

申請日期	86.06.10.
案 號	86107983
類 別 Int. Cl.	C07D 311/40, C12P 17/06

公告本

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書		474930
一、發明 名稱	中 文	自黃豆糖蜜中回收異黃酮
	英 文	RECOVERY OF ISOFLAVONES FROM SOY MOLASSES
二、發明 人	姓 名	1. 朵利 契 華格利 2. 芭芭拉 艾 布萊恩
	國 籍	1-2均美國
	住、居所	1. 美國密蘇里州柯克伍市雷斯路348號 2. 美國密蘇里州大學城波辛大道7039號
三、申請人	姓 名 (名稱)	美商蛋白質科技國際公司
	國 籍	美國
	住、居所 (事務所)	美國密蘇里州聖路易市棋盤廣場
	代 表 人 姓 名	賴瑞.傑.郝瑞特

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

裝 訂 線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
IPC分類：

A6

B6

本案已向：

美國(地區) 申請專利，申請日期：1996.6.11 案號：08/661,845' 有 無主張優先權

有關微生物已寄存於：

，寄存日期：

，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

發明範疇

本發明係有關自黃豆糖蜜中回收異黃酮之方法。此外，本發明係有關具異黃酮之生成產物。

發明背景

異黃酮出現於多種豆科植物，包括植物蛋白質物質如黃豆。此些物質包括大豆異黃酮苷、6"-OAc大豆異黃酮苷、6"-OMal大豆異黃酮苷、大豆異黃酮、三羥異黃酮苷、6"-OAc三羥異黃酮苷、6"-OMal三羥異黃酮苷、甲酯二羥異黃酮苷、6"-OAc-甲酯二羥異黃酮苷、6"-OMal甲酯二羥異黃酮苷、甲氧二羥異黃酮、生物異黃酮A、羥甲氧異黃酮和古美斯醇(coumestrol)。典型地，此些化合物與黃豆之天生苦味有關。

在黃豆物質之異黃酮包括異黃酮葡萄糖苷(葡萄糖基)、異黃酮共軛物和配葡萄糖基異黃酮。異黃酮葡萄糖苷具與異黃酮部分連結之葡萄糖分子。異黃酮共軛物具與異黃酮葡萄糖苷之葡萄糖分子連結之附加部分，例如6"-OAc三羥異黃酮苷含與三羥異黃酮之葡萄糖分子之6位置連結之乙酸根基團。配葡萄糖基異黃酮單獨包括異黃酮部分。

黃豆含三"族"之異黃酮化合物，具相對應之葡萄糖苷、共軛物和配葡萄糖基成員：三羥異黃酮族、大豆異黃酮族和甲氧二羥異黃酮。三羥異黃酮族包括葡萄糖苷三羥異黃酮苷；共軛物6"-OMal三羥異黃酮苷(三羥異黃酮苷之6"-丙二酸酯)和6"-OAc三羥異黃酮苷(三羥異黃酮苷之6"-乙酸酯)；及配葡萄糖基三羥異黃酮。大豆異黃酮族包括葡萄糖

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(2)

修正	本	年	月	日
補充	90.2.14			

苷大豆異黃酮苷；共軛物6"-OMal大豆異黃酮苷和6"-OAc大豆異黃酮苷；及配葡萄糖基大豆異黃酮。甲氧二羥異黃酮族包括葡萄糖苷甲氧二羥異黃酮苷；共軛物6"-OMal甲氧二羥異黃酮苷(6"-OMal glycitin)；及配葡萄糖基甲氧二羥異黃酮(aglucone glycitein)。

在製備商業產品如植物蛋白質濃縮物中，焦點在於除此些物質。例如，在製備黃豆蛋白濃縮物之傳統方法中，其中黃豆片以水性酸或水性醇萃取，以自黃豆片中除去水溶性物質，大部分異黃酮溶化於萃取液中。水溶性物質之萃取物，包括異黃酮，係黃豆糖蜜。黃豆糖蜜是製備黃豆蛋白濃縮物之副產物質，其典型地經廢棄。黃豆蛋白因此為異黃酮之不昂貴和所要之來源，祇要異黃酮可自黃豆糖蜜中分開。

頃認知地，內含於植物蛋白質物質如黃豆之異黃酮具醫藥價值。配葡萄糖基異黃酮係特別重要的。三羥異黃酮和大豆異黃酮可顯著降低心血管危險因子。"植物和哺乳類雌激素在母猴之血漿脂質之影響"，循環，90卷，1259頁(1994年10月)。三羥異黃酮和大豆異黃酮經認為降低由降低或改變量之女性內源雌激素所致之徵狀，如更年期或月經前徵候群。再者，頃認知地，配葡萄糖基異黃酮可抑制人癌細胞之生長，如乳癌細胞和前列腺癌細胞，如述於以下之文章："人乳癌細胞生長之三羥異黃酮抑制，獨立於雌激素受體和多藥抗性基因"，由彼德生和巴尼斯，生物化學和生物物理研究通訊，179卷，1期，661-667頁，8月30日，1991年；"三羥異黃酮和生物異黃酮A抑制人前列腺癌細胞之生長

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

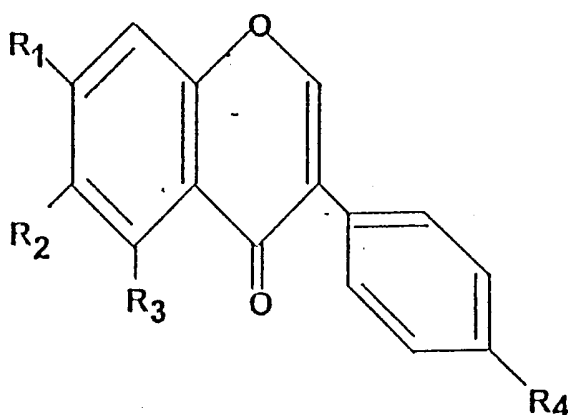
裝

訂

五、發明說明(3)

，但無表皮生長因子受體酪胺酸自磷酸化"，由彼德生和巴尼斯，前列腺，22卷，335-345(1993)；及"黃豆抑制乳癌模式中之乳腺腫瘤"由巴尼斯等人，飲食之誘突變劑和誘癌劑，239-253(1990)。

配葡萄糖基異黃酮具以下之通式：



其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 R_4 可選自一群包括H、OH和 OCH_3 。三羥異黃酮具上式，其中 $R_1=OH$ ， $R_2=H$ ， $R_3=OH$ 及 $R_4=OH$ ，大豆異黃酮具上式，其中 $R_1=OH$ ， $R_2=H$ ， $R_3=H$ 及 $R_4=OH$ ，及甲氧二羥異黃酮具上式，其中 $R_1=OH$ ， $R_2=OCH_3$ ， $R_3=H$ 及 $R_4=OH$ 。

因此，本發明係有關異黃酮及自黃豆糖蜜中回收異黃酮增純之物質。本發明進一步有關異黃酮葡萄糖苷和配葡萄糖基異黃酮，轉化黃豆糖蜜之異黃酮成異黃酮葡萄糖苷和配葡萄糖基異黃酮，及自黃豆糖蜜中回收異黃酮葡萄糖苷增純物質和配葡萄糖基異黃酮增純物質。

轉化植物蛋白異黃酮共軛物成配葡萄糖基異黃酮之一般方法係已知，及提供於目前審理之申請案美國專利申請案

五、發明說明(4)

第08/477,102號，1995年6月7日建檔，由本申請案之受託者擁有。

在技藝中轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之其他方法係已知的，如述於予Obata等人之日本專利申請案第258,669號。如此之方法並不提供自黃豆糖蜜中回收異黃酮增純物質。如此方法亦不提供轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷或成配葡萄糖基異黃酮。再者，此些達成僅中度程度轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異丙酮，及需要一段實質的時間以完成此中度程度轉化。

因此，本發明之目標在提供異黃酮增純之物質及自黃豆糖蜜中製備此物之方法。

本發明之進一步目標在提供異黃酮葡萄糖苷增純之物質及自黃豆糖蜜中製備此物之方法。

本發明之再進一步目標在提供配葡萄糖基異黃酮增純之物質及自黃豆糖蜜中製備此物之方法。

發明簡要

本發明係異黃酮增純之物質及自含異黃酮之黃豆糖蜜物質中回收此物之方法。該方法包括提供含異黃酮之黃豆糖蜜物質，及自黃豆糖蜜物質中在足以導致大多數異黃酮內含於餅狀物之pH和溫度下分離餅狀物。較佳地，在分離期間pH為約3.0至6.5及溫度為約0°C至約35°C。餅狀物為異黃酮增純物質。

在一個具體實施例中，葡萄糖苷增純之異黃酮物質係自異黃酮增純物質之餅狀物形成。水漿由異黃酮增純物質形

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(5)

成。漿液在約2°C至約120°C之溫度及約6至約13.5之pH下處理一段足以轉化在異黃酮增純物質之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之時間。異黃酮葡萄糖苷增純物質之餅狀物然後可自漿中分開。

在另一個具體實施例中，配葡萄糖基異黃酮增純之物質係自異黃酮增純物質之餅狀物形成。水漿由異黃酮增純物質形成。漿液在約2°C至約120°C之溫度及約6至約13.5之pH下處理一段足以轉化在異黃酮增純物質之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之時間。能裂解1,4-葡萄糖苷鍵之酵素與在漿中之異黃酮葡萄糖苷在約5°C至約75°C之溫度及約3至約9之pH下接解一段足以轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之時間。配葡萄糖基異黃酮增純物質之餅狀物可自漿中分開。

在另一個要素中，本發明為異黃酮葡萄糖苷增純之物質及自黃豆糖蜜中回收此物之方法。黃豆糖蜜在有約2°C至約120°C之溫度下及在約6至約13.5間之pH值下處理一段足以轉化內含於黃豆糖蜜之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之時間。異黃酮葡萄糖苷增純物質之餅狀物係自黃豆糖蜜物質中在足以導致大多數異黃酮葡萄糖苷內含於餅狀物之pH和溫度下分開。

在另一個要素中，本發明為配葡萄糖基異黃酮增純之物質及自黃豆糖蜜中回收此物之方法。黃豆糖蜜在自約2°C至約120°C之溫度下及在約6至約13.5間之pH值下處理一段足以轉化內含於黃豆糖蜜之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(6)

之時間。能裂解1,4-葡萄糖苷鍵之酵素與在黃豆糖蜜物質之異黃酮葡萄糖苷在約5°C至約75°C之溫度及約3至約9之pH下接觸一段足以轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之時間。配葡萄糖基異黃酮增純物質之餅狀物係自黃豆糖蜜物質中在足以導致大多數配葡萄糖基異黃酮內含於餅狀物之pH和溫度下分開。

較佳具體實施例之詳細說明

在此所述方法之起始物為黃豆糖蜜。黃豆糖蜜為涉及黃豆或黃豆衍生物之許多商業方法之副產物，如製造蛋白萃取物、蛋白乳清和蛋白濃縮產物之方法。於是，黃豆糖蜜以大量產生至一種程度，即黃豆糖蜜為極不昂貴之商品。

黃豆糖蜜通認為是自黃豆不溶物由醇或酸之清洗除去之黃豆可溶物。黃豆糖蜜典型地為水性混合物，含約50%或更多之固形物，其包括約6%(基於黃豆糖蜜之總重)蛋白質，約3%灰分，約5%脂肪及約36%醣類。黃豆糖蜜在技藝中亦稱為黃豆可溶物。"黃豆糖蜜物質"如該詞在此所用，指一種組成，具黃豆糖蜜和/或黃豆糖蜜之衍生物如異黃酮葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質和配葡萄糖基異黃酮增純之黃豆糖蜜物質。於是，此些名詞在此交互使用。

在較佳之具體實施例中，黃豆糖蜜起始物係自脫脂黃豆片產生，自其中油已由溶劑萃取以傳統方式除去，脫脂黃豆片以水萃取，其經調至酸性pH，較佳地約pH 4至約pH 5，由添加1或多種合適之酸如乙酸、硫酸、磷酸、鹽酸或任何其他合適之試劑。較佳地，酸性萃取劑與黃豆片之比

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(7)

值為約16:1至約20:1重量比。為改進萃取效力，萃取劑之溫度可升高過室溫，較佳地在約32°C至約55°C之間。萃取後，黃豆糖蜜萃取液自黃豆不溶物除去。

在另一個具體實施例中，脫脂黃豆片以水性醇萃取產生黃豆糖蜜起始物。較佳地，豆片以約80%水性乙醇以約16:1至約20:1萃取劑與黃豆片重量比之比值萃取。醇萃取劑之溫度可升高過室溫，較佳地自約32°C至約55°C，以改進萃取效力。黃豆糖蜜萃取液然後自黃豆不溶物除去，以提供黃豆糖蜜起始物。

異黃酮增純之物質可自黃豆糖蜜起始物中回收。黃豆糖蜜物質可以水稀釋至自約6%至約13%之固形物含量，而13%係最佳的。黃豆糖蜜物質之稀釋不為本方法所必要的，然而，稀釋較稠之黃豆糖蜜物質促進加工物質。

黃豆糖蜜物質，較佳地稀釋的，在大多數異黃酮在進行分開程序時將自黃豆糖蜜中分開之pH和溫度下處理。在較佳之具體實施例中，黃豆糖蜜物質在約3.0至約6.5之pH及約0°C至約35°C之溫度下處理，以最大化在黃豆糖蜜之異黃酮之不溶性。異黃酮可自黃豆糖蜜中在較佳範圍外之pH值下及在高於35°C之溫度下分開，然而，此些條較不佳，因為較少之異黃酮在分開程序中自黃豆糖蜜分開。黃豆糖蜜之pH可以合適之傳統酸性或鹼性試劑在需要時調整。最佳地，黃豆糖蜜之pH調整在約4.5。亦較佳的是冷凍或冷卻黃豆糖蜜至約0°C至約10°C之溫度，及最佳地至約4°C至約7°C之溫度。

五、發明說明(8)

黃豆糖蜜物質然後接受分開程序，以自黃豆糖蜜物質中分開異黃酮增純物質之餅狀物。分開經進行，而黃豆起始物質維持在前述之pH和溫度條件下。

在具體實施例中，異黃酮增純物質之餅狀物由離心黃豆糖蜜和自餅狀物傾倒上清液分開。離心較佳地在約3,000至約10,000 rpm下在約0°C至約10°C下進行約30分鐘。

在另一個具體實施例中，異黃酮增純之餅狀物可自黃豆糖蜜物質由過濾分開。較佳地，過濾在前述之pH和溫度條件下完成，最佳地在約4.5之pH和約0°C至約10°C之溫度下。

在本發明之另一個要素中，異黃酮葡萄糖苷增純物質之餅狀物可自黃豆糖蜜回收。黃豆糖蜜起始物如上述地獲得。雖然不是必要的，較佳地，黃豆糖蜜物質經稀釋至自約6%至約13%之固形物含量，及最佳地約13%，以促進加工物質。

轉化操作然後在黃豆糖蜜上進行，以轉化在黃豆糖蜜之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。在黃豆糖蜜之實質部分異黃酮為異黃酮共軛物，因此轉化實質地增加在黃豆糖蜜物質之異黃酮葡萄糖苷量。轉化經發現依賴黃豆糖蜜之pH和溫度。

在黃豆糖蜜中轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之pH範圍係自約6至約13.5。黃豆糖蜜之pH在需要時應調至所要之pH，若pH要升高時，以合適之碱、苛性劑或碱性試劑，或若pH要降低時，以合適之酸或酸性試劑。異黃酮共軛物轉化成異黃酮葡萄糖苷經發現為碱催化的，及因此最佳地

五、發明說明(9)

利用高pH以達成快速轉化。轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之最佳pH為約9至約11之pH。

在黃豆糖蜜中轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之溫度範圍係自約2°C至120°C。轉化容易發生之溫度範圍依黃豆糖蜜物質之pH而定。發明者頃發現當pH極高時轉化容易在較低溫度下發生。例如，在約11之pH下，轉化快速和有效地在約5°C至約50°C之溫度範圍下發生。在約9之pH下，轉化有效地在約45°C至約75°C之溫度範圍內發生。當黃豆糖蜜之pH極低時，轉化在更高溫度下發生。例如，在約6之pH下，轉化在約80°C至約120°C之溫度範圍內發生。在較佳之具體實施例中，轉化在約35°C和約11之pH下完成。在另一個較佳之具體實施例中，轉化在約73°C之溫度及約9之pH下完成。

轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷所需之時段主要依在黃豆糖蜜中所用之pH和溫度範圍而定。如此轉化時間典型地範圍自約15分鐘多至數小時更更久。轉化更快速地在較高之pH下及在較高之溫度下發生。在約9之pH下，轉化實質地在73°C下在約4小時至約6小時內完成。在最佳之具體實施例中，異黃酮共軛物在約30分鐘至約1小時內轉化成異黃酮葡萄糖苷，較佳地約45分鐘，在約11之pH下及在約35°C之溫度下。

轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷係顯著有效的，轉化至少大多數，及較佳地實質全部存在之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。"大多數"一詞指至少約50%之轉化程度

五、發明說明(10)

。"實質全部"一詞指至少約80%及最佳地至少約90%之轉化程度。

轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷後，異黃酮葡萄糖苷增純物質之餅狀物可自黃豆糖蜜物質分開。黃豆糖蜜物質係在大多數異黃酮葡萄糖苷在分開程序中將自黃豆糖蜜物質中分開之pH和溫度下處理。在較佳之具體實施例中，黃豆糖蜜物質在分開過程期間維持在約3至約6.5之pH下，最佳地約4.5，及在約0°C至約35°C之溫度下，較佳地約0°C至約10°C，及最佳地約4°C至約7°C。黃豆糖蜜物質之pH可在需要時以合適傳統酸性或鹼性試劑調整。

分開可由自液體分開固體之傳統手段完成。異黃酮葡萄糖苷增純之餅狀物較佳地由離心或過濾如上述有關自黃豆糖蜜物質中分開異黃酮增純之餅狀物地分開。

在本發明之再一個要素中，配葡萄糖基異黃酮增純物質之餅狀物可自黃豆糖蜜回收。黃豆糖蜜起始物如上述地獲得，較佳地以水稀釋至約6%至約13%之固形物含量。黃豆糖蜜起始物經處理以如上述地轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。

酵素性轉化操作然後在異黃酮葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質上進行，由將合適之酵素與在黃豆糖蜜物質之異黃酮葡萄糖苷在適當之pH和溫度下接觸，以轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮。2步驟轉化過程有效地轉化在黃豆糖蜜物質之實質全部異黃酮共軛物和異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮，實質地增加在黃豆糖蜜物質之配葡萄糖

五、發明說明(11)

基異黃酮量。

轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮經發現依多種因子而定，包括在黃豆糖蜜物質中存在之酵素類型、酵素濃度之分佈、酵素活性及在轉化期間黃豆糖蜜物質之pH和溫度。完成轉化所需之酵素為能裂解異黃酮葡萄糖苷之異黃酮部分和葡萄糖分子間葡萄糖苷鍵結之酵素。在較佳之具體實施例中，酵素為醣酶或能裂解1, 4-葡萄糖苷鍵之葡萄糖澱粉酶酵素，酵素可天生存在於黃豆糖蜜物質中，或可為商業獲得之酵素，其經加入黃豆糖蜜物質中。天生存在之酵素在此稱為"殘留"酵素，及加入黃豆糖蜜之酵素在此稱為"補充"酵素。

足夠之酵素應存在於黃豆糖蜜物質中，以轉化至少大多數，及較佳地實質全部之異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮。通常若在黃豆糖蜜物質之殘留酵素不足以完成轉化時，補充酵素應加入黃豆糖蜜物質中。在較佳之具體實施例中，補充酵素經加入黃豆糖蜜物質中，不管是否足夠之殘留酵素存在於黃豆糖蜜物質中，因為添加補充酵素戲劇性降低有效實質完成轉化葡萄糖苷成配葡萄糖基所需之時間。若加入補充酵素時，補充酵素應加入使存在之酵素總濃度在黃豆糖蜜物質中基於乾重為固形物重之約0.1%至約10%。

補充酵素係基於在選定pH和溫度條件下之最適活性及成本效益而選定。補充酵素為能裂解異黃酮葡萄糖苷之異黃酮部分和葡萄糖分子間鍵之酵素，如醣酶和能裂解1, 4-葡

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (12)

萄糖苷鍵之葡萄糖澱粉酶酵素。較佳之補充酵素為商業獲得之 α -或 β -葡萄糖苷酶酵素、 β -半乳糖苷酶酵素、葡萄糖澱粉酶酵素及果膠分解酶酵素。特別佳之酵素為以下之酵素如生物果膠分解酶100L(其較佳地用在自約3至約6之pH範圍)、生物果膠分解酶300L(自約3至約6之最適pH範圍)、生物果膠分解酶OK 70L(自約3至約6之最適pH範圍)、生物乳糖酶30,000(自約3至約6之最適pH範圍)、中性乳糖酶(自約6至約8之最適pH範圍)，其所有獲自探索國際，1833號57街，郵箱第3917號，沙加蘇達，佛羅里達州34243。亦特別佳的是乳糖酶F(其較佳地用在自約4至約6之pH範圍)及乳糖酶50,000(自約4至約6之最適pH範圍)，兩者獲自亞門諾國際酵素公司，郵箱第1000號，托伊，維吉尼吉22974。其他特別佳之補充酵素包括G-Zyme G 990(自約4至約6之最適pH)和Enzeco真菌乳酸酶濃縮物(自約4至約6之最適pH)獲自酵素發展公司，Z賓廣場，2439室，紐約市，紐約州10121;Lactozyme 3000L(其較佳地用在自約6至約8之pH範圍)及 α -Gal 600L(其較佳地用在自約4至約6.5之pH範圍)獲自諾渥諾第斯克生物工業公司，33號，騰那路，單布里，康乃狄克州06813;Maxilact L2000(其較佳地用在自約4至約6之pH範圍)獲自Gist Brocades食品組份公司，布西亞王，賓州19406;及中性乳酸酶(其較佳地用在自約6至約8之pH範圍)獲自Pfizer食品科學群，205號42街，紐約市，紐約州10017。

轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之pH範圍係自

五、發明說明 (13)

約3至約9。採用之pH主要依使用之酵素類型及應於是選定者而定。殘留酵素有效在約7至約9之pH範圍內，但是相信黃豆糖蜜物質之pH在轉化過程期間降低。補充酵素有效在由酵素廠商所特定之最適pH範圍內，如上示之一些特定酵素。典型地，補充酵素有效於自約6至約8之中性pH範圍，或在自約3至約6之酸性pH範圍。

黃豆糖蜜物質之pH可調至所要之值以進行轉化異黃酮葡萄糖苷至配葡萄糖基異黃酮。在大多數例中，pH自所需以轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之極高或碱性pH降低，由添加1或多種合適之酸如乙酸、硫酸、磷酸、鹽酸或任何其他合適之試劑。

轉化葡萄糖苷成配葡萄糖基之黃豆糖蜜物質之溫度範圍係自約5°C至約75°C。溫度顯著影響酵素活性，及因此轉化率。補充酵素可有效高於70°C，例如 α -Gal 600L有效在75°C，然而，較佳的在較低之溫度下進行轉化，以防止酵素去活化。在較佳之具體實施例中，轉化在約35°C至約45°C間完成。

轉化葡萄糖苷成配葡萄糖基所需之時間依酵素有關之因子，特別地濃度和系統之溫度和pH而定。在大多數例中，可能地在24小時內達成實質完成之轉化，然而，較佳地加入補充酵素以戲劇性增加反應速率。選定之補充酵素、酵素濃度、pH和溫度較佳地在約2小時內導致實質完成之轉化，及最佳地在約1小時內。

轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮係顯著地有效

五、發明說明 (14)

，轉化至少大多數，及較佳地實質全部存在之葡萄糖苷成配葡萄糖基。"大多數"一詞指至少約50%之轉化程度。"實質全部"一詞指至少約80%之轉化程度，及最佳地至少約90%。

轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮後，配葡萄糖基異黃酮增純物質之餅狀物可自黃豆糖蜜物質中分開。黃豆糖蜜物質在大多數配葡萄糖基異黃酮在分開程序中將自黃豆糖蜜物質分開之pH和溫度下處理。較佳地，黃豆糖蜜物質在分開過程期間維持在約3至約6.5之pH下，最佳地約4.5，及在約0°C至約35°C之溫度下，較佳地約0°C至約10°C及最佳地約4°C至約7°C。黃豆糖蜜物質之pH可在需要時以合適之傳統酸性或鹼性試劑調整。

分開可由自液體中分開固體之傳統手段完成。配葡萄糖基異黃酮增純之餅狀物較佳地由離心或過濾如上述有關自黃豆糖蜜物質中分開異黃酮增純餅狀物地分開。

配葡萄糖基異黃酮增純之物質亦可自黃豆糖蜜回收之異黃酮增純物質產生，其中自黃豆糖蜜回收異黃酮增純物質之方法係述於上。水經加入回收之異黃酮增純物質之餅狀物，以形成異黃酮增純物質之漿。較佳地，漿液經稀釋至約6%至約13%固形物，雖然更高固形物含量可以使用。在漿之異黃酮共軛物然後經轉化成異黃酮葡萄糖苷，由在上述有關在黃豆糖蜜中轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之相同條件下處理。特別地，漿液在約6至約13.5之pH下，較佳地約pH 9至約pH 11，及約2°C至約120°C之溫度下

五、發明說明 (15)

處理約15分鐘至數小時，最佳地，漿液在約11之pH及約5°C至約50°C之溫度，較佳約35°C下處理約30分鐘至約1小時之時段，或在約9之pH及約45°C至約75°C之溫度，較佳地約73°C下約4小時至約6小時之時段。若想要時，異黃酮葡萄糖苷增純之物質可自漿中以相似於上述自黃豆糖蜜中分開異黃酮增純物質之方式分開。

在漿之異黃酮葡萄糖苷然後在上述有關在黃豆糖蜜物質中轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之相同條件下轉化成配葡萄糖基異黃酮。特別地，在漿之異黃酮葡萄糖苷與能裂解異黃酮葡萄糖苷之異黃酮部分和葡萄糖分子間之葡萄糖苷鍵結之酵素在合適之pH和溫度條件下接觸一段足以轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之時段。較佳之酵素、pH條件、溫度和時段係述於上。配葡萄糖基異黃酮增純之物質可自漿中以相似於上述自黃豆糖蜜中分開異黃酮增純物質之方式分開。

配葡萄糖基異黃酮增純物質亦可自黃豆糖蜜物質回收之異黃酮葡萄糖苷增純物質產生，其中自黃豆糖蜜物質中回收異黃酮葡萄糖苷增純物質之方法係述於上。水經加入回收之異黃酮葡萄糖苷增純物質之餅狀物，以形成異黃酮葡萄糖苷增純物質之漿液。較佳地，漿液經稀釋至約6%至約13%固形物，雖然更高之固形物含量可以使用。在漿之異黃酮葡萄糖苷以上述有關自異黃酮增純之漿形成異黃酮葡萄糖苷增純漿之相同方式轉化成配葡萄糖基異黃酮。配葡萄糖基異黃酮增純之物質可在相似於上述自黃豆糖蜜分開

五、發明說明 (16)

異黃酮增純物質之方式下之轉化後自漿中分開。

實驗程序

本發明由以下之實施例更詳細說明。實施例意在說明，及不應詮譯為以任何方式界限或者是限制本發明之範疇。

如上所記，黃豆物質包括黃豆糖蜜，包括三羥異黃酮、大豆異黃酮和甲氧二羥異黃酮"族"異黃酮具相對應之葡萄糖苷、共軛物和配葡萄糖基成員，其中三羥異黃酮族含共軛物6"-OMal三羥異黃酮苷、6"-OAc三羥異黃酮苷、葡萄糖苷三羥異黃酮苷及配葡萄糖基三羥異黃酮；大豆異黃酮族含共軛物6"-OMal大豆異黃酮苷、6"-OAc大豆異黃酮苷、葡萄糖苷大豆異黃酮苷及配葡萄糖基大豆異黃酮；及甲氧二羥異黃酮族包括共軛物6"-OMal甲氧二羥異黃酮苷、葡萄糖苷甲氧二羥異黃酮苷及配葡萄糖基甲氧二羥異黃酮。在以下實施例中，異黃酮之相對濃度以異黃酮族之總濃度或以在異黃酮族之各異黃酮之個別百分率測定。例如，異黃酮之三羥異黃酮族之總濃度為6"-OMal三羥異黃酮苷、6"-OAc三羥異黃酮苷、三羥異黃酮苷和三羥異黃酮之濃度總和，及在三羥異黃酮族之各異黃酮百分率係相對於其他三羥異黃酮族異黃酮決定： $\% \text{三羥異黃酮苷} + \% \text{6"-OMal三羥異黃酮苷} + \% \text{6"-OAc三羥異黃酮苷} + \% \text{三羥異黃酮} = 100\%$ 。

實施例1

在第1個實驗中，自黃豆糖蜜中回收異黃酮增純之物質係在不同濃度之黃豆糖蜜下檢視。各異黃酮族之總濃度在具

五、發明說明 (17)

選定濃度之黃豆糖蜜樣品中，在自黃豆糖蜜樣品中根據本發明方法分開之餅狀物中，及在自其中餅狀物由分開程序除去之液體乳清中測定。

黃豆糖蜜經分析存在之所有形式異黃酮之總濃度。黃豆糖蜜之樣品以水稀釋至28%固形物含量(1:2稀釋)、13.7%(1:4稀釋)及6.6%(1:8稀釋)。所有樣品經調至pH 4.5。處理之樣品然後在3000 rpm間之速率離心30分鐘，以自樣品分開和產生乳清液和餅狀物部分。一組樣品在0.6°C之溫度下離心。具28%和13.7%黃豆糖蜜固形物之樣品在60°C之溫度下離心以比較具相同濃度之黃豆糖蜜固形物之樣品在0.6°C下分開。生成之樣品之液體和餅狀物部分經分析存在之所有形式異黃酮之總濃度。

表1說明自前述測試所得不同餅狀物和液體區分中異黃酮之濃度。所示之總量為所有形式之特別異黃酮之總量，包括共軛物、葡萄糖苷和配葡萄糖基形式，以每克餅狀物或液體區分固形物之毫克異黃酮表示。

五、發明說明 (18)

表 1

樣品	總三羥異黃酮(族) 毫克/克	總大豆異黃酮(族) 毫克/克	總甲氧二羥異黃 酮(族)毫克/克
黃豆糖蜜起始物 未分開	6.1	4.8	1.0
1:2稀釋(28%固形 物) 乳清在0.6°C下分 開	2.8	3.0	0.6
1:2稀釋 餅狀物在0.6°C下 分開	16.9	10.9	1.9
1:2稀釋 乳清在60°C下分 開	3.8	4.0	0.8
1:2稀釋 餅狀物在60°C下 分開	14.1	8.2	1.5
1:4稀釋(13.7%固 形物) 乳清在0.6°C下分 開	3.0	3.4	0.7
1:4稀釋 餅狀物在0.6°C下 分開	18.3	11.0	2.0
1:4稀釋 乳清在60°C下分	4.4	4.3	0.8

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (19)

開			
1:4稀釋 餅狀物在60°C下 分開	13.4	7.2	1.5
1:8稀釋(6.6%固形 物) 乳清在0.6°C下分 開	4.3	4.5	0.9
1:8稀釋 餅狀物在0.6°C下 分開	20.1	10.2	2.1

在所有之樣品中，異黃酮之濃度在餅狀物中較在黃豆糖蜜起始物中顯著更高及更高於在乳清液區分固形物之異黃酮濃度。在0.6°C下分開之樣品在餅狀物中較在60°C下分開之相對應樣品含更高濃度之異黃酮，其在乳清區分固形物中具更高濃度之異黃酮。

實施例2

在另一個實驗中，自黃豆糖蜜中回收異黃酮葡萄糖苷增純物質經檢視。在黃豆糖蜜中之異黃酮共軛物經轉化成異黃酮葡萄糖苷，及異黃酮葡萄糖苷增純之餅狀物自黃豆糖蜜物質中分開。轉化程度經測定，由定量降低異黃酮族之丙二酸和乙酸酯之百分率和濃度偶合著相對應定量增加相同異黃酮族之葡萄糖苷百分率。

黃豆糖蜜起始物經分析個別異黃酮化合物之濃度。黃豆糖蜜物質之2個樣品由水稀釋黃豆糖蜜在以下之比值下製成

五、發明說明 (20)

:1:4(100克糖蜜+300克水)；及1:8(50克糖蜜+350克水)
。樣品之pH經調至11，及樣品之溫度維持在35°C下30分鐘
。樣品之pH然後調至4.5及溫度調至4°C。樣品在10,000
rpm下在4°C下離心，以分開糖蜜樣品成餅狀物和乳清液。
乳清和餅狀物經分析個別異黃酮化合物之濃度。

表2說明自轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷生成之不
同形式異黃酮間比率之變化，相較於黃豆糖蜜起始物。異
黃酮濃度以在樣品內每百萬份之份數(ppm)，及以在液體或
餅狀物部分內特別異黃酮之總量(共軛物、葡萄糖苷和配葡
萄糖基形式之總量)之百分率表示。

表 2

樣品	6'-OMAL-		6'-OAC-		6'-OMAL-		6'-OAC-		6'-OMal 甲		甲乳二程異黃酮
	三程異黃酮 苷	三程異黃酮 苷	三程異黃酮 苷	三程異黃酮 苷	大豆異黃酮 苷	大豆異黃酮 苷	大豆異黃酮 苷	大豆異黃酮 苷	甲乳二程異 黃酮苷	甲乳二程異 黃酮	
黃豆糖蜜	4678	1329	0	88	3533	928	210	84	500	105	360
ppm	77	22	0	1	74	20	4	2	52	11	37
%異黃酮											
1:4 稀釋乳											
液	2221	17	0	30	2652	179	29	21	341	28	0
ppm	98	1	0	1	92	6	1	1	92	8	0
%異黃酮											
1:4 稀釋餅											
狀物	28521	68	0	261	16133	192	0	232	1442	0	66
ppm	99	0	0	1	97	1	0	1	96	0	4
%異黃酮											
1:8 稀釋乳											
液	2852	24	0	36	3356	187	0	27	406	28	0
ppm	98	1	0	1	94	5	0	1	94	6	0
%異黃酮											
1:8 稀釋餅狀物											
ppm	27517	101	0	272	12617	138	0	245	1146	0	0
%異黃酮	99	0	0	1	97	1	0	2	100	0	0

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝訂線

五、發明說明 (21)

在接受轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷之條件之所有樣品中，異黃酮葡萄糖苷在餅狀物和液體兩部分之百分率係顯著更高於相對應未轉化黃豆糖蜜樣品，及相對應異黃酮共軛物在樣品中之百分率係顯著更低，展現大部分之異黃酮共軛物經轉化成其葡萄糖苷形式。再者，在分離時大比例之葡萄糖苷異黃酮分開在餅狀物中，以形成異黃酮葡萄糖苷增純之物質，如可見於黃豆糖蜜起始物及各樣品之乳清和餅狀物部分之相對濃度。

實施例3

在另一個實驗中，在黃豆糖蜜中轉化異黃酮成配葡萄糖基異黃酮經檢視。在黃豆糖蜜中異黃酮共軛物經轉化成異黃酮葡萄糖苷，及異黃酮葡萄糖苷然後經轉化成配葡萄糖基異黃酮。異黃酮葡萄糖苷轉化成配葡萄糖基異黃酮之程度經測定，由定量降低異黃酮族之葡萄糖苷濃度偶合著相對應定量增加相同異黃酮族之配葡萄糖基百分率。

黃豆糖蜜起始物以水稀釋1:4及經分析個別異黃酮化合物之濃度。糖蜜之pH然後調至11。黃豆糖蜜維持在室溫下1小時，以產生葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質。葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質經分析個別異黃酮化合物之濃度。4個樣品在物質之pH調至4.5後，自葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質製備。各樣品以酵素接種，其中以下之酵素經分別加入樣品，在各樣品中以10%糖蜜固形物之重量：G-Zyme 990、生物果膠分解酶100L；乳糖酶50,000及 α -Gal 600L。樣品然後在50°C下處理6小時，以形成配葡萄糖基異黃酮增純之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (22)

黃豆糖蜜物質。配葡萄糖基異黃酮增純之黃豆糖蜜然後經分析異黃酮含量。

表3說明自前述測試生成之不同形式異黃酮間之分佈。異黃酮濃度以在樣品內之每百萬份之份數(ppm)，及以特別異黃酮之總量(共軛物、葡萄糖苷及配葡萄糖基形式之總量)表示。

表 3

樣品	三種異黃酮 苷	6"-OMal 三 種異黃酮苷	6"-OAc 三 種異黃酮苷	三種異黃酮 苷	大豆異黃酮 苷	6"-OMal 大 豆異黃酮苷	6"-OAc 大豆 異黃酮苷	大豆異黃酮	甲氧二種異 黃酮苷	6"-OMal 甲 氧二種異黃 酮苷	甲氧二種異 黃酮
<u>黃豆糖蜜</u>											
ppm	4678	1329	0	88	3533	928	210	84	500	105	360
%異黃酮	77	22	0	1	74	20	4	2	52	11	37
<u>多葡萄糖苷 之黃豆糖蜜</u>											
ppm	6763	0	0	104	4377	0	0	43	433	0	0
%異黃酮	98	0	0	2	99	0	0	1	100	0	0
<u>G-Zyme 990, 10%</u>											
ppm	3903	0	0	1993	840	0	82	2331	346	0	114
%異黃酮	66	0	0	44	27	0	2	71	75	0	25
<u>生物果膠分 解酶 100L</u>											
10%											
ppm	2865	0	0	2919	541	0	94	2701	195	0	237
%異黃酮	50	0	0	50	16		3	81	45	0	55
<u>乳糖酶 50,000, 10%</u>											
ppm	0	0	0	460L	0	0	92	2875	0	0	366
%異黃酮	0	0	0	100	0	0	3	97	0	0	100
<u>Alpha-Gal 600L, 10%</u>											
ppm	28	0	0	4566	0	0	89	2882	0	0	356
%異黃酮	1	0	0	99	0	0	3	97	0	0	100

酵素處理樣品之配葡萄糖基異黃酮含量顯著較高於黃豆糖蜜和葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質，指出酵素處理轉化實質之葡萄糖苷異黃酮成配葡萄糖基異黃酮。選定轉化之適當酵素、酵素濃度、pH和溫度允許轉化實質全部異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮，如由在乳糖酶50,000和 α

五、發明說明 (23)

-Gal 600L樣品中之異黃酮分佈所展現。

實施例4

在最後之實驗中，異黃酮增純物質、異黃酮葡萄糖苷增純物質和配葡萄糖基異黃酮增純物質之異黃酮含量經檢視及比較在物質中異黃酮之分佈。黃豆糖蜜以水稀釋至1:4比值。稀釋黃豆糖蜜之樣品經調至pH 4.5，在冰浴中冷卻至0.6°C之溫度30分鐘，及在3000 rpm之速率下離心30分鐘，以分開異黃酮增純物質之餅狀物。剩餘之稀釋黃豆糖蜜然後以氫氧化鈉調至pH 11及在50°C下處理1小時，以轉化在糖蜜之異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。葡萄糖苷增純糖蜜之樣品經調至pH 4.5，在冰浴中冷至0.6°C之溫度30分鐘，及在3000 rpm之速率下離心30分鐘，以分開異黃酮葡萄糖苷增純物質之餅狀物。剩餘之異黃酮葡萄糖苷增純黃豆糖蜜物質經調至pH 4.5，及酵素G-Zyme 990以2.6克酵素/100克糖蜜物質之濃度經加入物質。酵素和異黃酮葡萄糖苷增純之黃豆糖蜜物質然後在50°C下處理18至20小時，以轉化異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮。配葡萄糖基異黃酮增純之黃豆糖蜜物質之樣品在冰浴中冷至0.6°C之溫度30分鐘，及在3000 rpm之速率下離心30分鐘，以分開配葡萄糖基異黃酮增純物質之餅狀物。回收之異黃酮增純物質、異黃酮葡萄糖苷增純物質和配葡萄糖基增純物質之餅狀物然後經分析異黃酮含量。

表4下示在異黃酮增純物質、異黃酮葡萄糖苷增純物質和配葡萄糖基異黃酮增純物質之餅狀物中異黃酮之分佈。異

五、發明說明 (24)

黃酮分佈以特別異黃酮總量(共軛物、葡萄糖苷和配葡萄糖基形式之總量)之百分率。

表 4

樣品	三羥異黃酮 苷	6"-OMal 三 羥異黃酮苷	6"-OAc 三羥 異黃酮苷	三羥異黃酮	大豆異黃酮 苷	6"-OMal 大 豆異黃酮苷	6"-OAc 大豆 異黃酮苷	大豆異黃酮	甲氧二羥異 黃酮苷	6"-OMal 甲 氧二羥異黃 酮苷	甲氧二羥異 黃酮
異黃酮物 質											
%異黃酮	83	16	0	1	81	12	5	1	40	8	52
多葡萄糖 基物質											
%異黃酮	99	0	0	1	99	0	0	1	95	0	5
多配葡萄糖 基物質											
%異黃酮	3	0	0	97	0	0	0	100	54	18	28

轉化步驟之效力可見於物質之異黃酮分佈。異黃酮葡萄糖苷增純物質含異黃酮葡萄糖苷之量顯著更高於異黃酮增純物質和配葡萄糖基異黃酮物質，具由近乎全部異黃酮葡萄糖苷組成之異黃酮含量。配葡萄糖基異黃酮增純物質含配葡萄糖基異黃酮之量顯著更高於異黃酮葡萄糖苷增純物質和異黃酮增純物質，具由近乎全部配葡萄糖基異黃酮組成之異黃酮含量。

在以上實施例中，所有為6"-OMal-三羥異黃酮苷、6"-OAc-三羥異黃酮苷、6"-OMal-大豆異黃酮苷、6"-OAc-大豆異黃酮苷、甲氧二羥異黃酮苷、6"-OMal甲氧二羥異黃酮苷和甲氧二羥異黃酮之所示百分率為計算數值。以下為定量在黃豆產物中異黃酮之方法之描述。異黃酮自黃豆產物萃取，由混合0.75克樣品(噴霧乾燥或細磨之粉末)與50毫升80/20甲醇/水溶劑。混合液在室溫下以回轉振盪器

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (25)

振盪2小時。2小時後，剩餘之未溶物質由過濾經懷特曼第42號濾紙除去。5毫升濾液以4毫升水和1毫升甲醇稀釋。

萃取之異黃醇由HPLC(高效液相層析法)分開，使用惠浦C18 Hypersil逆相管相。異黃酮經注入管柱及以溶劑梯度溶析，以88%甲醇、10%水和2%冰乙酸開始及以98%甲醇和2%冰乙酸結束。在0.4毫升/分之流速下，所有異黃酮-三羥異黃酮苷、6"-O-乙醯基三羥異黃酮苷、6"-O-丙二醯基三羥異黃酮苷、三羥異黃酮、大豆異黃酮苷、6"-O-乙醯基大豆異黃酮苷、6"-O-丙二醯基大豆異黃酮苷、大豆異黃酮、甲氧二羥異黃酮苷及其衍生物和甲氧二羥異黃酮一清楚地解析。波峰偵測用260毫微米之UV吸光度。波峰之鑑定由HPLC-質譜儀進行。

定量由使用純標準物(三羥異黃酮苷、三羥異黃酮、大豆異黃酮苷和大豆異黃酮)達成，其獲自印度泛化學公司，山姆維拉，紐澤西州。反應因子(積分面積/濃度)經計算各以上之化合物及用以定量未知之樣品。為無純標準物可得之共軛形式，反應因子假定為母分子者，但修正分子量差異。甲氧二羥異黃酮苷之反應因子假定為三羥異黃酮苷者，而修正分子量差異。此方法提供各個別異黃酮之量。為方便，總三羥異黃酮苷、總大豆異黃酮苷和總甲氧二羥異黃酮苷可以計算，及若所有共軛形式經轉化成其個別未共軛形式時代表此些化合物之聚集體重量。此些總量亦可直接由使用酸水解轉化共軛形式之方法測定。

前面僅為本發明之較佳具體實施例。不同變化和改變可

五、發明說明 (26)

以形成而不偏離如在隨附之申請專利範圍中說明之精神和其更廣之要素，其與專利法律之要旨包括相當學理一致地詮譯。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

四、中文發明摘要(發明之名稱：自黃豆糖蜜中回收異黃酮)

自黃豆糖蜜中回收異黃酮和其衍生物之方法經揭示。在第1個具體實施例中，揭示一種方法，其中異黃酮經回收，而無異黃酮共軛物之任何顯著轉化成其他形式。在第2個具體實施例中，揭示一種方法，藉此異黃酮共軛物經轉化成葡萄糖苷，而在黃豆物質中在其回收之前。在第3個具體實施例中，揭示一種方法，其中異黃酮經轉化成配葡萄糖基形式，而在黃豆物質中及其回收之前。亦揭示的是自黃豆糖蜜中所得之多種異黃酮增純產物。

英文發明摘要(發明之名稱：RECOVERY OF ISOFLAVONES FROM SOY MOLASSES)

Methods for recovering isoflavones and derivatives thereof from soy molasses are disclosed. In a first embodiment, a method is disclosed in which isoflavones are recovered without any significant conversion of isoflavone conjugates to other forms. In a second embodiment, a method is disclosed whereby isoflavone conjugates are converted to glucosides while in the soy material prior to their recovery. In a third embodiment, a method is disclosed in which isoflavones are converted to their aglucone form while in the soy material and prior to their recovery. Also disclosed are various isoflavone enriched products obtained from soy molasses.

六、申請專利範圍

修正

本 年 月 日
補充 90.12.10

1. 一種自黃豆糖蜜中獲得異黃酮增純物質之方法，包括：
 - (i) 提供具異黃酮之黃豆糖蜜物質；
 - (ii) 於3.0至6.5之pH值與0至35°C之溫度處理該黃豆糖蜜物質，以使異黃酮不溶於黃豆糖蜜物質中；及
 - (iii) 於步驟(ii)之pH值及溫度下自該黃豆糖蜜物質中分開含該不溶性異黃酮之異黃酮增純物質。
2. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該異黃酮增純物質自該黃豆糖蜜物質中在4.5之pH下分開。
3. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該異黃酮物質自該黃豆糖蜜物質中在0°C至10°C之溫度下分開。
4. 根據申請專利範圍第1項之方法，進一步包括形成黃豆糖蜜物質之水性混合液，在自黃豆糖蜜物質中分開該異黃酮增純物質前具自3%至28%之固形物含量。
5. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該異黃酮增純物質自該黃豆糖蜜物質中由離心分開。
6. 根據申請專利範圍第5項之方法，其中該離心經進行，而該黃豆糖蜜物質係在0°C至10°C之溫度及3至6.5之pH下。
7. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該異黃酮增純物質自該黃豆糖蜜物質中由過濾分開。
8. 根據申請專利範圍第7項之方法，其中該過濾經進行，而該黃豆糖蜜物質係在0°C至10°C之溫度及3至6.5之pH下。
9. 根據申請專利範圍第1項之方法，進一步包括：

六、申請專利範圍

形成該分開異黃酮增純物質之水漿，該異黃酮增純物質含異黃酮共軛物；及

在一溫度和pH下處理該漿一段足夠之時段，以轉化在該漿之該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷，形成異黃酮葡萄糖苷增純之漿。

10. 根據申請專利範圍第9項之方法，其中該異黃酮增純物質之水漿具6%至13%之固形物含量。
11. 根據申請專利範圍第9項之方法，其中該漿在6至13.5之pH及2°C至120°C之溫度下處理一段15分鐘至6小時之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
12. 根據申請專利範圍第11項之方法，其中該漿在9至11之pH及5°C至75°C之溫度下處理15分鐘至6小時之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
13. 根據申請專利範圍第9項之方法，進一步包括自該漿中分開異黃酮葡萄糖苷增純物質。
14. 根據申請專利範圍第1項之方法，其中該異黃酮葡萄糖苷增純物質自該漿中在0°C至10°C之溫度下分開。
15. 根據申請專利範圍第9項之方法，進一步包括，在轉化該異黃酮共軛物成該異黃酮葡萄糖苷後，以酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該漿中在一溫度和pH下接觸一段足夠之時段，以轉化該異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮，形成配葡萄糖基異黃酮增純物質。
16. 根據申請專利範圍第15項之方法，其中該酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該漿中在3至9之pH下及在5°C至75°C之溫

六、申請專利範圍

度下接觸至少1小時。

17. 根據申請專利範圍第15項之方法，其中酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該漿中接觸包括添加有效量之補充酵素至該漿中。
18. 根據申請專利範圍第17項之方法，其中該補充酵素包括能裂解1,4-葡萄糖苷鍵之醣酶酵素。
19. 根據申請專利範圍第15項之方法，進一步包括自該漿中分開配葡萄糖基異黃酮增純之物質。
20. 根據申請專利範圍第19項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純物質自該漿中在3至6.5之pH下及在0°C至35°C之溫度下分開。
21. 根據申請專利範圍第20項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純物質自該漿中在0°C至10°C之溫度下分開。
22. 一種自含異黃酮共軛物之黃豆糖蜜中獲得異黃酮葡萄糖苷增純物質之方法，包括：
 - (i) 提供一含異黃酮共軛物之黃豆糖蜜物質；
 - (ii) 在6至13.5之pH值與2至120°C之溫度下處理該黃豆糖蜜物質，以轉化異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷；
 - (iii) 在3至6.5之pH值與0至35°C之溫度下處理步驟(ii)之黃豆糖蜜物質，以使該異黃酮葡萄糖苷不溶於該黃豆糖蜜物質中；及
 - (iv) 於步驟(iii)之pH值與溫度下自該黃豆糖蜜物質中分開含該不溶性異黃酮葡萄糖苷之異黃酮葡萄糖苷增

六、申請專利範圍

純物質。

23. 根據申請專利範圍第22項之方法，其中該黃豆糖蜜在9至11之pH下及在5°C至75°C之溫度下處理至少15分鐘之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
24. 根據申請專利範圍第23項之方法，其中該黃豆糖蜜在11之pH及5°C至50°C之溫度下處理15分鐘至1小時之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
25. 根據申請專利範圍第24項之方法，其中該黃豆糖蜜在11之pH下及在35°C之溫度下處理30分鐘至1小時，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
26. 根據申請專利範圍第23項之方法，其中該黃豆糖蜜在9之pH及45°C至75°C之溫度下處理4小時至6小時，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
27. 根據申請專利範圍第22項之方法，其中該異黃酮葡萄糖苷增純物質自該黃豆糖蜜物質中在0°C至10°C之溫度下分開。
28. 根據申請專利範圍第22項之方法，其中該異黃酮葡萄糖苷增純物質自該黃豆糖蜜物質中在4.5之pH下分開。
29. 根據申請專利範圍第22項之方法，其中該異黃酮葡萄糖苷增純物質自該黃豆糖蜜中由離心分開。
30. 根據申請專利範圍第22項之方法，其中該異黃酮葡萄糖苷物質自該黃豆糖蜜中由過濾分開。
31. 根據申請專利範圍第22項之方法，進一步包括：

形成該分開異黃酮葡萄糖苷增純物質之水漿；及

六、申請專利範圍

將酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該漿中在一pH和溫度下接觸一段足以轉化該異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮之時間，形成配葡萄糖基異黃酮增純之漿。

32. 根據申請專利範圍第31項之方法，其中該酵素與異黃酮葡萄糖苷在該漿中在3至9之pH下及在5°C至75°C之溫度下接觸至少1小時。
33. 根據申請專利範圍第31項之方法，其中酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該漿中接觸包括添加有效量之補充酵素至該漿中。
34. 根據申請專利範圍第33項之方法，其中該補充酵素包括能裂解1,4-葡萄糖苷鍵之醣酶酵素。
35. 根據申請專利範圍第31項之方法，進一步包括，在轉化該異黃酮葡萄糖苷成配葡萄糖基異黃酮後，自該漿中分開配葡萄糖基異黃酮增純之物質。
36. 根據申請專利範圍第35項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純之物質自該漿中在0°C至10°C之溫度下分開。
37. 一種自含異黃酮共軛物之黃豆糖蜜中獲得配葡萄糖基異黃酮增純物質之方法，包括：
 - (i) 提供一含異黃酮共軛物之黃豆糖蜜物質；
 - (ii) 在6至13.5之pH值與2至120°C之溫度下處理該黃豆糖蜜物質以轉化該異黃酮共軛物為異黃酮葡萄糖苷；
 - (iii) 在3至9之pH值與5至75°C之溫度下將酵素與步驟(ii)之異黃酮葡萄糖苷接觸以轉化該異黃酮葡萄糖苷

六、申請專利範圍

成配葡萄糖基異黃酮；

(iv) 在3至6.5之pH值與0至35°C之溫度下處理步驟(iii)之黃豆糖蜜物質，使該配葡萄糖基異黃酮不溶於該黃豆糖蜜物質；及

(v) 在步驟(iv)之pH值與溫度下自該黃豆糖蜜中分開含該不溶性配葡萄糖基異黃酮之配葡萄糖基異黃酮增純物質。

38. 根據申請專利範圍第37項之方法，進一步包括形成黃豆糖蜜之水性混合液，在轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷前具自3%至28%之固形物含量。
39. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中該黃豆糖蜜在6至13.5之pH及2°C至120°C之溫度下處理至少15分鐘之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
40. 根據申請專利範圍第39項之方法，其中該黃豆糖蜜在9至11之pH下及在5°C至75°C之溫度下處理15分鐘至6小時之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
41. 根據申請專利範圍第40項之方法，其中該黃豆糖蜜在11之pH下及在5°C至50°C之溫度下處理30分鐘至1小時之時段，以轉化該異黃酮共軛物成異黃酮葡萄糖苷。
42. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中該酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該黃豆糖蜜中在3至9之pH及5°C至75°C之溫度下接觸至少1小時。
43. 根據申請專利範圍第42項之方法，其中該酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該黃豆糖蜜中在35°C至60°C之溫度下接

六、申請專利範圍

觸。

44. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中酵素與該異黃酮葡萄糖苷在該黃豆糖蜜中接觸包括添加有效量之補充酵素至該黃豆糖蜜中。
45. 根據申請專利範圍第44項之方法，其中該補充酵素包括能裂解1,4-葡萄糖苷鍵之醣酶酵素。
46. 根據申請專利範圍第44項之方法，其中補充酵素係選自一群包括 α -葡萄糖苷酶酵素、 β -葡萄糖苷酶酵素、 β -半乳糖苷酶酵素、葡萄糖澱粉酶酵素、果膠分解酶酵素及其組合物。
47. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純之物質自該黃豆糖蜜中在0°C至10°C之溫度下分開。
48. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純之物質自該黃豆糖蜜中在4.5之pH下分開。
49. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純之物質自該黃豆糖蜜中由離心分開。
50. 根據申請專利範圍第37項之方法，其中該配葡萄糖基異黃酮增純之物質自該黃豆糖蜜中由過濾分開。
51. 一種含有自黃豆糖蜜物質中分開之含異黃酮之固體物質之異黃酮物質，其中該固體物質係含甲氧二羥異黃酮、甲氧二羥異黃酮苷、6"-O-Mal甲氧二羥異黃酮苷、或其混合物。
52. 一種含有自黃豆糖蜜中分開之固體物質之異黃酮物質，

六、申請專利範圍

其中該固體物質係含三羥異黃酮及大豆異黃酮。

裝

訂

線