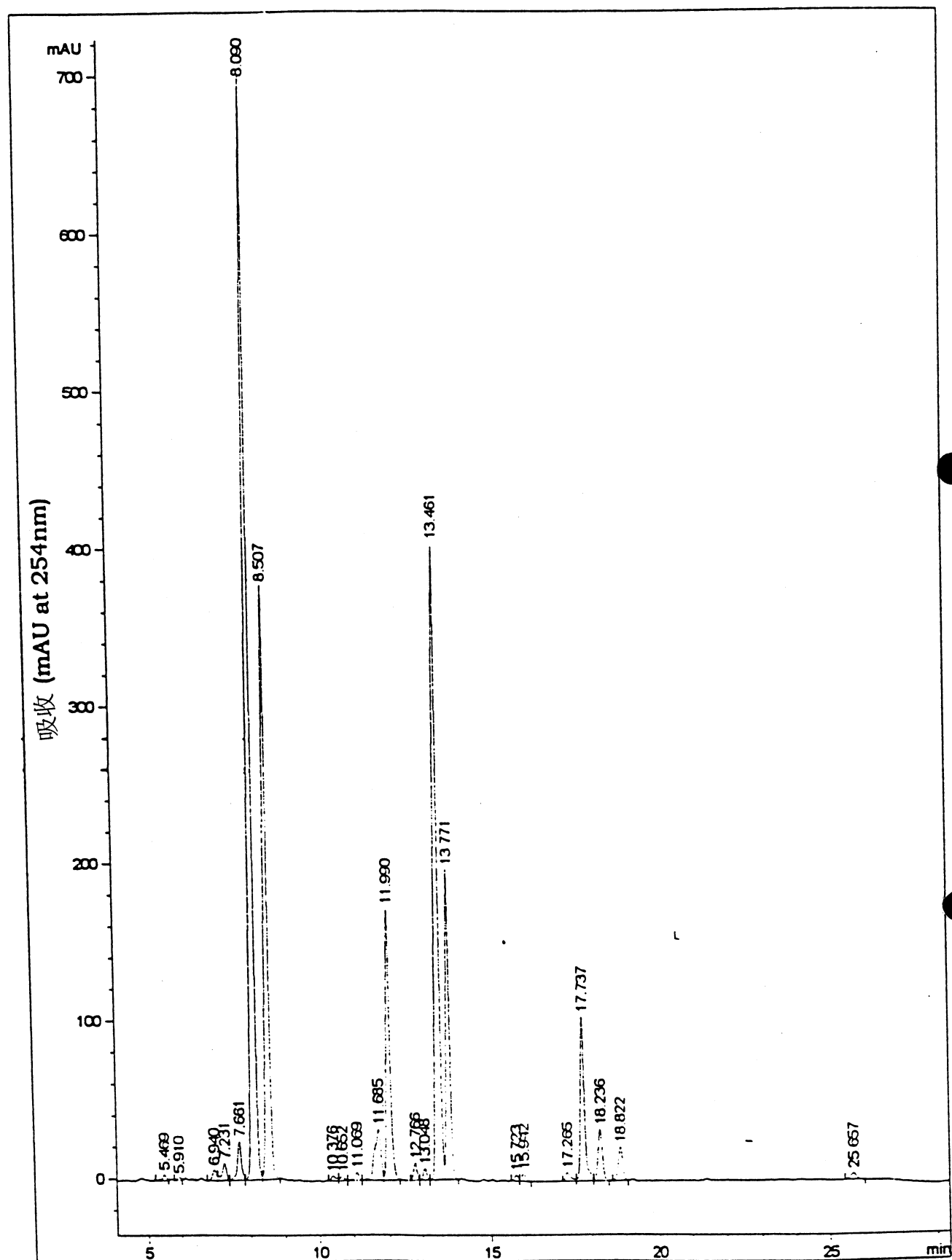
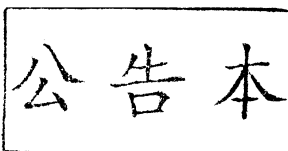
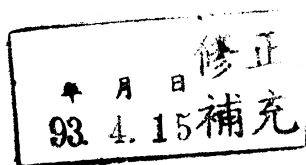






I227661

(2004 年 4 月修正)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 89/0/038

※ 申請日期： 89.3.24

※IPC 分類： A23L 1/20, 1/28

壹、發明名稱：(中文/英文)

水可溶豆類萃取物

WATER-SOLUBLE BEAN-BASED EXTRACTS

貳、申請人：(共 5 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

- 1) 小野 光則 / Mitsunori Ono
- 2) 吉屋 圭三 / Keizo Koya
- 3) 辰田 憲昭 / Noriaki Tatsuta
- 4) 山口 直人 / Naoto Yamaguchi
- 5) 陳良博 / Lan Bo Chen

代表人：(中文/英文)

住居所或營業所地址：(中文/英文)

- 1) 美國麻州利辛頓·格蘭森路 31 號
31 Gleason Road, Lexington, Massachusetts 0240, U.S.A.
- 2) 美國麻州布蘭克·肯沃街 15 號
15 Kenwood Street, Brookline, Massachusetts 02446, U.S.A.
- 3) 美國麻州利辛頓·烏邦街 425 號 42 公寓
425 Woburn Street, Apt. 42, Lexington, Massachusetts 02420, U.S.A.
- 4) 美國麻州利辛頓·利辛頓橋道 1221 號
1221 Lexington Ridge Drive, Lexington, Massachusetts 02421, U.S.A.
- 5) 美國麻州利辛頓·東愛默生路 184 號
184 East Emerson Road, Lexington, Massachusetts 02420, U.S.A.

國籍：(中文/英文) 1)-4) 日本/Japan；5) 美國/U.S.A.

電話/傳真/手機：

E-MAIL :

參、發明人：(共 5 人)

姓 名：(中文/英文)

- 1)小野 光則 / Mitsunori Ono
- 2)吉屋 圭三 / Keizo Koya
- 3)辰田 憲昭 / Noriaki Tatsuta
- 4)山口 直人 / Naoto Yamaguchi
- 5)陳良博 / Lan Bo Chen

住居所地址：(中文/英文)

- 1)美國麻州利辛頓·格蘭森路 31 號
31 Gleason Road, Lexington, Massachusetts 0240, U. S. A.
- 2)美國麻州布蘭克·肯沃街 15 號
15 Kenwood Street, Brookline, Massachusetts 02446, U. S. A.
- 3)美國麻州利辛頓·烏邦街 425 號 42 公寓
425 Woburn Street, Apt. 42, Lexington, Massachusetts 02420, U. S. A.
- 4)美國麻州利辛頓·利辛頓橋道 1221 號
1221 Lexington Ridge Drive, Lexington, Massachusetts 02421, U. S. A.
- 5)美國麻州利辛頓·東愛默生路 184 號
184 East Emerson Road, Lexington, Massachusetts 02420, U. S. A.

國 籍：(中文/英文) 1)-4)日本/Japan ; 5)美國/U. S. A.

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☒ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 美國；1999/12/17；09/464,260

2.

3.

4.

5.

☐ 主張國內優先權（專利法第二十五條之一）：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

發明所屬之技術領域

營養研究之一最新和最關心之領域包括所謂植物化學品之植物成分。植物化學品如異黃酮和其衍生物只見於植物，雖不歸類為營養品，但深深影響我們之健康(W.R. Bidlack等著：植物化學品，Technomic出版社1998)。

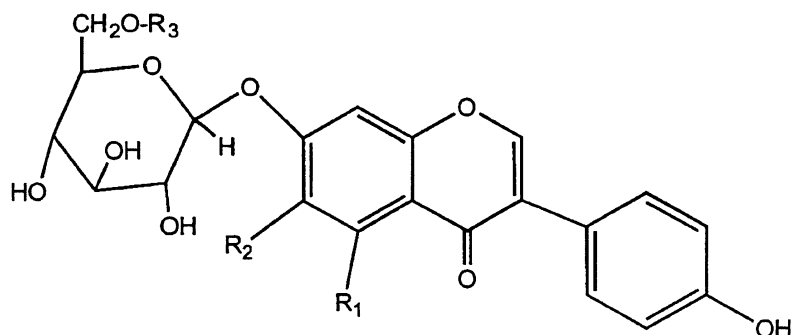
先前技術

植物化學品之發現引起營養上新時代之曙光。見於大豆等豆類之植物化學品特別重要。豆類和其製品，例如大豆和大豆製品提供降低如癌等多數慢性疾病被害之特殊管道(農業食品化學雜誌，42 1666(1994)；和43，1184(1995)。近年之研究顯示，每日一餐大豆食品足於獲得這些食品化學品之好處(M. Messina等著：單純大豆和我們之健康，NY，花園城市公園Avery出版社出版，1994)。

但大豆食物因其臭味、粗質等而多數人不願食用，其一解決方式為以大豆異黃酮為飲食補助品，但不幸因其水溶性低，故大豆異黃酮和其衍生物仍未被利用(R. Elkinsa著：金雀異黃酮苷素，猶太州，快樂谷，Woodland出版社出版，1998)。

發明內容

本發明之特徵為一種水可溶豆類萃取物，含有一種以上如下式異黃酮衍生物



式中 R_1 為氫或羥基， R_2 為氫或甲氧基， R_3 為氫或 $CO-R_4$ ， R_4 為甲基或羧甲基。此水可溶豆類萃取物乾燥型時含有約 5-約 50 重量%異黃酮衍生物，於約 25°C 水中之溶解度為約 10-約 1000mg/ml。存在於水可溶豆類萃取物之異黃酮之例包括大豆異黃酮苷、金雀異黃酮苷、大豆苷、6"-0-乙醯基大豆異黃酮苷、6"-0-乙醯基金雀異黃酮苷、6"-0-乙醯基大豆苷、6"-0-丙二醯基大豆異黃酮苷、6"-0-丙二元醯基金雀異黃酮苷或 6"-0-丙二醯基大豆苷。

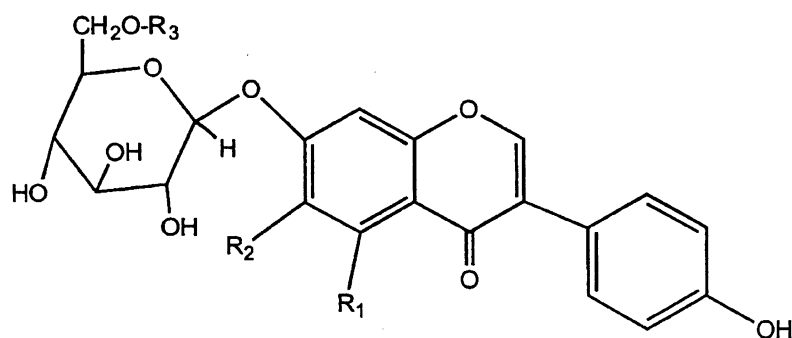
本發明之水可溶豆類萃取物包括一以上異黃酮衍生物，例如一種異黃酮苷，與豆類中之其他成分複合而意外地提高水溶性。

本發明之其他特徵為水可溶豆類萃取物之製法，包括將粉化粗製豆類萃取物與水混合，加熱、添加凝集劑而形成懸浮液後，加熱而收集上清液，得水可溶豆類萃取物，其風味佳，當作任何食品之成分時，可得適宜之組成物和性能而可與如牛乳、茶、清涼飲料、果汁、咖啡、調味料、穀物、水、啤酒、脆餅、口香糖、巧克力或湯等食品配合。

本發明之其他特徵和優點可由如下文和申請專利範圍明白。

實施方式

本發明為有關一種水可溶豆類萃取物，含有一以上如下式異黃酮衍生物



式中 R^1 為氫或羥基， R^2 為氫或甲氧基， R^3 為氫或 $CO-R^4$ ， R^4 為甲基或羧甲基。存在於水可溶豆類萃取物之異黃酮之例包括大豆異黃酮苷、金雀異黃酮苷、大豆苷、6"-0-乙醯基大豆異黃酮苷、6"-0-乙醯基金雀異黃酮苷、6"-0-乙醯基大豆苷、6"-0-丙二醯基大豆異黃酮苷、6"-0-丙二醯基金雀異黃酮苷或 6"-0-丙二醯基大豆苷。如大豆異黃酮苷、金雀異黃酮苷素等異黃酮苷於胃腸被吸收而由人小腸內生產鼠李糖苷酶、外 β 葡萄糖苷酶、內 β 葡萄糖醛糖苷酶之微生物經配糖基代謝為異黃酮(Biol. Pharm. Bull, 22(1998); Biol. Pharm. Bull, 17, 1369(1994); Arch. Pharm. Res., 21, 17(1998)。

本發明之水可溶豆類萃取物增進水溶性，用於食品時增進異黃酮衍生物之生理吸收。例如，金雀異酮苷之溶解度於25°C 甲醇時約5mg/ml，水時約1mg/ml，而含有約10%異黃酮衍生物之本發明水可溶豆類萃取物之水溶性為約300mg/ml。一般而言，本發明之水可溶豆類萃取物增加異黃酮衍生物之溶解度約30倍。乾燥形態時，含有約10-約50重量%異黃酮衍生物，於約25°C 水溶性為約10-約1000mg/ml；宜含有約10-約20重量%異黃酮衍生物，水溶性為約30-約300mg/ml；尤宜含有約10-約20重量%異黃酮衍生物，水溶性為約50-約200mg/ml。當然，異黃酮衍生物之重量%影響水可溶豆類萃取物之總溶解度。例如，異黃酮衍生物較高重量%-之萃取物之總溶解度低於異黃酮衍生物較低重量%-之萃取物。

任何豆類皆可用以製造本發明之水可溶豆類萃取物，不限於大豆、綠豆、黑豆、敏豆，尤宜大豆。通常可用二種不同型大豆，例如食用豆和製油用豆，惟宜製油用豆，蓋蛋白質含有量比食用豆少。一般，製油用豆先除油來製成加工豆。此除油法可參見K. S. Liu著：大豆、技術和利用，馬利蘭州，蓋滋堡，Aspen出版社出版，1999。

本發明水可溶豆類萃取物之製法包括混合約1-約50重量份豆粉粗萃取物和約100重量份熱或冷水。豆粉粗萃取物可由豆粉用約50-90%醇水溶液或100%有機溶劑，如乙醇、甲醇或乙腈萃取來製造。豆粉粗萃取物之實例為大豆胚芽，代表約1重量%大豆，仍比剩餘之大豆部分含較高異黃

酮濃度，高約6倍，參見K. S. Liu著：大豆、技術和利用，馬利蘭州，蓋滋堡，Aspen出版社出版，1999。豆粉粗萃取物如大豆胚芽可以SoyLife150和SoyLife25購自美國Schousten公司。豆粉粗萃取物則以NOVASOY購自美國Archar Daniels Midland公司。

次將此水和豆粉粗萃取物之混合物加熱約60-100°C約10-120分後，每100重量份水添加約2.0重量份凝集劑而形成懸浮液，再加熱約30-100°C約1-120分後，以過濾或離心來收集上清液，得增進溶解度之水可溶豆類萃取物。懸浮液或上清液之pH可添加酸或堿調節以免使異黃酮衍生物沈澱。一般，pH調為約6.0。

所得上清液可脫色來脫任何非所望顏色。脫色方法藉助Ni觸媒之氫化和用於製造大豆油之漂白法。脫色法可參見K. S. Liu著：大豆、技術和利用，馬利蘭州，蓋滋堡，Aspen出版社出版，1999，和P. J. Wan著：油脂技術，伊利諾州，香檳，AOCS出版社出版。此上清液也可用包括分子蒸餾或蒸發等周知之蒸餾系統來濃縮。分子蒸餾系統之實例為購自美國351N. Dekora Woods Blv. Saukville, WI53080, HOPE公司之Wiped-Film Still。此上清液可用如凍幹或噴幹等任何周知之乾燥方法乾燥(US5,882,717)。

本發明之水可溶豆類萃取物可由分批法或流動法，即連續萃取和過濾法來製造。一般，用流動法以維持合理之製造成本。

為提高異黃酮苷之溶解度，於100重量%水添加約

0.001-3.0 重量%凝集劑，如氯化鈣、硫酸鈣、氯化鎂、硫酸鎂、任何有機或無機酸(例如檸檬酸、富馬酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、硫酸、磷酸或鹽酸)、糖精、葡萄糖糖-D-內酯，和木瓜酶。製造此萃取物時，添加凝集劑藉單純交連或改質來形成豆蛋白或多醣之不溶性凝集物。凝集劑之濃度直接影響萃取物中豆蛋白或多糖之量。例如，凝集劑量越多，越形成不溶之凝集物。此效果容許萃取物中水溶性蛋白和多醣之總量之控制，和異黃酮衍生物之溶解度。凝集劑之添加量藉測定所得豆類萃取物之脂肪、蛋白質和無機酸含量來決定。一般，添加足量凝集劑來生成約1%以下脂肪、約1-5%蛋白質、約0.01-3%Na、約0.01-3%Ca和約0.01-3%任何酸。水可溶豆類萃取物中這些之量可由任何周知之分析法，例如食物藥品管理局(FDA)推薦之如下分析法決定。一般，於萃取物添加約0.3重量%檸檬酸。若凝集劑添加太多，則由萃取物共析出水溶性豆蛋白質、多醣或異黃酮衍生物，而降低萃取物中異黃酮衍生物之濃度或溶解性。若凝集劑添加太少，則豆混合物形成膠狀而難由此分離水可溶豆類萃取物。

本發明之水可溶豆類萃取物可以乾燥或濕型加入食品。食品可為固體、膏狀或液體，如牛乳、茶、清涼飲料、果汁、咖啡、調味料、穀物、水、啤酒、脆餅、口香糖、巧克力或湯。

本發明之水可溶豆類萃取物也可由大麥、米、麥芽等其他穀物之共萃取物。例如一種以上之其他穀物與豆類可

由上述方法製成本發明之水可溶豆類萃取物。此外，水可溶豆類萃取物可用電解質、香料、保存劑和其他添加劑(例如維生素補充劑和麥芽糊精)來增強。保存劑之實例有如抗壞血酸和五倍子酸丙脂，電解質有如硫酸鎂和KCl。

下面舉例詳述本發明，但本發明不限於此。所有包括專利公報之引用刊物皆列入參考。

實施例 1

用約90%乙醇水溶液萃取之豆粉粗萃取物1公斤(購自美國Schousten公司入之SoyLife150中加3公升70℃熱水，於90℃30分和50℃30分之攪拌後，於50℃10,000×g離心粗分離殘滓和溶液。傾析後，於上清液添加食品添加劑級氯化鈣6克(約0.02M)，於30℃攪拌30分後，上清液濾經1μm微濾器，得黃色溶液2.5公升。將此移入5-L玻璃燒瓶，有觸媒量(約3克)5%pd/c存在之10大氣壓氫下氫化5小時。將此脫色混合物濾經0.2μm微濾器，得清澄水可溶豆類萃取物溶液2.3公升。

將此水可溶豆類萃取物溶液用HPLC特徵化。HPLC系購自Waters公司之C18逆相柱150×4.6mm對稱掩蔽RP18，於30℃依梯度溶析法，用15-40%乙腈水溶液和0.1%三氟乙酸以1ml/分溶出20分。HPLC測定器設定為254nm。圖1表示實例1水可溶豆類萃取物中主成分之HPLC圖。其各峰、滯留時間、峰面積和面積%如下表1。萃取物之若干成分由比較未知成分之滯留時間和於同一實驗條件下HPLC分析之已知異黃酮

苷之滯留時間來鑒定。

水可溶豆類萃取物溶液也測定萃取物成分之相對量來特徵化。萃取物之樣品送美國，奧列岡州，波多蘭市，食品實驗公司依FDA推薦之方法分析，結果含有<0.1%脂肪、5%蛋白質、65%碳水化合物(多醣)、20%異黃酮、8%礦物質和1%水分。

表 1. 例 1 中可溶性黃豆產物之 HPLC 分析

峰	滯留時間(分)	峰面積	面積%	化合物
1	6.940	56.95	0.35	未測
2	7.231	85.42	0.53	未測
3	7.661	164.09	1.02	未測
4	8.090	5129.91	31.85	大豆異黃酮苷
5	8.507	2722.58	16.90	大豆苷
6	10.376	19.68	0.12	未測
7	10.652	23.89	0.15	未測
8	11.069	34.82	0.22	未測
9	11.685	367.98	2.28	未測
10	11.990	1378.49	8.56	金雀異黃酮苷
11	12.766	75.19	0.47	丙二醯大豆異黃酮苷
12	13.048	52.95	0.33	丙二醯大豆苷
13	13.461	3038.54	18.86	乙醯大豆異黃酮苷
14	13.771	1421.88	8.83	乙醯大豆苷素
15	15.723	33.08	0.21	未測
16	15.942	43.63	0.27	未測
17	17.265	58.45	0.36	未測
18	17.737	867.85	5.39	乙醯大豆苷
19	18.236	288.12	1.79	大豆苷素
20	18.822	196.99	1.22	大豆異黃酮素
21	25.657	47.89	0.30	金雀異黃酮素
合計		16108.41	100.00	

實施例 2

用約90%乙醇水溶液萃取之豆粉粗萃取物1公斤(購自美國Schousten公司)入之SoyLife150中加27公升70℃熱水，於90℃攪拌15分後，注入90克檸檬酸水溶液公升。於90℃攪拌15分後，真空濾經矽藻土床濾紙。濾液為淡黃色清澄溶液27公升。此用碳酸鉀50克調為pH6.0真空濾經0.45 μ m穴濾器(毫孔公司)除菌純化後，於70℃20mm氣壓用2英寸之Wiped-Film Still(HOPE科學公司)濃縮，得淡黃色水可溶豆類萃取物溶18公升。

實施例 3

仿實施例1得水可溶豆類萃取物溶液2公升後，用Bertis公司製造之凍幹機於-85℃10mm氣壓凍幹2日，得350克淡黃色幹餅。此含有70克異黃酮衍生物，溶解度約200mg/ml。溶解度系將1克乾燥萃取物於25℃純水1ml攪拌5分，若未完全溶解(視覺檢查)，追加1ml水而於25℃攪拌5分。次再視覺檢查是否完全溶解，若不，再追加1ml水而於25℃攪拌5分，如此至視覺檢查完全溶解為止。

其他實施例

本文揭示之所有特點可作任何配合。本文揭示之各特點可取代以具有同樣、相當或類似目的之別種特點。故除了特別記述之外，各開示之特點只為了一系列相當或類似

特點之例。

由上所述，業者不難由本發明之重要特點，不離其精神和範圍可作本發明之種種變化和修飾來適合不同用途和條件。這些也包括於申請專利範圍。

圖示簡單說明

圖 1 為例 1 製造之水可溶豆類萃取物中主成分之 HPLC 圖。

伍、中文發明摘要：

本發明為有關包括一以上異黃酮之水可溶豆類萃取物，並揭示其製法。

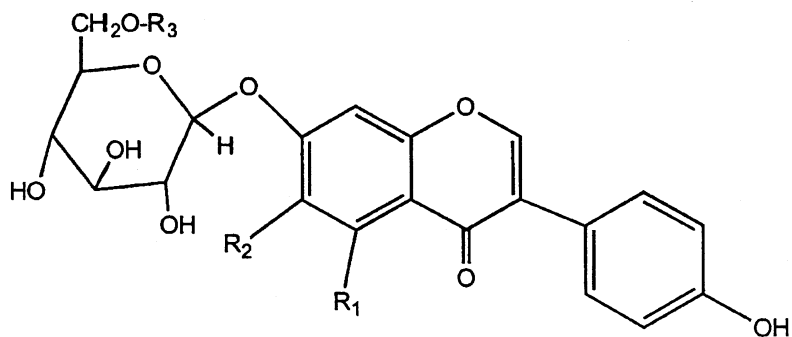
陸、英文發明摘要：

This invention relates to a water-soluble bean-based extract including one or more isoflavone glycosides. Also disclosed is a method of preparing such a water-soluble bean-based extract.

柒、指定代表圖：

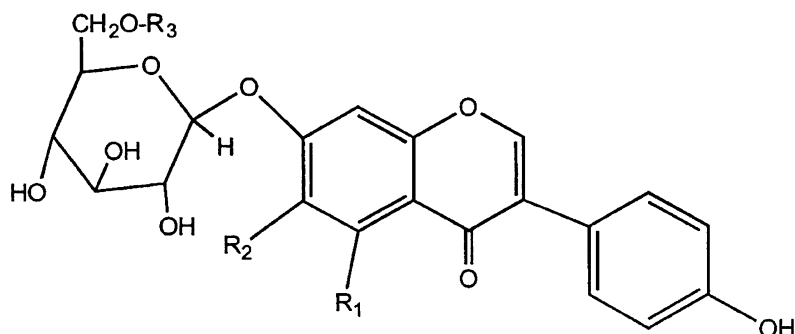
(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：



拾、申請專利範圍：

1. 一種水可溶豆類萃取物，含有一種以上如下式異黃酮衍生物



式中 R_1 為氫或羥基， R_2 為氫或甲氧基， R_3 為氫或 $CO-R_4$ ， R_4 為甲基或羧甲基，此水可溶豆類萃取物乾燥型時含有 5-50 重量份異黃酮衍生物，於 25°C 水中之溶解度為 50-500 mg/ml 。

2. 如申請專利範圍第 1 項之水可溶豆類萃取物，其中豆類萃取物基於大豆、綠豆、黑豆、或敏豆。

3. 如申請專利範圍第 1 項之水可溶豆類萃取物，其中豆類萃取物基於大豆。

4. 如申請專利範圍第 1 項之水可溶豆類萃取物，其中水可溶豆類萃取物乾燥型時含有 10-20 重量份異黃酮衍生物，於 25°C 水中之溶解度為 50-300 mg/ml 。

5. 如申請專利範圍第1項之水可溶豆類萃取物，其中水可溶豆類萃取物乾燥型時含有10-20重量份異黃酮衍生物，於25℃水中之溶解度為50-200mg/ml。

6. 如申請專利範圍第1項之水可溶豆類萃取物，其中異黃酮衍生物為大豆異黃酮苷、金雀異黃酮苷、大豆苷、6"-0-乙醯基大豆異黃酮苷、6"-0-乙醯基金雀異黃酮苷、6"-0-乙醯基大豆苷、6"-0-丙二醯基大豆異黃酮苷、6"-0-丙二醯基金雀異黃酮苷或6"-0-丙二醯基大豆苷。

7. 如申請專利範圍第6項之水可溶豆類萃取物，其中豆類萃取物基於大豆。

8. 如申請專利範圍第6項之水可溶豆類萃取物，其中水可溶豆類萃取物乾燥型時含有10-20重量份異黃酮衍生物，於25℃水中之溶解度為50-300mg/ml。

9. 如申請專利範圍第6項之水可溶豆類萃取物，其中水可溶豆類萃取物乾燥型時含有10-20重量%異黃酮衍生物，於25℃水中之溶解度為50-200mg/ml。

10. 一種如申請專利範圍第1項之水可溶豆類萃取物之製法，包括：

將粉化粗製豆類萃取物與水混合，每100重量份水混合

1-50 重量份豆粉粗萃取物；

將此混合物在 60-100℃ 加熱 10-120 分；

於此混合物添加凝集劑而形成懸浮液；

將此懸浮液在 30-100℃ 加熱 1-120 分；及

收集上清液，得水可溶豆類萃取物。

11. 如申請專利範圍第 10 項之製法，其中豆類萃取物基於大豆、綠豆、黑豆、或敏豆。

12. 如申請專利範圍第 10 項之製法，其中豆類萃取物基於大豆。

13. 如申請專利範圍第 10 項之製法，其中每 100 重量份水混合 0.01-3 重量份凝集劑。

14. 如申請專利範圍第 13 項之製法，其中凝集劑為檸檬酸。

15. 如申請專利範圍第 10 項之製法，其中懸浮液藉過濾來收集上清液。

16. 如申請專利範圍第 10 項之製法，其中更將此上清液乾燥而得乾燥之水可溶豆類萃取物。