

申請日期	89.11.14
案 號	89124027
類 別	(07)D ³¹ / ₆₂

公告本^A_C

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、發明 名稱	中 文	濃縮兒茶素溶液之方法
	英 文	"PROCESS FOR CONCENTRATING CATECHIN SOLUTIONS"
二、發明人 創作	姓 名	1. 華納 邦瑞斯 2. 大衛 卡爾 柏迪克 3. 彼得 史卻格 4. 安卓斯 桑姆
	國 籍	1. 3. 4. 均德國 2. 美國
三、申請人	住、居所	1. 德國佛瑞柏格市路肯貝契街29號 2. 瑞士賓寧根市史查夫麥特街85號 3. 德國貝登威勒市歐柏丹菲森路5號 4. 德國奧姆市艾柏哈德街26, 5號
	姓 名 (名稱)	瑞士商赫孚孟拉羅股份公司
	國 籍	瑞士
	住、居所 (事務所)	瑞士貝士勞市格蘭山查街124號
	代 表 人 姓 名	菲杜林. 克勞士納
		羅蘭. 包爾

裝

訂

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6

B6

本案已向：

國(地區) 申請專利，申請日期： 案號： ，☐有 ☐無主張優先權歐洲專利機構 1999 年 11 月 16 日 99122753.9 ☐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

五、發明說明（1）

本發明係關於濃縮兒茶素（此後稱之為 EGCG）水溶液之方法。

本發明尤其有關於使用選擇性奈米過濾（nanofiltration）或逆跨膜（後文稱為薄膜）濃縮 EGCG 水溶液之方法。

USP 5,879,733 敘述製備具有改良透明度及顏色之綠茶萃取物之方法。此等萃取物係藉由以可有效移除萃取物中存在之金屬陽離子之量之食品級陽離子交換樹脂處理水性綠茶萃取物而製得。以陽離子交換樹脂處理之萃取物接著與奈米過濾薄膜接觸，移除較高分子量之物質，如果膠、蛋白質、葉綠素及氧化產物。USP 5,879,733 中描述之奈米過濾膜係由分子量區隔（cut-off）自約 700 至約 5000 道爾吞之聚合物（相當於約 17 至約 40 埃之孔隙尺寸）製成。此等奈米過濾膜使用聚合物如纖維素乙酸酯、聚砵、聚偏氟乙烯製造。特別揭示使用 OSMO SP-12 奈米過濾膜（由 Osmonics 公司製造，Minnetonka, Minn）。製成該薄膜之纖維素乙酸酯聚合物之分子量區隔為 1000 道爾吞（相當於約 20 埃之孔隙尺寸）。藉由使用薄膜，分子大小小於薄膜孔隙直徑之茶兒茶酸可隨著水通過薄膜，同時較高分子量之物質被薄膜排除在外。

USP 5,879,733 並未揭示任一種適用於濃縮 EGCG 水溶液之薄膜。因此，仍需要尋找具有 EGCG 高駐留率且可保持滲透物液流至可接受流速之薄膜。

本發明有關一種濃縮兒茶素（EGCG）水溶液之多步驟方法，該方法可至少以部分批示或連續式進行，且包括：

五、發明說明(2)

- a) 在壓力約 5 巴至約 100 巴下，將溶解之固成分約為 0.03 wt% 至約 10 wt% 之 EGCG 水溶液飼入至少一薄膜模件中，得到滲透洗滌物及駐留物回流，其中在駐留物回流中 EGCG 濃度相對於飼入物溶液中濃度較增加，且因此薄膜特徵為 EGCG 駐留係數超過 90%；
- b) 收集該滲透洗滌物；
- c) 收集該駐留物回流；
- d) 視情況使駐留物回流循環至薄膜；
- e) 視情況濃縮步驟 c) 及/或 d) 之駐留物回流；
- f) 視情況濃縮步驟 b) 之滲透洗滌物。

所用薄膜之要件為：EGCG 駐留係數超過 90%，滲透物流速超過 5 升/平方米小時，視情況添加之有機溶劑及可能存在之任何雜質之駐留係數低於 50%。

薄膜一般特徵為藉駐留係數 R 及滲透物流速 J_v 界定之溶劑-薄膜-系統。

有關 EGCG 水溶液之濃度，駐留係數 R 定義為 $R=100 \times (1-C_p/C_k)$ ，其中 C_p 為滲透物中 EGCG 之濃度， C_k 為駐留物中 EGCG 之濃度。

滲透物流為滲透壓力之函數，其係由於濃縮物中所有溶解分子(例如，EGCG 及有機溶劑)所造成。

滲透物流 J_v 定義為 $J_v=A \times (\Delta P - \Delta \Pi)$ ，其中

A 為薄膜常數， $l/m^2h \text{ bar}$

ΔP 為跨膜壓差，

$\Delta \Pi$ 為跨膜滲透壓差。

五、發明說明(3)

適用薄膜之實例為薄膜 DESAL-5，其係購自 OSMONICS / DESAL, Vista，加州。DESAL-5 薄膜可使 EGCG 之濃度達到 200 倍。

薄膜較佳之壓力範圍係自約 10 巴至約 100 巴，更好自約 20 巴至約 35 巴。

本發明之方法可在選自約 10 °C 至約 60 °C 之任一適當且所需之溫度進行。

本文中"EGCG 水溶液"一詞係指 EGCG 在水及視情況之有機溶劑混合物中之溶液。溶劑或溶劑混合物較好包括約 70 體積%至約 100 體積%，較好約 90 體積%之水，及約 0 體積%至約 35 體積%，較好約 10 體積%之有機溶劑。有機溶劑較好為甲醇、乙醇、異丙醇或丙酮。溶液中 EGCG 之起始濃度約為 0.05 wt% 至約 10 wt%，較好約 0.05 至約 2 wt%。

起始物質為可藉由技藝中已知之方法製備之綠茶萃取物，例如萃取綠茶葉。茶萃取物粉末亦購自例如中國昆陽 Highyin 生物產品公司。

EGCG 係藉由層析而與萃取物中存在之茶多酚分離，例如述於歐洲專利申請案 99116032.6 中敘述之製造 EGCG 之方法，包括下列步驟：

- a) 提供綠茶萃取物；
- b) 使綠茶萃取物在約 30 °C 至約 80 °C 之溫度下，於微孔隙極性樹脂上進行層析；
- c) 在溫度約 30 °C 至約 80 °C 間，且壓力在約 0.1 巴至約 50

五、發明說明（4）

巴下，以極性溶離溶劑自微孔隙極性樹脂溶離 EGCG；

d) 視情況濃縮步驟(c)中之溶離物；

e) 藉由使殘留之兒茶酸解吸而視情況使微孔隙極性樹脂再生；及

f) 視情況濃縮步驟(e)之解吸兒茶酸。

上述層析方法之可能具體例敘述於實例 1 中。

本發明方法將參照圖示單階段薄膜奈米過濾裝置之圖 1 更詳細的說明。

該裝置包括藉由經過高壓泵浦(2)之飼入導管與薄膜模件(3)相連之飼入溶液槽(1)。模件(3)包括螺旋捲繞型或平片型含過濾膜之模件。滲透物流導管 V_p 與滲透物流槽(4)相連。回流導管 V_r 用於使駐留物回流再循環至槽(1)用。較佳者為螺旋捲繞模件。

操作中，含 EGCG 之飼入物水溶液以泵浦(2)在壓力約 5 至約 100 巴之下通道模件(3)中。經 V_p 離開者為含水及視情況之有機溶劑之滲透物流。經導管 V_r 離開者為含 EGCG 之駐留物回流，其並未通過薄膜。

就圖 1 中所述之方法而言，駐留物回流可以以一次或多次循環，批次或多階段製程(滲透物流之額外濃縮)或連續方法，再次送到薄膜製程中。

下列實例更詳細的說明本發明。

實例 1：起始物之製備

層析管柱中充填 2.2 公斤之 Amberlite® XAD-7 樹脂。將 50 克中國昆陽之 Highyin 生物產品公司之綠茶萃取物溶於

五、發明說明（5）

50 克去離子水中，將所得溶液於 60 °C 下吸附於管柱之上端，接著在 60 °C、氬氣下，以 0.1 升/分鐘之溶離液溶離。溶離液為水/異丙醇（9：1 體積比）。使溶離液除氣，且在使用前維持在氬氣中。得到含下列之三個主要部分：

- a) 含 10.0 克 EGCG 之 10.3 升溶液（0.97 克 EGCG/升），
- b) 含 5.2 克 EGCG 之 10.4 升溶液（0.50 克 EGCG/升），
- c) 含 1.3 克 EGCG 之 5.6 升溶液（0.23 克 EGCG/升）。

EGCG 之量係以 HPLC 分析測定。使用含特定量 EGCG 之溶劑作為外標準，以上述 HPLC 定量測定 EGCG 量。合併各部分，得到含 0.63 克 EGCG/升水/異丙醇 9/1 之飼入物。

實例 2a：在螺旋捲繞薄膜模件中濃縮 EGCG 溶液

儲存槽(1)中充填實例 1 之飼入溶液。飼入溶液之起始體積為 6 升。當得到 2 升滲透物時，將其餘飼入溶液以 2 升-部分添加於薄膜模件中。溶液在周圍溫度下通過具有 DESAL 5 DL 薄膜之螺旋捲繞薄膜元件 DESAL DL 2540 F 之薄膜模件（最終體積約 2 升）。滲透物流速最初為 12.2 升/m²h，最後為 6.8 升/m²h。通過薄膜之壓差恆定維持在 31 巴。薄膜表面為 2.5 m²。駐留物回流回到槽(1)。26.3 升之 0.63 克 EGCG/升之飼入物溶液濃縮成 2.06 升。濃縮物發現具有最少 15.6 克之 EGCG；最小產率 95%。滲透物流中無法偵測到 EGCG（偵測之極限約 0.001 毫克/毫升）。因此駐留係數約為 99.99。濃縮因素約 13。

實例 2b：在平板薄膜模件中濃縮 EGCG(視情況)

五、發明說明(6)

就實務理由而言，使用最終體積約 0.1 升之平板薄膜模件進一步濃縮實例 2a 中製備之濃縮物。

儲存槽(1)中充填實例 2a 之飼入溶液。飼入溶液之最初體積為 0.6 升。其餘飼入溶液在氮氣下連續添加直到添加溶有 14.7 克 EGCG。溶液在周圍溫度下通過平板狀薄膜元件 DESAL DL 5 之薄膜模件。滲透物流速開始為 16 升/ m^2h ，最終為 3.8 升/ m^2h 。通過薄膜之壓差恆定維持在 43 巴。薄膜表面為 0.0028 m^2 。駐留物回流回到槽(1)，且濃縮成 126 毫升之最終體積。濃縮物發現具有最少 14.2 克之 EGCG；最小產率 97%。以 HPLC 偵測到滲透物流中微量之 EGCG (偵測之極限量為 0.01 毫克/毫升)。因此駐留係數約 99.99。濃縮因素約 16。

實例 3

如實例 2b 中所述般在 35 巴及周圍溫度下，於平板狀薄膜模具中濃縮含 0.98 克 EGCG/升水/異丙醇 9/1 之飼入溶液。駐留係數為 99.8。

實例 4

使用下列市售薄膜，在 35 巴及周圍溫度下，於平板狀薄膜模具中濃縮含 0.98 克 EGCG/升水/異丙醇 9/1 (v/v) 之飼入溶液。NITTO 薄膜係購自日本 Nitto 電工。薄膜表面積為 0.0028 m^2 。下表顯示結果且亦包含實例 3 之結果。

五、發明說明 (7)

薄膜	滲透物流速 (最初)1/m ² h	駐留(最初)%	滲透物流速(最 終)1/m ² h	駐留(最終)%
NITTO 7250 NF	19	93.8	8 (after 6.5 h)	96.9
DESAL 5 DL NF	22	>99.1	10 (after 6.5 h)	>99.8
NITTO 7450 NF	32	95.0	10 (after 7 h)	91.1
DESAL YK NF	23	88.0	8 (after 7 h)	86.3

上表明顯顯示奈米過濾薄膜 DESAL 5 DL NF 可達到意外之 EGCG，同時達到欲過濾之飼入物流可接受之流速。

(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：濃縮兒茶素溶液之方法)

本發明係關於一種濃縮兒茶素(EGCG)水溶液之方法，該方法包括在壓力下將EGCG水溶液飼入至少一薄膜模件中，提供滲透洗滌物及駐留物回流，其中在後者使EGCG濃度增加；收集該滲透洗滌物及該駐留物回流；視情況使駐留物回流循環至薄膜中；及視情況濃縮駐留物回流及滲透洗滌物。

英文發明摘要 (發明之名稱："PROCESS FOR CONCENTRATING CATECHIN SOLUTIONS")

Aqueous epigallocatechin gallate (EGCG) solutions are concentrated by a process comprising feeding an aqueous EGCG solution to at least one membrane module under pressure to provide a permeate purge and a retentate return wherein in the latter the concentration of EGCG is increased; collecting said permeate purge and said retentate return; optionally recycling the retentate return back to the membrane; and optionally concentrating the retentate return and the permeate purge.

六、申請專利範圍

1. 一種濃縮兒茶素(EGCG)水溶液之方法，該方法包括：
 - a) 在壓力約 5 巴至約 100 巴下，將溶解之固成分約 0.03 wt% 至約 10 wt% 之 EGCG 水溶液飼入至少一薄膜模件中，得到滲透洗滌物及駐留物回流，其中 EGCG 之濃度在駐留物回流中相對於飼入物溶液中之濃度會增加，且因此薄膜之特徵為 EGCG 駐留係數超過 90%；
 - b) 收集該滲透洗滌物；
 - c) 收集該駐留物回流；
 - d) 視情況使駐留物回流循環至薄膜；
 - e) 視情況濃縮步驟(c)及/或(d)之駐留物回流；
 - f) 視情況濃縮步驟(b)之滲透洗滌物。
2. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中薄膜模件為具有 EGCG 駐留係數超過 90%、滲透物流速超過 5 升/m²h，視情況添加之有機溶劑及可能存在之任一種雜質之駐留係數低於 50% 之薄膜之螺旋捲繞薄膜元件。
3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之方法，其中薄膜之壓力範圍自約 10 巴至約 100 巴。
4. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之方法，其中薄膜之壓力範圍自約 20 巴至約 35 巴。
5. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之方法，其中該方法係在約 10℃ 至約 60℃ 之溫度下操作。
6. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之方法，其中 EGCG 水溶液為 EGCG 在水及視情況之有機溶劑混合物中之溶

六、申請專利範圍

液。

7. 如申請專利範圍第 6 項之方法，其中之混合物包括約 70 體積%至約 100 體積%，較好約 90 體積%之水，及約 0 體積%至約 35 體積%，較好約 10 體積%之有機溶劑。
8. 如申請專利範圍第 6 項之方法，其中之有機溶劑為甲醇、乙醇、異丙醇或丙酮。

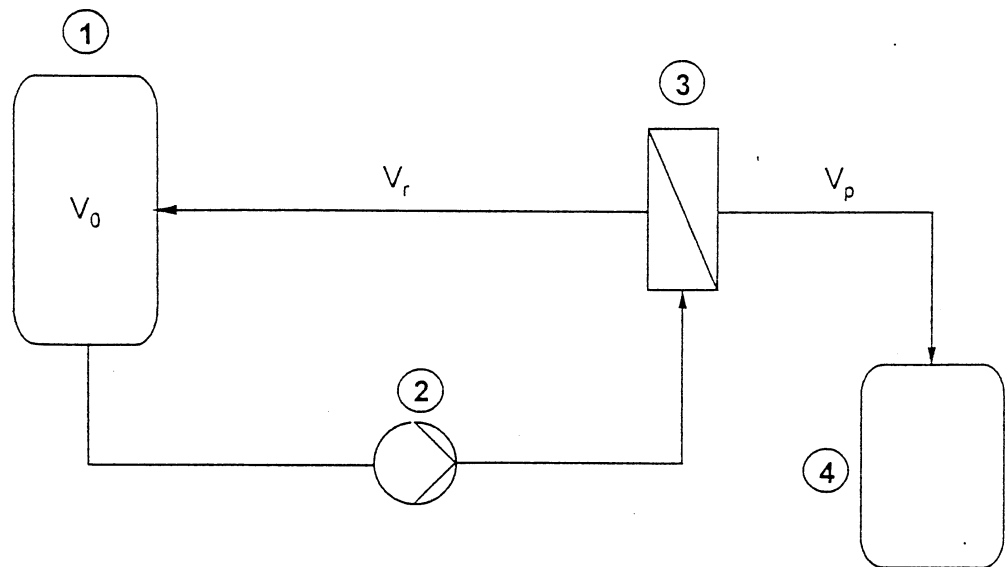
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

公告本



V_0 飼入物及 / 或濃縮溶液

V_p 滲透洗滌物

V_r 駐留物回流

① 濃縮物及 / 或飼入物溶液之儲槽

② 泵浦

③ 薄膜模件

④ 滲透物槽