(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 34 042 T2** 2006.06.14

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 812 837 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 34 042.2**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 304 076.9**
(96) Europäischer Anmeldetag: **11.06.1997**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **17.12.1997**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **24.08.2005**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **14.06.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***C07D 311/40*** (2006.01)
C07D 311/36 (2006.01)
C07H 17/07 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
661845 **11.06.1996** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Archer Daniels Midland Co., Decatur, Ill., US

(74) Vertreter:
derzeit kein Vertreter bestellt

(72) Erfinder:
Waggle, Doyle H., Kirkwood, Missouri 63122, US;
Bryan, Barbara A., University City, Missouri 63130, US

(54) Bezeichnung: **Gewinnung von Isoflavonen aus Sojamelasse**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zum Gewinnen von Isoflavonen aus Sojamelasse. Darüber hinaus betrifft die Erfindung die resultierenden Produkte, welche Isoflavone enthalten.

[0002] Isoflavone treten in einer Vielzahl von Leguminosen auf und einschließlich in pflanzlichen Proteinsubstanzen, wie beispielsweise Sojabohnen. Diese Verbindungen schließen ein: Daidzin, 6''-OAc-Daidzin, 6''-OMal-Daidzin, Daidzein, Genistin, 6''-OAc-Genistin, 6''-OMal-Genistin, Genistein, Glycitin, 6''-OAc-Glycitin, 6''-OMal-Glycitin, Glycitein, Biochanin A, Formononentin und Cumestrol. Diese Verbindungen stehen typischerweise im Zusammenhang mit dem Bittergeschmack von Sojabohnen, der ihnen innewohnt.

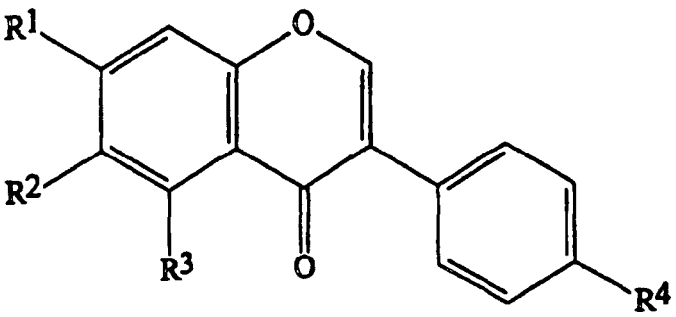
[0003] Die Isoflavone in Sojabohnen-Materialien schließen Isoflavonglucoside ein (Glucone), Isoflavon-Konjugate und Aglucon-Isoflavone. Isoflavon-Glucoside haben ein Glucosemolekül, das an dem Isoflavon-Teil hängt. Isoflavon-Konjugate haben zusätzliche Teile, die an dem Glucosemolekül eines Isoflavon-Glucosid hängen, wie beispielsweise das 6''-OAc-Genistin, das eine Acetat-Gruppe enthält, die sich in 6-Stellung an dem Glucosemolekül des Genistins befindet. Aglucon-Isoflavone bestehen ausschließlich aus einem Isoflavon-Teil.

[0004] Soja enthält drei "Familien" von Isoflavonverbindungen, die über die entsprechenden Glucosid-, Konjugat- und Aglucon-Teile verfügen: die Genisteinfamilie, die Daidzeinfamilie und die Glyciteinfamilie. Die Genisteinfamilie schließt das Glucosid Genistin ein; die Konjugate 6''-OMal-Genistin (6''-Malonatester von Genistin) und 6''-OAc-Genistin (6''-Acetatester von Genistin); sowie das Aglucongenistein. Die Daidzeinfamilie schließt das Glucosid Daidzin ein; die Konjugate 6''-OMal-Daidzin und 6''-OAc-Daidzin; und das Aglucon-Daidzein. Die Glyciteinfamilie schließt das Glucosid Glycitin ein; das Konjugat 6''-OMal-Glycitin und das Aglucon-Glycitein.

[0005] Bei der Erzeugung kommerzieller Produkte, wie beispielsweise pflanzliche Proteinkonzentrate ist es hauptsächlich um die Entfernung dieser Materialien gegangen. Beispielsweise sind in einem konventionellen Prozess für die Erzeugung eines Sojaproteinkonzentrats, worin Sojaflocken mit einer wässrigen Säure oder einem wässrigen Alkohol zur Entfernung von wasserlöslichen Materialien aus den Sojaflocken extrahiert wurden, viele der Isoflavone in dem Extrakt solubilisiert. Der Extrakt von wasserlöslichen Materialien, einschließlich der Isoflavonen, ist Sojamelasse. Die Sojamelasse fällt bei der Erzeugung von Sojaproteinkonzentrat als Nebenprodukt an, das typischerweise weggeworfen wird. Sojamelasse ist daher eine billige und angestrebte Quelle für Isoflavone unter der Voraussetzung, dass die Isoflavone von der Sojamelasse abgetrennt werden können.

[0006] Man ist neuerdings zu der Erkenntnis gelangt, dass die in pflanzlichen Proteinsubstanzen, wie beispielsweise Sojabohnen, enthaltenen Isoflavone von medizinischer Bedeutung sind. Von speziellem Interesse sind die Aglucon-Isoflavone. Genistein und Daidzein können deutlich kardiovaskuläre Risikofaktoren herabsetzen. Siehe hierzu: "Plant and Mammalian Estrogen Effects on Plasma Lipids of Female Monkeys", Circulation, Bd. 90, S. 1259 (Oktober 1994). Man nimmt darüber hinaus an, dass Genistein und Daidzein die Symptome von Erkrankungen verringern, die durch verringerte oder veränderte Werte von endogenem Östrogen bei Frauen hervorgerufen werden, wie beispielsweise die Menopause oder das prämenstruale Syndrom. Darüber hinaus hat man neuerdings erkannt, dass Aglucon-Isoflavone das Wachstum menschlicher Krebszellen hemmen können, wie beispielsweise Brustkrebszellen und Prostatakrebszellen, wie in den folgenden Veröffentlichungen beschrieben wurde: "Genistein Inhibition of the Growth of Human Breast Cancer Cells, Independence from Estrogen Receptors and the Multi-Drug Resistance Gene" von Peterson und Barnes, Biochemical and Biophysical Research, Communications, Bd. 179, Nr. 1, S. 661–667, 30. August, 1991; "Genistein and Biochanin A Inhibit the Growth of Human Prostrate Cancer Cells but not Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Autophosphorylation" von Peterson und Barnes, The Prostate, Bd. 22, S. 335–345 (1993); und "Soybeans Inhibit Mammary Tumors in Models of Breast Cancer" von Barnes et al., in Mutagens and Carcinogens in the Diet, S. 239–253 (1990).

[0007] Die Aglucon-Isoflavone haben die folgende allgemeine Formel:



worin R^1, R^2, R^3 und R^4 aus der Gruppe ausgewählt sind, bestehend aus H, OH und OCH_3.

[0008] Genistein hat die vorstehende Formel, worin R^1 OH ist, R^2 ist H, R^3 ist OH und R^4 ist OH,
Daidzein hat die vorstehende Formel, worin R^1 OH ist, R^2 ist H, R^3 ist H und R^4 ist OH, und
Glycitein hat die vorstehende Formel, worin R^1 OH ist, R^2 ist OCH_3, R^3 ist H und R^4 ist OH.

[0009] Die vorliegende Erfindung richtet sich daher auf die Isoflavone und die Gewinnung eines an Isoflavon angereicherten Materials aus Sojamelasse. Ferner richtet sich die vorliegende Erfindung auf Isoflavon-Glucoside und Aglucon-Isoflavone sowie auf die Umwandlung von Isoflavonen von Sojamelasse zu Isoflavon-Glucosiden und Aglucon-Isoflavonen und auf die Gewinnung eines an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials und eines an Aglucon-Isoflavon angereicherten Materials aus Sojamelasse.

[0010] Ein allgemeines Verfahren zur Umwandlung von pflanzlichen Protein-Isoflavon-Konjugaten zu Aglucon-Isoflavonen ist bekannt und wird in der zur Zeit anhängigen US-Patentanmeldung mit Aktenzeichen SN 08/477 102, eingereicht am 7. Juni, 1995, von der der Rechtsnachfolger der vorliegenden Patentanmeldung der Inhaber ist.

[0011] Auf dem Fachgebiet der Umwandlung von Isoflavon-Glucosiden zu Aglucon-Isoflavonen sind andere Prozesse bekannt, wie sie beispielsweise beschrieben wurden in der Japanischen Patentanmeldung 258 669 von Obata, et al. Diese Prozesse sehen nicht die Gewinnung eines an Isoflavon angereicherten Materials aus Sojamelasse vor. Diese Prozesse gewähren auch keine Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden oder Aglucon-Isoflavonen. Darüber hinaus erreicht man mit diesen Prozessen lediglich einen mäßigen Umwandlungsgrad von Isoflavon-Glucosiden zu Aglucon-Isoflavonen, wobei sie einen erheblichen Zeitaufwand erfordern, um diesen mäßigen Umwandlungsgrad zu erreichen.

[0012] Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein an Isoflavon angereichertes Material bereitzustellen sowie ein Verfahren zur Herstellung desselben aus Sojamelasse.

[0013] Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Gewährung eines an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials und eines Verfahrens zum Herstellen desselben aus Sojamelasse.

[0014] Eine noch weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Gewährung eines an Aglucon-Isoflavon angereicherten Materials sowie eines Verfahrens zum Herstellen desselben aus Sojamelasse.

[0015] Die vorliegende Erfindung betrifft ein an Isoflavon angereichertes Material und ein Verfahren zur Gewinnung desselben aus Material von Sojamelasse, die Isoflavone enthalten. Das Verfahren umfasst die Bereitstellung eines Materials von Sojamelasse, das Isoflavone enthält, und die Abtrennung eines Pulpekuchens von dem Material der Sojamelasse bei einem pH-Wert und einer Temperatur, die ausreichend sind um zu bewirken, dass sich der überwiegende Teil der Isoflavone in dem Kuchen befindet, wobei der pH-Wert etwa 3,0 bis etwa 6,5 beträgt und die Temperatur während der Abtrennung etwa 0° bis etwa 10°C beträgt. Der Kuchen ist ein an Isoflavon angereichertes Material.

[0016] In einer der Ausführungsformen wird ein an Glucosid angereichertes Isoflavon-Material aus dem Kuchen von an Isoflavon angereichertem Material erzeugt. Es wird eine wässrige Aufschlämmung des an Isoflavon angereicherten Materials erzeugt. Die Aufschlämmung wird bei einer Temperatur von etwa 2° bis etwa 120°C und einem pH-Wert von etwa 6 bis etwa 13,5 für eine ausreichende Zeit behandelt, um Isoflavon-Konjugate in dem an Isoflavon angereicherten Material zu Isoflavon-Glucoside umzuwandeln. Sodann lässt sich ein an Isoflavon-Glucosid angereichertes Material aus der Aufschlämmung abtrennen.

[0017] In einer anderen Ausführungsform wird ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material aus dem Ku-

chen des an Isoflavon angereicherten Materials erzeugt. Es wird eine wässrige Aufschlämmung des an Isoflavon angereicherten Materials erzeugt. Die Aufschlämmung wird bei einer Temperatur von etwa 2° bis etwa 120°C und einem pH-Wert von etwa 6 bis etwa 13,5 für eine ausreichende Zeitdauer zur Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten in dem an Isoflavon angereicherten Material zu Isoflavon-Glucosiden behandelt. Es wird ein Enzym, das zur Aufspaltung von 1,4-Glucosid-Bindungen in der Lage ist, mit den Isoflavon-Glucosiden in der Aufschlämmung bei einer Temperatur von etwa 5° bis etwa 75°C und einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 9 für eine ausreichende Zeitdauer kontaktiert, um die Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen umzuwandeln. Aus der Aufschlämmung kann ein Kuchen von an Aglucon-Isoflavon angereichertem Material abgetrennt werden.

[0018] Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein an Isoflavon-Glucosid angereichertes Material und ein Verfahren zur Gewinnung desselben aus Sojamelasse. Die Sojamelasse wird bei einer Temperatur von etwa 2° bis etwa 120°C und einem pH-Wert zwischen etwa 6 und etwa 13,5 für eine ausreichende Zeitdauer behandelt, um die in der Sojamelasse enthaltenen Isoflavon-Konjugate in Isoflavon-Glucoside umzuwandeln. Es wird von dem Material der Sojamelasse ein Kuchen von an Isoflavon-Glucosid angereichertem Material bei einem pH-Wert und einer Temperatur abgetrennt, die ausreichend sind um zu bewirken, dass der überwiegende Teil der Isoflavon-Glucoside in dem Kuchen enthalten ist.

[0019] In einem anderen Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material sowie ein Verfahren zur Gewinnung desselben aus Sojamelasse. Die Sojamelasse wird bei einer Temperatur von etwa 2° bis etwa 120°C und einem pH-Wert zwischen etwa 6 und etwa 13,5 für eine ausreichende Zeitdauer behandelt, um die in der Sojamelasse enthaltenen Isoflavon-Konjugate in Isoflavon-Glucoside umzuwandeln. Es wird ein Enzym, das zur Aufspaltung von 1,4-Glucosid-Bindungen in der Lage ist, mit den Isoflavon-Glucosiden in dem Material der Sojamelasse bei einer Temperatur von etwa 5° bis etwa 75°C und einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 9 für eine ausreichende Zeitdauer kontaktiert, um die Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen umzuwandeln. Von dem Material der Sojamelasse wird ein Kuchen von an Aglucon-Isoflavon angereichertem Material bei einem pH-Wert und einer Temperatur abgetrennt, die ausreichend sind um zu bewirken, dass der überwiegende Teil der Aglucon-Isoflavone in dem Kuchen enthalten ist.

[0020] Das Ausgangsmaterial für die hierin beschriebenen Verfahren ist Sojamelasse. Die Sojamelasse ist ein Nebenprodukt zahlreicher kommerzieller Prozesse, bei denen Sojabohnen oder Sojabohnen-Derivate beteiligt sind, wie beispielsweise die Prozesse zur Erzeugung von Proteinextrakten, Proteinmolke und Proteinkonzentratprodukten. Dementsprechend wird Sojamelasse in großen Mengen erzeugt, in einem solchen Umfang, dass Sojamelasse ein verhältnismäßig billiger Grundstoff ist.

[0021] In der Regel handelt es sich bei Sojamelasse um die löslichen Sojaanteile, die aus unlöslichen Sojaanteilen durch Waschen mit Alkohol oder Säure entfernt wurden. Sojamelasse ist im typischen Fall eine wässrige Mischung, die etwa 50% oder mehr Feststoffe enthält, die (bezogen auf das Gesamtgewicht der Sojamelasse) 6% Protein aufweisen, etwa 3% Asche, etwa 5% Fett und etwa 36% Kohlenhydrate. Sojamelasse ist auf dem Fachgebiet auch bekannt als lösliche Bestandteile der Sojabohne. "Sojamelassen-Material" wird hierin als ein Begriff verwendet, der eine Zusammensetzung bezeichnet, die Sojamelasse und/oder Derivate von Sojamelasse enthält, wie beispielsweise ein an Isoflavon-Glucosid angereichertes Sojamelassen-Material und ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Sojamelassen-Material. Dementsprechend werden hierin diese Begriffe austauschbar verwendet.

[0022] In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Sojamelasse als Ausgangsmaterial von entfetteten Sojaflocken erzeugt, aus denen Öl durch Lösungsmittelextraktion in konventioneller Weise abgetrennt worden ist. Die entfetteten Sojaflocken werden mit Wasser extrahiert, das auf einen sauren pH-Wert eingestellt wurde, bevorzugt etwa pH 4 bis etwa pH 5, indem eine oder mehrere geeignete Säuren zugesetzt wurden, wie beispielsweise Essigsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salzsäure oder irgendein anderes geeignetes Reagens. Vorzugsweise beträgt das Gewichtsverhältnis des sauren Extraktionsmittels zu Sojaflocken etwa 16:1 bis etwa 20:1. Zur Verbesserung des Extraktionswirkungsgrades kann die Temperatur des Extraktionsmittels oberhalb Raumtemperatur gewählt werden und bevorzugt zwischen etwa 32° und etwa 55°C. Nach der Extraktion wird der Extrakt der Sojamelasse von den unlöslichen Bestandteilen der Sojabohne entfernt.

[0023] In einer anderen Ausführungsform werden entfettete Sojaflocken mit wässrigem Alkohol unter Erzeugung von Sojamelasse als Ausgangsmaterial extrahiert. Bevorzugt werden die Flocken mit etwa 80%igem wässrigem Ethanol in einem Gewichtsverhältnis von etwa 16:1 bis etwa 20:1 Extraktionsmittel zu Sojaflocken extrahiert. Die Temperatur des Alkohols als Extraktionsmittel kann über Raumtemperatur erhöht werden und vorzugsweise von etwa 32° bis etwa 55°C, um den Wirkungsgrad der Extraktion zu verbessern. Der Extrakt

der Sojamelasse wird sodann von den unlöslichen Sojastoffen abgetrennt, um die Sojamelasse als Ausgangsmaterial bereitzustellen.

[0024] Aus der Sojamelasse als Ausgangsmaterial kann ein an Isoflavon angereichertes Material gewonnen werden. Das Sojamelassen-Material kann mit Wasser bis zu einem Feststoffgehalt von etwa 6% bis etwa 13% verdünnt werden, wobei 13% am meisten bevorzugt sind. Die Verdünnung des Sojamelassen-Materials ist für das Verfahren keine Bedingung, wobei jedoch das Verdünnen des relativ dicken Materials der Sojamelasse die Verarbeitung des Materials erleichtert.

[0025] Das Material der Sojamelasse, das vorzugsweise verdünnt ist, wird bei einem pH-Wert und einer Temperatur behandelt, bei der der überwiegende Teil der Isoflavone von der Sojamelasse bei Ausführung des Trennverfahrens abgetrennt wird. Das Material der Sojamelasse wird bei einem pH-Wert von etwa 3,0 bis etwa 6,5 und einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C behandelt, um die Unlöslichkeit der Isoflavone in der Sojamelasse auf ein Maximum zu bringen. Die Isoflavone lassen sich jedoch von der Sojamelasse bei pH-Werten außerhalb des bevorzugten Bereichs und bei Temperaturen oberhalb von 35°C abtrennen, wobei diese Bedingungen weniger bevorzugt sind, da weniger Isoflavone von der Sojamelasse in dem Trennverfahren abgetrennt werden. Der pH-Wert der Sojamelasse lässt sich mit einem geeigneten konventionellen sauren oder basischen Reagens nach Erfordernis einstellen. Am meisten bevorzugt wird der pH-Wert der Sojamelasse auf etwa 4,5 eingestellt. Ebenfalls ist ein Abschrecken oder Kühlen der Sojamelasse auf eine Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C bevorzugt und am meisten bevorzugt auf eine Temperatur von etwa 4° bis etwa 7°C.

[0026] Das Sojamelassen-Material wird sodann einem Trennungsverfahren zur Abtrennung eines Kuchens von an Isoflavon angereichertem Material von dem Sojamelassen-Material unterworfen. Die Trennung wird ausgeführt, während das Material der Sojamelasse unter den bereits genannten Bedingungen von pH-Wert und Temperatur gehalten wird.

[0027] In einer der Ausführungsformen wird der Kuchen aus dem an Isoflavon angereicherten Material durch Zentrifugieren mit der Sojamelasse und Dekantieren des Überstandes von dem Kuchen abgetrennt. Das Zentrifugieren wird vorzugsweise bei etwa 3.000 bis etwa 10.000 U/min für näherungsweise 30 min bei etwa 0° bis etwa 10°C ausgeführt.

[0028] In einer anderen Ausführungsform kann der an Isoflavon angereicherte Kuchen von dem Material der Sojamelasse durch Filtration abgetrennt werden. Vorzugsweise wird die Filtration unter den vorgenannten Bedingungen von pH-Wert und Temperatur und am meisten bevorzugt bei einem pH-Wert von etwa 4,5 und einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C ausgeführt.

[0029] In einem anderen Aspekt der vorliegenden Erfindung kann ein Kuchen von an Isoflavon-Glucosid angereichertem Material aus Sojamelasse gewonnen werden. Entsprechend der vorstehend beschriebenen Weise wird eine Sojamelasse als Ausgangsmaterial erhalten. Obgleich es keine Voraussetzung ist, wird das Material der Sojamelasse bevorzugt bis zu einem Feststoffgehalt von etwa 6% bis etwa 13% und am meisten bevorzugt etwa 13% verdünnt, um die Verarbeitung des Materials zu erleichtern.

[0030] Danach wird ein Umwandlungsprozess der Sojamelasse ausgeführt, um die Isoflavon-Konjugate in der Sojamelasse zu Isoflavon-Glucosiden umzuwandeln. Ein wesentlicher Teil der Isoflavone in der Sojamelasse besteht aus Isoflavon-Konjugaten, weshalb die Umwandlung die Menge an Isoflavon-Glucosiden in dem Material der Sojamelasse wesentlich erhöht. Es ist festgestellt worden, dass die Umwandlung von dem pH-Wert und der Temperatur der Sojamelasse abhängig ist.

[0031] Der pH-Wert-Bereich für die Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden in Sojamelasse beträgt etwa 6 bis etwa 13,5. Der pH-Wert der Sojamelasse sollte auf den gewünschten pH-Wert nach Erfordernis mit einer geeigneten Base, einem alkalischen Mittel oder einem basischen Reagens eingestellt werden, wenn der pH-Wert erhöht werden soll, oder mit einer geeigneten Säure oder sauren Reagens, wenn der pH-Wert abgesenkt werden soll. Es ist festgestellt worden, dass die Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden basisch katalysiert wird, so dass am meisten bevorzugt ein hoher pH-Wert angewendet wird, um eine schnelle Umwandlung zu erzielen. Der für die Umwandlung der Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden am meisten bevorzugte pH-Wert ist ein pH-Wert von etwa 9 bis etwa 11.

[0032] Der Temperaturbereich für die Umwandlung der Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden in der Sojamelasse liegt bei etwa 2° bis etwa 120°C. Der Temperaturbereich, bei dem die Umwandlung mühelos erfolgt, hängt von dem pH-Wert des Materials der Sojamelasse ab. Die Erfinder haben festgestellt, dass die Um-

wandlung mühelos bei niedrigeren Temperaturen abläuft, wenn der pH-Wert relativ hoch ist. Beispielsweise läuft die Umwandlung bei einem pH-Wert von etwa 11 und in einem Temperaturbereich von etwa 5° bis etwa 50°C leicht und wirkungsvoll ab. Bei einem pH-Wert von etwa 9 läuft die Umwandlung wirkungsvoll innerhalb eines Temperaturbereichs von etwa 45° bis etwa 75°C ab. Wenn der pH-Wert der Sojamelasse verhältnismäßig niedrig ist, läuft die Umwandlung bei höheren Temperaturen ab. Beispielsweise läuft die Umwandlung bei einem pH-Wert von etwa 6 innerhalb eines Temperaturbereichs von etwa 80° bis 120°C ab. In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Umwandlung bei etwa 35°C und einem pH-Wert von etwa 11 herbeigeführt. In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird die Umwandlung bei einer Temperatur von etwa 73°C und einem pH-Wert von etwa 9 herbeigeführt.

[0033] Die für die Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden erforderliche Zeitdauer hängt hauptsächlich von dem pH-Wert und dem Temperaturbereich ab, die in der Sojamelasse verwendet werden. Die Zeiten für eine solche Umwandlung liegen im typischen Fall im Bereich von etwa 15 min bis zu mehreren Stunden oder länger. Die Umwandlung läuft bei einem höheren pH-Wert und einer höheren Temperatur rascher ab. Bei einem pH-Wert von etwa 9 ist die Umwandlung in etwa 4 Stunden bis etwa 6 Stunden bei 73°C weitgehend vollständig. In einer am meisten bevorzugten Ausführungsform werden die Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden in etwa 30 min bis etwa 1 Stunde und bevorzugt etwa 45 min bei einem pH-Wert von 11 und bei einer Temperatur von etwa 35°C umgewandelt.

[0034] Die Umwandlung der Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden ist bemerkenswert wirkungsvoll, wobei mindestens der überwiegende Teil und bevorzugt weitgehend die gesamten vorhandenen Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden umgewandelt werden. Der Begriff "der überwiegende Teil" bezieht sich auf einen Umwandlungsgrad von mindestens etwa 50%. Der Begriff "weitgehend das gesamte" bezieht sich auf einen Umwandlungsgrad von mindestens etwa 80% und am meisten bevorzugt mindestens etwa 90%.

[0035] Nach der Umwandlung der Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden kann von dem Material der Sojamelasse ein Kuchen von an Isoflavon-Glucosid angereichertem Material abgetrennt werden. Das Material der Sojamelasse wird bei einem pH-Wert und einer Temperatur behandelt, bei der der überwiegende Teil der Isoflavon-Glucoside von dem Material der Sojamelasse in einem Trennverfahren abgetrennt wird. In einer bevorzugten Ausführungsform wird das Material der Sojamelasse bei einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 6,5 und am meisten bevorzugt etwa 4,5 und bei einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C und am meisten bevorzugt etwa 4° bis etwa 7°C während des Trennverfahrens gehalten. Der pH-Wert des Materials der Sojamelasse kann nach Erfordernis mit einem geeigneten konventionellen sauren oder basischen Reagens eingestellt werden.

[0036] Die Abtrennung kann mit Hilfe konventioneller Maßnahmen zum Abtrennen von Feststoffen von einer Flüssigkeit vorgenommen werden. Der an Isoflavon-Glucosid angereicherte Kuchen wird bevorzugt durch Zentrifugieren oder Filtration entsprechend der vorstehenden Beschreibung im Zusammenhang mit dem Abtrennen eines an Isoflavon angereicherten Kuchens von einem Material der Sojamelasse abgetrennt.

[0037] In einem noch anderen Aspekt der Erfindung kann ein Kuchen von an Aglucon-Isoflavon angereichertem Material aus Sojamelasse gewonnen werden. Eine Sojamelasse als Ausgangsmaterial wird entsprechend der vorstehend beschriebenen Weise erhalten und vorzugsweise mit Wasser bis zu einem Feststoffgehalt von etwa 6% bis etwa 13% verdünnt. Die Sojamelasse als Ausgangsmaterial wird entsprechend der vorstehend beschriebenen Weise zur Umwandlung der Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden behandelt.

[0038] Anschließend wird an dem an Isoflavon-Glucosid angereicherten Material der Sojamelasse ein enzymatischer Umwandlungsschritt ausgeführt, indem ein geeignetes Enzym mit Isoflavon-Glucosiden in dem Material der Sojamelasse bei einem geeigneten pH-Wert und Temperatur zur Umwandlung der Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen kontaktiert. Der zweistufige Umwandlungsschritt wandelt weitgehend die gesamten Isoflavon-Konjugate und Isoflavon-Glucoside in dem Material der Sojamelasse zu Aglucon-Isoflavonen wirksam um und erhöht die Menge an Aglucon-Isoflavonen in dem Material der Sojamelasse wesentlich.

[0039] Es ist festgestellt worden, dass die Umwandlung von Isoflavon-Glucosiden zu Aglucon-Isoflavonen von einer Vielzahl von Faktoren abhängig ist, einschließlich von dem Typ des Enzyms, das in dem Material der Sojamelasse vorliegt, von der Verteilung der Enzymkonzentration, von den Aktivitäten der Enzyme und von dem pH-Wert und der Temperatur des Materials der Sojamelasse während der Umwandlung. Die Enzyme, die zur Herbeiführung der Umwandlung benötigt werden, sind Enzyme, die zur Aufspaltung der glucosidischen Bindung zwischen dem Isoflavon-Teil und dem Glucosemolekül der Isoflavon-Glucoside in der Lage ist. In einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den Enzymen um Saccharase-, Esterase- oder Glucoamy-

lase-Enzyme, die zum Aufspalten von 1,4-Glucosid-Bindungen in der Lage sind. Die Enzyme können von sich aus in dem Material der Sojamelasse vorhanden sein oder können kommerziell verfügbare Enzyme sein, die dem Material der Sojamelasse zugesetzt werden. Von Natur aus vorhandene Enzyme werden hierin als "restliche" Enzyme bezeichnet, während die Enzyme, die der Sojamelasse zugesetzt werden, hierin bezeichnet werden als "ergänzende" Enzyme.

[0040] In dem Material der Sojamelasse sollte ausreichend Enzym vorhanden sein, um mindestens den überwiegenden Teil und bevorzugt weitgehend die gesamten Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen umzuwandeln. In der Regel müssen, wenn die restlichen Enzyme in dem Material der Sojamelasse unzureichend sind, um eine Umwandlung herbeizuführen, ergänzende Enzyme dem Material der Sojamelasse zugegeben werden. In einer bevorzugten Ausführungsform werden ergänzende Enzyme dem Material der Sojamelasse unabhängig davon zugesetzt, ob ausreichend restliche Enzyme in dem Material der Sojamelasse vorhanden sind, da die Zugabe von ergänzenden Enzymen die für das Herbeiführen einer weitgehend vollständigen Umwandlung der Glucoside zu Agluconen erforderliche Zeit drastisch herabgesetzt wird. Sofern ergänzende Enzyme zugesetzt werden, sollten die ergänzenden Enzyme so zugesetzt werden, dass die Gesamtkonzentration des vorhandenen Enzyms etwa 0,1 bis etwa 10 Gew.% der Feststoffe in dem Material der Sojamelasse auf Trockenbasis beträgt.

[0041] Ergänzende Enzyme werden auf der Grundlage eines Optimums an Wirksamkeit bei den ausgewählten Bedingungen von pH-Wert und Temperatur sowie auf der Grundlage der Kostenwirksamkeit ausgewählt. Die ergänzenden Enzyme sind Enzyme, die zum Aufspalten der Bindung zwischen dem Isoflavon-Teil und dem Glucosemolekül der Isoflavon-Glucoside in der Lage sind, wie beispielsweise Saccharase-, Esterase- und Glucoamylase-Enzyme, die zum Aufspalten den 1,4-Glucosid-Bindungen in der Lage sind. Bevorzugte ergänzende Enzyme sind kommerziell verfügbare α- und β-Glucosidase-Enzyme, β-Galactosidase-Enzyme, Glucoamylase-Enzyme und Pectinase-Enzyme. Besonders bevorzugt sind Enzyme, wie beispielsweise Biopectinase 100L (das bevorzugt in einem pH-Wert-Bereich von etwa 3 bis etwa 6 eingesetzt wird), Biopectinase 300L (optimaler pH-Wert-Bereich von etwa 3 bis etwa 6), Biopectinase OK 70L (optinaler pH-Wert-Bereich von etwa 3 bis etwa 6), Biolactase 30.000 (optimaler pH-Wert-Bereich von etwa 3 bis etwa 6), Neutral Lactase (optimaler pH-Wert-Bereich von etwa 6 bis etwa 8), die alle bei Quest International, 1833 57th Street, Post Office Box 3917, Sarasota, Florida 34243, verfügbar sind. Besonders bevorzugt sind auch Lactase F (das bevorzugt bei einem pH-Wert-Bereich von etwa 4 bis etwa 6 eingesetzt wird) und Lactase 50.000 (optimaler pH-Wert-Bereich von etwa 4 bis etwa 6), die beide bei Amano International Enzyme Co., Inc., Post Office Box 1000, Troy, Virginia 22974, verfügbar sind. Andere besonders bevorzugte ergänzende Enzyme schließen ein: G-Zyme G990 (optimaler pH-Wert-Bereich bei etwa 4 bis etwa 6) und Enzeco Fungal Lactase Concentrate (optimaler pH-Wert-Bereich bei etwa 4 bis etwa 6), verfügbar bei Enzyme Development Corporation, 2 Penn Plaza, Suite 2439, New York, New York, 10121; Lactozyme 3000L (das bevorzugt in einem pH-Wert-Bereich von etwa 6 bis etwa 8 eingesetzt wird) und Alpha-Gal 600L, das bevorzugt in einem pH-Wert-Bereich von etwa 4 bis etwa 6,5 eingesetzt wird), die bei Novo Nordisk Bioindustrials, Inc., 33 Turner Road, Danbury, Connecticut 06813, verfügbar sind; Maxilact L2000 (das bevorzugt bei einem pH-Wert-Bereich von etwa 4 bis etwa 6 eingesetzt wird) und verfügbar ist bei Gist Brocades Food Ingredients, Inc., King of Prussia, Pennsylvania, 19406, sowie Neutral Lactase (das bevorzugt bei einem pH-Wert-Bereich von etwa 6 bis etwa 8 eingesetzt wird) und verfügbar ist bei Pfizer Food Science Group, 205 East 42nd Street, New York, New York 10017.

[0042] Der pH-Wert-Bereich für die Umwandlung der Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen liegt bei etwa 3 bis etwa 9. Der pH-Wert, der zum Einsatz gelangt, hängt hauptsächlich von dem Typ des zur Anwendung gelangenden Enzyms ab und sollte dementsprechend ausgewählt werden. Das restliche Enzym ist innerhalb eines pH-Wert-Bereiches von etwa 7 bis etwa 9 wirksam, obgleich davon ausgegangen wird, dass der pH-Wert des Materials der Sojamelasse im Laufe der Umwandlung herabgesetzt wird. Die ergänzenden Enzyme sind innerhalb eines optimalen pH-Bereichs wirksam, der von dem Hersteller des Enzyms vorgegeben wird, wie er vorstehend für mehrere spezielle Enzyme angegeben ist. Typischerweise sind ergänzende Enzyme entweder in einem neutralen pH-Wert-Bereich von etwa 6 bis etwa 8 oder in saurem pH-Wert-Bereich von etwa 3 bis etwa 6 wirksam.

[0043] Der pH-Wert des Materials der Sojamelasse kann auf einen gewünschten Wert zur Ausführung der Umwandlung von Isoflavon-Glucosiden zu Aglucon-Isoflavonen eingestellt werden. In den meisten Fällen wird der pH-Wert von dem relativ hohen Wert oder basischen pH, der für die Umwandlung der Isoflavon-Konjugate zu Isoflavon-Glucosiden erforderlich ist, durch Zusatz einer oder mehrerer geeigneter Säuren herabgesetzt, wie beispielsweise Essigsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salzsäure oder irgend ein anderes geeignetes Reagens.

[0044] Der Temperaturbereich des Materials der Sojamelasse für die Umwandlung von Glucosiden zu Agluconen liegt bei etwa 5° bis etwa 75°C. Die Temperatur beeinflusst die Aktivität der Enzyme wesentlich und damit auch die Geschwindigkeit der Umwandlung. Die ergänzenden Enzyme können oberhalb von 70°C wirksam sein, wie beispielsweise Alpha-Gal 600L, das bei 75°C wirksam ist, wobei jedoch die Ausführung der Umwandlung bei niedrigeren Temperaturen bevorzugt ist, um eine Deaktivierung des Enzyms zu vermeiden. In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Umwandlung zwischen etwa 35° und etwa 45°C ausgeführt.

[0045] Die für die Umwandlung der Glucoside zu Agluconen erforderliche Zeit hängt von enzymspezifischen Faktoren ab und speziell von der Konzentration und der Temperatur sowie dem pH-Wert des Systems. In den meisten Fällen ist es möglich, eine weitgehend vollständige Umwandlung innerhalb von 24 Stunden zu erreichen, wobei jedoch der Zusatz von ergänzendem Enzym bevorzugt wird, um die Geschwindigkeit der Reaktion wesentlich zu erhöhen. Das ergänzende Enzym, die Enzymkonzentration, der pH-Wert und die Temperatur, die gewählt werden, bewirken vorzugsweise weitgehend eine vollständige Umwandlung innerhalb von etwa 2 Stunden und am meisten bevorzugt innerhalb von etwa 1 Stunde.

[0046] Die Umwandlung der Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen ist stark wirksam, indem mindestens der überwiegende Teil und vorzugsweise weitgehend die gesamten vorhandenen Glucoside zu Agluconen umgewandelt werden. Der Begriff "der überwiegende Teil" bezieht sich auf einen Umwandlungsgrad von mindestens etwa 50%. Der Begriff "weitgehend alles" bezieht sich auf einen Umwandlungsgrad von mindestens etwa 80% und am meisten bevorzugt mindestens etwa 90%.

[0047] Nach der Umwandlung der Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen kann ein Kuchen von an Aglucon-Isoflavon angereichertem Material von dem Material der Sojamelasse abgetrennt werden. Das Material der Sojamelasse wird bei einem pH-Wert und einer Temperatur behandelt, bei denen der überwiegende Teil der Aglucon-Isoflavone von dem Material der Sojamelasse in dem Trennverfahren abgetrennt wird. Vorzugsweise wird das Material der Sojamelasse bei einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 6,5 und am meisten bevorzugt etwa 4,5 während des Trennungsverfahrens gehalten sowie bei einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C und am meisten bevorzugt etwa 4° bis etwa 7°C. Der pH-Wert des Materials der Sojamelasse kann mit einem geeigneten konventionellen sauren oder basischen Reagens nach Erfordernis eingestellt werden.

[0048] Die Abtrennung kann mit Hilfe konventioneller Mittel zum Abtrennen von Feststoffen von einer Flüssigkeit herbeigeführt werden. Der an Aglucon-Isoflavon angereicherte Kuchen wird bevorzugt durch Zentrifugieren oder Filtration entsprechend der vorstehenden Beschreibung im Zusammenhang mit der Abtrennung eines an Isoflavon angereicherten Kuchens von einem Material der Sojamelasse abgetrennt.

[0049] Ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material kann auch aus einem an Isoflavon angereicherten Material erzeugt werden, das aus Sojamelasse gewonnen wird, wobei das Verfahren zur Gewinnung eines an Isoflavon angereicherten Materials aus Sojamelasse oben beschrieben wurde. Dem gewonnenen Kuchen von an Isoflavon angereichertem Material wird Wasser zugesetzt, um eine Aufschlämmung des an Isoflavon angereicherten Materials zu erzeugen. Bevorzugt wird die Aufschlämmung bis zu einem Feststoffgehalt von etwa 6% bis 13% verdünnt, obgleich ein höherer Feststoffgehalt verwendet werden kann. Anschließend werden Isoflavon-Konjugate in der Aufschlämmung zu Isoflavon-Glucosiden umgewandelt, indem die Aufschlämmung unter den gleichen Bedingungen behandelt wird, wie vorstehend im Zusammenhang mit der Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden in Sojamelasse beschrieben wurde. Speziell wird die Aufschlämmung bei einem pH-Wert von etwa 6 bis etwa 13,5 und bevorzugt etwa 9 bis etwa 11 und bei einer Temperatur von etwa 2° bis etwa 120°C für eine Dauer von etwa 15 min bis zu mehreren Stunden behandelt. Am meisten bevorzugt wird die Aufschlämmung bei einem pH-Wert von etwa 11 und einer Temperatur von etwa 5° bis etwa 50°C und bevorzugt etwa 35°C für eine Dauer von etwa 30 min bis etwa 1 Stunde behandelt oder bei einem pH-Wert von etwa 9 und einer Temperatur von etwa 45° bis etwa 75°C und bevorzugt etwa 73°C für eine Dauer von etwa 4 Stunden bis etwa 6 Stunden. Nach Erfordernis kann ein an Isoflavon-Glucosid angereichertes Material von der Aufschlämmung in ähnlicher Weise wie bei der Abtrennung eines an Isoflavon angereicherten Materials von der Sojamelasse entsprechend der vorstehenden Beschreibung abgetrennt werden.

[0050] Sodann wurden die Isoflavon-Glucoside in der Aufschlämmung zu Aglucon-Isoflavonen unter den gleichen Bedingungen umgewandelt, wie sie vorstehend im Zusammenhang mit der Umwandlung von Isoflavon-Glucosiden zu Aglucon-Isoflavonen in einem Material von Sojamelasse beschrieben wurden. Speziell wurden die Isoflavon-Glucoside in der Aufschlämmung mit einem Enzym kontaktiert, das zum Aufspalten der Glucosidbindung zwischen dem Isoflavon-Teil und dem Glucosemolekül der Isoflavon-Glucoside unter geeigneten Bedingungen von pH-Wert und Temperatur für eine Zeitdauer, die ausreichend war, um die Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen umzuwandeln, in der Lage war. Bevorzugte Enzyme, pH-Bedingungen, Tempera-

turen und Zeitdauer wurden vorstehend beschrieben. Ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material kann von der Aufschlämmung in ähnlicher Weise wie die Abtrennung eines an Isoflavon angereicherten Materials von der Sojamelasse abgetrennt werden, wie sie vorstehend beschrieben wurde.

[0051] Ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material kann auch aus einem an Isoflavon-Glucosid angereicherten Material erzeugt werden, das aus einem Material von Sojamelasse gewonnen wird, wobei das Verfahren zur Gewinnung von an Isoflavon-Glucosid angereichertem Material aus einem Material der Sojamelasse vorstehend beschrieben wurde. Dem gewonnenen Kuchen aus an Isoflavon-Glucosid angereichertem Material wird Wasser zugesetzt, um eine Aufschlämmung des an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials zu erzeugen. Vorzugsweise wird die Aufschlämmung bis zu etwa 6% bis etwa 13% Feststoffe verdünnt, obgleich auch ein höherer Gehalt an Feststoffen verwendet werden kann. Die Isoflavon-Glucoside in der Aufschlämmung werden in der gleichen Weise zu Aglucon-Isoflavonen umgewandelt, wie vorstehend im Zusammenhang mit der an Isoflavon-Glucosid angereicherten Aufschlämmung beschrieben wurde, die aus einer an Isoflavon angereicherten Aufschlämmung erzeugt wurde. Ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material kann von der Aufschlämmung nach der Umwandlung in ähnlicher Weise wie die vorstehend beschriebene Abtrennung eines an Isoflavon angereicherten Materials aus einem Material der Sojamelasse abgetrennt werden.

EXPERIMENTELLES

[0052] Die vorliegende Erfindung wird mit Hilfe der folgenden Beispiele detaillierter veranschaulicht. Die Beispiele sind zur Veranschaulichung vorgesehen und nicht beschränkend oder auf andere Weise den Geltungsbereich der Erfindung in irgendeiner Weise einschränkend auszulegen.

[0053] Wie vorstehend ausgeführt wurde, schließen Sojamaterialien einschließlich Sojamelasse die "Familien" des Genisteins, Daidzeins und Glyciteins der Isoflavone mit den entsprechenden Vertretern Glucosid, Konjugat und Aglucon ein, wobei die Genistein-Familie die Konjugate 6''-OMal-Genistin enthält, 6''-OAc-Genistin, das Glucosid Genistin und das Aglucon-Genistein; die Daidzein-Familie enthält die Konjugate 6''-OMal-Daidzin, 6''-OAc-Daidzin, das Glucosid Daidzin und das Aglucon-Daidzein; und die Glycitein-Familie schließt das Konjugat 6''-OMal-Glycitin ein, das Glucosid Glycitin und das Aglucon-Glycitein. In den folgenden Beispielen wurden die relativen Konzentrationen der Isoflavone entweder als Gesamtkonzentration einer Isoflavon-Familie gemessen oder als einzelne Prozentanteile jedes Isoflavons in einer Familie von Isoflavonen. Beispielsweise ist die Gesamtkonzentration der Genistein-Familie der Isoflavone die Summe der Konzentrationen von 6''-OMal-Genistin, 6''-OAc-Genistin, Genistin und Genistein, während der prozentuale Anteil jedes Isoflavons in der Genistein-Familie in Bezug auf die anderen Isoflavone der Genistein-Familie bestimmt wurde: % Genistin + % 6''OMal-Genistin + % 6''OAc-Genistin + % Genistein = 100%

BEISPIEL 1

[0054] In einem ersten Versuch wurde die Gewinnung eines an Isoflavon angereicherten Materials aus Sojamelasse bei unterschiedlichen Konzentrationen der Sojamelasse untersucht. Die Gesamtkonzentration jeder Isoflavon-Familie wurde in einer Probe einer Sojamelasse gemessen, die eine ausgewählte Konzentration hatte, in einem von der Probe der Sojamelasse nach dem erfindungsgemäßen Verfahren abgetrennten Kuchen und in der flüssigen Molke, aus der der Kuchen mit Hilfe der Trennprozedur abgetrennt wurde.

[0055] Die Sojamelasse wurde auf die Gesamtkonzentration aller vorhandenen Formeln von Isoflavonen analysiert. Die Proben der Sojamelasse wurden mit Wasser bis zu einem Feststoffgehalt von 28% (Verdünnung 1:2), 13,7% (Verdünnung 1:4) und 6,6% (Verdünnung 1:8) verdünnt. Alle Proben wurden auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt. Die behandelten Proben wurden sodann mit einer Drehzahl von 3.000 U/min für 30 min zentrifugiert, um flüssige Molke und Kuchenanteile aus den Proben abzutrennen und zu erzeugen. Eine Reihe von Proben wurde bei einer Temperatur von 0,6°C zentrifugiert. Proben mit einem Feststoffgehalt von 28% und 13,7% Sojamelasse wurden bei einer Temperatur von 60°C zum Vergleich mit Proben zentrifugiert, die die gleiche Konzentration an Feststoffen der Sojamelasse hatten, die jedoch bei 0,6°C abgetrennt wurden. Die resultierende Flüssigkeit und Kuchenanteile der Proben wurden auf die Gesamtkonzentration aller vorhandener Formen von Isoflavonen analysiert.

[0056] In Tabelle 1 sind die Konzentrationen von Isoflavonen in den verschiedenen Kuchen- und Flüssigkeitsfraktionen zusammengestellt, die aus der vorstehend beschriebenen Prüfung erhalten wurden. Die angegebenen Summen sind die Summen aller Formen des jeweiligen Isoflavons, einschließlich der Konjugate, des Glucosids, wobei Aglucon-Formen in Milligramm Isoflavon pro Gramm Kuchen oder Feststoffanteile der Flüssigkeit angegeben sind.

TABELLE 1

Probe	Gesamt-Genistein (Familie) mg/g	Gesamt-Daidzein (Familie mg/g	Gesamt-Glycitein (Familie) mg/g
Sojamelassen-Ausgangsmaterial, nicht abgetrennt	6,1	4,8	1,0
1:2-Verdünnung (28% Feststoffe) Molke, abgetrennt bei 0,6°C	2,8	3,0	0,6
1:2-Verdünnung Kuchen, abgetrennt bei 0,6°C	16,9	10,9	1,9
1:2-Verdünnung Molke, abgetrennt bei 60°C	3,8	4,0	0,8
1:2-Verdünnung Kuchen, abgetrennt bei 60°C	14,1	8,2	1,5
1:4-Verdünnung (13,7% Feststoffe) Molke, abgetrennt bei 0,6°C	3,0	3,4	0,7
1:4-Verdünnung Kuchen, abgetrennt bei 0,6°C	18,3	11,0	2,0
1:4-Verdünnung Molke, abgetrennt bei 60°C	4,4	4,3	0,8
1:4-Verdünnung Kuchen, abgetrennt bei 60°C	13,4	7,2	1,5
1:8-Verdünnung (6,6% Feststoffe) Molke, abgetrennt bei 0,6°C	4,3	4,5	0,9
1:8-Verdünnung Kuchen, abgetrennt bei 0,6°C	20,1	10,2	2,1

[0057] In allen abgetrennten Proben war die Konzentration der Isoflavone deutlich höher in dem Kuchen als in der Sojamelasse als Ausgangsmaterial und sehr viel höher als die Konzentration von Isoflavonen in den Feststoffanteilen der flüssigen Molke. Die bei 0,6°C abgetrennten Proben enthielten eine höhere Konzentration an Isoflavonen in dem Kuchen als entsprechende Proben, die bei 60°C abgetrennt wurden, welche höhere Konzentrationen an Isoflavonen in den Feststoffanteilen der Molke hatten.

BEISPIEL 2

[0058] In einem anderen Versuch wurde die Gewinnung eines an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials aus Sojamelasse untersucht. Die Isoflavon-Konjugate in der Sojamelasse wurden zu Isoflavon-Glucosiden umgewandelt und von dem Material der Sojamelasse ein an Isoflavon-Glucosid angereicherter Kuchen abgetrennt. Der Umwandlungsgrad wurde anhand der quantitativen Abnahme der prozentualen Anteile und der Konzentration von Malonsäure- und Essigsäureester einer Isoflavon-Familie gekoppelt mit einer entsprechenden quantitativen Zunahme des prozentualen Anteils des Glucosids in der gleichen Isoflavon-Familie bestimmt.

[0059] Die Sojamelasse als Ausgangsmaterial wurde auf die Konzentration einzelner Isoflavon-Verbindungen analysiert. Es wurden zwei Proben des Materials der Sojamelasse angesetzt, indem die Sojamelasse mit Wasser in den folgenden Verhältnissen verdünnt wurde: 1:4 (100 g Melasse + 300 g Wasser); 1:8 (50 g Melasse + 350 g Wasser). Der pH-Wert der Proben wurde auf 11 eingestellt und die Temperatur der Proben für 30 min bei 35°C gehalten. Anschließend wurde der pH-Wert der Proben auf 4,5 eingestellt und die Temperatur auf 4°C. Die Proben wurden bei 4°C mit 10.000 U/min zentrifugiert, um die Melasseproben zu einem Kuchen und einer flüssigen Molke zu trennen. Die Molke und der Kuchen wurden auf Konzentration von einzelnen Isoflavon-Verbindungen analysiert.

[0060] Tabelle 2 veranschaulicht die Änderung der Anteile zwischen den verschiedenen Formen von Isoflavonen, die sich aus der Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden im Vergleich zu der Sojamelasse als Ausgangsmaterial ergaben. Die Isoflavon-Konzentrationen sind in "Teile pro Million" (ppm) in der Probe angegeben sowie als Prozentanteile der Gesamtmenge des speziellen Isoflavons (die Summe der Konjugat-, Glucosid- und Aglucon-Fomen) in dem flüssigen Anteil oder dem Kuchenanteil.

TABELLE 2a

Probe	Genistin	6"-OMal-Genistin	6"-OAc-Genistin	Genistein
Sojamelasse				
ppm	4678	1329	0	88
% Isoflavon	77	22	0	1
1:4-Verdünnung				
Molke in ppm	2221	17	0	30
% Isoflavon	98	1	0	1
1:4-Verdünnung				
Kuchen in ppm	28621	68	0	261
% Isoflavon	99	0	0	1
1:8-Verdünnung				
Molke, in ppm	2852	24	0	36
% Isoflavon	98	1	0	1

Probe	Genistin	6"-OMal-Genistin	6"-OAc-Genistin	Genistein
1:8-Verdünnung				
Kuchen, in ppm	27517	101	0	272
% Isoflavon	99	0	0	1

TABELLE 2b

Probe	Daidzin	6"-OMal-Daidzin	6"-OAc-Daidzin	Daidzein
Sojamelasse				
ppm	3533	928	210	84
% Isoflavon	74	20	4	2
1:4-Verdünnung				
Molke in ppm	2652	179	29	21
% Isoflavon	92	6	1	1
1:4-Verdünnung				
Kuchen in ppm	16133	192	0	232
% Isoflavon	97	1	0	1
1:8-Verdünnung				
Molke in ppm	3356	187	0	27
% Isoflavon	94	5	0	1
1:8-Verdünnung				
Kuchen in ppm	12617	138	0	245
% Isoflavon	97	1	0	2

TABELLE 2c

Probe	Glycitin	6"-OMal-Glycitin	Glycitein
Sojamelasse			
ppm	500	105	360
% Isoflavon	52	11	37
1:4-Verdünnung			
Molke in ppm	341	28	0
% Isoflavon	92	8	0
1:4-Verdünnung			
Kuchen in ppm	1442	0	66
% Isoflavon	96	0	4
1:8-Verdünnung			
Molke in ppm	406	28	0
% Isoflavon	94	6	0
1:8-Verdünnung			
Kuchen in ppm	1146	0	0
% Isoflavon	100	0	0

[0061] In allen Proben, die den Bedingungen zur Umwandlung von Isoflavon-Konjugaten zu Isoflavon-Glucosiden unterworfen wurden, war der prozentuale Anteil von Isoflavon-Glucosiden sowohl in dem Kuchen als auch in den flüssigen Anteilen deutlich höher als in der entsprechenden nicht umgewandelten Probe der Sojamelasse, wobei der prozentuale Anteil der entsprechenden Isoflavon-Konjugate in den Proben deutlich niedriger war, was demonstriert, dass ein großer Anteil von Isoflavon-Konjugaten zu dessen Glucosid-Form umgewandelt worden war. Darüber hinaus wurde bei der Trennung ein großer Teil der Glucosid-Isoflavone in dem Kuchen abgetrennt, um ein an Isoflavon-Glucosid angereichertes Material zu erzeugen, was aus den relativen Konzentrationen der Sojamelasse als Ausgangsmaterial und den Molke- und Kuchenanteilen jeder Probe ent-

nommen werden kann.

BEISPIEL 3

[0062] In einem anderen Versuch wurde die Umwandlung von Isoflavonen zu Aglucon-Isoflavonen in der Sojamelasse untersucht. Die Isoflavon-Konjugate in der Sojamelasse wurden zu Isoflavon-Glucosiden umgewandelt und die Isoflavon-Glucoside anschließend zu Aglucon-Isoflavonen umgewandelt. Der Umwandlungsgrad der Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen wurde anhand der quantitativen Abnahme der Konzentration des Glucosids einer Isoflavon-Familie gekoppelt mit einer entsprechenden quantitativen Zunahme des prozentualen Anteils des Aglucons der gleichen Isoflavon-Familie bestimmt.

[0063] Die Sojamelasse als Ausgangsmaterial wurde 1:4 mit Wasser verdünnt und auf die Konzentration einzelner Isoflavon-Verbindungen analysiert. Der pH-Wert der Melasse wurde sodann auf 11 eingestellt. Die Sojamelasse wurde für 1 Stunde bei Raumtemperatur gehalten, um ein an Glucosid angereichertes Material der Sojamelasse zu erzeugen. Das an Glucosid angereicherte Material der Sojamelasse wurde auf Konzentration einzelner Isoflavon-Verbindungen analysiert. Es wurden vier Proben aus dem an Glucosid angereicherten Material der Sojamelasse angesetzt, nachdem der pH-Wert des Materials auf 4,5 eingestellt worden war. Jede Probe wurde mit einem Enzym beimpft und die folgenden Enzyme den Proben jeweils mit 10 Gew.% Melassefeststoffe in jeder Probe zugesetzt: G-Zyme 990, Biopectinase 100L, Lactase 50.000 und Alpha-Gal 600L. Sodann wurden die Proben für 6 Stunden bei 50°C behandelt, um ein an Aglucon-Isoflavon angereichertes Material der Sojamelasse zu erzeugen. Sodann wurde die an Aglucon-Isoflavon angereicherte Sojamelasse auf den Gehalt an Isoflavon analysiert.

[0064] Tabelle 3 veranschaulicht die Verteilung zwischen den verschiedenen Formen von Isoflavonen, die sich aus den vorstehend beschriebenen Prüfungen ergibt. Die Isoflavon-Konzentrationen sind als "Teile pro Million" (ppm) in der Probe und als Prozentanteile an der Gesamtmenge des jeweiligen Isoflavons angegeben (die Summe der Konjugat-, Glucosid- und Aglucon-Formen).

TABELLE 3a

Probe	Genistin	6"-OMal-Genistin	6"-OAc-Genistin	Genistein
Sojamelasse				
ppm	4678	1329	0	88
% Isoflavon	77	22	0	1
Glucosidreiche Sojamelasse				
ppm	6763	0	0	104
% Isoflavon	98	0	0	2

Probe	Genistin	6"-OMal-Genistin	6"-OAc-Genistin	Genistein
G-Zyme 990, 10%				
ppm	3903	0	0	1993
% Isoflavon	66	0	0	44
Biopectinase 100L, 10%				
ppm	2865	0	0	2919
% Isoflavon	50	0	0	50
Lactase 50.000, 10%				
ppm	0	0	0	4601
% Isoflavon	0	0	0	100
Alpha-Gal 600L, 10%				
ppm	28	0	0	4566
% Isoflavon	1	0	0	99

TABELLE 3b

Probe	Daidzin	6"-OMal-Daidzin	6"-OAc-Daidzin	Daidzein
Sojamelasse				
ppm	3533	928	210	84
% Isoflavon	74	20	4	2
Glucosidreiche Sojamelasse				
ppm	4377	0	0	43
% Isoflavon	99	0	0	1
G-Zyme 990, 10%				
ppm	840	0	82	2331
% Isoflavon	27	0	2	71
Biopectinase 100L, 10%				
ppm	541	0	94	2701
% Isoflavon	16		3	81
Lactase 50.000, 10%				
ppm	0	0	92	2875
% Isoflavon	0	0	3	97
Alpha-Gal 600L, 10%				
ppm	0	0	89	2882
% Isoflavon	0	0	3	97

TABELLE 3c

Probe	Glycitin	6"-OMal-Glycitin	Glycitein
Sojamelasse			
ppm	500	105	360
% Isoflavon	2	11	37
Glucosidreiche Sojamelasse			
ppm	433	0	0
% Isoflavon	100	0	0
G-Zyme 990, 10%			
ppm	346	0	114
% Isoflavon	75	0	25
Biopectinase 100L,10%			
ppm	195	0	237
% Isoflavon	45	0	55
Lactase 50.000, 10%			
ppm	0	0	366
% Isoflavon	0	0	100
Alpha-Gal 600L, 10%			
ppm	0	0	356
% Isoflavon	0	0	100

[0065] Der Gehalt an Aglucon-Isoflavon der enzymatisch behandelten Proben war deutlich höher als der der Sojamelasse und des Materials der Glucosid-angereicherten Sojamelasse, was zeigt, dass die Enzymbehandlung wesentliche Mengen der Glucosid-Isoflavone zu Aglucon-Isoflavonen umwandelt. Die Wahl des geeigneten Enzyms, der Enzymkonzentration, des pH-Wertes und der Temperatur für die Umwandlung erlaubt eine Umwandlung weitgehend aller Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavonen, wie anhand der Isoflavon-Verteilung in den Proben der Lactase 50.000 und Alpha-Gal 600L demonstriert wird.

BEISPIEL 4

[0066] In einem letzten Versuch wurde der Gehalt an Isoflavon eines an Isoflavon angereicheren Materials, eines an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials und eines an Aglucon-Isoflavon angereicherten Materials untersucht und die Verteilung der Isoflavone in den Materialien verglichen. Es wurde Sojamelasse im Verhältnis 1:4 mit Wasser verdünnt. Eine Probe der verdünnten Sojamelasse wurde auf pH 4,5 eingestellt, bis auf eine Temperatur von 0,6°C in einem Eisbad für 30 min abgekühlt und mit einer Drehzahl von 3.000 U/min für 30 min zentrifugiert, um einen Kuchen von an Isoflavon angereichertem Material abzutrennen. Die zurückbleibende verdünnte Sojamelasse wurde sodann auf pH 11 mit Natriumhydroxid eingestellt und für 1 Stunde bei 50°C behandelt, um Isoflavon-Konjugate in der Melasse zu Isoflavon-Glucosiden umzuwandeln. Es wurde eine Probe der an Glucosid angereicherten Melasse auf pH 4,5 eingestellt, bis zu einer Temperatur von 0,6°C in einem Eisbad für 30 min gekühlt und mit einer Drehzahl von 3.000 U/min für 30 min zentrifugiert, um einen Kuchen eines an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials abzutrennen. Das zurückbleibende, an Isoflavon-Glucosid angereicherte Material der Sojamelasse wurde auf pH 4,5 eingestellt und das Enzym G-Zyme 990 dem Material mit einer Konzentration von 2,6 g Enzym/100 g Melassematerial zugegeben. Anschließend wurden das Enzym und das an Isoflavon-Glucosid angereicherte Material der Sojamelasse bei 50°C für 18 bis 20 Stunden bei 50°C behandelt, um die Isoflavon-Glucoside zu Aglucon-Isoflavone umzuwandeln. Es wurde eine Probe des an Aglucon-Isoflavon angereicherten Materials der Sojamelasse bis zu einer Temperatur von 0,6°C in einem Eisbad für 30 min gekühlt und mit einer Drehzahl von 3.000 U/min für 30 min zentrifugiert, um einen Kuchen von an Aglucon-Isoflavon angereichertem Material abzutrennen. Die gewonnenen Kuchen von an Isoflavon angereichertem Material, an Isoflavon-Glucosid angereichertem Material und von an Aglucon-Isoflavon angereichertem Material wurden sodann auf den Gehalt an Isoflavon analysiert.

[0067] Die nachfolgende Tabelle 4 zeigt die Verteilung der Isoflavone in den Kuchen des an Isoflavon angereicherten Materials, des an Isoflavon-Glucosid angereicherten Materials und des an Aglucon-Isoflavon angereicherten Materials. Die Isoflavon-Verteilung ist in Prozentanteilen der Gesamtmenge des jeweiligen Isoflavons angegeben (die Summe der Konjugat-, Glucosid- und Aglucon-Formen).

TABELLE 4a

Probe	Genistin	6"-OMal-Genistin	6"-OAc-Genistin	Genistein
Isoflavonreiches Material % Isoflavon	83	16	0	1
Glucosidreiches Material % Isoflavon	99	0	0	1
Agluconreiches Material % Isoflavon	3	0	0	97

TABELLE 4b

Probe	Daidzin	6"-OMal-Daidzin	6"-OAc-Daidzin	Daidzein
Isoflavonreiches Material % Isoflavon	81	12	5	1
Glucosidreiches Material % Isoflavon	99	0	0	1
Agluconreiches Material % Isoflavon	0	0	0	100

TABELLE 4c

Probe	Glycitin	6"-OMal-Glycitin	Glycitein
Isoflavonreiches Material % Isoflavon	40	8	52
Glucosidreiches Material % Isoflavon	95	0	5
Aglucon-reiches Material % Isoflavon	54	18	28

[0068] Der Umwandlungsgrad der Schritte lässt sich in der Isoflavon-Verteilung der Materialien erkennen. Das an Isoflavon-Glucosid angereicherte Material enthält deutlich größere Mengen an Isoflavon-Glucosiden als das an Isoflavon angereicherte Material und das Aglucon-Isoflavon-Material, mit einem Isoflavon-Gehalt,

der fast aus den gesamten Isoflavon-Glucosiden besteht. Das an Aglucon-Isoflavon angereicherte Material enthält deutlich höhere Mengen von Aglucon-Isoflavonen als das an Isoflavon-Glucosid angereicherte Material und das an Isoflavon angereicherte Material, mit einem Isoflavon-Gehalt, der fast völlig aus Aglucon-Isoflavonen besteht.

[0069] In den vorstehenden Beispielen sind alle Prozentangaben, die für 6''-OMal-Genistin, 6''-OAc-Genistin, 6''-OMal-Daidzin, 6''-OAc-Daidzin, Glycitin, 6''-OMal-Glycitin und Glycitein angegeben werden, berechnete Werte. Das Folgende ist eine Beschreibung einer Methode zur quantitativen Bestimmung von Isoflavonen in Sojaprodukten. Die Isoflavone werden aus Sojaprodukten extrahiert, indem 0,75 g der Probe (sprühgetrocknet oder fein gemahlenes Pulver) mit 50 ml 80/20 Methanol/Wasser als Lösemittel extrahiert werden. Die Mischung wird für 2 Stunden bei Raumtemperatur mit einem Orbitalschüttler geschüttelt. Nach 2 Stunden werden die verbleibenden ungelösten Substanzen durch Filtration mit Filterpapier Whatman Nr. 42 entfernt. S ml des Filtrats werden mit 4 ml Wasser und 1 ml Methanol verdünnt.

[0070] Die extrahierten Isoflavone werden mit Hilfe der HPLC (Hochleistungsflüssigchromatographie) unter Verwendung einer Umkehrphasensäule Hewlett Packard C18 Hypersil getrennt. Die Isoflavone werden auf die Säule gespritzt und mit einem Lösemittelgradienten beginnend mit 88% Methanol, 10% Wasser und 2% Eisessig und abschließend mit 98% Methanol und 2% Eisessig eluiert. Bei einer Durchlaufrate von 0,4 ml/min waren alle Isoflavone-Genistin, 6''-O-Acetylgenistin, 6''-O-Malonylgenistin, Genistein, Daidzin, 6''-O-Acetyldaidzin, 6''-O-Malonyldaidzin, Daidzin, Glycitin und deren Derivate sowie Glycitein – eindeutig aufgelöst. Die Peak-Detektion erfolgte mit Hilfe der UV-Absorption bei 260 mm. Die Identifikation der Peaks erfolgte mit Hilfe des HPLC-Massenspektrometers.

[0071] Die quantitative Bestimmung wird unter Anwendung reiner Standards ausgeführt (Genistin, Genistein, Daidzin und Daidzein), die von Indofine Chemical Company, Sommerville, NJ, erhalten wurden. Die Ansprechfaktoren (integrierte Fläche/Konzentration) werden für jede der vorgenannten Verbindungen berechnet und verwendet, um die unbekannten Proben quantitativ zu bestimmen. Bei den konjugierten Formen, bei denen keine reinen Standards verfügbar waren, wurden die Ansprechfaktoren als die des Ausgangsmoleküls angenommen, jedoch auf die Molmassendifferenz korrigiert. Der Ansprechfaktor für Glycitin wurde als der des Genistins angenommen und auf Molmassendifferenz korrigiert. Diese Methode liefert die Größen für das jeweilige einzelne Isoflavon. Der Einfachheit halber wurden das Gesamt-Genistein, das Gesamt-Daidzein und das Gesamt-Glycitein berechnet und repräsentieren das zusammengefasste Gewicht dieser Verbindungen, wenn alle konjugierten Formen zu ihren entsprechenden unkonjugierten Formen umgewandelt sind. Diese Gesamtwerte lassen sich auch direkt mit Hilfe einer Methode unter Anwendung der sauren Hydrolyse zur Umwandlung der konjugierten Formen messen.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Erhalten eines an Isoflavon angereicherten Materials aus Sojamelassen, umfassend das Abtrennen des an Isoflavon angereicherten Materials aus einem Isoflavone enthaltendem Material von Sojamelassen bei einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 6,5 und einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C, welches Verfahren wirksam ist, um eine Abtrennung einer Mehrzahl der Isoflavone von dem an Isoflavon angereicherten Material in Form eines Pulverkuchens herbeizuführen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei welchem das an Isoflavon angereicherte Material aus dem Material der Sojamelassen bei einem pH-Wert von etwa 4,5 abgetrennt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, ferner umfassend das Erzeugen einer wässrigen Mischung von Material von Sojamelassen mit einem Feststoffgehalt von etwa 3% bis etwa 28% vor dem Abtrennen des an Isoflavon angereicherten Materials von dem Material der Sojamelassen.

4. Verfahren nach einem der vorgenannten Ansprüche, bei welchem das an Isoflavon angereicherte Material von dem Material der Sojamelassen durch Zentrifugieren abgetrennt wird.

5. Verfahren nach Anspruch 4, bei welchem das Zentrifugieren ausgeführt wird, während sich das Sojamelassen-Material bei einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C und einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 6,5 befindet.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei welchem das an Isoflavon angereicherte Material von dem Material der Sojamelassen durch Filtration abgetrennt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, bei welchem die Filtration ausgeführt wird, während sich das Sojamelassen-Material bei einer Temperatur von etwa 0° bis etwa 10°C und einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 6,5 befindet.

8. Verfahren nach Anspruch 1, ferner umfassend:
Erzeugen einer wässrigen Aufschlämmung des abgetrennten, an Isoflavon angereicherten Materials, wobei das an Isoflavon angereicherte Material Isoflavon-Konjugate enthält; und
Behandeln der Aufschlämmung bei einer Temperatur und einem pH-Wert für eine ausreichende Zeitdauer, um die Isoflavon-Konjugate in der Aufschlämmung zu Isoflavonglucosiden zu überführen, um eine an Isoflavonglucosid angereicherte Aufschlämmung zu erzeugen.

9. Verfahren nach Anspruch 8, bei welchem die wässrige Aufschlämmung von an Isoflavon angereichertem Material einen Feststoffgehalt von etwa 6% bis etwa 13% hat.

10. Verfahren nach Anspruch 8 oder 9, bei welchem die Aufschlämmung bei einem pH-Wert von etwa 6 bis etwa 13,5 und einer Temperatur von etwa 2° bis etwa 120°C für eine Dauer von etwa 15 min bis etwa 6 Stunden behandelt wird, um die Isoflavon-Konjugate in Isoflavonglucoside umzuwandeln.

11. Verfahren nach Anspruch 10, bei welchem die Aufschlämmung bei einem pH-Wert von etwa 9 bis etwa 11 bei einer Temperatur von etwa 5° bis etwa 75°C für eine Dauer von etwa 15 min bis etwa 6 Stunden behandelt wird, um die Isoflavon-Konjugate zu Isoflavonglucosiden umzuwandeln.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 11, ferner umfassend nach dem Umwandeln der Isoflavon-Konjugate zu den Isoflavonglucosiden das Kontaktieren eines Enzyms mit den Isoflavonglucosiden in der Aufschlämmung bei einer Temperatur und einem pH-Wert für eine Zeitdauer, die ausreichend sind, um die Isoflavonglucoside zu Aglucon-Isoflavone umzuwandeln, um eine an Aglucon-Isoflavon angereicherte Aufschlämmung zu erzeugen.

13. Verfahren nach Anspruch 12, bei welchem das Enzym mit den Isoflavonglucosiden in der Aufschlämmung bei einem pH-Wert von etwa 3 bis etwa 9 und einer Temperatur von etwa 5° bis etwa 75°C für mindestens etwa 1 Stunde kontaktiert wird.

14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, bei welchem das Kontaktieren eines Enzyms mit den Isoflavonglucosiden in der Aufschlämmung das Zusetzen einer wirksamen Menge eines ergänzenden Enzyms zu der Aufschlämmung umfasst.

15. Verfahren nach Anspruch 14, bei welchem das ergänzende Enzym, ein Saccharase-Enzym aufweist, das zum Aufspalten von 1,4-Glucosid-Bindungen in der Lage ist.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 15, ferner umfassend das Abtrennen eines an Aglucon-Isoflavon angereicherten Materials von der Aufschlämmung.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen