

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
05. Januar 2023 (05.01.2023)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2023/275291 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

A23L 5/20 (2016.01) A23L 25/00 (2016.01)
A23L 11/30 (2016.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2022/068145

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. Juni 2022 (30.06.2022)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
A 50545/2021 30. Juni 2021 (30.06.2021) AT

(71) Anmelder: KERN TEC GMBH [AT/AT]; Wielandsthal 16, 3130 Herzogenburg (AT).

(72) Erfinder: JESCHKO, Sebastian; c/o Kern Tec GmbH Wielandsthal 16, 3130 Herzogenburg (AT). ALBER, Andrea; c/o Kern Tec GmbH Wielandsthal 16, 3130 Herzogenburg (AT).

(74) Anwalt: SONN PATENTANWÄLTE OG; Riemergasse 14, 1010 Wien (AT).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii)
- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING PLANT SEED MATERIAL HAVING A REDUCED CONTENT OF CYANOGENIC COMPOUNDS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON PFLANZENSAMENMATERIAL MIT VERRINGERTEM GEHALT AN CYANOGENEN VERBINDUNGEN

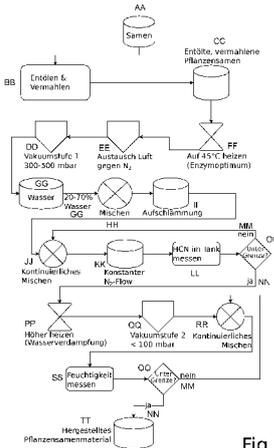


Fig. 1

- AA Seeds
- BB Deoiling & grinding
- CC Deoiled, ground plant seeds
- DD Vacuum stage 1
- EE Exchange of air for N₂
- FF Heat to 45°C (enzyme optimum)
- GG Water
- HH Mixing
- II Slurry
- JJ Continuous mixing
- KK Constant N₂ flow
- LL Measure HCN in tank
- MM No
- NN Yes
- OO Below limit?
- PP Heat to higher temperature (water evaporation)
- QQ Vacuum stage 2
- RR Continuous mixing
- SS Measure moisture content
- TT Produced plant seed material

(57) Abstract: There is disclosed a process for producing plant seed material having a reduced content of cyanogenic compounds from at least partially deoiled plant seeds, wherein the at least partially deoiled plant seeds contain cyanogenic compounds, comprising the following steps: a) providing the at least partially deoiled plant seeds especially in the form of a press cake, b) grinding the at least partially deoiled plant seeds, and c) depleting cyanogenic compounds in the ground plant seeds under vacuum. There is likewise disclosed a plant seed material obtainable from said process.

(57) Zusammenfassung: Offenbart wird ein Verfahren zur Herstellung von Pflanzensamenmaterial mit verringertem Gehalt an cyanogenen Verbindungen aus zumindest teilweise entöhlten Pflanzensamen, wobei die zumindest teilweise entöhlten Pflanzensamen cyanogene Verbindungen enthalten, umfassend die folgenden Schritte: a) Bereitstellen der zumindest teilweise entöhlten Pflanzensamen insbesondere in Form eines Presskuchens, b) Vermahlen der zumindest teilweise entöhlten Pflanzensamen, und c) Abreichern von cyanogenen Verbindungen in den vermahlten Pflanzensamen unter Vakuum. Ebenfalls offenbart wird ein aus diesem Verfahren erhältlichliches Pflanzensamenmaterial.

WO 2023/275291 A1

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

Verfahren zur Herstellung von Pflanzensamenmaterial mit verringertem Gehalt an cyanogenen Verbindungen

Das Gebiet der vorliegenden Erfindung ist das der Verfahren zur Herstellung von Pflanzensamenmaterial mit verringertem Gehalt an cyanogenen Verbindungen.

Viele Pflanzensamen (vor allem Leinsamen, Mandeln oder Steinobstkerne) enthalten cyanogene Verbindungen wie cyanogene Glycoside (z.B. Amygdalin oder Linustatin). Da beim Verzehr der Pflanzensamen aus den cyanogenen Verbindungen durch verschiedene Enzyme giftige Blausäure entsteht, sind die Pflanzensamen ab einer gewissen Dosis für den Konsumenten giftig und daher für die Verwendung als Lebensmittel oder Futtermittel nicht geeignet, sofern sie nicht zuvor entsprechend verarbeitet werden.

Eine gängige Methode zum Entgiften („Entbittern“) ist das Auskochen der Pflanzensamen, um jene Enzyme, die letztlich für die Freisetzung der Blausäure aus den cyanogenen Verbindungen verantwortlich sind, zu deaktivieren. Dies zerstört jedoch wertvolle Aromen.

Ein anderer bekannter – und oftmals mit dem Auskochen verbundener – Ansatz ist das längere Einlegen der Pflanzensamen in Wasser (üblicherweise etwa 24 Stunden), um eine Umsetzung der cyanogenen Verbindungen und eine damit einhergehende Freisetzung der Blausäure zu begünstigen. Das blausäurehaltige Wasser wird anschließend verworfen. Durch das Auskochen bzw. das Auswaschen werden jedoch Aromen und Proteine zerstört bzw. ausgespült.

Sensorisch haben nach gängigen Verfahren „entbitterte“ Samen, unter welchem Namen sie oft angeboten werden, eine wesentlich schlechtere Qualität als vor der Entbitterung.

Die Patentschriften DE 154733 C und DE 150277 C betreffen Verfahren zum Entbittern von Mandeln und anderen amygdalinhaltigen Samen. Auch die CN 1084027 A, CN 110651947 A und CN 1081328 A offenbaren verschiedene Verfahren zum Entbittern von Mandeln.

Die CN 110547391 A, CN 210988069 U, JP 2012254060 A und CN 210988068 U betreffen Entgiftungsverfahren für Leinsamen.

Gonzales et al. ("On the nutritive value of apricot (*Prunus armeniaca*) kernel. I. Comparative digestibility tests of detoxified apricot kernel and common sweet almond.", *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 1972, Vol 12, No 3, Seiten 436-443) beschäftigen sich mit dem Entbittern von Aprikosen- und Mandelkernen.

Die WO 1996/020716 A1 betrifft die Extraktion von Amygdalin aus Obstkernen. Offenbart ist ein Verfahren zur Herstellung eines Nahrungsmittels aus Obstkernen, umfassend das Schälen der Kerne, das anschließende Entbittern der Kerne durch Extraktion mit Wasser, die Verarbeitung der entbitterten Kerne zu dem Nahrungsmittel und die Gewinnung von Amygdalin aus dem durch das Entbittern der Kerne gebildeten Extrakt.

Tuncel et al. beschäftigen sich in zwei Publikationen mit dem Entbittern von Aprikosenkernen. In einer ersten Publikation wird Zellaufschluss, Kochen und Einweichen von bitteren Aprikosenkernen beschrieben (Tuncel, G., M. J. R. Nout, and L. Brimer. "The effects of grinding, soaking and cooking on the degradation of amygdalin of bitter apricot seeds." *Food Chemistry* 53.4 (1995): 447-451). In einer zweiten Studie wird zusätzlich zur Partikelgröße der Effekt von Hitze einwirkung auf das endogene Enzym bzw. die Zugabe von exogenen Enzymen untersucht (Tuncel, G., M. J. R. Nout, and L. Brimer.

"Degradation of cyanogenic glycosides of bitter apricot seeds (*Prunus armeniaca*) by endogenous and added enzymes as affected by heat treatments and particle size." *Food chemistry* 63.1 (1998): 65-69). Auch die CN 105341629 A offenbart ein Verfahren zum Entbittern von Aprikosenkernen. In El-Adawy et al.

("Biochemical studies of some non-conventional sources of proteins Part 7. Effect of detoxification treatments on the nutritional quality of apricot kernels." *Food/Nahrung* 38.1

(1994): 12-20.) wird die Qualität von Aprikosenkernen nach einem Entbitterungsprozess untersucht.

Keines der oben beschriebenen Dokumente beschäftigt sich jedoch mit dem Entgiften von entölten Pflanzensamen (insbesondere mit dem Entgiften von Presskuchen), das eine ganz besondere Herausforderung darstellt. Dies liegt unter anderem daran, dass diese nach der Entölung (insbesondere nach dem Verpressen) besonders hohe Konzentrationen an cyanogenen Verbindungen bzw. Blausäure aufweisen, weil diese Stoffe als hydrophile Substanzen zum allergrößten Teil nicht ins Öl übergehen, sondern im entölten Überrest wie beispielsweise dem Presskuchen verbleiben. Einzig Yamashita et al. ("Development of a method to remove cyanogen glycosides from flaxseed meal." International Journal of food science & Technology 42.1 (2007): 70-75.) betrifft das Entgiften von gepressten Leinsamen. In dem offenbarten Verfahren werden entölte Leinsamen für 18 Stunden in 0.1M Natriumcitrat-Puffer inkubiert und anschließend in einem kontinuierlichen Dampfbackofen bei 120° C getrocknet. Dieses Verfahren weist jedoch zahlreiche Nachteile auf. Unter anderem sind dies die lange Inkubationszeit, die hohen Trocknungstemperaturen sowie der Einsatz des Säureregulators Natriumcitrat (E331). Dieses Verfahren ist zudem für den großtechnischen Einsatz nicht gut geeignet, außerdem wird durch die harschen Verfahrensbedingungen der Geschmack der Leinsamen in Mitleidenschaft gezogen und es kommt zu einem Verlust weiterer wertvoller Inhaltsstoffe (insbesondere von Proteinen).

Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Entbitterungsverfahren zur Verfügung zu stellen, welches zumindest einen Nachteil des Standes der Technik überwinden soll. Insbesondere ist erstrebenswert, dass dieses Verfahren möglichst schonend ist (so dass Geschmack und wertvolle Inhaltsstoffe der Pflanzensamen möglichst erhalten bleiben) und für den großtechnischen Einsatz gut geeignet ist.

Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Herstellung von Pflanzensamenmaterial mit verringertem Gehalt an cyanogenen Verbindungen aus zumindest teilweise entölten Pflanzensamen, wobei die zumindest teilweise entölten Pflanzensamen cyanogene Verbindungen enthalten, zur Verfügung. Dieses Verfahren umfasst die folgenden Schritte: a) Bereitstellen der zumindest teilweise entölten Pflanzensamen, b) Vermahlen der zumindest teilweise entölten Pflanzensamen, und c) Abreichern von cyanogenen Verbindungen in den vermahlenden Pflanzensamen unter Vakuum. Besonders gut geeignet ist dieses Verfahren für zumindest teilweise entölte Mandeln, Leinsamen und Steinobstkerne.

In einem Aspekt bezieht sich die vorliegende Erfindung auf Pflanzensamenmaterial, das nach diesem Verfahren erhältlich ist.

In einem weiteren Aspekt stellt die Erfindung ein Pflanzensamenmaterial (vorzugsweise in Form eines Pulvers oder Granulats) zur Verfügung, aufweisend zumindest teilweise entölte, insbesondere verpresste, Pflanzensamen, wobei die Pflanzensamen ausgewählt sind aus Mandeln und Steinobstkernen, wobei der Benzaldehydgehalt des Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse zumindest 5%, bevorzugt zumindest 10%, noch mehr bevorzugt zumindest 15%, insbesondere zumindest 20% oder gar zumindest 25% des Gehalts an Amygdalin und Prunasin im Pflanzensamenmaterial in Bezug auf dessen Trockenmasse beträgt.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist besonders schonend und für den großtechnischen Einsatz gut geeignet. Dadurch können entölte Samen (insbesondere Presskuchen), die herkömmlicherweise als Abfallprodukt in der Gewinnung von pflanzlichen Ölen anfallen, nun in großem Maßstab neuen Nutzungsmöglichkeiten in der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie zugeführt werden. Dies erhöht die Ausbeute aus der Ernte und schont damit einhergehend natürliche Ressourcen (und die Umwelt).

Das erfindungsgemäße Verfahren basiert auf Abreichern von cyanogenen Verbindungen unter Vakuum. Für die Fachperson ist es evident, dass „unter Vakuum“ in diesem (großtechnischen)

Zusammenhang nicht bedeutet, dass ein absolutes Vakuum erreicht wird, sondern lediglich, dass in einem erheblichen Ausmaß Unterdruck erzeugt wird. Vorzugsweise soll „unter Vakuum“ so verstanden werden, dass zeitweise (z.B. zumindest 15 min, bevorzugt zumindest 30 min, noch mehr bevorzugt zumindest 60 min, insbesondere zumindest 120 min oder gar zumindest 360 min) ein Druck von 600 mbar, bevorzugt 500 mbar, mehr bevorzugt 400 mbar, noch mehr bevorzugt 350 mbar oder gar 300 mbar unterschritten wird.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist geeignet für die Entbitterung jeglicher entölter Pflanzensamen (z.B. auch von Samen, die mittels überkritischer CO₂-Extraktion entölt worden sind). Mit der Verarbeitung von Pflanzensamen-Presskuchen werden jedoch besonders gute Ergebnisse erzielt. Daher liegen in einer besonders bevorzugten Ausführungsform in Schritt a) die zumindest teilweise entölte Pflanzensamen in Form eines Presskuchens vor. Vorzugsweise wird der Presskuchen durch Verpressen von Pflanzensamen erhalten, die vor dem Verpressen vermahlen worden sind.

Als besonders zweckmäßig hat sich der Einsatz von zwei Vakuumstufen herausgestellt (siehe auch das Ausführungsbeispiel und Fig. 1). Daher umfasst Schritt c) das Abreichern von cyanogenen Verbindungen während einer ersten Vakuumstufe, wobei der Druck der ersten Vakuumstufe höher ist als der Druck der zweiten Vakuumstufe. Der Druck der ersten Vakuumstufe liegt bevorzugt zwischen 300 und 500 mbar. Der Druck der zweiten Vakuumstufe liegt vorzugsweise unter 200 mbar, bevorzugt unter 150 mbar, insbesondere unter 100 mbar.

Zusätzlich oder alternativ dazu hat sich eine Beheizung als sinnvoll herausgestellt, um den Abreicherungsprozess zu beschleunigen. Folglich wird Schritt c) in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform zumindest teilweise mit Beheizung durchgeführt (bevorzugt, so dass eine Temperatur zwischen 30°C und 80°C erreicht wird). Wenn dabei mehrere Vakuumstufen

eingesetzt werden, so ist die Temperatur während der ersten Vakuumstufe (vorzugsweise 30°C bis 40°C) zweckmäßigerweise niedriger als während der zweiten Vakuumstufe (vorzugsweise 40°C bis 80°C).

Des Weiteren ist es für einen gleichmäßigen und kontrollierten Ablauf von Vorteil, wenn Schritt c) zumindest teilweise unter Mischen durchgeführt wird.

Da das erfindungsgemäße Verfahren besonders schonend ist, bleiben wertvolle Inhaltsstoffe (z.B. Proteine) oder Aromastoffe (z.B. Benzaldehyd) gut erhalten.

Daher beträgt in einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform der Gesamtproteingehalt des hergestellten Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse (d.h. der Gesamtproteingehalt in Gew%) zumindest 85%, bevorzugt zumindest 90%, noch mehr bevorzugt zumindest 95%, insbesondere zumindest 97,5% oder gar zumindest 99% des Gesamtproteingehalts der bereitgestellten zumindest teilweise entölten Pflanzensamen in Bezug auf deren Trockenmasse (d.h. wiederum der Gesamtproteingehalt in Gew%). Trockenmasse bezieht sich in diesem Zusammenhang auf die Masse ohne Wasser- und Ölanteil.

In Bezug auf Mandeln und Steinobstkerne beträgt in einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform der Benzaldehydgehalt des Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse (d.h. der Benzaldehydgehalt in Gew%) zumindest 5%, bevorzugt zumindest 10%, noch mehr bevorzugt zumindest 15%, insbesondere zumindest 20% oder gar zumindest 25% des Gehalts an Amygdalin und Prunasin im Pflanzensamenmaterial in Bezug auf dessen Trockenmasse (d.h. der Gehalt an Amygdalin und Prunasin in Gew%).

In Bezug auf Mandeln und Steinobstkerne beträgt in einer weiteren, besonders bevorzugten Ausführungsform der Benzaldehydgehalt des (hergestellten) Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse (d.h. der Benzaldehydgehalt in Gew%) zumindest 125%, bevorzugt zumindest 150%, noch mehr

bevorzugt zumindest 175%, insbesondere zumindest 200% oder gar zumindest 250% des Benzaldehydgehalts der zumindest teilweise entölten Pflanzensamen (insbesondere des Presskuchens) in Bezug auf deren Trockenmasse (d.h. der Benzaldehydgehalt in Gew%); vgl. auch Ausführungsbeispiel 2.

Des Weiteren ist es vorteilhaft, wenn die Aktivität der im (hergestellten) Pflanzensamenmaterial vorhandenen β -Glucosidase-Amygdalinhydrolase (EC 3.2.1.117) noch so hoch ist, dass zumindest 50 Gew%, bevorzugt zumindest 60 Gew%, noch mehr bevorzugt zumindest 70 Gew%, insbesondere zumindest 80 Gew% oder gar zumindest 90 Gew% von 100 mg Amygdalin, welche 1 g Trockenmasse des Pflanzensamenmaterials, vermischt mit 10 mL Wasser, zugesetzt worden sind, innerhalb einer Stunde bei 40°C abgebaut werden (Nachweis z.B. per HPLC), vgl. auch Ausführungsbeispiel 3. (Amygdalin, welches bereits vor Zusatz der 100 mg Amygdalin im Pflanzensamenmaterial vorhanden ist, darf hierbei nicht berücksichtigt werden. Hierzu sollte eine Kontrollmessung vor Zugabe der 100 mg Amygdalin durchgeführt werden, um die Menge von bereits in 1g Pflanzensamenmaterial vorhandenen Amygdalin zu ermitteln.)

Es ist ferner besonders bevorzugt, wenn der Gehalt an cyanogenen Verbindungen (insbesondere an cyanogenen Glycosiden) im hergestellten bzw. erhaltenen Pflanzensamenmaterial so niedrig ist, dass weniger als 1000 mg/kg, bevorzugt weniger als 800 mg/kg, mehr bevorzugt weniger als 600 mg/kg, noch mehr bevorzugt weniger als 400 mg/kg oder gar weniger als 300 mg/kg, insbesondere weniger als 200 mg/kg oder gar weniger als 150 mg/kg Blausäure freigesetzt werden kann (bevorzugt bezogen auf die Trockenmasse des Pflanzensamenmaterials).

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von bevorzugten, nicht einschränkenden Beispielen und Zeichnungen näher erläutert.

Fig. 1 zeigt eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Fig. 2 zeigt bevorzugte Vorbehandlungsschritte.

Ausführungsbeispiel 1

Ölsamen (z.B. Aprikosenkerne oder andere Steinobstkerne) werden verpresst, um das Öl zu gewinnen. Der Presskuchen (herkömmlicherweise ein Abfallprodukt) wird anschließend für den erfindungsgemäßen Prozess bereitgestellt.

Der Presskuchen wird vermahlen. Der vermahlene Presskuchen wird nun der Extraktion mit Wasser unter Vakuum unterzogen. Dafür wird der vermahlene Presskuchen in einem Vakuumtank bei einem Vakuum von 300-500 mbar und einer Temperatur von 45°C mit Wasser vermengt (Vakuumstufe 1). Bei dieser Temperatur-Druck-Kombination kann das Cyanid abdampfen, das Wasser jedoch nicht. Der Prozess wird so lange gehalten, bis die gewünschte Menge Cyanid extrahiert worden ist (bzw. die vorgegebene Cyanidgrenzkonzentration, z.B. 150 mg/kg, unterschritten wurde). Anschließend wird das Vakuum und die Temperatur erhöht, um das Wasser abzdampfen (Vakuumstufe 2). In einem Kondensator wird dieses anschließend aufgefangen. Durch die Trennung der beiden Phasen kann gewährleistet werden, dass das Cyanid nicht ins abgedampfte Wasser übergeht, sondern getrennt abgeschieden werden kann. Während des Verdampfungsprozesses wird der Reaktor laufend mit einem nicht-reaktiven Gas wie Stickstoff gespült, um eine bessere Abtragung von HCN-Gas zu gewährleisten. Wenn der gewünschte Trocknungsgrad (z.B. 7 Gew% Restfeuchte) erreicht wurde, wird der Prozess beendet. Die Dauer der Vakuumstufe 1 beträgt beispielsweise 2h, die der Vakuumstufe 2 beispielsweise auch 2h.

Das nach dem Abreicherungsprozess erhaltene Pflanzensamenmaterial ist für eine weitere Verwendung in der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie hervorragend geeignet.

Ausführungsbeispiel 2

Das erfindungsgemäße Pflanzensamenmaterial wurde aus Presskuchen aus Steinobstkernen (in diesem Fall Sauerkirschen) hergestellt. Die Aromafraktion von Rohmaterial (Presskuchen) und hergestelltem Pflanzensamenmaterial wurde mittels

Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS) analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 unten aufgelistet, zur besseren Vergleichbarkeit wurde jeweils dieselbe Menge (auf Basis der Trockenmasse) analysiert.

Anhand der Quantifizierung über die Peakflächen lässt sich ersehen, dass sich durch den Cyanid-Abreicherungsprozess die Gesamtmenge an Aromastoffen in Bezug auf die Trockenmasse erhöht hat, nämlich um den Faktor 1,6 (siehe letzte Zeile von Tabelle 1). Darüber hinaus hat sich die relative Menge an Benzaldehyd (Bittermandelaroma) mehr als verdreifacht (siehe hervorgehobene Zeile zu Peak #31 in Tabelle 1).

Diese Veränderungen erklären die hervorragenden sensorischen Qualitäten des hergestellten Produkts zumindest zum Teil.

Tabelle 1: GC/MS-Analyse der Aromafraktion von Steinobstkernen vor und nach Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens (d.h. Rohmaterial im Vergleich zum erfindungsgemäßen Pflanzensamenmaterial). n.d. - nicht detektiert, o.A. - ohne Angabe.

Peak #	Stoffname	vor Behandlung		nach Behandlung	
		Peakfläche	Anteil	Peakfläche	Anteil
18	5-Hepten-2-one, 6-methyl-	35 863	0,02%	n.d.	n.d.
19	1-Undecanol	36 655	0,03%	n.d.	n.d.
42	Acetophenone	48 678	0,03%	n.d.	n.d.
5	1-Butanol, 3-methyl-	653 043	0,44%	50 474	0,02%
26	o.A.	109 973	0,07%	14 638	0,01%
8	1-Pentanol	636 795	0,43%	103 785	0,04%
17	Propionsäure, 3-ethoxy-, ethyl ester	71 115	0,05%	14 075	0,01%
3	2,6-Octadien-1-ol, 2,7-dimethyl-	482 851	0,33%	97 399	0,04%
12	Isoterpinolene	257 963	0,17%	53 305	0,02%
6	o.A.	131 273	0,09%	28 166	0,01%
7	o.A.	125 257	0,09%	32 289	0,01%
10	m-cymene	115 109	0,08%	30 999	0,01%
4	Limonene	1 328 090	0,90%	369 635	0,16%

2	3-carene	1 789 837	1,21%	523 134	0,22%
14	Pentadecane	934 174	0,63%	285 506	0,12%
24	3-Octen-2-one	74 249	0,05%	22 844	0,01%
9	o.A.	101 676	0,07%	32 271	0,01%
20	Dodecanolo	57 074	0,04%	18 145	0,01%
21	Ameisensäure, hexyl ester	1 892 317	1,29%	659 533	0,28%
28	1-Heptanol	135 259	0,09%	58 744	0,02%
43	1-Nonanol	415 185	0,28%	180 674	0,08%
41	o.A.	136 093	0,09%	62 103	0,03%
34	1-Octanol	296 783	0,20%	146 220	0,06%
16	2-Heptenal, (Z)-	91 210	0,06%	47 750	0,02%
38	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)-	103 677	0,07%	54 858	0,02%
44	Benzoessäure, ethyl ester	164 639	0,11%	87 541	0,04%
25	2-Octenal, (E)-	130 881	0,09%	70 595	0,03%
40	Buttersäure, 4-hydroxy-	807 487	0,55%	456 315	0,19%
35	2-(2-Hydroxyethoxy)ethyl acetate	101 523	0,07%	59 216	0,03%
36	Propionsäure	71 319	0,05%	42 120	0,02%
45	Ameisensäure, phenylmethyl ester	78 404	0,05%	49 288	0,02%
37	2,3-Butanediol, isomero	1 870 836	1,27%	1 230 948	0,52%
32	2,3-Butanediol,	2 129 446	1,45%	1 531 643	0,65%
30	Essigsäure + 1-hexanol, 2-ethyl	27 808 252	18,90%	20 728 822	8,79%
46	o.A.	155 875	0,11%	119 231	0,05%
39	Benzoessäure, methyl ester	26 962	0,02%	20 644	0,01%
51	Benzyl alcohol	47 495 809	32,29%	37 374 256	15,85%
23	Tetraadecane	91 044	0,06%	75 418	0,03%
22	Nonanal	249 820	0,17%	208 728	0,09%
58	Valeriansäure	31 922	0,02%	27 700	0,01%
33	Linalool	180 554	0,12%	161 284	0,07%
13	Acetoin	194 142	0,13%	176 041	0,07%
1	hexanal	105 210	0,07%	244 536	0,10%
11	o.A.	15 143	0,01%	49 154	0,02%
15	2-propanone, 1-hydroxy	n.d.	n.d.	34 127	0,01%
27	1-Octen-3-ol	25 387	0,02%	39 008	0,02%
29	Furfurale	34 228	0,02%	96 593	0,04%
31	Benzaldehyd	51 419 405	34,94%	163 677 453	69,38%
	Essigsäure, phenylmethyl ester +				
47	D-carvone	1 478 566	1,00%	2 079 629	0,88%
48	Methyl salicylate	23 610	0,02%	55 022	0,02%
49	vinyl benzoate	98 092	0,07%	378 160	0,16%
50	1,3-Dioxolane, 4,5-dimethyl-2-phenyl-	45 602	0,03%	154 100	0,07%
52	Phenylethyl Alcohol	466 027	0,32%	1 035 402	0,44%
53	o.A.	54 539	0,04%	63 306	0,03%
54	Caprylsäure	49 770	0,03%	130 943	0,06%
55	1-Hydroxy,1-phenyl-2-propanone	42 847	0,03%	96 874	0,04%

56	Pelargonsäure	1 365 209	0,93%	1 810 679	0,77%
57	Nicotinyl alcohol	n.d.	n.d.	23 661	0,01%
59	Cumarsäure	40 876	0,03%	279 372	0,12%
60	Benzoessäure	234 291	0,16%	348 210	0,15%
SUMME		147 147 902	100,00%	235 902 551	100,00%

Ausführungsbeispiel 3

Presskuchen von Aprikosenkernen wurden vermahlen und die cyanogenen Verbindungen unter Vakuum abgereichert (erste Vakuumstufe 40°C, zweiten Vakuumstufe 60°C), um abgereichertes Pflanzensamenmaterial zu erhalten.

Um den Erhalt der Enzymaktivität festzustellen (und dadurch zu bestätigen, wie schonend das erfindungsgemäße Verfahren ist), wurden 1 g des Pflanzensamenmaterials mit 100 mg Amygdalin (Sigma Aldrich/Merck) sowie 10 mL Wasser vermischt. Diese Mischung wurde eine Stunde bei 40°C inkubiert. Nach der Inkubation konnten höchstens noch 30% des hinzugefügten Amygdalins per HPLC nachgewiesen werden. Folglich war insbesondere die empfindliche β -Glucosidase-Amygdalinhydrolase (EC 3.2.1.117) im Pflanzensamenmaterial noch sehr aktiv.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Pflanzensamenmaterial mit verringertem Gehalt an cyanogenen Verbindungen aus zumindest teilweise entölten Pflanzensamen, wobei die zumindest teilweise entölten Pflanzensamen cyanogene Verbindungen enthalten, umfassend die folgenden Schritte:

- a) Bereitstellen der zumindest teilweise entölten Pflanzensamen,
- b) Vermahlen der zumindest teilweise entölten Pflanzensamen, und
- c) Abreichern von cyanogenen Verbindungen in den vermahlenden Pflanzensamen unter Vakuum.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, wobei in Schritt a) die zumindest teilweise entölten Pflanzensamen in Form eines Presskuchens vorliegen.

3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei der Presskuchen durch Verpressen von Pflanzensamen erhalten wird, die vor dem Verpressen vermahlen worden sind.

4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei Schritt c) das Abreichern von cyanogenen Verbindungen während einer ersten Vakuumstufe und einer zweiten Vakuumstufe umfasst, wobei der Druck der ersten Vakuumstufe höher ist als der Druck der zweiten Vakuumstufe.

5. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei Schritt c) zumindest teilweise mit Beheizung durchgeführt wird.

6. Verfahren gemäß Anspruch 4, wobei Schritt c) zumindest teilweise mit Beheizung durchgeführt wird, wobei die Temperatur

während der ersten Vakuumstufe niedriger ist als während der zweiten Vakuumstufe.

7. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei Schritt c) zumindest teilweise unter Mischen durchgeführt wird.

8. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Gesamtproteingehalt des hergestellten Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse zumindest 85%, bevorzugt zumindest 90%, noch mehr bevorzugt zumindest 95%, insbesondere zumindest 97,5% oder gar zumindest 99% des Gesamtproteingehalts der bereitgestellten zumindest teilweise entölten Pflanzensamen in Bezug auf deren Trockenmasse beträgt.

9. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Pflanzensamen ausgewählt sind aus Mandeln, Leinsamen und Steinobstkernen.

10. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei die Pflanzensamen ausgewählt sind aus Mandeln und Steinobstkernen, wobei der Benzaldehydgehalt des hergestellten Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse zumindest 5%, bevorzugt zumindest 10%, noch mehr bevorzugt zumindest 15%, insbesondere zumindest 20% oder gar zumindest 25% des Gehalts an Amygdalin und Prunasin im hergestellten Pflanzensamenmaterial in Bezug auf dessen Trockenmasse beträgt.

11. Pflanzensamenmaterial, erhältlich nach dem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10.

12. Pflanzensamenmaterial nach Anspruch 11, wobei der Benzaldehydgehalt des Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen

Trockenmasse zumindest 5%, bevorzugt zumindest 10%, noch mehr bevorzugt zumindest 15%, insbesondere zumindest 20% oder gar zumindest 25% des Gehalts an Amygdalin und Prunasin im Pflanzensamenmaterial in Bezug auf dessen Trockenmasse beträgt.

13. Pflanzensamenmaterial nach Anspruch 11 oder 12, wobei der Gehalt an cyanogenen Verbindungen im Pflanzensamenmaterial so niedrig ist, dass in Bezug auf die Gesamtmasse des Pflanzensamenmaterials weniger als 1000 mg/kg, bevorzugt weniger als 800 mg/kg, mehr bevorzugt weniger als 600 mg/kg, noch mehr bevorzugt weniger als 400 mg/kg oder gar weniger als 300 mg/kg, insbesondere weniger als 200 mg/kg oder gar weniger als 150 mg/kg Blausäure freisetzbar ist.

14. Pflanzensamenmaterial in Form eines Pulvers oder Granulats, aufweisend zumindest teilweise entölte, insbesondere verpresste, Pflanzensamen, wobei die Pflanzensamen ausgewählt sind aus Mandeln und Steinobstkernen, wobei der Benzaldehydgehalt des Pflanzensamenmaterials in Bezug auf dessen Trockenmasse zumindest 5%, bevorzugt zumindest 10%, noch mehr bevorzugt zumindest 15%, insbesondere zumindest 20% oder gar zumindest 25% des Gehalts an Amygdalin und Prunasin im Pflanzensamenmaterial in Bezug auf dessen Trockenmasse beträgt.

15. Pflanzensamenmaterial nach Anspruch 14, wobei der Gehalt an cyanogenen Verbindungen im Pflanzensamenmaterial so niedrig ist, dass in Bezug auf die Gesamtmasse des Pflanzensamenmaterials weniger als 1000 mg/kg, bevorzugt weniger als 800 mg/kg, mehr bevorzugt weniger als 600 mg/kg, noch mehr bevorzugt weniger als 400 mg/kg oder gar weniger als 300 mg/kg, insbesondere weniger als 200 mg/kg oder gar weniger als 150 mg/kg Blausäure freisetzbar ist.

16. Pflanzensamenmaterial nach einem der Ansprüche 11 bis 15, wobei die Aktivität der darin vorhandenen β -Glucosidase-Amygdalinhydrolase (EC 3.2.1.117) noch so hoch ist, dass zumindest 50 Gew%, bevorzugt zumindest 60 Gew%, noch mehr bevorzugt zumindest 70 Gew%, insbesondere zumindest 80 Gew% oder gar zumindest 90 Gew% von 100 mg Amygdalin, welche 1 g Trockenmasse des Pflanzensamenmaterials, vermischt mit 10 mL Wasser, zugesetzt worden sind, innerhalb einer Stunde bei 40°C abgebaut werden.

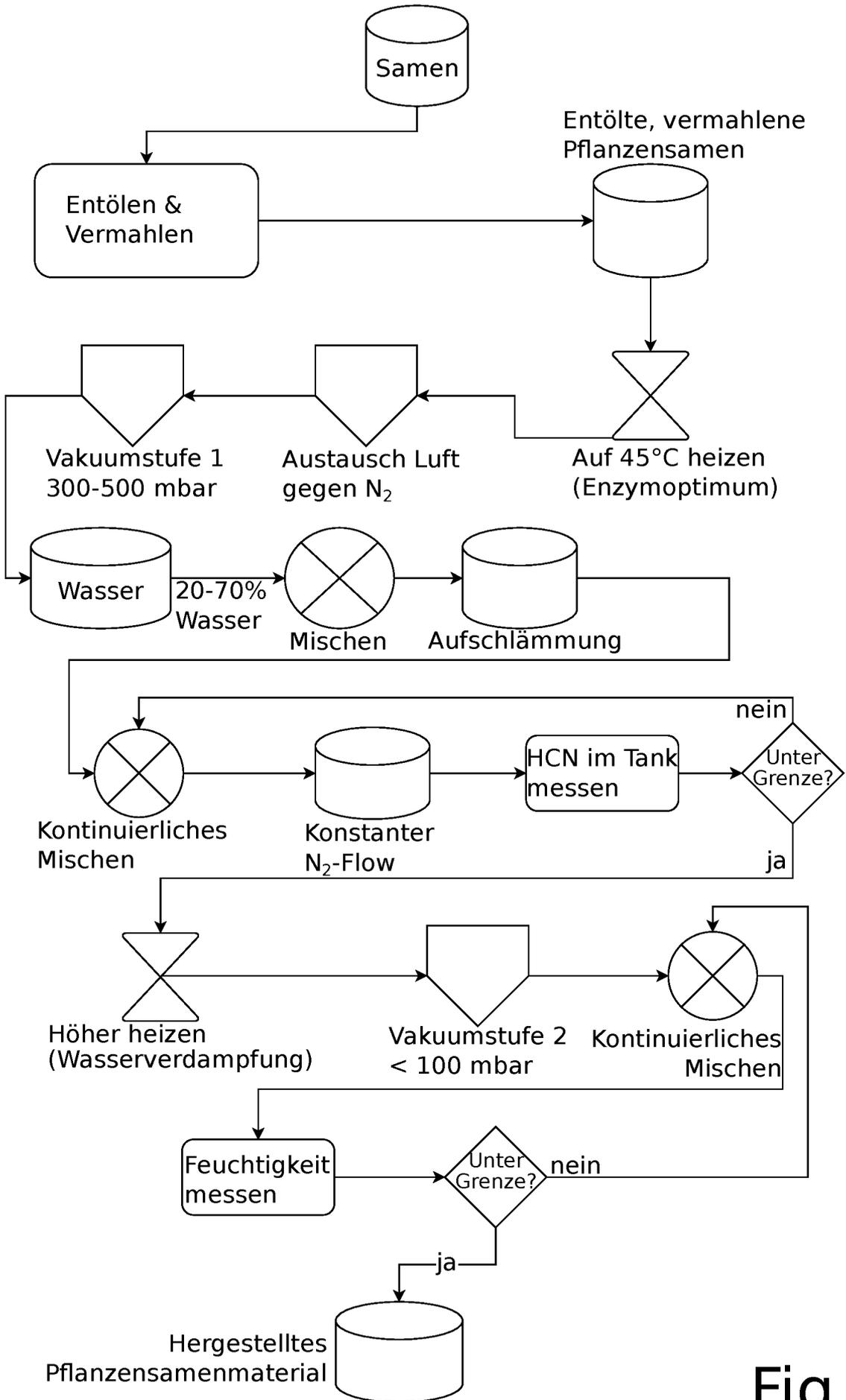


Fig. 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2022/068145

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>A23L 5/20</i> (2016.01)i; <i>A23L 11/30</i> (2016.01)i; <i>A23L 25/00</i> (2016.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23L Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 154733 C (L.C. OETKER) 05 October 1904 (1904-10-05) cited in the application	1-16
Y	page 1, line 46 - line 76; claim 1	1-13
X	CN 1081328 A (CHENG XINHUA [CN]) 02 February 1994 (1994-02-02) cited in the application	1-16
Y	figure 1; example 1	4,6
X	CN 110547391 A (HANGZHOU NATURE BIOTECHNOLOGY CO LTD) 10 December 2019 (2019-12-10) cited in the application	1-13
Y	example 1	1-13
X	JP 2012254060 A (YASUKANE JAPAN CO LTD) 27 December 2012 (2012-12-27) cited in the application paragraphs [0027], [0031]; figure 2	1-13
X	CN 1084027 A (ZHANG NING [CN]) 23 March 1994 (1994-03-23) cited in the application example 1	1-16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 08 September 2022		Date of mailing of the international search report 19 September 2022
Name and mailing address of the ISA/EP European Patent Office p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk Netherlands Telephone No. (+31-70)340-2040 Facsimile No. (+31-70)340-3016		Authorized officer Stiegler, Petra Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2022/068145

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 108485798 A (GUANGZHOU LIZHONG BIOLOGICAL TECH CO LTD) 04 September 2018 (2018-09-04)	11-13
Y	claims 1-4	4,6
X	CN 105595283 B (ZHUOLU GUOREN FOOD CO LTD) 06 March 2020 (2020-03-06)	11-16
	table 3	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/EP2022/068145

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
DE 154733	C 05 October 1904	NONE	
CN 1081328	A 02 February 1994	NONE	
CN 110547391	A 10 December 2019	NONE	
JP 2012254060	A 27 December 2012	JP 5763429 B2 12 August 2015 JP 2012254060 A 27 December 2012	
CN 1084027	A 23 March 1994	NONE	
CN 108485798	A 04 September 2018	NONE	
CN 105595283	B 06 March 2020	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
INV. A23L5/20 A23L11/30 A23L25/00		
ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) A23L		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 154 733 C (L.C. OETKER) 5. Oktober 1904 (1904-10-05) in der Anmeldung erwähnt	1-16
Y	Seite 1, Zeile 46 - Zeile 76; Anspruch 1 -----	1-13
X	CN 1 081 328 A (CHENG XINHUA [CN]) 2. Februar 1994 (1994-02-02) in der Anmeldung erwähnt	1-16
Y	Abbildung 1; Beispiel 1 -----	4, 6
X	CN 110 547 391 A (HANGZHOU NATURE BIOTECHNOLOGY CO LTD) 10. Dezember 2019 (2019-12-10) in der Anmeldung erwähnt	1-13
Y	Beispiel 1 -----	1-13
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist		"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
8. September 2022		19/09/2022
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Stiegler, Petra

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>JP 2012 254060 A (YASUKANE JAPAN CO LTD) 27. Dezember 2012 (2012-12-27) in der Anmeldung erwähnt Absätze [0027], [0031]; Abbildung 2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13
X	<p>CN 1 084 027 A (ZHANG NING [CN]) 23. März 1994 (1994-03-23) in der Anmeldung erwähnt Beispiel 1</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-16
X	<p>CN 108 485 798 A (GUANGZHOU LIZHONG BIOLOGICAL TECH CO LTD) 4. September 2018 (2018-09-04)</p>	11-13
Y	<p>Ansprüche 1-4</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	4, 6
X	<p>CN 105 595 283 B (ZHUOLU GUOREN FOOD CO LTD) 6. März 2020 (2020-03-06) Tabelle 3</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	11-16

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2022/068145

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 154733	C	05-10-1904	KEINE
CN 1081328	A	02-02-1994	KEINE
CN 110547391	A	10-12-2019	KEINE
JP 2012254060	A	27-12-2012	JP 5763429 B2 12-08-2015 JP 2012254060 A 27-12-2012
CN 1084027	A	23-03-1994	KEINE
CN 108485798	A	04-09-2018	KEINE
CN 105595283	B	06-03-2020	KEINE