidin)	OH	OH
锦葵色素 (Malvidin)	OMe	OMe
花葵素 (Pelargonidin)	H	H
Pelunidin	OMe	OH
芍药素 (Peonidin)	OMe	H

[0057] 异黄酮通式

[0058]



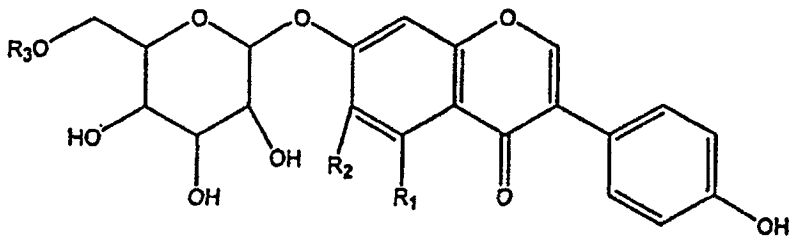
[0059] 表 1. 糖苷配基异黄酮通式

[0060]

异黄酮	结构式	Mw	R1	R2
黄豆苷原 (Daidzein)	$C_{15}H_{10}O_4$	254.24	H	H
染料木黄酮 (Genistein)	$C_{15}H_{10}O_5$	270.24	OH	H
黄豆黄素 (Glycitein)	$C_{16}H_{12}O_5$	284.26	H	OCH_3

[0061] 大豆中发现的糖基化异黄酮具有以下结构式（结构 2），如表中进一步说明。

[0062]



[0063] 糖基化异黄酮通式

[0064]

异黄酮	R1	R2	R3
黄豆苷 (Daidzin)	H	H	H
染料木苷 (Genistin)	OH	H	H
Glycitin	H	OCH_3	H
乙酰黄豆苷 (Acetyldaidzin)	H	H	$COCH_3$
乙酰染料木苷 (Acetylgenistin)	OH	H	$COCH_3$
乙酰 glycitin	H	OCH_3	$COCH_3$
丙二酰黄豆苷 (Malonyldaidzin)	H	H	$COCH_2COOH$
丙二酰染料木苷 (Malonylgenistin)	OH	H	$COCH_2COOH$
丙二酰 glycitin	H	OCH_3	$COCH_2COOH$

[0065] 具体的是，含异黄酮的水性植物提取物可以由大豆或苜蓿制备，已知它们含提高浓度的异黄酮。例如，水性植物提取物可以由大豆、大豆饼粕、大豆片、大豆粉、大豆胚芽、大豆胚芽粉、大豆汁（也称为大豆溶解液）、Novasoy®、大豆乳清或者任何其它浓缩的异黄酮产品制备。大豆胚芽部分尤其适于用作原料，因为相比其它的大豆部分，它们包

含高含量（约 2 重量％ / 单位重量）异黄酮。已知用于从大豆制备大豆饼粕、大豆片、大豆粉、大豆胚芽、大豆胚芽粉、大豆汁（已称为大豆溶解液）、Novasoy®和大豆乳清的方法。（可见，例如 EricksonD. R.，《大豆加工和利用的实践手册》(Practical Handbook of SoybeanProcessing and Utilization)，AOCS Press，1995 和美国专利 5,702,752，描述了制备大豆汁的方法）。大豆乳清是由等电或二价阳离子沉淀所述溶解部分而形成的液体，所述溶解部分由 U. S. 6,033,714 中所述将大豆加工成大豆食物的工艺制得。Novasoy®已描述为来自大豆的产品，它从 Archer DanielsMidland Company 获得。

[0066] 当使用大豆或大豆胚芽作为原料时，它们可以用常规熟知的油分离方法预处理。（可见，例如 Wan Peter J.，《萃取油籽和非石油油类的技术和溶剂》(Technology and Solvents for Extracting Oilseeds and Nonpetroleum Oils)，AOCS Press，1997。）例如，辗碎大豆原料、脱壳、压成片并用有机溶剂如己烷提取。在除去溶剂之后，可用含水乙醇提取所述来自油提取所得的大豆饼粕或者白色薄片，例如在 60-80℃下使用乙醇。在提取之后，优先但不需要将所得 pH 接近中性（约 6-8）的水性植物提取粗液中的醇除去。因此，本发明所用的水性植物提取物常含有残量的其它各种溶剂。例如可见 U. S. 6,132,795，举例说明了用于从植物原料中制备含异黄酮的水性植物提取粗液的其它常规方法。

[0067] 如上所述，水性植物提取物可以直接用作本发明工艺中的原料。或者，在按照本发明加工之前，使水性植物提取液进行其它预纯化步骤。已知其它预纯化步骤，包括但不限于超滤和吸附色谱。此外，预纯化还可以包括对植物提取物进行喷雾干燥和重结晶。例如可见，美国专利号 .5,702,752、5,792,503、6,033,714 和 6,171,638。所得含酚类或异黄酮的部分在按照本发明所述工艺之前可以适当处理，和 / 或再悬浮在水溶液中。

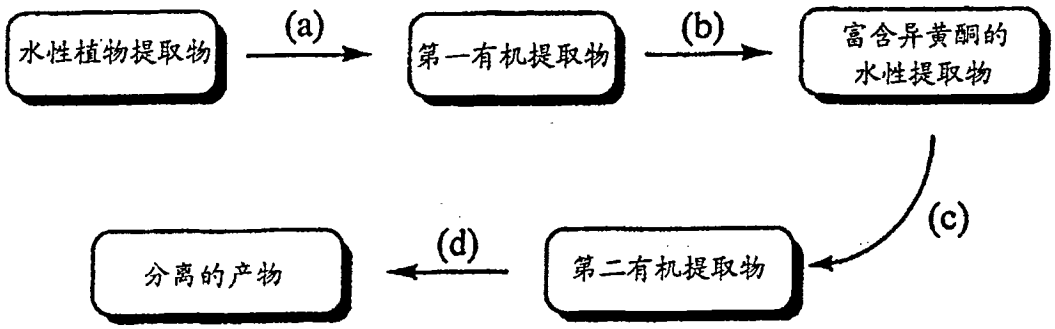
[0068] 大豆和大豆食物是异黄酮的普通饮食来源。大豆中存在的异黄酮包括异黄酮糖苷配基和异黄酮糖苷，其中葡萄糖分子通过糖苷键连接到异黄酮主链上。大豆中存在的异黄酮糖苷配基包括但不限于黄豆苷原、染料木黄酮和黄豆黄素。大豆中存在的异黄酮糖苷化合物包括：黄豆苷、染料木苷、glycitin、6″ -O- 乙酰基黄豆苷、6″ -O- 乙酰基染料木苷、6″ -O- 乙酰基 glycitin、6″ -O- 丙二酰黄豆苷、6″ -O- 丙二酰染料木苷和 6″ -O- 丙二酰 glycitin。所述 6″ -O- 乙酰基异黄酮和 6″ -O- 丙二酰异黄酮是葡萄糖分子在 6 位上的酯化衍生物。大豆中约 97-98％天然存在的异黄酮均为糖基化形式。

[0069] 包含异黄酮的水性醇提取粗液中的主要杂质是皂角苷、低聚糖和蛋白质。异黄酮和所述主要杂质之间的一个差异是异黄酮含酚部分，而皂角苷和低聚糖则没有。当蛋白质包含酚部分时，蛋白质的溶解度和分配通常不受这些酚基控制。低聚糖和皂角苷通常溶于极性溶剂，而不论其 PH 值，蛋白质则被有机溶剂变性。令人感兴趣的是，异黄酮中的酚部分使它们可溶于极性或非极性（水性或有机）溶剂中，这取决于所述溶剂的 pH。

[0070] 本发明意识到，在如上所述获得水性植物提取物之后，可以使用如下所述的方法分离异黄酮。

[0071] 流程 I

[0072]



[0073] 最初，处理水性醇提取物，以降低存在的醇量。这种降低有助于后续提取的效率。降低醇量可以通过本领域已知的方法进行，包括在常压或减压条件下共沸蒸馏，通常包括加入水。

[0074] 在步骤 a) 中，水性植物提取物的 pH 可以调至约为 6-8 的中性 pH，并用不混溶的有机溶剂提取，产生第一有机提取粗物。所述提取过程可以使用本发明已知的方法进行，常包括多次洗涤混合物，由此制得提取物。有用的有机溶剂包括 1- 丁醇、2- 丁醇、叔丁醇、戊醇、己醇、庚醇、辛醇、乙酸乙酯、四氢呋喃、己烷、庚烷、辛烷、异己烷、二乙醚、甲基乙基酮、二异丙醚或者其它醚、或者其它不和水混溶的极性或非极性有机溶剂，或者这些溶剂的混合物。在这一阶段中，所述异黄酮主要在有机提取物中，而一些蛋白质、低聚糖和皂角苷则留在水相中。

[0075] 或者，在第一次有机提取前，可以在高 pH 或低 pH 下预处理所述水性植物提取物，便于后续的提取。通过暴露在酸性或碱性条件下，植物提取物中所含的许多组分会改性。这些改性可以改变各种化合物的溶解度，根据所需产物使它们更容易或更难分离。为了提取异黄酮糖苷，优选在第一提取步骤前在高 pH 条件下预处理所述水性植物提取物。在 10-12、11-12，或者具体 pH 如 11.1、11.2、11.3、11.4 或 11.5，或其间任一值下进行处理，可以将乙酰基异黄酮和丙二酰异黄酮衍生物转化成糖基化结构 2，其中 R_3 是氢。技术人员意识到，通过升高温度可以提高这些改性过程的速率。但是，若温度升得太高，则会出现不良的副反应或副产物。因此，在某些情况下，优选在低温度下进行较长时间的反应。优选 pH 调节的提取物的温度升至 40℃以上。所述温度可以升至 42-65℃，55-65℃，57-62℃，或者升至具体的温度如 60℃或者其间任一值。优选将提取物的 pH 调至 11.3，加热至 45℃，维持 30 分钟，并在接着的提取步骤中冷却至接近室温，并将 pH 调至接近中性。

[0076] 在步骤 b) 中，用 pH ＞ 10，优选 pH ＞ 11 的水溶液提取所述第一有机提取物，得到富含异黄酮的水性提取物。所述提取物的具体 pH 并不是关键，而是由待提取化合物的 pKa 决定。在异黄酮的情况下，优选接近 10-12 的 pH 来驱动平衡至大多数的酚基脱质子的程度，且所得的盐是水溶的。尤其优选 pH 为 11.2-11.5。技术人员意识到，pH 太高和极端温度一样有害。常常进行多次洗涤，并混合产生富含异黄酮的水性提取物。若需要的话，所述富含异黄酮的水性提取物可以用有机溶剂洗涤，以获得更佳的纯度。

[0077] 在步骤 c) 中，富含异黄酮的水性提取物的 pH 调至约中性 (6-8)，并用有机溶剂提取，得到富含异黄酮的（第二）有机提取物。进行再次洗涤，并混合产生这种提取物。

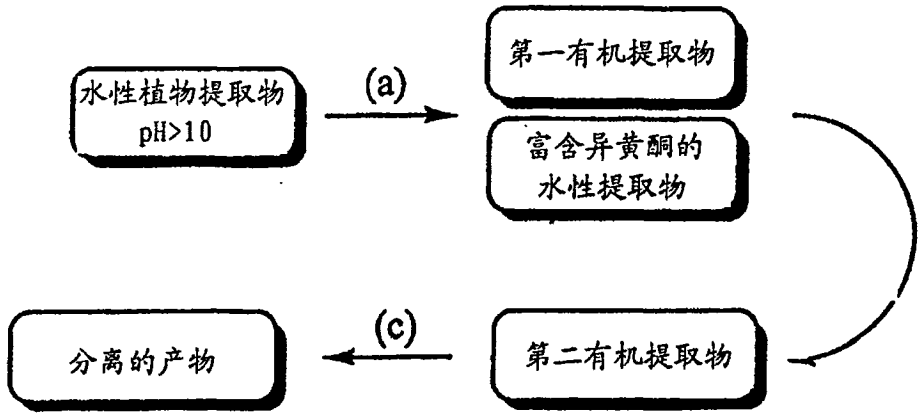
[0078] 最后，在步骤 d) 中，使用标准方法如干燥、色谱法、结晶或者其它熟知的方法，从富含异黄酮的有机提取物中分离所述异黄酮。最方便的是，喷雾干燥所述提取物，产生本发明的异黄酮。

[0079] 技术人员会识到，通过本申请的方法，混合使用各种提取步骤或者升高提取温度有利于获得更加有效的提取效果。这种修改是熟知的，且根据使用条件或多或少能应用。优选的温度是接近室温（即 15-40℃）。若所述提取物在这种温度下更加稳定，那么在降低的温度下进行提取是有利的。

[0080] 使用不同 pH 的极性相进行多重分离步骤，可以获得多次循环的分离、提取和 / 或纯化。例如，分离步骤可以在中性 pH 和 pH ＞ 10 的范围内交替进行。或者，所述水性植物提取物可以如流程 II 所述进行处理。

[0081] 流程 II

[0082]



[0083] 所述原料水性植物提取物的 pH 升至大于 10，并如流程 I 的步骤 (a) 中所述用有机溶剂洗涤，产生第一有机提取物和富含异黄酮的水性提取物。所得第一有机提取物含杂质，要丢弃。然后所述富含异黄酮的水性提取物的 pH 调至接近中性 (6-8)，并如流程 I 的步骤 c) 所述用有机溶剂提取，产生第二有机提取物。如以上流程 I 所述，加工所述第二有机提取物，产生分离的产物。本发明优选的异黄酮产物的纯度为 15-70％，以所有异黄酮的重量％计。所述纯度优选在约 35-65％之间，更优选约 40-50％。

[0084] 实施例和制备方法

[0085] 在这些实施例中使用的材料可以从熟知的商业来源获得。所报道的纯度以重量百分数计，产率以本方法中原料的理论量为基础。以本领域已知的方法进行异黄酮含量的分析。（例如可见，Song，Tongtong、Barua，Kobita、Buseman，Gwen、Murphy，PA，“大豆异黄酮分析”质量控制和新的内标准“(Soy IsoflavoneAnalysis :Quality Control and a New Internal Standard)，Am J Clin Nutr1998 ;68（增刊），第 1474S-9S 页 ;Murphy，PA ；Song，TT、Buseman，Gwen、Barua，Kobita、“基于大豆的婴儿配方中的异黄酮”(Isoflavones in Soy-based Infant Formulas)，J. Agri c. Food Chem. 1997，45，4635-4638 ;和 Wang，H、Murphy，PA，“市售大豆食品中的异黄豆含量”(Isoflavone Contentin Commercial Soybean Foods)，J. Agric. Food Chem. 1994，42，1666-1673。）

[0086] 制备方法 1

[0087] 由大豆胚芽粉制备水性植物提取物 ：

[0088] 己烷提取 ：研磨含 80％以上大豆胚芽的产品，产生大豆粉（大豆胚芽产品是本领域熟知的，可见美国专利 #5，952，230 和 WO 96/10341）。用 53.5kg 沸腾的己烷在连续搅拌下提取 20kg 大豆胚芽粉 5 小时。在 50℃下篮式离心所述提取浆液，从所述己烷中分离固

体，产生总共 18.6kg 脱脂大豆饼粕。在室温 (21-22℃) 下，风干除去 (24 小时) 这种脱脂大豆饼粕的溶剂。

[0089] 乙醇提取和浓缩 ：在 59-62℃下，用 290kg 乙醇 / 水 (80/20，体积 / 体积) 在连续搅拌下提取所述除去溶剂的饼粕。再次通过离心分离所述固体。离心在 50℃下进行，产生约 17.4kg 固体和约 350L 水性粗提取。所述粗提取液然后在 65-70℃下真空浓缩约 1 小时，到体积约为 170L。在 65-70℃下再继续进行真空浓缩 4 小时，期间，逐渐加入总共 270L 的软水，以便降低提取液中的乙醇含量。在浓缩过程中没有发现沉积或颜色变化。得到最终水性提取物 (重 48kg)，其残留乙醇含量为 825ppm。所述提取物约为 5.5％固体、0.3-0.35％异黄酮、0.3-0.5 皂角苷、0.2-0.35％低聚糖和 0.38％蛋白质。

[0090] 制备方法 2

[0091] 由市售大豆粉制备水性植物提取物 ：

[0092] 在 60℃下用 80％乙醇 / 水 (2.5L) 提取呈白色薄片的市售低纤维脱脂大豆饼粕 7 小时。在减压调节下蒸发所述乙醇，产生水性提取物 (2.0L)，为 17％固体和 0.2％异黄酮。

[0093] 制备方法 3

[0094] 由大豆胚芽制备水性植物提取物 ：

[0095] 使用纯度约为 74％的大豆胚芽制备水性提取物。研磨大豆胚芽，用己烷脱脂并干燥。然后在 60℃下用 80％乙醇 / 水提取 7 小时。在减压条件下蒸发所述乙醇，产生水性提取物，为 14％固体和 0.86％异黄酮。

[0096] 由水性植物提取物分离异黄酮

[0097] 实施例 1

[0098] 用 6N NaOH 将制备方法 1 所得水性植物提取物 (100L) 调节至 pH 11.2。然后，用 1-丁醇 (100mL) 提取所述水相，并分离所述层。用浓盐酸将所述水相 pH 调至 6.8，并用 1-丁醇 (60mL) 再次提取，产生第二提取物。在减压条件下浓缩所述第一提取物，产生 1.28g 黄色固体 (3.37％异黄酮)，第二提取物经过类似处理产生 0.55g 淡黄色固体 (纯度 37.78％，回收率 ：56.9％)。

[0099] 实施例 2

[0100] 将制备方法 1 所得的水性植物提取物样品经过再生的纤维素膜 (10000MWCO)，得到 200mL 含异黄酮的渗透液。用 6N NaOH 将所述渗透液的 pH 调至 11.2，用 200ml 丁醇在室温下提取，并分离各层，产生第一提取物。用浓盐酸将所述水相的 pH 调至 6.8，并用 1- 丁醇 (200mL) 提取水相，产生第二提取物。在减压条件下浓缩所述第一提取物，产生 0.84g 黄色固体 (异黄酮纯度为 10.48％)，第二提取物经过类似处理产生 0.52g 淡黄色固体 (纯度 34.88％，回收率 ：38％)。

[0101] 实施例 3

[0102] 用 6N NaOH 将制备方法 1 所得水性植物提取物 (100L) 调节至 pH11.8。然后，用乙酸乙酯 (100mL) 提取，并分离各层，产生第一提取物。用浓盐酸将所述水相的 pH 调至 6.7，并用乙酸乙酯 (100mL) 提取，制得第二提取物。在减压条件下浓缩所述第一提取物，产生 0.4g 黄色固体 (异黄酮纯度为 15.71％)，第二提取物经过类似处理产生 0.19g 淡黄色固体 (纯度 67.46％，回收率 ：32％)。

[0103] 实施例 4

[0104] 用水将制备方法 3 所得的水性植物提取物稀释两倍，得到稀溶液 (200mL)，用 6N NaOH 将 pH 调至 11.24，用 1- 丁醇 (200mL) 提取所述水相，并分离所述层，产生第一提取物。用浓盐酸将所述水相的 pH 调至 6.5，并用 1- 丁醇 (200mL) 提取，产生第二提取物。在减压条件下浓缩所述第一提取物，产生 1.57g 黄色固体 (纯度为 4.5％)，第二提取物经过类似处理产生 1.44g 淡黄色固体 (纯度 34.9％，回收率 :72％)。

[0105] 实施例 5

[0106] 将制备方法 1 所得的水性植物提取物 (200mL) 加热至 42℃，用 6N NaOH 将 pH 调至 11.2。搅拌所述混合物 15 分钟。搅拌后，用浓盐酸将 pH 调回至 6.5，并将所述混合物冷却至室温。然后用 1- 丁醇 (200mL) 提取所述混合物。通过搅拌 15 分钟，在 pH11.2 下用水反提取所述丁醇层，并分离各层。然后用浓盐酸将所述混合的水相调至 pH6.5，并用 1- 丁醇 (200mL) 提取，产生第二提取物。在减压条件下浓缩所述第二提取物，产生 0.93g 黄色固体 (纯度 :45.38％，回收率 :66.4％，98.6％异黄酮不含糖苷、作为糖苷配基的异黄酮与染料木黄酮、黄豆黄素和黄豆苷原的比例分别为 16.1％、36.8％和 47.1％)。

[0107] 实施例 6

[0108] 将制备方法 1 所得的水性植物提取物 (200mL) 加热至 45℃，用 6N NaOH 将 pH 调至 11.3。搅拌所述混合物 10 分钟。搅拌后，用浓盐酸将 pH 调回至 6.5，并将所述混合物冷却至室温。然后用 1- 丁醇 (2×100mL) 提取所述混合物。通过搅拌 15 分钟，在 pH11.2 下用水反提取所述丁醇层，并分离各层。然后用浓盐酸将所述水相的调至 pH6.5，并用 1- 丁醇 (2×100mL) 提取，产生第二提取物。在减压条件下浓缩所述第二提取物，产生 1.15g 淡黄色固体 (纯度 :42.49％，回收率 :78.2％)。

[0109] 实施例 7

[0110] 将制备方法 1 所得的水性植物提取物 (200mL) 加热至 40℃，用 6N NaOH 将 pH 调至 11.3。搅拌所述混合物 10 分钟。搅拌后，用浓盐酸将 pH 调回至 6.5，并将所述混合物冷却至室温。然后通过搅拌用 1- 丁醇 (2×100mL) 提取所述混合物，并通过离心分离所述丁醇层。通过搅拌 15 分钟，在 pH11.2 下用水反提取所述丁醇层，并分离有机层。然后用浓盐酸将所述水相调至 pH6.5，并用 1- 丁醇 (2×100mL) 提取，并通过离心分离各层，产生第二提取物。在减压条件下浓缩所述第二提取物，产生 1.15g 淡黄色固体 (异黄酮 48.08％，83.6％回收率)。

[0111] 实施例 8

[0112] 用去离子水将制备方法 2 所得的水性植物提取物 (70mL) 稀释成 200mL，并加热至 45℃。用 6N NaOH 将 pH 调至 11.3，搅拌 15 分钟，并冷却至室温。用浓硫酸将 pH 调回至 6.5，并用 1- 丁醇 (2×100mL) 提取所述混合物。向所述丁醇相中加入 200mL 水，并用 6N NaOH 将 pH 调至 11.3。分离各层，用硫酸将水层的 pH 调回至 6.5，然后用 1- 丁醇 (2×100mL) 提取。在减压条件下蒸发所述丁醇，产生 0.39g 淡黄色固体 (异黄酮 24.44％，86.5％回收率)。

[0113] 实施例 9

[0114] 将NovaSoy®搅拌入 75mL1- 丁醇、50mL 水和 25mL 盐水中，并分离各层。将丁醇相加入 75mL 水中，并在搅拌中用 6N NaOH 将 PH 调至 11.3。分离各层，并用 HCl 将水相调至 pH6.3，用丁醇 (1×75mL) 提取。在减压条件下蒸发所述丁醇，产生 0.34g 褐色固体 (58.3％异黄酮，51.7％回收率)。

[0115] 实施例 10

[0116] 将制备方法 1 所得的水性植物提取物 (100mL) 加热至 60℃，用 6N NaOH 将 pH 调至 11.2。搅拌所述混合物 10 分钟。搅拌后，用浓盐酸将 pH 调回至 6.5，并将所述混合物冷却至室温。然后通过振荡用 100ml 溶剂 (1- 丁醇和乙酸乙酯以 1 ： 1 的比例混合) 提取所述混合物，并分离各层。将水 (100ml) 加入所述有机相中，搅拌所述混合物，同时用 6N NaOH 将 pH 调至 9.3。然后分离各层，并将水相调至 pH6.5。然后，用 1- 丁醇 / 乙酸乙酯的 1 ： 1 混合物再次提取所述水层，分离所述溶剂层，并在减压条件下蒸发，产生 0.11g 灰白色固体 (异黄酮 37.25％，13.05％回收率)。

[0117] 实施例 11

[0118] 将制备方法 1 所得的水性植物提取物 (100mL) 加热至 60℃，用 6N NaOH 将 pH 调至 11.2。然后，用 1- 戊醇 (100ml，室温) 提取所述混合物。除去所述水相，冷却至室温，用浓盐酸调至 pH6.5，并用 1- 戊醇 (100mL) 提取。然后在减压条件下蒸发所述 1- 戊醇，产生 0.63g 金黄色固体 (27.1％异黄酮，67％回收率)。

[0119] 实施例 12

[0120] 在 30 分钟内用 6N NaOH 将制备方法 1 所得的水性植物提取物 (6000mL) 调至 pH11.3，并在搅拌中用浓硫酸将 pH 调回至 6.5。通过蒸发，将其从 6 升浓缩至 1 升，并用 1- 丁醇 (2×1000ml) 提取。通过离心将界面处的不溶固体除去。在 pH11.3 下用水 (4×250ml) 反提取所述混合的丁醇层。用浓硫酸将水性回洗的第一部分调至 pH6.5，并冷却至 2℃，过夜。通过真空过滤收集 6.99g 沉淀物，并在 60℃和 2mmHg 的真空炉中干燥。(82.1％异黄酮，60％回收率)。

[0121] 实施例 13

[0122] 用 6N NaOH 将所述制备方法 1 所得水性植物提取物 (1000ml) 调节至 pH11.3，搅拌 45 分钟，用浓硫酸重新调节至 pH6.5。通过旋转蒸发将所述溶液浓缩到干，并在真空炉中干燥，产生 69g 固体。将 12.39g 的这些固体加入装有 200ml 饱和 1- 丁醇水溶液的烧杯中，并剧烈搅拌 1 小时。将丁醇倒出，并向丁醇中加入 200ml 水。用 6N NaOH 将所述溶液的 pH 调至 pH11.3。分离各层，并用浓硫酸将水相调至 pH6.5。用 1- 丁醇 (1×100ml) 提取所述水溶液。通过旋转蒸发干燥所述最终丁醇相，产生 0.5g 大白色粉末，其完全溶解度为 0.03％重量 / 体积。(37.66％异黄酮，57.6％回收率)。

[0123] 实施例 14

[0124] 在室温下将制备方法 1 所述水性植物提取物 (10000ml) 调节至 pH11.3，搅拌 90 分钟。用浓硫酸将 pH 调回至约 6.5。然后，在室温下用 1- 丁醇 (3×2500ml) 提取所述混合物。在第三阶段离心分离所述乳液相，以从水相中进一步分离溶剂。混合三种丁醇溶液，并加入 5000ml 水。在搅拌中，用 6N NaOH 将所述混合溶液的 pH 调至 11.4。分离各层，并再次离心分离所述乳液相。在搅拌中用浓硫酸将水相的 pH 调至 6.5。在室温下用 1- 丁醇 (2×2500ml) 提取所述水相。混合丁醇相，通过旋转蒸发来蒸发溶剂，产生 45.41g 灰白色固体 (49.51％异黄酮，70.4％回收率)。

[0125] 实施例 15

[0126] 分离黄烷酮

[0127] 按以下步骤从 Kinnow Extract(Mandarin，来自 USDA) 中分离黄烷酮。通过搅拌用

1- 丁醇 (1×) 提取用作原料的水性提取物，分离丁醇层，产生中间提取物。在 pH11.2 下用水反提取所述丁醇层，搅拌 15 分钟，并分离所述有机层。用浓盐酸将水相的 pH 调至 6.5，并用 1- 丁醇 (1×) 提取，通过离心分离各层，产生第二提取物。按照已知步骤（例如可见 Merken 上述）测定所述中间提取物和第二提取物中的橙皮苷和 Didymin。

[0128]

黄烷酮	起始水性提取物	中间提取物	第二提取物
橙皮苷	10896 微克/克	16624 微克/克	73284 微克/克
Didymin	3137 微克/克	8575 微克/克	30304 微克/克

[0129] 实施例 16

[0130] 分离黄烷醇

[0131] 按以下步骤从圆珠茶 (Gunpowder Tea)-Pin Head Variety 中分离黄烷醇。所述水性提取物用作原料，并在搅拌过程中用 1- 丁醇 (1×) 提取，通过离心分离所述丁醇层，产生中间提取物。在 pH11.3 下用水反提取所述丁醇层，搅拌 15 分钟，并分离所述有机层。用浓盐酸将水相的 pH 调至 6.4，并用 1- 丁醇 (1×) 提取，通过离心分离各层，产生第二提取物。按照已知步骤（例如可见 Merken 上述）测定所述中间提取物和第二提取物中所列的黄烷醇。

[0132]

黄烷醇	起始水性提取物	中间提取物	第二提取物
栎沮-3- 芸香糖苷	98 微克/克	1328 微克/克	2356 微克/克
栎精-3-D 半乳糖苷	103 微克/克	1374 微克/克	1940 微克/克
栎精-3-鼠李糖苷	202 微克/克	2894 微克/克	6755 微克/克

[0133] 实施例 17

[0134] 分离黄烷醇

[0135] 按以下步骤从 Buckwheat Farinetta@ 中分离黄烷醇。所述水性提取物用作原料，并在搅拌中用 1- 丁醇 (1×) 提取，通过离心分离所述丁醇层，产生中间提取物。在 pH11.2 下用水反提取所述丁醇层，搅拌 15 分钟，并分离所述有机层。用浓盐酸将水相的 pH 调至 6.4，并用 1- 丁醇 (1×) 提取，通过离心分离各层，产生第二提取物。按照已知步骤（例如可见 Merken 上述）测定所述中间提取物和第二提取物中的所列的黄烷醇。

[0136]

黄烷醇	中间提取物	第二提取物
栎精 -3- 芸香糖苷	563 微克 / 克	1290 微克 / 克
栎精 -3- 鼠李糖苷	109 微克 / 克	602 微克 / 克

[0137] 高浓度异黄酮产品的比较评价

[0138] A. 颜色确定

[0139] 使用以下步骤通过 HunterLab(Reston, VA) 提供的 ColorQuest XE 上确定各种异黄酮产品的颜色。这种仪器是双光束氙闪光光谱仪。所述颜色以三个不同值 (L 值、a 值和 b 值) 表征。所述 L 值对应为亮度,该值越高表明产品越亮。所述 a 值用正值和负值表示红 / 绿显色,分别对应红色和绿色的程度。类似地,所述 b 值量化了黄 / 蓝显色的程度,用正值表示黄色色调,负值表示蓝色。

[0140] 1. 使用以下设置使所述光谱仪标准化 :

[0141] a. 将模式类型设置为“反射、镜面排斥 (RSEX)”

[0142] b. 将视野设置为“小”

[0143] c. 将口大小设置为“0.375 英寸”

[0144] d. 使用白色瓷片标度,进行软件标准化步骤

[0145] 2. 对各样品而言,将样品置于 20mm 透射池中,完全覆盖所述反射口。填充所述池高度一半以上一点。

[0146] 3. 记录所述池的基准,以排除产品的任何可见簇,确保均匀性。

[0147] 4. 将具有样品的透射池置于反射口前,用挡光器遮盖,并启动仪器,以表征样品颜色。

[0148] B. 水溶解度

[0149] 使用以下步骤确定水溶解度。

[0150] 1. 称量 50.0g 20℃的去离子水,倒入 100ml 烧杯 ;

[0151] 2. 称量约 0.05g 样品,然后用搅拌棒加入水混合。确保记录所加样品的精确量。

[0152] 3. 若样品容易分散,则再加入 0.05g,并充分混合。继续所述工艺,直到超过溶解度极限,记录各次加入样品的量。

[0153] 4. 搅拌所述混合物 30 分钟。

[0154] 5. 称重并记录 Whatman#4 滤纸的质量。

[0155] 6. 在真空下使用布氏漏斗,通过所述预先称重的滤纸过滤溶液,除去任何不溶的物质。

[0156] 7. 将铝盘称重,并将带有残留物的滤纸置于该盘中。

[0157] 8. 在室温下,在真空干燥器中干燥所述样品 48 小时。

[0158] 9. 在干燥后,将所述盘、滤纸和不溶物质称重。

[0159] 计算水溶性物质的重量和溶解度百分数。

[0160] 结果 :

[0161] 将本发明产品的颜色、溶解度及其它特征和来自NovaSoy®、Solbar 和 Central Soya 的市售异黄酮产品比较。结果摘要如下。

[0162] 市售高含量 (40%) 异黄酮产品的颜色

[0163]

异黄酮产品	颜色		
	L 值	a 值	b 值
Solbar	51.72	7.91	29.82
NovaSoy®	58.48	7.41	28.33
Central Soya	58.95	5.22	21.14
实施例 5	78.34	1.09	18.79

[0164] 在视觉上，本发明的产品相比其它市售产品较红的外观，其显色为淡褐色到米色。这可以通过Hunter光谱仪所得颜色来证实。本发明的产品明显更亮，因为其L值较高。它们的红显色也比所检验的市售高含量异黄酮产品小（a值较小）。而且，Solbar 和NovaSoy®产品的黄色色调比本发明的产品更强。本发明的异黄酮组合物的L值优选大于约65，更优选大于约75，或者在约65-75之间。本发明异黄酮组合物的a值优选低于约4，更优选低于约2，或者在2-4之间。

[0165] 市售高异黄酮（40％）产品0.03％在水中的溶解度

[0166]

40％异黄酮产品	溶解％	不溶解％
Solbar	61.50％	38.50％
NovaSoy	75.93％	24.07％
CentralSoya	45.56％	54.44％
实施例 13	100.00％	---

[0167] 所述 Central Soya 产品形成金色到淡褐色沉淀，而其它两种产品具有白色沉淀。按照溶解度评价，除去上清液，以确定各产品对液体颜色的影响。所述NovaSoy®产品的外观明显大于黄色（如其b值高所示），而且稍带绿色。Solbar 产品形成类似的颜色，但是并不如NovaSoy®那么强。虽然 Central Soya 和本发明产品具有淡红色色调，如 Hunter 读数的负 b 值所示，相比对照水样品，这种显色几乎没有注意到。

[0168] 高异黄酮产品在水中的溶液（0.03 重量 / 重量％）的室温稳定性和颜色

[0169]

异黄酮产品	沉淀	颜色		
		L 值	a 值	b 值
去离子水	---	1.50	-0.18	-0.26
Solbar	Y(白色沉淀)	7.70	-1.43	1.32
NovaSoy®	Y(白色沉淀)	4.23	-1.73	4.10
Central Soya	Y(金色沉淀)	5.78	-0.88	-0.92
实施例 5	N	3.20	-0.58	-1.09

[0170] 来自实施例 13 的材料容易分散在水中，完全可溶，并形成透明且肉眼看上去无色的溶液。相比市售产品，本发明的产品具有显著的优点。这些优点在饮料应用中尤其重要。

[0171] 本发明的异黄酮产品几乎排他性地以游离糖苷形式存在（即，结构 2，其中 R_3 是氢）。在优选的实施方式中，95％以上的异黄酮以游离糖苷形式存在，更优选是 98％以上以游离糖苷形式存在。此外，从大豆胚芽分离的异黄酮，其染料木苷含量比不同来源的异黄酮低。能改变异黄酮的性质来获得所需的效果。因此，本发明优选的实施方式如下：所述组合物包含黄豆苷和染料木苷，所述黄豆苷和染料木苷的重量比大于 1，更优选大于 2。另一个优选组合物是其中包含 glycitin 和染料木苷的组合物，所述 glycitin 和染料木苷的重量比大于 1，更优选大于 2。

[0172] 异黄酮性质数据和其它分析结果

[0173]

分析方法		实施例 14	NovaSoy®	Solbar	Central Soya	实施例 14 再蒸馏
	异黄酮(%)	46.95	38.31	40.79	38.9	49.51
	异黄酮(ppm)	469547	383092	407877	389012	495111
	黄豆苷(ppm)	207814	149971	102276	109065	245808
	染料木苷(ppm)	67848	181075	278743	263786	73300
	glycitin(ppm)	144543	28245	15975	5956	165517
	黄豆苷原(ppm)	28807	3111	5715	5319	5729
	染料木黄酮(ppm)	3953	2228	3681	3226	994
	黄豆黄素(ppm)	16010	2202	1487	489	3763
	乙酰基黄豆苷(ppm)	406	7677		516	
	乙酰基染料木苷(ppm)	166	7171		655	
	乙酰基 glycitin (ppm)		1412			
AOAC 968.06	蛋白质(%)	2.73	9.13	4.48	15.94	
AOAC 922.06	脂肪(%)	16.9	5.72	14.7	4.54	
AOAC 923.03	灰分(%)	2.12	33.06	33.72	38.17	
AOAC 926.08	水分(%)	4.88	2.8	5.64	3.76	

[0174] 已经描述了本发明的许多实施方式。然而应理解，在不背离本发明精神和范围的

条件下可以作出各种修改。例如，所述含异黄酮的提取物可以来自各种植物原料。因此，其它实施方式在以下权利要求书的范围内。