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

(10) **DE 699 08 219 T3** 2009.04.09

(12) Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 943 245 B2**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 08 219.6**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 301 961.1**
(96) Europäischer Anmeldetag: **15.03.1999**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **22.09.1999**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **28.05.2003**
(97) Veröffentlichungstag des geänderten Patents beim EPA: **05.11.2008**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.04.2009**

(51) Int Cl.[8]: ***A23J 3/16*** (2006.01)
A23J 3/14 (2006.01)
A23C 19/055 (2006.01)
A23C 9/13 (2006.01)
A23L 2/66 (2006.01)
A23L 1/314 (2006.01)

Patentschrift wurde im Einspruchsverfahren geändert

(30) Unionspriorität:
44961 **15.03.1998** **US**

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

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

(72) Erfinder:
Holbrook, James L., Troy, Illinois 62294, US;
Waggle, Doyle H., St. Louis, Missouri 63122, US

(74) Vertreter:
Marks & Clerk, Luxembourg, LU

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Herstellung einer pflanzliche Proteinzusammensetzung enthaltend Isoflavon-vermindertes pflanzliches Proteinmaterial und Isoflavon enthaltendes Material**

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 gegenwärtige Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zum Herstellen von Pflanzenproteinzusammensetzung, enthaltend Isoflavone.

[0002] Pflanzenmaterialien, die Protein enthalten, werden kommerziell unter Herstellen von Pflanzenproteinmaterialien, wie Pflanzenproteinkonzentraten und Pflanzenproteinisolaten, verarbeitet. Üblich hergestellte Pflanzenproteinmaterialien schließen Sojaproteinkonzentrate, Sojaproteinisolate, Erbsenproteinmateralien und von Hülsenfrüchten abstammende Proteinmaterialien ein. Pflanzenproteinmaterialien werden umfassend in der Nahrungsmittelindustrie als Proteinanreicherungsbestandteile oder als funktionelle Bestandteile in einer umfassenden Mannigfaltigkeit von Nahrungsmitteln verwendet. Beispielsweise werden Pflanzenproteinmaterialien in derartigen Nahrungsmittelprodukten wie Fleisch, Nährgetränken, Suppen, Käse, Bäckereiprodukten und Joghurts verwendet.

[0003] Verschiedene Mannigfaltigkeiten von Pflanzenmaterialien, enthaltend Protein, enthalten auch phytoöstrogene Isoflavone in ihrem nativen unverarbeiteten Zustand. Isoflavone sind phenolartige Verbindungen, die natürlich in zahlreichen Pflanzenarten vorkommen, die dazu dienen, bei der Fixierung von Stickstoff in den Wurzelsystemen von bestimmten Pflanzen zu helfen und als einen natürlichen Schutz gegen Parasiten zu wirken.

[0004] Bei der Herstellung von Pflanzenproteinmaterialien, wie Pflanzenproteinkonzentraten und Pflanzenproteinisolaten für Verwendung in Nahrungsmitteln, ist der Fokus gewesen, ein Material zu erhalten, welches in erster Linie aus Protein besteht. Bei der Herstellung von Pflanzenproteinmaterialien aus Pflanzenmaterialien, enthaltend Protein und Isoflavone, wird ein wesentlicher Teil der Isoflavone von dem Pflanzenprotein abgetrennt, was zu einem an Protein reichen Material führt, das an Isoflavongehalt erschöpft worden ist. Beispielsweise werden Pflanzenproteinkonzentrate durch Waschen eines Pflanzenmaterials mit einem wäßrigen Alkohol oder einer wäßrigen sauren Lösung mit einem pH bei etwa dem isoelektrischen Punkt des Proteins gebildet. Siehe beispielsweise "Soy Protein Products, Characteristics, Nutritional Aspects, and Utilisation"; Seite 3–6 (Pub. Soy Protein Council, 1987). Die wäßrige Säure oder Alkoholwaschung entfernt Materialien, löslich in der Waschung, einschließlich einen wesentlichen Teil der Isoflavone und Kohlehydrate in dem Pflanzenmaterial, von Protein und anderen unlöslichen Materialien, wie Pflanzenfasermaterialien, ein Proteinkonzentratmaterial zurücklassend, das von 65% bis 90% Protein, bezogen auf Gewicht, enthält, aber das beträchtlich an Isoflavonkonzentration vermindert ist.

[0005] Proteinisolate werden gebildet durch Extrahieren eines Pflanzenmaterials, enthaltend Protein, mit Wasser oder einer wäßrigen alkalischen Lösung, unter Solubilisieren von Protein und anderen Materialien, löslich in der wäßrigen Lösung, wie Kohlehydrate und Isoflavone. Der Extrakt, enthaltend solubilisiertes Protein, wird von unlöslichem Pflanzenfasermaterial abgetrennt, und dann wird der pH des Extrakts auf etwa den isoelektrischen Punkt des Proteins unter Fällen des Proteins eingestellt. Das Protein wird dann von dem Extrakt und den Materialien, noch löslich in dem Extrakt, einschließend einen wesentlichen Teil der Isoflavone, unter Bilden eines Proteinisolatmaterials, enthaltend 90% oder mehr Protein, bezogen auf Gewicht, getrennt. Das Proteinisolat wird mit Wasser unter Entfernen von weiteren wasserlöslichen Materialien von dem Protein gewaschen. Siehe beispielsweise "Soy Protein Products, Characteristics, Nutritional Aspects, and Utilisation", Seite 3–6 (Pub. Soy Protein Council, 1987). Das sich ergebende Proteinisolat ist beträchtlich an Isoflavonkonzentration relativ zu dem Pflanzenmaterial, von dem das Proteinisolat abstammt, vermindert.

[0006] Entfernung von Isoflavonen aus Pflanzenproteinmaterialien bei der Herstellung von Proteinkonzentraten und Pflanzenproteinisolaten ist ein Ziel gewesen beim Verarbeiten derartiger Materialien, weil Isoflavone mit dem bitteren Geschmack von Pflanzenproteinmaterialien, wie Soja, verbunden worden sind. Beispielsweise lehrt Japanisches Patent Nr. 59-232052A ein Verfahren zum Entfernen von Isoflavonen aus einem Sojabohnenproteinmaterial durch in Kontakt bringen des Proteinmaterials mit einem adsorbierendem Harz unter Herstellen eines besser schmeckenden Sojabohnenproteins. Alkoholextraktion von Pflanzenproteinmaterialien unter Entfernen von Alkohol löslichen Komponenten von dem Protein ist besonders bevorzugt, weil Alkoholextraktion ein besser schmeckendes Pflanzenproteinmaterial als wäßrige Extraktion herstellt, teilweise, weil Alkohol ziemlich wirksam beim Entfernen von Isoflavonverbindungen aus dem Pflanzenproteinmaterial ist. Siehe beispielsweise Japanisches Patent Nr. 63-245 648A.

[0007] Isoflavone sind jedoch kürzlich vorgeschlagen worden, verschiedene Gesundheitsvorteile bei Menschen zu haben. Es ist vorgeschlagen worden, daß Isoflavone wirksam sein können zum Verhindern oder Verzögern bestimmter Krebse, wie Prostatakrebs und Brustkrebs, wie in den folgenden Artikeln beschrieben: "Ge-

nistein Inhibition of the Growth of Human Breast Cancer Cells, Independence from Estrogen Receptors and the Multi-Drug Resistance Gene", Peterson and Barnes, Biochemical and Biophysical Research Communications, Band 179, Nr. 1, Seiten 661–67 (Aug. 30, 1991); "Genistein and Biochanin A Inhibit the Growth of Human Prostate Cancer Cells but not Epidermal Growth Factor Tyrosine Autophosphorylation", Peterson and Barnes, The Prostate, Band 22, Seite 335–45 (1993); und "Soybeans Inhibit Mammary Tumours in Models of Breast Cancer", Barnes et al., Mutagens and Carcinogens in the Diet, Seite 239–53 (1990). Es ist postuliert worden, daß das geringe Vorkommen von Brustkrebs bei japanischen Frauen auf einer Diet beruht, die große Mengen von Isoflavonen enthält. "Soybean Phytoestrogen Intake and Cancer Risk", Herman et al., First International Symposium an the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease, Seiten 757S–770S (Feb. 20–23, 1994). Von Isoflavonen nimmt man auch an, Menopausensymptome zu vermindern oder zu verhindern. "Dietary Phyto-oestrogens and the Menopause in Japan, Adlercreutz et al., The Lancet, Band 339, Seite 1233 (Mai 16, 1992). Ferner sind Isoflavone identifiziert worden als Vasodilatoren bei Menschen und nicht-menschlichen Primaten, mit entsprechenden kardioschützenden Wirkungen. "Enhancement of Coronary Vasodilation by Soy Phytoestrogens and Genistein", Honore et al., Circulation, 92:1:349 (1995).

[0008] Kürzliche Bemühungen zum Erhalten der medizinischen Vorteile von Isoflavonen sind auf Trennen und Gewinnen der Isoflavone aus Pflanzenmaterialien fokussiert worden. Die folgenden Patente beschreiben verschiedene Verfahren zum Trennen von Isoflavonen aus Pflanzenmaterialien, wie pueraria lobata, Hülsenfrüchten und Soja: U.S. Patent Nr. 4 428 876, 5 702 725, 5 679 806, 4 390 559, 4 366 248, 4 366 082, 4 264 509, 4 232 122, 4 157 984, Japanisches Patent Nr. 1-258669A, 5-170756A, 41-90720A, 62-126186A, 62-126185, und PCT Patentanmeldung Nr. WO 93/23069. Die abgetrennten Isoflavonmaterialien können in pharmazeutischen oder Diätergänzungszusammensetzungen wie in U.S. Patent Nr. 5 516 528, 5 424 331, 5 569 459, 5 654 011 und PCT Patentanmeldung Nr. WO 93/23069 verwendet werden.

[0009] Während gereinigte Isoflavonzusammensetzungen geeignet in pharmazeutischen Zusammensetzungen und Diätergänzungen zum Behandeln und Verhindern einer Mannigfaltigkeit von Krankheiten sein können, haben wir aus kürzlichen Untersuchungen festgestellt, daß einige Gesundheitsvorteile, erhältlich aus Pflanzenproteinmaterialien, enthaltend wesentliche Mengen von Isoflavonen, nicht zur Verfügung gestellt werden können durch die Isoflavone allein oder das Pflanzenproteinmaterial, wenn das Pflanzenproteinmaterial wesentlich an Isoflavonen erschöpft ist. Aufnahme von Sojaproteinmaterialien, enthaltend wesentliche Mengen von Isoflavonen, ist gezeigt worden, die beträchtlichen Herzkrankheitsfaktoren Gesamtcholesterin und Niedrigdichtelipoprotein Cholesterin (LDL-Cholesterin) in nicht-menschlichen Primaten zu reduzieren, wo es postuliert ist, daß die Sojaisoflavone verantwortlich für bis zu 70% der hypocholesterinämischen Wirkung sind, und es scheint, daß sie die gleiche Wirkung in Menschen mit erhöhten Cholesterinspiegeln haben. Siehe beispielsweise "Meta-Analysis of the Effect of Soy Protein Intake an Serum Lipids", Anderson et al., N. Engl. J. Med., Band 333, Nr. 5, Seite 276–82 (1995). Aufnahme von Tabletten, enthaltend Isoflavone, gereinigt von Soja, ist jedoch gezeigt worden, keine Wirkung auf Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin bei Menopausen- und Perimenopausenfrauen zu haben. "Soy Isoflavones Improve Systemic Arterial Compliance but Not Plasma Lipids in Menopausal and Perimenopausal Women", Nestel et al., Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, Band 17, Nr. 12 (Dez. 1997). In ähnlicher Weise ist Alkohol extrahiertes Sojaprotein, das minimale Mengen von Isoflavonen enthält, gezeigt worden, wenig oder keine Wirkung auf Gesamtcholesterin und LDL Cholesterin zu haben. Siehe Anthony et al., "Soybean Isoflavones Improve Cardiovascular Risk Factors Without Affecting the Reproductive System of Peripubertal Rhesus Monkeys", J. Nutr. 126: 43–50 (1996).

[0010] Bemühungen sind auch gemacht worden, die Gesundheitsvorteile von Isoflavonen, verbleibend in verarbeiteten Pflanzenproteinmaterialien, wie Pflanzenproteinkonzentraten oder Pflanzenproteinisolaten, zu maximieren durch Umwandeln der Isoflavone, die darin verbleiben, in ihre biologisch aktivste Form. Beispielsweise liefert U.S. Patent Nr. 5 637 562 ein Verfahren zum Herstellen eines Aglucon-Isoflavonangereicherten Pflanzenproteinkonzentrats, bei dem Isoflavonglucoside zu dem biologisch aktiveren Aglucon-Isoflavon umgewandelt werden durch enzymatische Spaltung eines Glucosidrestes von den Isoflavonglucosiden. WO 95 105 30 offenbart ein Verfahren zum Herstellen eines Aglucon-Isoflavon angereicherten Pflanzenproteinisolats durch Umwandeln von Isoflavonglucosiden zu Aglucon-Isoflavonen vor Fällen eines Proteinmaterials aus einem Extrakt, enthaltend lösliches Protein und Isoflavone.

[0011] Die gegenwärtige Erfindung liefert ein Verfahren zum Bilden einer Pflanzenproteinzusammensetzung, das umfaßt Dispergieren eines Isoflavon enthaltenen Materials, das ein Pflanzenproteinkonzentrat oder ein Pflanzenproteinisolat ist, in einem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial. Die Pflanzenproteinzusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung hat vorzugsweise ausreichend Isoflavone darin dispergiert, die Pflanzenproteinzusammensetzung wirksam zum Behandeln oder Verhüten von nachteiligen Zielgesundheitszuständen zu machen.

[0012] In noch einem anderen Aspekt liefert die gegenwärtige Erfindung ein Verfahren zum Bilden einer Pflanzenproteinzusammensetzung, bei dem ein Pflanzenmaterial, enthaltend Protein und Isoflavone, mit einem Extraktionsmittel extrahiert wird, wirksam, Isoflavone zu solubilisieren unter Bilden eines Isoflavone enthaltenden Extrakts. Ein an Isoflavon erschöpftes Pflanzenproteinmaterial wird dann von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, abgetrennt, und ein Isoflavon enthaltendes Material wird aus dem Extrakt gebildet. Das Isoflavon enthaltende Material wird dann in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial dispergiert.

[0013] In einer bevorzugtesten Ausführungsform ist das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial ein Alkohol extrahiertes Pflanzenproteinmaterial zum zur Verfügung stellen eines gut schmeckenden Pflanzenproteinmaterials.

[0014] Die Pflanzenproteinzusammensetzung, hergestellt durch die gegenwärtige Erfindung, schließt ein ein an Isoflavon erschöpftes Pflanzenproteinmaterial und ein Isoflavon enthaltendes Material, das in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial dispergiert ist.

AN ISOFLAVON ERSCHÖPFTE PFLANZENPROTEINMATERIALIEN

[0015] An Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterialien, verwendet bei der gegenwärtigen Erfindung, sind Pflanzenproteinmaterialien, die als ein Proteinanreicherungsbestandteil in einem Nahrungsmaterial oder als ein funktioneller Bestandteil in einem Nahrungsmaterial verwendet werden können. Pflanzenproteinmaterialien, die als ein Proteinanreicherungsbestandteil in einem Nahrungsmaterial verwendet werden, schließen Pflanzenproteinmaterialien ein, die verwendet werden, ergänzendes Protein in einem Nahrungsmaterial zu liefern, wie auch Pflanzenproteinmaterialien, die verwendet werden, den Gesamtproteingehalt in einem Nahrungsmaterial zu liefern. Pflanzenproteinmaterialien, die als funktionelle Bestandteile in einem Nahrungsmaterial verwendet werden, schließen ein Pflanzenproteinmaterialien, die verwendet werden, emulgierende Eigenschaften einem Nahrungsmaterial zu liefern, Pflanzenproteinmaterialien, die verwendet werden, Fett, Öle oder Wasser in einem Nahrungsmaterial zu binden, und Pflanzenproteinmaterialien, die verwendet werden, Gelierungseigenschaften einem Nahrungsmaterial zu liefern.

[0016] Die an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterialien, verwendet bei der Erfindung, stammen von Pflanzenmaterialien ab, die Protein und Isoflavone enthalten. Wie hier verwendet, bezieht sich der Ausdruck "an Isoflavon erschöft" auf die Konzentration von Isoflavonen in einem Pflanzenproteinmaterial relativ zu der Konzentration von Isoflavonen in einem Pflanzenmaterial, von dem das Pflanzenproteinmaterial abstammt. Vorzugsweise ist das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial ein Sojaproteinmaterial, ein Lupinenproteinmaterial, ein Hülsenfrüchteproteinmaterial oder ein Erbsenproteinmaterial. Am bevorzugtesten ist das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial ein Sojaproteinmaterial.

[0017] Das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial ist ein Pflanzenproteinkonzentrat oder ein Pflanzenproteinisolat. Wie hier verwendet, hat der Ausdruck "Pflanzenproteinkonzentrat" die gleiche Bedeutung, wie herkömmlicherweise mit dem Ausdruck Pflanzenproteinkonzentrat verbunden ist, ausgenommen, daß das Pflanzenproteinkonzentrat von einem Pflanzenmaterial abstammt, das sowohl Isoflavone wie Protein enthält. Im einzelnen, der Ausdruck Pflanzenproteinkonzentrat, wie hier verwendet, ist ein Material, abstammend von einem Pflanzenmaterial, enthaltend Isoflavone und Protein, durch Waschen oder Extrahieren des Pflanzenmaterials mit einer wäßrigen Lösung mit einem pH bei etwa dem isoelektrischen Punkt des Proteins in dem Pflanzenmaterial oder mit einer Alkohollösung und Trennen der Wasch- oder Extraktlösung von dem Pflanzenmaterial unter zur Verfügung stellen des Pflanzenproteinkonzentrats. Ein Pflanzenproteinkonzentrat, wie bei der Erfindung verwendet, hat einen Trockengewichtproteingehalt von etwa 65% bis etwa 90 Gew.%.

[0018] Wie hier verwendet, hat der Ausdruck "Pflanzenproteinisolat" die gleiche Bedeutung, die herkömmlich mit dem Ausdruck Pflanzenproteinisolat verbunden ist, ausgenommen, daß das Pflanzenproteinisolat von einem Pflanzenmaterial abstammt, das sowohl Isoflavone wie Protein enthält. Im einzelnen, der Ausdruck Pflanzenproteinisolat, wie hier verwendet, bedeutet ein Material, abstammend von einem Pflanzenmaterial, enthaltend Isoflavone und Protein, durch 1) Extrahieren des Pflanzenmaterials mit einem geeigneten Extraktionsmittel, im allgemeinen Wasser oder eine wäßrige alkalische Lösung mit einem pH von etwa 7 bis etwa 11, unter Solubilisieren des Proteins und Isoflavone in dem Extraktionsmittel, 2) Trennen des Extraktionsmittels von unlöslichen Pflanzenmaterialien, 3) Fällen des Proteins von dem abgetrennten Extrakt durch Einstellen des pH des Extrakts auf etwa den isoelektrischen Punkt des Proteins, 4) Trennen des gefällten Proteins aus dem Extrakt und 5) wahlfrei aber vorzugsweise Waschen des abgetrennten Proteins mit Wasser und/oder Alkohol. Ein Pflanzenproteinisolat, wie bei der Erfindung verwendet, hat einen Trockengewichtproteingehalt von mindestens 90 Gew.%.

[0019] Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist das Pflanzenproteinkonzentrat oder Pflanzenproteinisolat ein Alkohol extrahiertes oder gewaschenes Material, weil Alkoholextraktion ein Proteinmaterial liefert, das besonders geeignet für Verwendung in einem Nahrungsmaterial ist. Ein Pflanzenproteinkonzentrat kann mit einer Alkohollösung bei der Bildung des Pflanzenproteinkonzentrats extrahiert werden, oder es kann mit einem Alkohol extrahiert werden, nachdem das Pflanzenproteinkonzentrat durch eine isoelektrische wäßrige Waschung gebildet ist. Ein Pflanzenproteinisolat wird mit einem Alkhol extrahiert oder gewaschen, nachdem es von dem wäßrigen alkalischen Extrakt gefällt und getrennt worden ist. Das Pflanzenproteinkonzentrat oder -isolat wird vorzugsweise mit einem Alkohol vom Nahrungsmittelgrad extrahiert oder gewaschen, am bevorzugtesten mit einer wäßrigen Ethanollösung, enthaltend von 55% bis etwa 90% Ethanol.

ISOFLAVON-ENTHALTENDE MATERIALIEN

[0020] Isoflavon enthaltende Materialien, verwendet bei der gegenwärtigen Erfindung, können Materialien, abgetrennt von einem Pflanzenmaterial, enthaltend Isoflavone sein. Pflanzenmaterialien, enthaltend Isoflavone, schließen ein, sind aber nicht darauf beschränkt, ein oder mehrere der folgenden Pflanzenmaterialien: Sojabohne (Glycine max.), Cicer arietinum (chick pea), Rotklee (Trifolium pratense L.), Trifolium subterraneum (subterranean clover), Erderbse (ground pea), Gemüsepflanze der Gattung Astragalus (milk vetch), Maramabohne (marama bean), Schwertbohne (sword bean), Jackbohne, Küstenschwertbohne (seaside sword bean), caraobean (Caraobohne), Clusterbohne, Balu, Hyazinthbohne (hyacinth bean), Graserbse (grass pea), Indian Vicia (Indian vetch), Gartenerbse, Djenkobohne (djenko bean), Goabohne (goa bean), Yambohne (Yam bean), Breitbohne (broad bean), Erdnuß (earth pea), Linse, Springbohne (jumping bean), Luzerne (Medicago sativa), Velvetbohne (velvet bean), African Johannesbrotbaum (African locust bean), Inga, Cyprus Wicke (Cyprus vetch), Yebnuß (yebnut), Talgbaum (tallow tree), Polynesian Kastanie (Polynesian chestnut), Kuzuwurzel (Pueraria lobata Wurzel), Ölbohnenbaum, Mesquit, Tamarinde, Trigonella foenum-graecum (fenugreek), Indian Lakritze (Indian liquorice), apios d'Amerique (ground nut), und Derivate derartiger Pflanzenmaterialien, einschießlich entfettete Sojaflocken, Sojamehl und Sojaschrotmehl. Am bevorzugtesten wird das Isoflavon enthaltende Material von entweder einem Sojabohnenmaterial oder einem Kleematerial abgetrennt, weil diese Pflanzen besonders hohe Konzentrationen von Isoflavonen enthalten.

[0021] Bei einer Ausführungsform ist ein Isoflavon enthaltendesn Material der Zusammensetzung ein Isoflavon reicher Teil eines Pflanzenmaterials, der von anderen Teilen des Pflanzenmaterials abgetrennt wird. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist das Pflanzenmaterial ein Sojabohnenmaterial, und der Isoflavon reiche Teil des Sojabohnenmaterials, der als das Isoflavon enthaltende Material abgetrennt wird, ist der Hypocotyl des Sojamaterials. Die Hypocotyle von Soja bilden einen geringen Teil des Gesamtgewichts der intakten Sojabohne (annähernd 2%), aber sind reich an Isoflavonen, insbesondere Daidzein. Die Hypocotyle können von intakten Sojabohnen abgetrennt werden durch Enthülsen der Sojabohne und Trennen der Hypocotyle von dem verbleibenden Sojamaterial durch Leiten des Sojamaterials über ein Sieb von ausreichender Porengröße unter Abtrennen der relativ kleinen Hypocotyle von dem verbleibenden Sojamaterial. Das abgetrennte Hypocotylmaterial wird verzugsweise unter Herstellen eines Pulvers gemahlen, das als das Isoflavon enthaltende Material in der Zusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung verwendet werden kann.

[0022] Bei einer anderen Ausführungsform kann ein Isoflavon enthaltendes Material der gegenwärtigen Erfindung ein Extrakt von einer oder mehreren der zuvor aufgeführten Pflanzenmaterialien sein, wobei das (die) Pflanzenmaterial(ien) mit einem Extraktionsmittel extrahiert wird (werden), in dem Isoflavon löslich sind, und der (die) Isoflavone enthaltende Extrakt wird von unlöslichen Pflanzenmaterialien abgetrennt. Bevorzugte Extraktionsmittel zum Bilden des Isoflavon enthaltenden Materialextrakts schließen ein, sind aber nicht darauf beschränkt, Wasser, niedrigmolekulargewichtige Alkohole, einschließlich Methanol, Ethanol, Isopropanol, Propanol, Isobutanol und Butanol, Ethylacetat, Aceton, Acetonitril, Chloroform und Mischungen davon. Am bevorzugtesten ist das Extraktionsmittel ein wäßriges Ethanol- oder wäßriges Methanolextraktionsmittel, enthaltend von etwa 55% bis etwa 90% Alkohol, bezogen auf Volumen.

[0023] Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist das Isoflavon enthaltende Material, verwendet bei der gegenwärtigen Erfindung, ein Derivat von einem oder mehreren der zuvor aufgeführten Extrakte von einem oder mehreren der zuvor aufgeführten Pflanzenmaterialien. Ein Derivat eines Extrakts, wie der Ausdruck hier verwendet wird, bezieht sich auf ein Material, entweder fest oder flüssig, das von einem Extrakt gewonnen werden kann durch Aussetzen des Extrakts Bedingungen, die die physikalische oder chemische Zusammensetzung des Extrakts ändern. Beispielsweise schließt ein Derivat, wie hier verwendet, eine kondensierte Form des Extrakts, einen festen Rückstand, gewonnen aus dem Extrakt, ein gereinigtes Isoflavonmaterial, gewonnen aus dem Extrakt durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ("HPLC"), ein Material, enthaltend Isoflavone, das aus dem Extrakt umkristallisiert wird, oder ein Material, enthaltend Isoflavone, das am dem Extrakt durch

ein anderes Extraktionsmittel extrahiert wird, ein.

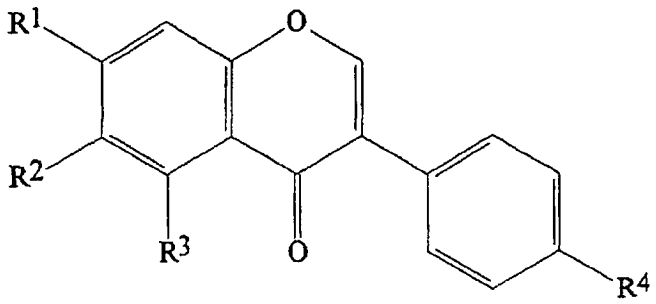
[0024] Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Isoflavon enthaltende Material ein Derivat eines Extrakts eines Pflanzenmaterials, enthaltend Isoflavone, bei dem das Isoflavon enthaltende Material durch Konzentrieren des Extrakts gebildet wird. Das Isoflavon enthaltende Material, gebildet durch Konzentration des Extrakts, kann ein flüssiges oder ein festes Material, abhängig von dem Konzentrationsausmaß des Extrakts, sein. Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Isoflavon enthaltende Material ein konzentrierter wäßriger Alkoholextrakt eines Isoflavon enthaltenden Klees. Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Isoflavon enthaltende Material der Erfindung kondensierte lösliche Sojabestandteile, welches in Übereinstimmung mit dessen herkömmlicher Bedeutung in der Technik verwendet wird.

[0025] Bei noch einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Isoflavon enthaltende Material ein Derivat eines Extrakts eines Isoflavon enthaltenden Pflanzenmaterials, umfassend ein Isoflavon enthaltendes Material, umkristallisiert aus dem Extrakt. Vorzugsweise stammt das umkristallisierte Isoflavon enthaltende Material von einem wäßrigen Alkoholextrakt eines oder mehrerer der zuvor aufgeführten Isoflavon enthaltenden Pflanzenmaterialien ab, wobei das umkristallisierte Isoflavonmaterial aus dem Extrakt gewonnen wird durch Konzentrieren des Extrakts, Kühlen des konzentrierten Extrakts unter Fällen des Isoflavonmaterials und Trennen des gefällte Isoflavon enthaltenden Materials von dem Extrakt.

[0026] Bei noch einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Isoflavon enthaltende Material ein Derivat eines Extrakts eines Isoflavon enthaltenden Pflanzenmaterials, umfassend ein Isoflavon enthaltendes Material, abgetrennt von dem Extrakt durch HPLC oder durch Umkehrphasen HPLC. Das Iosflavon enthaltende Material kann durch HPLC oder Umkehrphasen HPLC abgeleitet werden durch Eluieren eines Extrakts eines Isoflavon enthaltenden Materials durch ein Adsorbensharz, welches lösbar Isoflavon und Verunreinigungen in einer verbindungsspezifischen Weise bindet, mit einem Elutionsmittel, in dem die Isoflavone löslich sind, und Sammeln von Fraktionen von Elutionsmittel, das die Isoflavone enthält. Die Fraktionen von Elutionsmittel, enthaltend die Isoflavone, können unter zur Verfügung stellen eines gereinigten Isoflavon-enthaltenden Materials kombiniert und konzentriert werden. Bei einer bevorzugten Ausführungsform wird das Isoflavon enthaltende Material durch Umkehrphasen HPLC abgeleitet, wobei das Elutionsmittel aus wäßrigem Ethanol oder Methanol, Acetonitril, Ethylacetat, Aceton oder Kombinationen davon ausgewählt ist.

[0027] Die Isoflavone, enthalten in dem Isoflavon enthaltenden Material, sind Isoflavone, die natürlich in den Pflanzenmaterialien enthalten sind, obwohl relative Konzentrationen von Isoflavon Konjugaten, Isoflavonglucosiden und Aglucon-Isoflavonen aus den natürlich auftretenden Konzentrationen dieser Materialien in dem Pflanzenmaterial, von dem die Isoflavone getrennt werden, geändert werden können, entweder durch das Trennverfahren oder durch Verfahren, die spezifisch bestimmt sind, die relativen Konzentrationen dieser Materialien zu ändern. Bei einer bevorzugten Ausführungsform enthält das Isoflavon enthaltende Material mindestens eines der Aglucon Isoflavone, ausgewählt aus Genistein, Daidzein, Glycitein, Biochanin A oder Formononetin oder mindestens eines der Isoflavonglucoside Genistin, Daidzin oder Glycitin, oder mindestens eines der Isoflavonkonjugate 6''-OMal Genistin, 6''-OAc Genistin, 6''-OMal Daidzin, 6''-OAc Daidzin oder 6''-OMal Glycitin oder Mischungen davon, wobei "Mal" "Malonyl" bedeutet, und "Ac" bedeutet "Acetyl". Die Struktur für die Aglucon-Isoflavone, Isoflavonglucoside und Isoflavon Konjugate sind in Formel (I) und (II) im nachfolgenden gezeigt:

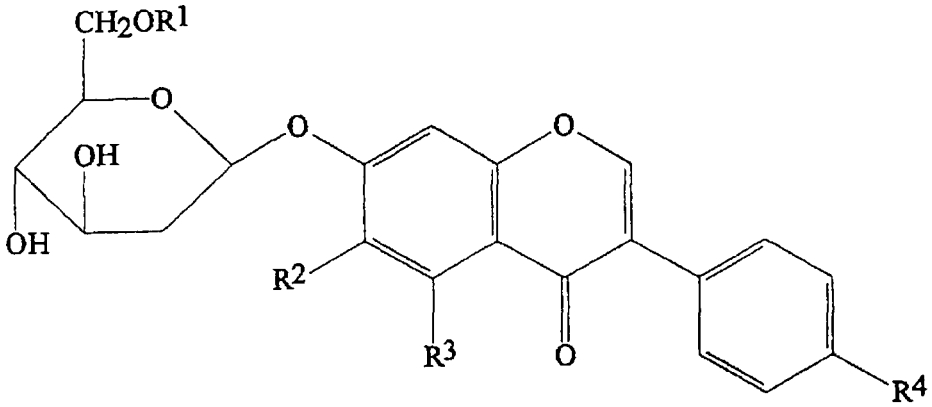
Formel (I)-Aglucon Isoflavon



(I

Verbindung	R^1	R^2	R^3	R^4
Genistein	OH	H	OH	OH
Biochanin A	OH	H	OH	OCH_3
Formononetin	OH	H	H	OCH_3
Daidzein	OH	H	H	OH
Glycitein	OH	OCH_3	H	OH

Formel (II)-Isoflavon Konjugat oder Isoflavonglucosid



(II)

Verbindung	R^1	R^2	R^3	R^4
Genistin	H	H	OH	OH
6"-OMal Genistin	$COCH_2CO_2H$	H	OH	OH
6"-OAc Genistin	$COCH_3$	H	OH	OH
Daidzin	H	H	H	OH
6"-OMal Daidzin	$COCH_2CO_2H$	H	H	OH
6"-OAc Daidzin	$COCH_3$	H	H	OH
Glycitin	H	OCH_3	H	OH
6"-OMal Glycitin	$COCH_3$	OCH3	H	OH

[0028] Isoflavon enthaltende Materialien, verwendet bei der gegenwärtigen Erfindung, können auch enthalten ein synthetisch hergestelltes Isoflavon, vorzugsweise ausgewählt aus der Gruppe aus Genistein, Daidzein, Glycitein, Biochanin A, Formononetin oder deren entsprechenden Glucosiden oder Konjugaten. Das synthetisch hergestellte Isoflavon kann direkt in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial der Zusammensetzung dispergiert werden oder kann in einem herkömmlichen, inerten Träger vom Nahrungsmittelgrad, wie Cellulose, Stärke, Mehl oder anderen gebräuchlich verwendeten Trägern, gemischt werden.

[0029] Genistein kann in Übereinstimmung mit bekannten Syntheseverfahren hergestellt werden, wie durch die Verfahren, zur Verfügung gestellt von Baker et al. [J. Chem. Soc., Seite 3115 (1928)], Narasimhachari et al. [J. Sci. Ind. Res. Band 12, Seite 287 (1953)]; Y oder et al., [Proc. Iowa Acad. Sci., Band 61, Seite 271 (1954)] und Zemplen et al. [Acta. Chim. Acad. Sci. Hung., Band 19, Seite 277 (1959)]. Genistin kann synthetisch durch das Verfahren von Zemplen et al. [Ber., Band 76B, S. 1110 (1943)] hergestellt werden. Die Isoflavon Konjugate von Genistein 6''-OMal Genistein und 6''-OAc Genistein können mithilfe einer herkömmlichen Verseifung von Genistin mit einem Malonyl- oder einem Acetylanhydrid hergestellt werden.

[0030] Daidzein kann synthtisch hergestellt werden durch die Verfahren, zur Verfügung gestellt von Baker et al. [J. Chem. Soc., Seite 274 (1933)], Wesley et al. [Ber. Band 66, Seite 685 (1933)], Mahal et al. [J. Chem. Soc., Seite 1769 (1934)], Baker et al. [J. Chem. Soc., S. 1852 (1953)] oder Farkas [Ber. Band 90, S. 2940 (1957)]. Daidzin kann synthetisch hergestellt werden durch das Verfahren von Farkas et al. [Ber., Band 92, S. 819 (1959)]. Die Daidzein Isoflavon Konjugate 6''-OMal Daidzin und 6''-OAc Daidzin können mithilfe einer herkömmlichen Verseifung von Daidzin mit einem Malonyl- oder einem Acetylanhydrid hergestellt werden.

[0031] Formononetin kann synthetisch durch die Verfahren, zur Verfügung gestellt von Wessely et al. [Ber. Band 66, Seite 685 (1933)] oder Kagel et al. [Tet. Letters, S. 593 (1962)], hergestellt werden.

[0032] Die Pflanzenproteinzusammensetzung enthält ausreichend Isoflavon enthaltendes Material, dispergiert in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial, unter zur Verfügung stellen von nützlichen Gesundheitsvorteilen einem Menschen, der eine Portion eines Nahrungsmittels oder Getränks, das die Pflanzenproteinzusammensetzung enthält, verbraucht. Vorzugsweise enthält die Pflanzenproteinzusammensetzung die minimale Menge von Isoflavon enthaltendem Material, die notwendig ist, derartige Vorteile zu liefern. Vorzugsweise enthält die Pflanzenproteinzusammensetzung von etwa 2,5 mg bis 100 mg Gesamtisoflavone pro Gramm an Isoflavon erschöpftem Pflanzenproteinmaterial, oder von etwa 1,5 mg bis 85 mg Aglucon-Isoflavone pro Gramm an Isoflavon erschöpftem Pflanzenproteinmaterial.

LIEFERN EINES AN ISOFLAVON ERSCHÖPFTEN PFLANZENPROTEINMATERIALS

[0033] Ein an Isoflavon erschöpftes Pflanzenproteinmaterial wird zur Verfügung gestellt durch: zur Verfügung stellen eines Pflanzenmaterials, enthaltend Protein und Isoflavone, und Trennen eines Proteinmaterials von dem Pflanzenmaterial in einer Weise, die die Menge von Isoflavonen in dem Proteinmaterial relativ zu der anfänglichen Konzentration von Isoflavonen in dem Pflanzenmaterial reduziert. Pflanzenmaterialien, die Protein und Isoflavone enthalten, schließen ein Sojabohnen, Sojabohnenderivate, wie Vollfett- und entfettete Sojaflocken, Sojamehl, Sojagries und Sojaschrotmehl, Ölsamen, wie Rapssamen, Lupine, Hülsenfrüchte und einige Mannigfaltigkeiten von Erbsen und Bohnen, einschließlich Erderbse (ground pea), Cicer arietinum (chick pea), Graserbse (grass pea), Gartenerbse, Erdnuß (earth pea), Marambohne (marama bean), Schwertbohne (sword bean), Jackbohne, Caraobohne (carao bean), Clusterbohne (cluster bean), Hyazinthbohne (hyacinth bean), Djenkobohne (djenko bean), Goabohne (goa bean), Yambohne (yam bean), Breitbohne (broad bean), Springbohne (jumping bean) und Velvetbohne (velvet bean). Die Pflanzenmaterialien, die Protein und Isoflavone enthalten, können in einer verarbeiteten Form, wie Mehl, Gries, Schrotmehl oder Flocke, sein.

[0034] Das Proteinmaterial kann von dem Pflanzenmaterial in irgendeiner Weise, die ein Material liefert, das eine größere Konzentration von Protein, bezogen auf Gewicht, enthält, als das Pflanzenmaterial, und die die Menge von Isoflavonen in dem abgetrennten Proteinmaterial relativ zu dem Pflanzenmaterial reduziert, abgetrennt werden. Es ist besonders bevorzugt, daß herkömmliche Verfahren zum Bilden von Pflanzenproteinkonzentraten und Pflanzenproteinisolaten verwendet werden unter zur Verfügung stellen des an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterials.

[0035] Ein an Isoflavon erschöpftes Pflanzenproteinkonzentrat kann durch Waschen eines Pflanzenmaterials, enthaltend Protein und Isoflavone, mit einer wäßrigen Lösung mit einem pH bei etwa dem isoelektrischen Punkt des Proteins oder mit einer Alkohollösung zur Verfügung gestellt werden. Vorzugsweise ist das anfängliche Pflanzenmaterial ein verarbeitetes Pflanzenmaterial, das in eine Flocke oder Schrotmehl gebildet worden ist und verarbeitet worden sein kann unter Entfernen von Fett aus dem Pflanzenmaterial. Die Waschung entfernt lösliche Kohlehydrate, Isoflavone, Asche und andere Materialien von dem Pflanzenmaterial.

[0036] Wenn eine wäßrige Waschung verwendet wird, kann die Waschung durch Einstellen des pH des Wassers auf etwa den isoelektrischen Punkt des Proteins mit einem geeigneten sauren oder basischen Reagenz hergestellt werden. Typischerweise tritt der isoelektrische Punkt des Proteins bei einem mild sauren pH auf, und vorzugsweise wird eine wäßrige Lösung auf etwa den isoelektrischen Punkt mit einer Mineralsäure vom

Nahrungsgrad, wie Salzsäure, eingestellt.

[0037] Wenn eine Alkoholwaschung verwendet wird, sollte die Alkoholwaschung ein Reagenz vom Nahrungsmittelgrad sein und ist vorzugsweise eine wäßrige Ethanollösung. Eine wäßrige Ethanollösung kann etwa 55% bis etwa 90% Ethanol, bezogen auf Volumen, enthalten. Eine Alkoholwaschung ist die bevorzugte Waschung zum Bilden des an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinkonzentrats, weil Pflanzenproteinkonzentrate, gebildet durch Alkoholwaschen, im allgemeinen einen besseren Geschmack als Pflanzenproteinkonzentrate, gebildet durch wäßriges Waschen haben.

[0038] Das Pflanzenmaterial sollte mit ausreichend Waschlösung in Kontakt gebracht werden, ein Pflanzenproteinkonzentrat, das vorzugsweise zwischen 65% und 90% Potein, bezogen auf Trockengewicht, enthält, zu bilden. Das Gewichtsverhältnis von Waschlösung zu Pflanzenmaterial kann von etwa 2:1 bis etwa 20:1 und vorzugsweise von etwa 5:1 bis etwa 10:1 sein. Vorzugsweise wird das Pflanzenmaterial in der Waschlösung für eine Zeitdauer gerührt, Entfernung von Materialien, löslich in der Waschlösung, von dem Pflanzenmaterial zu erleichtern. Die Waschlösung wird dann von dem Pflanzenmaterial unter zur Verfügung stellen des Pflanzenproteinkonzentrats dekantiert.

[0039] Ein an Isoflavon erschöpftes Pflanzenproteinisolat kann zur Verfügung gestellt werden durch Extrahieren eines Pflanzenmaterials, enthaltend Isoflavone und Protein, mit Wasser oder einem wäßrigen alkalischen Extraktionsmittel unter Solubilisieren von Protein und Isoflavonen in dem Extraktionsmittel, Trennen des Extrakts von unlöslichen Pflanzenmaterialien, wie Pflanzenfasern, Fällen des Proteins aus dem Extrakt durch Einstellen des pH des Extrakts auf etwa den isoelektrischen Punkt des Proteins und Trennen des gefällten Proteins vom Extrakt. Wiederum ist es bevorzugt, daß das anfängliche Pflanzenmaterial ein verarbeitetes Pflanzenmaterial ist, das in eine Flocken- oder Schrotmehlform gebildet worden ist und wahlfrei entfettet worden ist.

[0040] Das Extraktionsmittel ist vorzugsweise eine wäßrige Lösung mit einem pH von etwa 7 bis etwa 11. Herkömmliche alkalische Reagenzien können gewünschtenfalls verwendet werden, den pH des Extraktionsmittels zu erhöhen, und bevorzugte alkalische Reagenzien schließen Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid und Ammoniumhydroxid ein. Es ist am bevorzugtesten, daß das Extraktionsmittel einen pH von etwa 9 bis etwa 10 hat, weil Protein in dem Pflanzenmaterial löslicher in wäßrigen Lösungen mit einem relativ hohen pH ist. Übermäßig alkalische Extraktionsmittel, beispielsweise mit einem pH über 11, sind zu vermeiden, weil hoch alkalische Bedingungen die Bildung von toxischen Lysinalaninverbindungen aus dem Protein verursachen können.

[0041] Das Gewichtsverhältnis von Extraktionsmittel zu Pflanzenmaterial sollte ausreichend sein, eine wesentliche Menge des Proteins aus dem Pflanzenmaterial zu extrahieren. Vorzugsweise beträgt das Gewichtsverhältnis von Extraktionsmittel zu Pflanzenmaterial von etwa 4:1 bis etwa 20:1 und bevorzugter von etwa 8:1 bis etwa 16:1.

[0042] Die Extraktion kann mittels herkömmlicher Extraktionsverfahren durchgeführt werden. Bei einer Ausführungsform wird die Extraktion durch ein Gegenstromextraktionsverfahren durchgeführt. Bei einer anderen Ausführungsform ist die Extraktion eine Doppelextraktion, wobei das Pflanzenmaterial mit einem ersten Volumen von Extraktionsmittel extrahiert wird und dann mit einem zweiten Volumen von Extraktionsmittel extrahiert wird, und die ersten und zweiten Extraktionsvolumen werden vereinigt.

[0043] Das Extraktionsmittel wird von dem Pflanzenmaterial nach der Extraktion abgtrennt unter Abrennen des solubilisierten Proteins von unlöslichen Pflanzenmaterialien, wie Pflanzenfasern, Cellulose und unlösliche Hemicellulosen. Das Extraktionsmittel kann in einer herkömmlichen Weise von den unlöslichen Pflanzenmaterialien abgetrennt werden, wie Dekantierung, Zentrifugation und Entfernung des Überstandes von unlöslichen Materialien oder Filtration.

[0044] Nachdem das Extraktionsmittel von den unlöslichen Pflanzenmaterialien abgetrennt ist unter Bilden eines Extrakts, enthaltend solubilisiertes Protein, wird das Protein in dem Extrakt aus dem Extrakt durch Einstellen des pH des Extrakts auf etwa den isoelektrischen Punkt des Proteins gefällt. Typischerweise ist der isoelektrische Punkt des Proteins bei einem mild sauren pH, beispielsweise hat Sojaprotein einen isoelektrischen Punkt bei pH 4,5, so wird der pH des Extrakts eingestellt durch Hinzufügen einer ausreichenden Menge eines sauren Reagenzes zu dem Extrakt unter Fällen des Proteins. Bevorzugte saue Reagenzien sind Mineralsäuren von Nahrungsmittelgrad, wie Salzsäure und Phosphorsäure.

[0045] Das gefällte Protein wird dann von dem Extrakt unter Bilden des an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinisolats abgetrennt. Trennung des Proteins von dem Extrakt trennt das Prtein von einem beträchtlichen

Teil der Isoflavone, weil ein beträchtlicher Teil der Isoflavon in dem Extrakt bei dem isoelektrischen Punkt des Proteinmaterials löslich ist. Die Trennung kann durch herkömmliche Mittel zum Trennen eines festen Materials von einer Flüssigkeit, wie Zentrifugation und Dekantierung des Überstandes oder Filration, bwirkt werden. Das abgetrennte Proteinisolat enthält mindestens 90% Protein, bezogen auf Gewicht.

[0046] Das abgetrennte an Isoflavon erschöpfte Proteinisolat kann mit Wasser oder einer Alkohollösung unter weiterem Entfernen von Wasser oder Alkohol löslichen Materialien, die in dem Proteinisolat verbleiben, gewaschen werden. Das Gewichtsverhältnis der Waschung zu dem Poteinisolatmaterial ist vorzugsweise von etwa 2:1 bis etwa 15:1, und das Proteinmaterial kann mehrfach gewaschen werden, Entfernung von Verunreinigungen zu gewährleisten. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist die Waschung eine wäßrige Ethanolwaschung mit einem Ethanolgehalt von 55% bis ewa 90%, weil Alkoholwaschen von Pflanzenproteinmaterialien im allgemeinen ein Proteinmaterial mit besserem Geschmack als Wasserwaschen liefert.

ZUR VERFÜGUNG STELLEN EINES ISOFLAVON ENTHALTENDEN MATERIALS

[0047] Ein Isoflavon enthaltendes Material kann zur Verfügung gestellt werden durch Trennen des Isoflavon enthaltenden Materials von einem Pflanzenmaterial, enthaltend Isoflavon. Wenn synthetisch hergestellte Isoflavon in dem Isoflavon enthaltenden Material einzuschließen sind, kann eines der zuvor angegebenen Verfahren für synthetisches Herstellen von Isoflavonverbindungen verwendet werden unter Liefern des (der) Isoflavone.

[0048] Ein Pflanzenmaterial, enthaltend Isoflavone, wird zur Verfügung gestellt. Eine nicht auschließliche Liste von einigen Pflanzenmaterialien, enthaltend Isoflavone, ist zuvor angegeben.

[0049] Das Pflanzenmaterial kann hergestellt werden für Trennung des Isoflavon enthaltenden Materials durch Verarbeiten des Pflanzenmaterials, wodurch die Isoflavone einem Extraktionsmittel leicht zugänglich gemacht werden. Das Pflanzenmaterial kann verarbeitet werden durch Mahlen oder Zerkleinern der Pflanze und durch Entfernen von Pflanzenverbindungen, die mit Trennung der Isoflavone interferieren können. Beispielsweise kann ein Sojabohnenmaterial gemahlen werden und dann entfettet werden durch Extraktion mit Hexanen unter Herstellen des Pflanzenmaterials für Abtrennung eines Isoflavon enthaltenden Materials. Blättrige Pflanzen, die wesentliche Mengen von Isoflavonen in ihren Blättern enthalten, wie Klee, dürfen nicht vor Trennung des Isoflavon enthaltenden Materials gemahlen oder zerkleinert werden, es ist jedoch bevorzugt, daß irgendein Pflanzenmaterial vor Trennung des Isoflavon enthaltenden Materials zerkleinert wird.

[0050] Ein Isoflavon enthaltendes Material wird von dem Pflanzenmaterial durch Extrahieren des Pflanzenmaterials mit einem Extraktionsmittel, in dem die Isoflavone mindestens teilweise löslich sind, abgetrennt. Bevorzugte Extraktionsmittel schließen ein, sind aber nicht darauf beschränkt: Wasser, niedrigmolekulargewichtige Alkohole, einschließlich Methanol, Ethanol, Isopropylalkohol, Propanol, Isobutylalkohol und Butanol, Ethylacetat, Aceton, Acetonitril, Chloroform und Mischungen davon. Besonders bevorzugte Extraktionsmittel sind wäßrige Methanol- und wäßrige Ethanollösungen, enthaltend von etwa 55% bis etwa 90% Alkohol, bezogen auf Volumen.

[0051] Die Extraktion kann mittels herkömmlicher Extraktionsverfahren durchgeführt werden. Bei einer Ausführungsform werden das Pflanzenmaterial und das Extraktionsmittel für eine Dauer von 30 Minuten bis 24 Stunden bei Raumtemperatur (22°C) unter Bewirken der Extraktion der Isoflavone in das Extraktionsmittel zusammengerührt. Bei einer anderen Ausführungsform werden die Isoflavone extrahiert durch Erhitzen des Pflanzenmaterials und des Extraktionsmittels für eine Dauer von etwa 15 Minuten bis etwa 5 Stunden bei einer Temperatur von etwa 35°C bis zu der Rückflußtemperatur des Extraktionsmittels. Bei einer bevorzugten Ausführungsform wird das Pflanzenmaterial unter Rückfluß in einer 60% bis 85% wäßrigen Methanollösung für eine Dauer von etwa 1 Stunde bis etwa 2 Stunden bei einer Temperatur von etwa 60°C bis etwa 70°C unter Extrahieren der Isoflavone in die wäßrige Methanollösung erhitzt. Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird das Pflanzenmaterial unter Rückfluß in einer 60%–85% wäßrigen Ethanollösung für eine Dauer von etwa 1 Stunde bis etwa 2 Stunden bei einer Temperatur von etwa 70°C bis etwa 80°C unter Extrahieren der Isoflavone in die wäßrige Ethanollösung erhitzt.

[0052] Das Extraktionsmittel, enthaltend die Isoflavone, kann dann von dem Pflanzenmaterial abgetrennt werden unter zur Verfügung stellen eines Isoflavon enthaltenden Materials, welches in dem zur Verfügung gestellten an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial dispergiert werden kann unter Liefern der Pflanzenproteinzusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung. Die Trennung kann durch herkömmliche Verfahren unter Trennen eines festen Materials von einem flüssigen Material bewirkt werden. Bei einer Ausführungsform

werden das Extraktionsmittel und das Pflanzenmaterial zentrifugiert, und der überstehende Isoflavon enthaltende Extrakt kann aus dem Pflanzenmaterial dekantiert werden. Bei einer anderen Ausführungsform werden das Extraktionsmittel und das Pflanzenmaterial getrennt durch Filtrieren des Pflanzenmaterials von dem Extraktionsmittel und Sammeln des Isoflavon angereicherten Extrakts als das Filtrat.

[0053] Der Isoflavon angereicherte Extrakt kann weiterem Verarbeiten unter Herstellen eines Isoflavon enthaltenden Materials, abstammend von dem Extrakt, ausgesetzt werden. Bei einer Ausführungsform der Erfindung kann der Isoflavon angereicherte Extrakt konzentriert werden durch Entfernen von etwas oder allem des Extraktlösungsmittels unter Herstellen eines konzentrierten Derivats des Extrakts. Der Isoflavon angereicherte Extrakt kann mittels herkömmlicher Verfahren konzentriert werden. Beispielsweise kann der Extrakt konzentriert werden durch Erhitzen unter Verdampfen des Extraktlösungsmittels, indem er unter vermindertem Druck für eine ausreichende Zeit gesetzt wird, etwas oder alles des Extraktlösungsmittels zu entfernen, oder vorzugsweise durch eine Kombination von beiden.

[0054] Ein umkristallisiertes Isoflavon enthaltendes Material kann auch von dem Isoflavon angereicherten Extrakt abstammen. Zuerst kann der Extrakt, wie zuvor beschrieben, konzentriert werden. Dann kann wahlfrei kaltes Wasser, vorzugsweise mit einer Temperatur von etwa 4°C bis etwa 20°C, zu dem kondensierten Extrakt hinzugefügt werden. Wenn Wasser zu dem kondensierten Extrakt hinzugefügt wird, ist das Gewichtsverhältnis des zu dem kondensierten Extrakt hinzugefügten Wassers vorzugsweise von etwa 0,5:1 bis etwa 4:1. Der Extrakt wird dann auf etwa 0°C bis etwa 20°C abgeschreckt unter Ermöglichen, daß das Isoflavon enthaltende Material kristallisiert. Das umkristallisierte Isoflavon enthaltende Material kann dann durch konventionelle Verfahren zum Abtrennen eines festen Materials von einer Flüssigkeit gewonnen werden und wird vorzugsweise von dem verbleibenden Extrakt filtriert.

[0055] Ein hoch gereinigtes Isoflavon enthaltendes Material kann auch von dem Isoflavon angereicherten Extrakt durch Chromatographie abgeleitet werden, vorzugsweise durch HPLC. Der Extrakt kann gewünschtenfalls konzentriert werden, oder der Extrakt kann ohne anschließende Konzentration verwendet werden. Der Extrakt oder konzentrierte Extrakt wird anfänglich filtriert unter Entfernen von unlöslichem Material, das eine HPLC Säule verstopfen könnte. Vorzugsweise wird der Extrakt filtriert, indem er durch ein Whatman Nr. 5 Filter und dann durch ein 0,45 µ Filter geleitet wird.

[0056] Eine HPLC Säule wird hergestellt durch Packen einer konventionellen kommerziell erhältlichen HPLC Säule mit einem teilchenförmigen Adsorbensmaterial, fähig zum lösbaren Binden von Isoflavonen und Nicht-Isoflavon Verunreinigungen in einer verbidnungsspezifischen Weise. Das Adsorbensmaterial kann irgendein Umkehrphasen HPLC Packmaterial sein, jedoch kann ein bevorzugtes Packmaterial auf der Basis von Beladungskapazität, Trennwirksamkeit und Kosten gewählt werden. Ein derartiges bevorzugtes Packmaterial ist Kromasil C18 16 µm 100 Å Kugeln, erhältlich von Eka Nobel, Nobel Industries, Schweden.

[0057] Der filtrierte Extrakt oder konzentrierte Extrakt kann dann durch die gepackte HPLC Säule geleitet werden, bis alle Bindungsstellen der Säule vollständig mit Isoflavonen gesättigt sind, was durch das Vorkommen von Isoflavonen in dem Ausfluß von der Säule nachgewiesen wird. Die HPLC Säule kann dann mit einem Elutionsmittel, wie wäßriger Alkohol, Acetonitril, Ethylacetat, Aceton, Wasser oder einer Kombination davon eluiert werden unter Bewirken der Trennung der Isoflavon von anderen Verbindungen in dem Extrakt.

[0058] Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist das Elutionsmittel eine wäßrige Ethanollösung. Das wäßrige Ethanol kann einen Alkoholgehalt zwischen etwa 10% und 90% Alkohol, bezogen auf Volumen, haben. Wenn eine einzelne Konzentration von Ethanol als das Elutionsmittel verwendet wird, hat das wäßrige Ethanol vorzugsweise einen Alkoholgehalt von etwa 50%, bezogen auf Volumen. Es ist jedoch bevorzugter, einen stufenweisen Gradienten von Elutionsmitteln zu verwenden, wo die Säule anfänglich mit einem wäßrigen Ethanolelutionsmittel mit einem niedrigen Alkoholgehalt eluiert wird, gefolgt von aufeinanderfolgenden wäßrigen Ethanolelutionsmitteln, enthaltend größeren Alkoholgehalt. Beispielsweise kann ein erstes Elutionsmittel eine 20% wäßrige Ethanollösung sein, ein zweites Elutionsmittel kann eine 50% wäßrige Ethanollösung sein, und ein Endelutionsmittel kann eine 80% wäßrige Ethanollösung sein.

[0059] Fraktionen des Isoflavon enthaltenden Materials werden aus dem Säulenausfluß gesammelt. Die Fraktionen von Ausfluß, enthaltend Isoflavon, werden identifiziert, vorzugsweise durch UV Absorption bei 262 nm, und von Fraktionen des Ausflusses getrennt, die Nicht-Isoflavonmaterialien enthalten. Die gesammelten Fraktionen des Isoflavon enthaltenden Materials werden dann vereinigt unter zur Verfügung stellen eines gereinigten Isoflavon enthaltenden Materials. Der Ausfluß in den vereinigten Fraktionen von Isoflavon enthaltenden Materialien kann durch Hitze, durch reduzierten Druck oder durch eine Kombination davon unter Herstel-

len eines festen gereinigten Isoflavon enthaltenden Materials verdampft werden.

DISPERGIEREN DES ISOFLAVON ENTHALTENDEN MATERIALS IN DEM AN ISOFLAVON ERSCHÖPFTEN PFLANZENPROTEINMATERIAL

[0060] Das Isoflavon enthaltende Material kann in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial gemäß herkömmlichen Verfahren dispergiert werden. Wenn das Isoflavon enthaltende Material eine Flüssigkeit ist, kann das Isoflavon enthaltende Material auf das Pflanzenproteinmaterial gesprüht werden, wenn das Pflanzenproteinmaterial gerührt wird. Vorzugsweise wird ein flüssiges, Isoflavon enthaltenden Material atomisiert, wenn es auf das Pflanzenproteinmaterial gesprüht wird. Ein flüssiges, Isoflavon enthaltendes Material kann auch in das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial gegossen werden und mit dem Proteinmaterial zusammengemischt werden.

[0061] Wenn das Isoflavon enthaltende Material ein Feststoff ist, wird das feste Material vorzugsweise in ein Pulver gemahlen, bevor das Material in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial dispergiert wird. Das Pulver kann dann direkt mit dem Pflanzenproteinmaterial gemischt werden. Das an Isoflavon angereicherte Pulvermaterial und das Pflanzenproteinmaterial werden vorzugsweise unter einheitlichem Dispergieren des Isoflavon enthaltenden Materials in dem Proteinmaterial zusammengerührt.

[0062] Wenn das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial in einer Flüssigkeit dispergiert wird, entweder als eine Aufschlämmung oder eine Lösung, kann das Isoflavon enthaltende Material, ob flüssig oder fest, hinzugefügt werden und gemischt werden in der Aufschlämmung oder Lösung von an Isoflavon erschöpftem Pflanzenproteinmaterial. Vorzugsweise wird das Isoflavon enthaltende Material in einer Aufschlämmung oder Lösung von an Isoflavon erschöpftem Pflanzenproteinmaterial gemischt, indem die Mischung beispielsweise mit einer Rührschaufel gerührt wird.

[0063] Bei einer anderen Ausführungsform kann ein festes, Isoflavon enthaltendes Material mit einem flüssigen Dispergiermittel, vorzugsweise Sojaöl oder Lecithin, gemischt werden und auf das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial aufgetragen werden. Das flüssige Dispergiermittel, das das Isoflavon enthaltende Material enthält, kann angewendet werden durch direktes Hinzufügen des flüssigen Dispergiermittels zu dem Pflanzenproteinmaterial und Mischen beispielsweise mit einem Bandmischer oder durch Sprühen des flüssigen Dipergiermittels auf das Pflanzenproteinmaterial, während das Proteinmaterial gerührt wird.

[0064] Bei einem anderen Aspekt ist die gegenwärtige Erfindung ein Verfahren zum Bilden einer Pflanzenproteinzusammensetzung, enthaltend ein an Isoflavon erschöpftes Pfanzenproteinmaterial und ein Isoflavon enthaltendes Material, wobei das an Isoflavon erschöpfte Pflanzenproteinmaterial und das Isoflavon enthaltende Material von dem gleichen Pflanzenmaterial abstammen. Das Verfahren schließt ein die Stufen von zur Verfügung stellen eines Pflanzenmaterials, enthaltend Protein und Isoflavone, Extrahieren des Pflanzenmaterials mit einem Extraktionsmittel, wirksam, Isoflavone zu solubilisieren unter Bilden eines Extrakts, enthaltend Isoflavone, Abtrennen eines an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterials von dem Isoflavone enthaltenden Extrakt, Bilden eines Isoflavon enthaltenden Materials aus dem Extrakt und Dispergieren des Isoflavon enthaltenden Materials in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial.

[0065] Ein Pflanzenmaterial, enthaltend Protein und Isoflavone, wird zur Verfügung gestellt, vorzugsweise durch Auswählen eines Pflanzenmaterials aus den zuvor aufgeführten Pflanzenmaterialien, die Isoflavone und Protein enthalten. Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist das Pflanzenmaterial ein Sojabohnenmaterial, einschließend verarbeitete oder unverarbeitete Sojabohnenmaterialien. Bei einer bevorzugtesten Ausführungsform ist das Pflanzenmaterial eine Sojaflocke, Sojamehl oder Sojaschrotmehl Material.

[0066] Das Pflanzenmaterial wird mit einem Extraktionsmittel extrahiert, das wirksam ist, Isoflavone zu solubilisieren, wobei eine nicht ausschließliche Liste derartiger Extraktionsmittel zuvor zur Verfügung gestellt ist. Bei einer Ausführungsform wird das Pflanzenmaterial mit einem Extraktionsmittel, wie zuvor bei dem Verfahren zum Bilden eines Planzenproteinkonzentrats beschrieben, extrahiert, wobei die Isoflavone in dem Extraktionsmittel enthalten sind, und das Protein ist in dem Extraktionsmittel unlöslich. Bei einer anderen Ausführungsform wird das Pflanzenmaterial mit einem Extraktionsmittel extrahiert, wie zuvor beschrieben bei dem Verfahren zum Bilden eines Pflanzenproteinisolats, wobei die Isoflavone und Protein in dem Extraktionsmittel enthalten sind und von Pflanzenmaterialien abgetrennt werden, die in dem Extraktionsmittel unlöslich sind.

[0067] Ein an Isoflavon erschöpftes Pflanzenproteinmaterial wird dann von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, abgetrennt. Bei einer Ausführungsform ist das an Isoflavon erschöpfte Material ein Pflanzenproteinkon-

zentrat, das von dem Extrakt oder Waschung, enthaltend die Isoflavone, wie zuvor beschrieben im Hinblick auf Pflanzenproteinkonzentrate abgetrennt wird. Bei einer anderen Ausführungsform ist das an Isoflavon erschöpfte Material ein Pflanzenproteinisolat, das von dem Extrakt, enthaltend Isoflavone, abgetrennt wird durch Fällen des Pflanzenproteinmaterials aus dem Extrakt und Trennen des gefällten Proteinmaterials von dem Extrakt, wie zuvor beschrieben im Hinblick auf Pflanzenproteinisolate.

[0068] Ein Isoflavon enthaltendes Material wird dann aus dem Extrakt gebildet. Das Isoflavon enthaltende Material ist ein Derivat des Extrakts, wobei das Isoflavon enthaltende Material von dem Extrakt abgeleitet werden kann durch Konzentrieren des Extrakts, Umkristallisieren des Isoflavon enthaltenden Materials aus dem Extrakt oder Reinigen des Isoflavon enthaltenden Materials aus dem Extrakt, wie zuvor beschrieben im Hinblick auf zur Verfügung stellen eines Isoflavon enthaltenden Materials aus einem Extrakt. Bei dieser Ausführungsform der Erfindung sollte das Isoflavon enthaltende Material nicht der Extrakt selbst sein, weil Rekombinieren des Extrakts mit dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenproteinmaterial, gebildet durch die Exraktion, alle Komponenten des anfänglichen Pflanzenmaterials rekombiniert und nicht zu einem Planzenproteinmaterial mit verbessertem Geschmack oder funktionellen Eigenschaften führt.

[0069] Das Isoflavon enthaltende Material kann dann in dem an Isoflavon erschöpften Pflanzenprotenmaterial dispergiert werden Das Isoflavon enthaltende Material kann in dem Pflanzenproteinmaterial, wie zuvor beschrieben, dispergiert werden.

[0070] Die Pflanzenproteinzusammensetzung, hergestellt durch die gegenwärtige Erfindung, kann in einer Mannigfaltigkeit von Nahrungsmitteln verwendet werden unter zur Verfügung stellen von Nährverstärken und funktionellen Eigenschaften. Beipielsweise kann die Pflanzenproteinzusammensetzung zu Nahrungsmitteln, einschließend aber nicht darauf beschränkt, Fleisch, wie Hackfleisch, emulgiertes Fleisch, mariniertes Fleisch, Getränke, wie Nährgetränke, Sportgetränke, Protein verstärkte Getränke, Säfte, Milch, Milchalternatien und Gewichtsverlustgetänke, Nährspeiseriegel, Käse, wie Hart- und Weichkäse; Cremekäse und Quarkkäse, gefrorene Desserts, wie Eiskrem, Eismilch, geforenen Niedrigfettdesserts und gefrorene Nicht-Molkerei-Desserts, Joghurts, Suppen, Puddings, Bäckereiprodukte, Salatdressings und Dips und Aufstriche, wie Majonnaise und Pommes frites Dips, hinzugefügt werden.

[0071] Die folgenden Formulierungen 1–4 veranschaulichen Nahrungsmittel oder Getränke, die gebildet werden können unter Verwenden einer Pflanzenproteinzusammensetzung, hergestellt durch die gegenwärtige Erfindung. Die in den Formulierungen verwendete Pflanzenproteinzusammensetzung ist Sojaproteinisolat mit einem darin dispergierten Isoflavon enthaltenden Material, wobei das Isoflavon enthaltende Material mehrere der Isoflavonverbindungen von Formel I und/oder Formel 2 enthält. Die Pflanzenproteinzusammensetzung in den folgenden Beispielen enthält typischerweise zwischen etwa 2,5 bis etwa 5 Milligamm Gesamtisoflavone pro Gramm Protein.

FORMULIERUNG 1

FERTIGGETRÄNK

[0072] Ein Fertiggetränk wird aus den folgenden Komponenten gebildet:

Bestandteil	Prozent Zusammensetzung, bezogen auf Gewicht
Wasser	80–85
Planzenproteinzusammensetzung	10–15
Sucrose	5–8
Kakao	0,1–1
Vitamine/Mineralien	0,1–1
Aroma	0,1–1
Cellulosegel	0,1–0,5

[0073] Das Fertiggetränk kann in 8 Unze Portionen, enthaltend etwa 20 Gramm der Planzenproteinzusammensetzung, einschließend etwa 50 bis etwa 100 Milligramm der Isoflavonverbindungen, serviert werden.

FORMULIERUNG 2

PULVERGETRÄNK

[0074] Ein Pulvergetränk wird aus den folgenden Komponenten gebildet:

Bestandteil	Prozent Zusammensetzung, bezogen auf Gewicht
Pflanzenproteinzusammensetzung	85–90
Sucrose	8–15
Maltodextrin	1–5
Vitamine/Mineralien	0,5–2
Aspartam	0–0,5
Aroma	0–0,5

[0075] 30 Gramm der Pulvergetränkformulierung können zu Wasser hinzugefügt werden unter Bilden einer Portion, enthaltend etwa 25 Gramm der Pflanzenproteinzusammensetzung, einschließend etwa 62 bis etwa 125 Milligramm der Isoflavonverbindungen.

FORMULIERUNG 3

NÄHRSTOFFRIEGEL

[0076] Ein Nährstoffriegel wird aus den folgenden Komponenten gebildet

Bestandteil	Prozent Zusammensetzung, bezogen auf Gewicht
Pflanzenproteinzusammensetzung	20–30
Maisstärkezuckersirup	35–45
Reissirupfeststoffe	7–14
Glycerin	1–5
Kakao	2–7
Mischungsüberzug	15–25

[0077] Der Nährstoffriegel kann in 70 Gramm Portionen, enthaltend etwa 15 Gramm der Pflanzenproteinzusammensetzung mit etwa 37 bis etwa 75 Milligramm der Isoflavonverbindungen darin, serviert werden.

FORMULIERUNG 4

JOGHURT

[0078] Ein Joghurt wird aus den folgenden Komponenten gebildet:

Bestandteil	Prozent Zusammensetzung, bezogen auf Gewicht
Wasser	65–75
Planzenproteinzusammensetzung	5–15
Sucrose	3–8
Maisstärke	1–5
Dextrin	0,3–1
Cellulosegel	1–3
Kultur (Joghurt)	0,01–0,1
Frucht	10–20
Vitamine/Mineralien	0,05–0,3

[0079] Der Joghurt kann in einer 170 Gramm Portion, enthaltend etwa 8 Gramm der Pflanzenproteinzusam-

mensetzung mit etwa 20 bis etwa 40 Milligramm Isoflavonverbindungen darin, serviert werden.

[0080] Die folgenden nicht beschränkenden Beispiele veranschaulichen Verfahren zum Herstellen der Pflanzenproteinzusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung.

BEISPIEL 1

[0081] In einem ersten Experiment wird ein an Isoflavon erschöpftes Sojaproteinisolat gebildet. 68 kg (150 lbs.) entfettete Sojabohnenflocken werden in 680 kg (1500 lbs) Wasser, erhitzt auf eine Temperatur von 33°C, in einem Extraktionstank aufgeschlämmt. Ausreichend Calciumhydroxid (etwa 1,3%, bezogen auf Gewicht) wird zu der Sojabohnenflockenaufschlämmung hinzugefügt unter Einstellen des pH der Aufschlämmung auf 9,7. Die Sojaflocken werden für eine Dauer von 30 Minuten extrahiert, wonach die wäßrige Lösung von den extrahierten Flocken durch Zentrifugation getrennt wird. Der wäßrige Extrakt wird behalten, während der extrahierte Flockenrückstand erneut in 408 kg (900 lbs.) Wasser, erhitzt auf eine Temperatur von 33°C, dispergiert wird. Der pH der extrahierten Flockenaufschlämmung an diesem Punkt beträgt 9,0. Ein zweiter wäßriger Extrakt wird durch Zentrifugieren gesammelt, und die ersten und zweiten Extrakte werden vereinigt. Zu den vereinigten wäßrigen Extrakten wird 85% Phosphorsäure unter Einstellen des pH auf 4,5 (der isoelektrische Punkt von Sojaprotein) hinzugefügt, das Potein zu fällen. Das gefällte Protein wird dann von den vereinigten wäßrigen Extrakten abgetrennt und wird mit 45 kg (100 lbs.) wäßrigem Ethanol (80%) unter Bilden des an Isoflavon erschöpften Proteinisolats gewaschen.

BEISPIEL 2

[0082] Bei einem zweiten Experiment wird ein an Isoflavon erschöpftes Sojaproteinkonzentrat gebildet. 45 kg (100 lbs) entfettete Sojaflocken werden in einen Mischtank mit 454 kg (1000 lbs.) von wäßrigem Ethanol (80%), erhitzt auf 35°C, gebracht. Die Flocken und wäßriges Ethanol werden in dem Mischtank 30 Minuten lang gerührt. Der wäßrige Alkoholextrakt wird von dem Sojaflockenmaterial durch Zentrifugation und Dekantierung des Überstandes unter zur Verfügung stellen des an Isoflavon erschöpften Sojaproteinkonzentrats entfernt.

BEISPIEL 3

[0083] Ein an Isoflavon erschöpftes Sojaproteinisolat wird aus einem Alkohol extrahierten, an Isoflavon erschöpften Sojaproteinkonzentrat gebildet. Ein Alkohol extrahiertes, an Isoflavon erschöpftes Sojaproteinkonzentrat wird, wie in Beispiel 2 beschrieben, gebildet. Das Alkohol extrahierte Sojaproteinkonzentrat wird in 318 kg (700 lbs.) Wasser, erhitzt auf eine Temperatur von 33°C, in einem Extraktionstank aufgeschlämmt. Ausreichend Calciumhydroxid wird zu der Aufschlämmung hinzugefügt, den pH der Aufschlämmung auf 9,7 einzustellen. Die Aufschlämmung wird für eine Dauer von 45 Minuten extrahiert, wonach ein wäßriger Extrakt, enthaltend solubilisiertes Sojaprotein, von unlöslichen Materialien in der Aufschlämmung durch Zentrifugation abgetrennt wird. Der wäßrige Extrakt wird behalten, während die extrahierten unlöslichen Materialien erneut in 204 kg (450 lbs.) Wasser, erhitzt auf eine Temperatur von 33°C, dispergiert werden. Ein zweiter wäßriger Extrakt wird durch Zentrifugieren gesammelt, und die ersten und zweiten Extrakte werden vereiningt. Ausreichend Salzsäure wird zu den vereinigten Extrakten hinzugefügt unter Einstellen des pH der vereinigten Extrakte auf 4,5, das solubilisierte Protein zu fällen. Das gefällte Protein wird dann von den vereinigten Extrakten abgetrennt und wird mit 32 kg (70 lbs.) Wasser gewaschen unter Bilden eines an Isoflavon erschöpften Sojaproteinisolats.

BEISPIEL 4

[0084] Ein Isoflavon enthaltendes Material wird aus einem entfetteten Sojaflockenmaterial gebildet. 45 kg (100 lbs.) eines entfetteten Sojaflockenmaterials werden in einen Mischtank gebracht, der 450 kg (1000 lbs.) wäßriges Ethanol (80%), erhitzt auf 35°C, enthält. Die Flocken und wäßriges Ethanol werden in dem Mischtank 30 Minuten lang gerührt. Der wäßrige Ethanolextrakt, angereichert an Isoflavonen, wird von dem Sojaflockenmaterial durch Zentrifugation getrennt. Der wäßrige Ethanolextrakt wird konzentriert durch Erhitzen des Extrakts auf 45°C unter reduziertem Druck, bis im wesentlichen aller Alkohol in dem Extrakt entfernt ist. Der konzentrierte Extrakt enthält etwa 50% Feststoffe, bezogen auf Gewicht, und ist ein Isoflavon enthaltendes Material.

BEISPIEL 5

[0085] Ein umkristallisiertes Isoflavon enthaltendes Material wird gebildet. 91 kg (200 lbs.) eines konzentrierten wäßrigen Ethanolextrakts werden in Übereinstimmung mit Beispiel 4 gebildet. 82 kg (180 lbs.) kaltes Wasser mit einer Temperatur von 13°C werden zu dem konzentrierten Extrakt hinzugefügt. Die konzentrierter Extrakt/Wasser Mischung wird bei 7°C für 24 Stunden gehalten, und das Isoflavon enthaltende Material wird als ein kristallisiertes festes Material aus der Lösung gewonnen.

BEISPIEL 6

[0086] Ein gereinigtes Isoflavon enthaltendes Material wird gebildet. 408 kg (900 lbs.) wäßriger Ethanolextrakt werden in Übereinstimmung mit Beispiel 4 gebildet, ausgenommen, daß der Extrakt nicht konzentriert wird, nachdem er von den Sojaflocken abgetrennt ist. Der Extrakt wird filtriert und dann auf eine HPLC Säule, bepackt mit Kromasil C18 16 µm 100 A Kugeln von Eka Nobel, Nobel Industries, Schweden geladen. Die Säule wird mit 3 Säulenvolumen 30% wäßrigem Ethanol, gefolgt von 3 Säulenvolumen 50% wäßrigem Ethanol, gefolgt von 3 Säulenvolumen 80% wäßrigem Ethanol, eluiert.

[0087] Fraktionen von Isoflavon enthaltendem Elutionsmittel werden von dem Säulenausfluß gesammelt, wo die Isoflavon durch UV Absorption bei 262 nm nachgewiesen werden. Die Isoflavon enthaltenden Elutionsmittelfraktionen werden vereinigt und werden zu einem festen Rückstand durch Erhitzen der Fraktionen auf 50°C unter reduziertem Druck konzentriert. Der feste Rückstand wird gesammelt unter zur Verfügung stellen eines gereinigten Isoflavon enthaltenden Materials.

BEISPIEL 7

[0088] Ein Isoflavon enthaltendes Material wird aus Rotklee gebildet. Rotklee wird getrocknet und in einen Mischtank mit einer wäßrigen Ethanollösung (75%), erhitzt auf 80°C, gebracht. Der Klee und wäßrige Ethanollösung werden für eine Dauer von 10 Stunden gemischt, während die Temperatur der Mischung bei 80° behalten wird. Nachdem der Klee und Extrakt gemischt worden sind, wird ein an Isoflavon angereicherter Extrakt gewonnen durch Zentrifugieren der Mischung und Dekantieren des an Isoflavon angereicherten Überstandes. Der an Isoflavon angereicherte Extrakt wird konzentriert durch Erhitzen auf 60°C unter vermindertem Druck für eine Zeit, ausreichend, den Extrakt zu entfernen und einen an Isoflavon angereicherten Rückstand zu belassen.

BEISPIEL 8

[0089] Eine Pflanzenproteinzusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung wird gebildet durch Dispergieren irgendeines der Isoflavon enthaltenden Materialien, gebildet in Beispielen 4–8, in dem Sojaproteinisolat, gebildet in Beispiel 1. Das Sojaproteinisolat wird in einen Mischtank gebracht, und das Isoflavon enthaltende Material wird zu dem Sojaprotein hinzugefügt. Das Sojaproteinisolat und das Isoflavon enthaltende Material werden für eine Dauer von 30 Minuten zusammengemischt, wonach die Pflanzenproteinzusammensetzung gewonnen wird.

BEISPIEL 9

[0090] Eine Pflanzenproteinzusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung wird gebildet durch Dispergieren eines der Isoflavon enthaltenden Materialien, gebildet in Beispielen 4–8, in dem Sojaproteinkonzentrat, gebildet in Beispiel 2. Das Sojaproteinkonzentrat wird in einen Mischtank gebracht, und das Isoflavon enthaltende Material wird zu dem Sojaproteinkonzentrat hinzugefügt. Das Sojaproteinkonzentrat und das Isoflavon enthaltende Material werden für eine Dauer von 30 Minuten zusammengemischt, wonach die Pflanzenproteinzusammensetzung gewonnen wird.

BEISPIEL 10

[0091] Eine Pflanzenproteinzusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung wird gebildet durch Dispergieren eines der Isoflavon enthaltenden Materialien, gebildet in Beispielen 4–8, in dem Sojaproteinisolat, gebildet in Beispiel 3. Das Sojaproteinisolat wird in einen Mischtank gebracht, und das Isoflavon enthaltende Material wird zu dem Sojaprotein hinzugefügt. Das Sojaproteinisolat und das Isoflavon enthaltende Material werden für eine Dauer von 30 Minuten zusammengemischt, wonach die Pflanzenproteinzusammensetzung gewonnen wird.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer pflanzlichen Proteinzusammensetzung, welches Isoflavon enthaltendes Material umfaßt, dispergiert in einem Isoflavon-verminderten pflanzlichen Proteinmaterial, das ein pflanzliches Proteinkonzentrat oder ein pflanzliches Proteinisolat ist, wobei das Verfahren Folgendes umfasst:
Extrahieren eines pflanzlichen Materials, das Protein und Isoflavon umfasst, mit einem Extraktionsmittel, das Isoflavon auflösen kann, um einen Isoflavon enthaltenden Extrakt herzustellen;
Trennen eines Isoflavon-verminderten pflanzlichen Proteinmaterials vom Isoflavon enthaltenden Extrakt;
Herstellen eines Isoflavon enthaltenden Materials vom Extrakt; und
Dispergieren des Isoflavon enthaltenden Materials im Isoflavon-verminderten pflanzlichen Proteinmaterial.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei welchem das Pflanzenmaterial Sojabohne, Kichererbse, Rotklee, bodenfrüchtiger Klee, Erderbse ("ground pea"), Süßblatt-Tragant, Maramabohne, Schwertbohne, Jackbohne, Küstenschwertbohne, Johannisbrot, Guar, Balu, Helmbohne, Platterbse, indianische Wicke, Gartenerbse, Djenkobohne, Flügelbohne, Yamsbohne, breite Bohne, Erdnuß ("earth pea"), Linse, Springende Bohne, Luzerne, Juckbohne, Afrikanisches Johannisbrot, Inga, Ockerplatterbse, Yebnuß, Talgbaum, Polynesische Kastanie, Kudzuwurzel (Pueraria lobata), Ölbohnenbaum, Mesquite, Tamarinde, Bockshornklee, Indische Lakritze, Apios americana ("ground nut") oder ein Derivat derartiger Pflanzenmaterialien einschließlich entfetteter Sojaflocken, Sojamehl und Sojaschrot ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei welchem das Extraktionsmittel aus Wasser; Alkoholen mit niedrigem Molekulargewicht, einschließlich Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol, Butanol und Isobutanol; Ethylacetat; Aceton; Acetonitril; Chloroform und Gemischen davon ausgewählt ist.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei welchem Dispergieren des Isoflavon enthaltenden Materials in dem Isoflavon-verminderten pflanzlichen Proteinmaterial Mischen des Isoflavon enthaltenden Materials in dem Isoflavon-verminderten pflanzlichen Proteinmaterial umfaßt.

5. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das pflanzliche Material, das Protein und Isoflavon enthält, ein Sojamaterial umfaßt.

6. Verfahren nach Anspruch 5, bei welchem das Sojamaterial aus Sojaflocken, Sojamehl, Sojagrieß und Sojaschrot ausgewählt ist.

7. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Extraktionsmittel Wasser; ein Alkohol mit niedrigem Molekulargewicht, vorzugsweise Methanol, Ethanol, Isopropanol, Propanol, Butanol oder Isobutanol; Ethylacetat, Aceton, Acetonitril oder ein Gemisch davon ist.

8. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Gewichtsverhältnis des Extraktionsmittels zu dem pflanzlichen Material von etwa 2:1 bis etwa 16:1 beträgt.

9. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Isoflavon-verminderte pflanzliche Proteinmaterial von dem Extrakt, der Isoflavon enthält, durch Zentrifugieren des pflanzlichen Materials und des Extraktionsmittels und Dekantieren des Extrakts von dem pflanzlichen Proteinmaterial abgetrennt wird.

10. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Isoflavon-verminderte pflanzliche Proteinmaterial von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, durch Filtrieren des Extrakts von dem pflanzlichen Proteinmaterial abgetrennt wird.

11. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Extraktionsmittel ein wässeriges alkalisches Extraktionsmittel ist, das wirksam das Protein und die Isoflavone in dem pflanzlichen Material solubilisiert.

12. Verfahren nach Anspruch 11, weiterhin umfassend den Schritt, das wässerige alkalische Extraktionsmittel von unlöslichen pflanzlichen Materialien abzutrennen, bevor das Isoflavon-verminderte Proteinmaterial von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, abgetrennt wird.

13. Verfahren nach Anspruch 11, bei welchem Abtrennen des Isoflavon-verminderten Proteinmaterials von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, Anpassen des pH des wässerigen alkalischen Extraktionsmittels an etwa

den isoelektrischen Punkt des Proteins in dem Extraktionsmittel umfaßt, um das Isoflavon-verminderte Proteinmaterial auszufällen und das ausgefällte Isoflavon-verminderte Proteinmaterial von dem wässerigen Extraktionsmittel bei einem pH von etwa dem isoelektrischen Punkt des Proteins abzutrennen, um ein pflanzliches Proteinisolat und einen Extrakt, der Isoflavone enthält, herzustellen.

14. Verfahren nach Anspruch 1, bei welchem das pflanzliche Material mit einem Extraktionsmittel in Form eines wässerigen Alkohols extrahiert wird und ein pflanzliches Proteinkonzentrat von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, abgetrennt wird.

15. Verfahren nach Anspruch 1, bei welchem das pflanzliche Material mit einer sauren wässerigen Lösung, die einen pH bei etwa dem isoelektrischen Punkt des Proteins in dem pflanzlichen Material aufweist, extrahiert wird und ein pflanzliches Proteinkonzentrat von dem Extrakt, der Isoflavone enthält, abgetrennt wird.

16. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Isoflavon enthaltende Material aus dem Extrakt durch Einengen des Extrakts hergestellt wird.

17. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Isoflavon enthaltende Material aus dem Extrakt durch Umkristallisieren des Isoflavon enthaltenden Materials in dem Extrakt und Abtrennen des umkristallisierten Isoflavon enthaltenden Materials von dem Extrakt hergestellt wird.

18. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Isoflavon enthaltende Material aus dem Extrakt durch Inkontaktbringen des Extrakts mit einem Adsorptionsmaterial, das imstande ist, lösbar Isoflavone und nicht-Isoflavon-Verbindungen in einer verbindungsspezifischen Weise zu binden, und nach dem Inkontaktbringen des Extrakts mit dem Adsorptionsmaterial Eluieren des Adsorptionsmaterials mit einem Eluierungsmittel, in welchem die Isoflavone löslich sind, und Sammeln der Fraktionen des Eluierungsmittels, das ein gereinigtes Isoflavonmaterial enthält, hergestellt wird.

19. Verfahren nach irgendeinem der vorhergenden Ansprüche, bei welchem das Isoflavon-verminderte pflanzliche Proteinmaterial ein Isoflavon-vermindertes Sojaproteinmaterial ist.

20. Verfahren nach Anspruch 19, bei welchem das Isoflavon-verminderte Sojaproteinmaterial ein Sojaproteinkonzentrat ist.

21. Verfahren nach Anspruch 20, bei welchem das Sojaproteinkonzentrat ein mit Ethanol extrahiertes Sojaproteinkonzentrat ist.

22. Verfahren nach Anspruch 20, bei welchem das Sojaproteinkonzentrat ein mit wässeriger Säure extrahiertes Sojaproteinkonzentrat ist.

23. Verfahren nach Anspruch 19, bei welchem das Isoflavon-verminderte Sojaproteinmaterial ein Sojaproteinisolat ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen