

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>7</sup>

C07D311/36

[12] 发明专利申请公开说明书

C07D311/40 C07H 1/08

C07H 17/06 C07K 1/14

C07K 14/415

[21] 申请号 00118053.3

[43]公开日 2001 年 11 月 14 日

[11]公开号 CN 1321640A

[22]申请日 2000.4.30 [21]申请号 00118053.3

[71]申请人 蛋白质技术国际公司

地址 美国密苏里

[72]发明人 G·A·贝茨 B·A·布瑞恩

[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 3 页 说明书 10 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 从植物原料中分离和回收蛋白质和异黄  
酮的方法

[57]摘要

一种从含蛋白质和异黄酮的植物材料中分离和收集  
异黄酮和蛋白质的改进 的方法。制备植物材料的澄清  
蛋白提取物,并且与极性离子交换树脂接触,让提取物  
中的异黄酮与极性离子交换树脂结合,并且去除异黄酮  
的提取物。从离子交换树脂中分离去除了异黄酮的蛋白  
质提取物,并且从去除了异黄酮 的提取物中回收去除了  
异黄酮的蛋白质原料。在从树脂中除去去除了异黄酮  
的提取物之后,从离子交换树脂中分离和回收异黄酮。  
回收的异黄酮配糖体 和异黄酮配糖体共轭物可以转变  
成其相应的糖苷配基异黄酮形式。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种从含蛋白质和异黄酮的植物材料中分离和回收异黄酮和植物蛋白的方法，该方法包括将含异黄酮的澄清植物蛋白提取物与极性离子交换树脂接触，让所述异黄酮与该离子交换树脂接触并结合，由此在蛋白质提取物中去除所说的异黄酮，从离子交换树脂中分离和回收去除了异黄酮的含蛋白质提取物，并且从所述离子交换树脂中分离和回收所述异黄酮。

2. 一种从含蛋白质和异黄酮的植物材料中分离和回收异黄酮和植物蛋白的方法，该方法包括：

制备含溶解植物蛋白和异黄酮的澄清蛋白质提取物，该提取物基本上不含不溶性蛋白原料；

将澄清蛋白质提取物与极性离子交换树脂接触；

让所述异黄酮与所述离子交换树脂结合，由此在所说的蛋白质提取物中去除所说的异黄酮；

从所述离子交换树脂中分离和回收所述去除了异黄酮的蛋白质提取物；  
并且

从所述离子交换树脂中分离和回收所述异黄酮。

3. 权利要求2的方法，其中所说的澄清蛋白质提取物的制备优选通过用pH大于所说蛋白质等电点的含水提取剂提取含蛋白质和异黄酮的植物材料，从而使所说的蛋白质和所说的异黄酮溶解到所说的提取剂中；之后将含溶解蛋白和异黄酮的液体提取剂与不溶性植物物质分离。

4. 权利要求3的方法，其中所说的植物材料选自大豆坯、大豆粉、大豆面、大豆粗粉、大豆或其混合物；所说的含水提取剂的pH为约6-约12；并且所说的澄清蛋白质提取物是大豆蛋白质提取物。

5. 权利要求1或2的方法，还包括将所说去除了异黄酮的含蛋白质提取物的pH调整至约蛋白质等电点的步骤，由此使蛋白质沉淀。

6. 权利要求5的方法，其中所说的蛋白质是大豆蛋白，并且pH值调整至约4-约5来沉淀蛋白质。

7. 权利要求5的方法，其中从提取物的液体部分分离沉淀的蛋白质。

8. 权利要求7的方法，其中将从提取物液体部分分离的沉淀蛋白质中和。

9. 权利要求7的方法，其中将从提取物液体部分分离的沉淀蛋白质干燥。

10. 权利要求1或2的方法，其中极性离子交换树脂是阴离子交换树脂。

11. 权利要求10的方法，其中阴离子交换树脂是选自弱碱和强碱阴离子交换树脂的II型大孔阴离子交换树脂。

12. 权利要求1或2的方法，其中，在将澄清的蛋白质提取物与离子交换树脂接触之前，通过将树脂置于将树脂转变成氢氧化物形式的试剂中，用将氢氧化物形式的树脂转变成氯化物形式或硫酸盐形式的试剂处理氢氧化物形式的树脂，并且用将树脂的至少一些强碱部位转变成碳酸盐形式的试剂处理氯化物或硫酸盐形式的树脂，来调节离子交换树脂。

13. 权利要求1或2的方法，其中所说的异黄酮包括选自染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素、生原禅宁A、芒柄花黄素、及其天然配糖体和配糖体共轭物的至少一种异黄酮化合物。

14. 权利要求1或2的方法，其中在从所说的离子交换树脂中分离和收集所说的去除了异黄酮的含蛋白提取物之后，从所说的离子交换树脂中分离和收集所说的异黄酮。

15. 权利要求14的方法，其中从所说的离子交换树脂中分离所说的异黄酮是通过用溶剂从所说的树脂中洗出所说的异黄酮，所说的溶剂选自甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、异丁醇、丁醇、乙酸乙酯、乙腈、丙酮、二氯甲烷、氯仿、四氯化碳或其混合物。

16. 权利要求1或2的方法，还包括在有效将异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体的温度和pH下处理所说的分离异黄酮一段时间。

17. 权利要求1或2的方法，还包括在有效将异黄酮配糖体转变成糖苷配基异黄酮的温度和pH下将所说的分离异黄酮与 $\beta$ 葡萄糖苷酶接触一段时间。

18. 权利要求1或2的方法，其中在所说的去除了异黄酮的含蛋白质提取物中从所说的离子交换树脂分离和回收所说澄清植物蛋白提取物中的至少大部分所说蛋白质。

19. 权利要求18的方法，其中在所说的去除了异黄酮的含蛋白质提取物中从所说的离子交换树脂分离和回收所说澄清植物蛋白提取物中的基本上所有所说的蛋白质。

20. 权利要求1或2的方法，其中从所说的离子交换树脂中分离和回收所说

澄清植物蛋白提取物中的至少大部分所说的异黄酮。

21. 权利要求20的方法，其中从所说的离子交换树脂中分离和回收所说澄清植物蛋白提取物中的基本上所有的所说异黄酮。

## 说 明 书

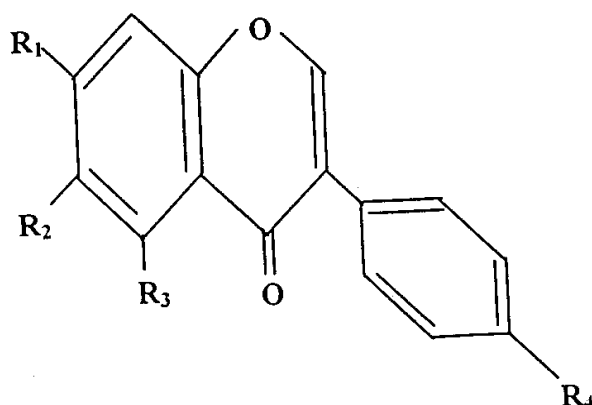
从植物原料中分离和回收  
蛋白质和异黄酮的方法

本发明涉及从含蛋白质和异黄酮的植物原料中分离和回收蛋白质和异黄酮的方法，更具体说，本发明涉及使用离子交换从植物原料中分离和回收蛋白质和异黄酮的方法。

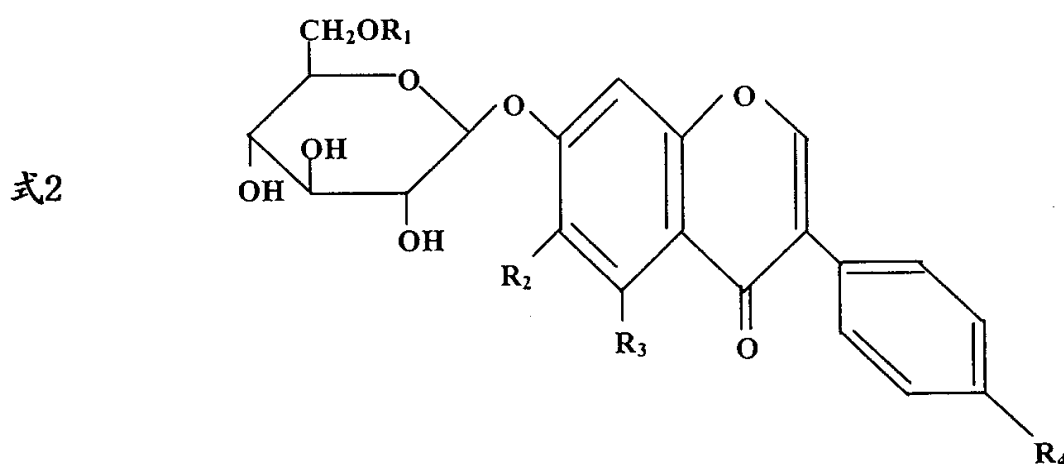
植物蛋白提供了世界范围的重要营养源。例如，大豆是动物和人类的极好营养来源。大豆蛋白可从大豆中工业化提取，得到的蛋白质便宜、高营养源。分离出的大豆蛋白因其营养价值以及蛋白质提供给食品或饮料的功能特性可用于很多饮食用途中。使用大豆蛋白的一些常见食品包括肉馅、乳化肉和腌泡肉；饮料，如营养饮料、运动饮料、强化蛋白饮料、果汁、乳、乳代用品和减肥饮料；干酪，如硬质干酪和软质干酪、乳脂干酪和酪农干酪；冷冻甜点，如冰淇淋、冰乳、低脂肪冷冻甜点和非乳冷冻甜点；酸奶；汤；布丁；焙烤制品；色拉调料；以及调味汁和涂抹料，如蛋黄酱和酸饮料（chipdip）。

某些植物如大豆、豌豆、菜豆和其它豆类中含有异黄酮和蛋白质。异黄酮是植物雌激素化合物，据发现其可提供人类各种保健作用。例如，大豆中存在的异黄酮是染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素(glycitein)、芒柄花黄素(见式1)，和其天然配糖体和配糖体共轭物(见式2)。这里所说的“Mal”为“丙二酰”且“Ac”为“乙酰”。在除大豆外的植物中发现的另一种生物活性异黄酮是生原禅宁A(见式1)。

式1



| 化合物   | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub>   | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub>   |
|-------|----------------|------------------|----------------|------------------|
| 染料木黄酮 | OH             | H                | OH             | OH               |
| 黄豆苷原  | OH             | H                | H              | OH               |
| 黄豆黄素  | OH             | OCH <sub>3</sub> | H              | OH               |
| 生原禅宁A | OH             | H                | OH             | OCH <sub>3</sub> |
| 芒柄花黄素 | OH             | H                | H              | OCH <sub>3</sub> |



| 化合物                 | R <sub>1</sub>                      | R <sub>2</sub>   | R <sub>3</sub> | R <sub>4</sub> |
|---------------------|-------------------------------------|------------------|----------------|----------------|
| 染料木苷                | H                                   | H                | OH             | OH             |
| 6'-OMal 染料木苷        | COCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H | H                | OH             | OH             |
| 6'-OAc 染料木苷         | COCH <sub>3</sub>                   | H                | OH             | OH             |
| 黄豆苷                 | H                                   | H                | H              | OH             |
| 6'-OMal 黄豆苷         | COCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H | H                | H              | OH             |
| 6'-OAc 黄豆苷          | COCH <sub>3</sub>                   | H                | H              | OH             |
| 大豆异黄酮<br>(glycitin) | H                                   | OCH <sub>3</sub> | H              | OH             |
| 6'-OMal大豆异黄酮        | COCH <sub>3</sub>                   | OCH <sub>3</sub> | H              | OH             |

和异黄酮有关的保健作用有很多, 并且仍在继续发现中。例如, 一些异黄酮据发现可抑制乳腺癌和前列腺癌的发育, 并且可减少乳腺癌和前列腺癌细胞的编程性死亡。从大豆中提取的异黄酮还据发现可抑制动脉粥样硬化的



缩洗脱液，来从树脂中分离黄烷酮类化合物。

使用'876专利的方法，由于异黄酮的性质和本方法所用树脂和洗脱剂，异黄酮和碳水化合物/蛋白质没有彻底分开。如式1和2所示，异黄酮是具相对极性的化合物，特别是其天然配糖体或配糖体共轭物的形式。因其极性，异黄酮微弱地吸附到非极性或弱极性树脂上。在含水环境中，蛋白质和碳水化合物也是具相对极性的化合物，其与树脂的结合性不很强。因此，异黄酮、碳水化合物和蛋白质与树脂的吸附，其本身并不能有效达到用溶剂洗脱树脂时化合物的良好分离，因为化合物容易从树脂中置换出来，并且它们与树脂的相互作用彼此没有特别的差异。

由于异黄酮在洗脱剂中有相对的溶解性，'876专利的方法可将一些异黄酮与蛋白质和碳水化合物分离。例如，如果最初使用的洗脱剂是水，提取物是大豆的提取物（其中包含异黄酮染料木黄酮和黄豆苷），则染料木黄酮会随蛋白质和碳水化合物少量地洗脱出来，因为染料木黄酮仅微溶于水，而黄豆苷会随蛋白质和碳水化合物洗脱出来，因为黄豆苷可溶于水。

因此，现在所需要的是一种从含异黄酮和蛋白质的植物材料中彻底分离和回收蛋白质和异黄酮的有效的、工业上可行的方法。

本发明提供一种从植物材料中分离和收集异黄酮和蛋白质的改进的方法，该方法可有效和经济地以工业规模进行。该方法涉及分离和收集异黄酮和植物蛋白，通过将含异黄酮和蛋白质的澄清的植物蛋白提取物与极性离子交换树脂接触；让异黄酮与极性离子交换树脂结合；从离子交换树脂中分离和回收去除了异黄酮的蛋白质提取物；并且从离子交换树脂中分离和回收异黄酮。在优选的实施方案中，分离和回收的异黄酮被转变成其糖苷配基形式。

本发明的一个重要特点是通过将澄清的植物蛋白提取物与极性离子交换树脂接触来从植物蛋白中分离异黄酮，而不是与非极性或弱极性的树脂接触。使用极性离子交换树脂大大有助于彻底分离和收集蛋白质和异黄酮，因为异黄酮因其极性而稳固吸附在极性树脂上，并且当提取物通过树脂洗脱时很好地与蛋白质区分开。

本发明的另一个重要特点在于同时收集到去除异黄酮的蛋白质原料和异

黄酮，而不仅仅是其中一种物质。本发明使用澄清的蛋白质提取物作为要与极性离子交换树脂接触的底物。澄清的蛋白提取物，与含异黄酮和蛋白质的植物材料醇提取物不同，同时含有大量的蛋白质和异黄酮。由于可以同时分离和回收植物材料中的两种所需的物质，本发明的方法可以取得明显的经济效益。

本发明方法所用的澄清植物蛋白提取物的制备可以通过用pH大于蛋白质等电点的含水提取剂提取含蛋白和异黄酮的植物材料来制备，从而使蛋白质和异黄酮溶解到提取剂中。然后，将含溶解异黄酮和蛋白质的液体提取剂与不溶于提取剂的植物物质（如木酚素、纤维素、植物纤维和不溶性半纤维素）分离，形成澄清的提取物。优选，通过过滤或通过离心并且从不溶物中倾析上清提取物来将澄清的提取物与不溶植物物质分离。所得的澄清蛋白提取物中含有来自植物材料的可溶蛋白质、和至少一种选自染料木黄酮、黄豆苷原、黄豆黄素、生原禅宁A、芒柄花黄素、及其天然配糖体和配糖体共轭物的异黄酮化合物，并且基本上不含不溶性蛋白质物质。这里所说的异黄酮配糖体是指包括葡萄糖部分的化合物，其中所说的葡萄糖部分与糖苷配基异黄酮部分共价键合，并且异黄酮配糖体共轭物是指异黄酮配糖体酯，并且包括化合物6''-O-Mal染料木苷、6''-O-Ac染料木苷、6''-O-Mal黄豆苷、6''-O-Ac黄豆苷和6''-O-Mal大豆异黄酮。

可用于形成澄清提取物的含蛋白质和异黄酮的植物材料包括但不限于以下植物原料的一种或几种：大豆、鹰嘴豆、落花生、marama豆、刀豆、洋刀豆（jack bean）、海滨刀豆、carao豆、簇豆（cluster）、眉豆、草豆（grass pea）、四季豆、金可豆（djenko bean）、四棱豆（goa bean）、豆薯、蚕豆、earth pea、小扁豆、跳豆（jumping bean）、绒毛豆（velvet bean）、非洲角豆、其它豆类，以及这些植物原料的衍生物，包括脱脂大豆坯、大豆粉、大豆面。首选的植物原料是大豆原料或大豆的衍生物，首选的可商购获得的是脱脂大豆坯，因为大豆中存在高含量的蛋白质和异黄酮。

在一个首选的实施方案中，制备用于本发明方法的澄清大豆蛋白提取物。使用可商购获得的大豆粉、大豆面、大豆粗粉或脱脂大豆坯作为起始原料。优选，大豆原料经过亚硫酸盐如亚硫酸钠处理过，以便具有改进的流动性和改进的微生物控制性。用pH为约6-约12的水溶液提取大豆原料，优选pH

为约8-约11的氢氧化钠水溶液。提取剂与大豆原料的重量比为约3:1至约20:1, 优选约8:1至约16:1。优选通过过滤、或者通过离心和从不溶物质中倾析提取物, 从不溶大豆原料中分离澄清大豆蛋白提取物。

根据本发明的方法, 将澄清的蛋白提取物与极性离子交换树脂接触, 以便让提取物中的异黄酮与树脂结合。优选, 将树脂装入具有入口端和出口端的柱中, 其中通过从柱的入口端将提取物填充到树脂上来使提取物与树脂接触, 并且在柱的出口端从树脂中收集洗脱的提取物。

优选, 本方法使用阴离子交换树脂, 首选II型大孔强碱阴离子交换树脂, 也可以使用弱碱阴离子交换树脂。这里所说的II型强碱阴离子交换树脂定义为季铵型树脂, 其中氮原子上的四个取代基为乙醇基、两个甲基和聚合苄基。可商购获得的II型强碱阴离子交换树脂包括Rohm& Haas的IRA 910, Independence Mall West, Philadelphia, PA 19105; Dow化学公司U.S.A.的Dowex 22, 2040 Willard H. Dow Center, Midland MI 48674; 和Sybron的Ionac A651, Sybron化学部, Birmingham Road, Birmingham, NJ 08011。可用于本发明方法的可商购获得的弱碱阴离子交换树脂是Rohm& Haas的Duolite A-7。

调节极性阴离子交换树脂的适宜方法见U.S. 专利5, 248, 804, 该专利引入作为参考。调节阴离子交换树脂的优选技术是将树脂暴露于可剥离树脂表面残余物并将树脂转变成氢氧化物形式的试剂中, 之后将树脂暴露于可将树脂转变成氯化物形式或硫酸盐形式的试剂中, 之后将树脂暴露于可将至少一些强碱部位转变成碳酸盐形式和将弱碱部位转变成游离碱形式的试剂中。剥离树脂表面残余物并将树脂转变成氢氧化物形式的适宜试剂是氢氧化钠溶液。将树脂转变成氯化物形式的适宜试剂是盐酸, 优选1%盐酸溶液, 并且将树脂转变成硫酸盐形式的适宜试剂是硫酸, 优选1%硫酸溶液。将至少一些强碱部位转变成碳酸盐形式和将弱碱部位转变成游离碱形式的适宜试剂的实例包括碳酸钠、碳酸氢钠和氢氧化铵。

在澄清蛋白提取物与离子交换树脂接触以便让异黄酮与树脂结合之后, 从离子交换树脂中分离和收集去除异黄酮的蛋白提取物, 优选通过用调整至提取物pH的水溶液洗脱树脂, 并且收集洗脱液。在一个优选的实施方案中, 澄清提取物中至少大部分的蛋白质原料被收集在洗脱液中, 成为去除异黄酮

的蛋白提取物。首选，澄清提取物中基本上所有的蛋白质原料被收集在洗脱液中，作为去除了异黄酮的蛋白质提取物，这里“基本上所有”定义为至少80%，更优选至少90%。如果需要，可以通过将提取物喷雾干燥，从提取物中回收去除异黄酮的蛋白原料。

在一个优选的实施方案中，可以由从离子交换树脂分离和回收的、含去除异黄酮的蛋白质的提取物中沉淀去除异黄酮的蛋白原料。将提取物pH调整至约蛋白质的等电点，以便沉淀蛋白质。如果提取物中的蛋白质是大豆蛋白，则可以将提取物调整至pH为约4-约5来沉淀蛋白质。然后，可以通过将含沉淀蛋白的提取物的pH调整至约7，来中和沉淀的蛋白质。然后，沉淀的蛋白质，无论中和过与否，通过常规方式从提取物的液体部分中分离出来，优选通过过滤，或者通过离心并从蛋白质沉淀中倾析掉提取物的液体部分。然后通过常规方式将分离的去除异黄酮的蛋白原料干燥，优选通过喷雾干燥。

在从离子交换树脂中分离含去除异黄酮的蛋白质的提取物之后，从树脂中分离和收集异黄酮，优选通过用溶剂洗脱树脂，所说的溶剂选自甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、异丁醇、丁醇、乙酸乙酯、乙腈、丙酮、上述溶剂的含水混合物、二氯甲烷、氯仿、四氯化碳、或上述溶剂的任意混合物，并且收集含异黄酮的洗脱液。在一个优选的实施方案中，在含异黄酮的洗脱液中从离子交换树脂收集到澄清蛋白提取物中的至少大部分的异黄酮，并且更优选在含异黄酮的洗脱液中收集到澄清蛋白提取物中的基本上所有的异黄酮，这里“基本上所有”定义为至少80%、更优选至少90%。

通过浓缩含异黄酮的洗脱液，可以从由树脂分离的含异黄酮的洗脱液中回收异黄酮。在一个实施方案中，将含异黄酮的洗脱液真空浓缩、加热或者同时真空和加热进行浓缩，以除去溶剂，得到浓缩的异黄酮剩余物。在另一个实施方案中，将洗脱液真空浓缩、加热或者同时进行真空和加热浓缩至原体积的约10-25%。然后向浓缩的洗脱液添加至少等体积的水，优选冷却至约2-约15℃的水，以便沉淀异黄酮。然后，可以通过过滤或离心从洗脱液/水混合物中回收沉淀的异黄酮。

在一个首选的实施方案中，对含收集的异黄酮的洗脱液中的异黄酮进行处理，以便洗脱液中基本上所有的异黄酮是糖苷配基异黄酮。据发现，糖苷配基异黄酮比其天然配糖体或配糖体共轭物形式在保健效果中明显更具生物

活性，因此，回收其糖苷配基形式的异黄酮是可取的。糖苷配基异黄酮还比其配糖体或配糖体共轭物形式较不溶于水，因此糖苷配基异黄酮可以更容易从含异黄酮的洗脱液中分离。

通过在可有效产生转变的温度和pH下将含异黄酮的洗脱液处理一段时间，可以将含异黄酮洗脱液中的异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体。用于含异黄酮洗脱液中异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体的pH范围是约6至约13.5。应当将含异黄酮洗脱液的pH调整至所需的pH值，如果必要，用适宜的碱性或酸性试剂来调整。据发现，异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体是碱催化的，所以首选使用高pH来达到快速转变。用于异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体的首选pH值是约9-约11。

用于含异黄酮洗脱液中异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体的温度范围是约2至约121℃。转变容易发生的温度范围取决于含异黄酮洗脱液的pH。当含异黄酮的洗脱液pH相对高时转变在较低温度下发生。例如，在pH约11时温度为约5-约50℃下转变快速而有效地发生。在pH约9时，转变在约45-约75℃的温度范围内容易发生。当含异黄酮的洗脱液pH相对低时转变在较高温度下发生。例如，在pH约6时发生转变的温度范围为约80-约121℃。在一个首选的实施方案中，在pH约11且温度约35℃下进行转变。

异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体所需要的时间期限主要取决于进行转变所用的pH和温度范围。转变时间为约15分钟至数小时或更长。转变在较高pH和在较高温度下较快发生。在一个最优的实施方案中，在pH约11且温度约35下于约30分钟至约1小时，基本上所有的异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体。

通过选定的温度和pH下用β-葡萄糖苷酶与含异黄酮洗脱液中的异黄酮配糖体接触一段时间，可以将含异黄酮洗脱液中的异黄酮配糖体转变成其相应的糖苷配基异黄酮，优选在异黄酮配糖体共轭物转变成异黄酮配糖体之后，其中β-葡萄糖苷酶可有效分解1,4-糖苷键。这种酶可以得自例如黑曲霉、米曲霉、乳酸克鲁维酵母、和脆壁克鲁维酵母。有效用于异黄酮配糖体转变成糖苷配基异黄酮的特别优选的可商购酶是：Biopectinase 100L(优选在pH约3-约6下使用)、Biopectinase 300L(最佳pH约3-约6)、Biopectinase OK 70L(最佳pH约3-约6)、Biolactase 30,000(最佳pH约3-约6)和Neutral

Lactase (最佳pH约6-约8), 所有均购自Quest International, 1833 57th Street, Post Office Box 3917, Sarasota, Florida 34243. 还特别优选 Lactase F(优选使用pH约4-约6)、和Lactase 50,000 (最佳pH约4-约6), 两者购自Amano International Enzyme Co., Inc., Post Office Box 1000, Troy, Virginia 22974. 其它特别优选的酶包括Lactozyme 3000L (优选使用pH约6-约8)、 $\alpha$ -Gal 600L(优选使用pH约4-约6.5), 购自Novo Nordisk Bioindustrials Inc., 33 Turner Road, Danbury, Connecticut 06813; Maxilact L2000 (优选使用pH约4-约6), 购自Gist Brocades Food Ingredients Inc., King of Prussia, Pennsylvania, 19406; Neutral Lactase (优选使用pH约6-约8), 购自Pfizer Food Science Group, 205 East 42nd Street, New York, New York 10017; 以及Enzeco Fungal Lactase Concentrate (优选使用pH约4-约6), 购自Enzyme Development Corporation, 2 Penn Plaza, Suite 2439, New York, New York 10121. 可以使用某些葡糖淀粉酶来取代或者附加于前述的酶。能进行转变的可商购获得的葡糖淀粉酶是可购自Enzyme Development Corporation的G-Zyme G990(优选在pH约4-约6下使用)。优选, 向含异黄酮的洗脱液添加约0.1wt%-约10wt%的酶原料, 来进行转变。

用于含异黄酮洗脱液中异黄酮配糖体转变成糖苷配基异黄酮的pH范围是约3至9。所用的pH主要取决于所用酶的类型, 并且应当依此进行选择。一般来说, 酶在约6-8的中性pH范围内、或在约3-6的酸性pH范围内具活性。可以用常规的酸性或碱性试剂将含异黄酮洗脱液的pH调整至适合的pH范围。

用于异黄酮配糖体转变成糖苷配基异黄酮的温度范围是约5-约75℃。温度明显地影响着酶的活性, 因此影响转变速率, 较高温度增加转变的速率。酶可以在70℃以上具活性, 例如 $\alpha$ -Gal 600L在75℃下有活性, 然而优选在较低温度下进行转变, 优选约50-约65℃, 以避免酶的失活。

进行异黄酮配糖体转变成糖苷配基异黄酮所需要的时间取决于酶有关的因素, 具体说是酶活性和浓度, 以及系统的温度和pH。优选, 在5小时内基本上所有的异黄酮配糖体转变成糖苷配基异黄酮, 更优选约1-2小时。

所得的糖苷配基异黄酮可以如上所述从含异黄酮的洗脱液中分离。用冷却水更容易从含浓缩异黄酮的洗脱液中分离糖苷配基异黄酮, 因为糖苷配基

异黄酮较相应的异黄酮配糖体共轭物或异黄酮配糖体不易溶于水。

在不背离本发明的实质和范围的前提下，本领域技术人员可以显而易见地作出如这里所述本发明优选实施方案的各种改变，本发明的范围将由以下权利要求书定义。