

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

**SZABADALMI
LEÍRÁS
SZOLGÁLATI TALÁLMÁNY**

(11) Lajstromszám:

203 660 B

(21) A bejelentés száma: 1757/87
(22) A bejelentés napja: 1987.04.23.
(23) Módosítási elsőbbség: 1988.03.31.

(51) Int. Cl.⁵

A 61 K 31/20

(40) A közzététel napja: 1988.10.28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1991.09.30. SZKV 91/09

(72) Feltalálók:

dr. Farkas Tibor, Szeged (HU)	60%
dr. Márton László, Szeged (HU)	10%
Nagyné Vanicsek Anikó, Szeged (HU)	20%
Pelle László, Szeged (HU)	5%
Török Gábor, Szeged (HU)	5%

(73) Szabadalmas:

BIOGAL Gyógyszergyár, Debrecen (HU)

(54)

**Javított eljárás ómega-3-telítetlen zsírsavakban gazdag
táplálkozás-kiegészítő készítmény előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás ómega-3-telítetlen zsírsavakban gazdag táplálkozás-kiegészítő készítmény előállítására halakból a lipidek extrahálásával, mely-

nek során az extrakciót keszeg hasúri zsiradékából végzik.

HU 203 660 B

A leírás terjedelme: 12 oldal (4 lap ábra)

Az érlelmeszesedés következményein át, mint a koszorúér-elzáródás okozta szívinfarktus, civilizált országokban az egyik leggyakoribb halálok. Megnövekedett gyakoriságát az életmód és táplálkozás jellegzetes irányú megváltozásának tudják be, melyek ismert módon növelik a hajlamot és a kiváltó rizikófaktorokat.

A táplálkozáson belül a felvett zsírnemű anyagok mennyisége és összetétele is jelentősen módosul, illetve torzul, ha természetes környezetben élők diétáját hasonlítjuk a nagyváros lakóinak táplálkozási szokásaihoz. Az összetétel-változás közismert következménye a hiperlipidémia, a vér koleszterin-szintjének emelkedése. Ezt az érlelmeszesedés megelőzésére sok országban rendszeres szűrővizsgálaton ellenőrzik.

A legutóbbi tíz évben derült fény arra, hogy egy szűkebb csoport, a telítetlen zsírsavak kiegyensúlyozott megoszlása is döntő jelentőséggel bír. Azok prekurzorai egy, a szervezetben keletkező, regulációs funkciót betöltő vegyületcsaládnak. Ha a telítetlen zsírsavak egy csoportja a táplálékból hiányzik, a keletkező szabályozó vegyületek funkcionális egyensúlya is megbomlik, és teljességükben még fel sem tárt súlyos következményekhez vezet.

Erre a jelenségre az hívta fel a figyelmet, hogy a grönlandi eszkimók és egyes japán halászfalvak lakói körében gyakorlatilag nem fordul elő érlelmeszesedés, magas vérnyomás, trombózis, azaz érlelmeződés. Genetikai okok kizárhatóak voltak, az eltérésre igen jellegzetes haldús táplálkozásuk adta meg a választ. Az eszkimók halfogyasztása évente személyenként több száz kg, ugyanez a szám az USA-ban 7, Magyarországon 3 kg/év. Lényeges a fogyasztott halak fajtája. Növényevő, hidegtengeri halakról van szó, ezek húsa zsírdús, a zsírosszetétel pedig egyedülálló omega-3-telítetlen zsírsav-tartalma miatt. (Am. J. Clin. Nutr. 28 958 [1975], Lancet 1, 117 [1978], Lancet 2, 433 [1979]).

A zsírsavak a szervezetben foszfolipidek, trigliceridek és szabad zsírsavak formájában vannak jelen. Eredetük és funkciójuk szerint négy fő csoportra oszthatók.

Telített zsírsavak:

bármely szénforrásból, ecetsavon át minden szervezet felépíti. Az emberi táplálékba főleg állati zsírként kerül.

Ómega-9-telítetlen zsírsavak:

a csoport jellemző és kiindulási anyaga az olajsav. Állati vagy növényi szervezet egyaránt szintetizálja.

Ómega-6-telítetlen zsírsavak:

a csoport jellemző és kiindulási anyaga a linolsav. Növényi szövetekben, elsősorban a magvakban fordul elő.

Ómega-3-telítetlen zsírsavak:

a csoport jellemző és kiindulási anyaga a linolénsav. Vízben élő mikroorganizmusok szintetizálják, majd az ezzel táplálkozó halak szövetében dúsul fel. Az emberi táplálékba csak ilyen halak fogyasztásával, így igen kis mennyiségben kerül. Fontosságra utal, hogy a kis mennyiség elsősorban az agyszövetben

jelenik meg. Nem életfontosságú vegyületcsoport, és hiányában regulációs zavarok, megbetegedések lépnek fel, közvetetten és más tényezőkkel együtt hiányuk halált okozhat.

5 A zsírsavak jelölése: X : Y ómega Z (szénatomszám: kettőskötések száma és Z jelenti az utolsó kettőskötés mögötti telített szénlánc hosszát, beleértve a végálló metilcsoportot is).

Az előforduló vegyületek jelölése:

10 18 : 1 ómega 9 = olajsav,

18 : 2 ómega 6 = linolsav,

18 : 3 ómega 3 = linolénsav.

A 20 szénatomos csoport az eikozasavak csoportja, ide tartozik a 20 : 4 ómega 6 arachidonsav (AA), a 20 : 5 ómega 3 eikozapentaénsav (EPA).

A 22 szénatomos csoport a dokozasavak, itt említett képviselői a 22 : 1 ómega 9 arukasav és a 22 : 6 ómega 3 dokozahexaénsav (DHA).

Az említett reguláló anyagok képződésében a 20 szénatomos eikozasavaknak van szerepük, a keletkező 80 szénatomos vegyületcsalád az eikozanoidok. Funkcionális megkülönböztethetői a gyűrűképződéssel jellemezhető tromboxánok (Proc. Natl. Acad. Sci., 1975, Hamburg) és prosztaglandinok. Utóbbi csoport korábban ismert volt, de ez időben derült ki, hogy ugyancsak eikozasavakból vezethető le (Nature, 1976, Moncada). További anyagcsere-utakon keletkeznek a leukotriének (Proc. Natl. Acad. Sci., 1979, Murphy) és napjainkban is további metabolitok és funkciók válnak ismertté.

Az eikozanoidok bioszintézisének vázlatát az 1. ábra mutatja. Természetes kiindulási anyaga a foszfolipidekben levő arachidonsav (AA). A ciklizáláskor két kettőskötés felszakad, a termékek delta 5 és delta 14 kettőskötést tartalmazó diének. A csoportot így „dién metabolitok”-nak is nevezik.

Az 1. ábrán feltüntetett metabolitok funkciója:

40 PGH₂ érszűkítő, ADP-t szabadít fel, vérlemezkét aktivál. Az aktív vérlemezkék tapadássága nő, hormont termelnek, ami stimulálja az érfal sejtek proliferációját, azerotonint szabadítanak fel és tromboxánt termelnek.

45 TXA₂ Vérlemezkéket aggregálja, trombusképződést elősegíti.

LTB Gyulladás-keltő, immunreakciókat stimulálja.

12 HETE Kemotaktikus hatású a leukocitákra.

PGI₂ Értágító.

50 TXB₂ és 6keto PGF₁ A szervezetből kiürülő végtermékek.

Mindezek alapján az eikozanoidok rendszere a szervezetet érő káros behatásra – idegen anyag bekerülése, lerakódása, érfallézió stb. – gyulladással, allergiás reakciókkal, érfalvastagodással és -szűkülettel, és a sérült helyen a vér megalvasztásával válaszol.

55 Valamennyi szabályozás alapelve, hogy a jelre meginduló reagálásokat fékezni, csillapítani kell, különben az egyoldalú szabályozó rendszer a kiváltott állapotokat az ellentétes irányú, hibás tartományba viszi át.

60

A szervezet jelen esetben a feladatot úgy oldotta meg, hogy ugyanezen enzimszisztéma analóg szubszt-rátjai az eikozapentaénsav (-EPA-) és termékei. Ezek a molekulák az AA metabolitok megfelelőivel kompetálnak, azokat az enzimek felületéről leszorítják, saját termékeik pedig gyakorlatilag hatástalanok.

A két kiindulóanyag és metabolitjaik a delta 17 ket-tőskötésben különböznek egymástól. Az EPA eredetű metabolitokat „trién” metabolitoknak nevezzük. A szervezet egyensúlya tehát a dién kontratrién metabo-litok egyensúlyától függ. (Nature, 307, 165., 1984).

Az EPA-ból levezethető bioszintézis-utak vázlatát a 2. ábra mutatja.

A 2. ábrán feltüntetett metabolitok funkciója:

PCH₃ enyhén értágító,

TXA₃ és

LTB₅ gyakorlatilag hatástalan,

PGI₃ közel azonos értágító, mint PGI₂.

A trién metabolitok növelik a ciklikus ANP-szintet, ez gátolja a foszfolipáz A₂-t, ezzel az AA keletkezését.

A 22 : 6 ómega 3 szerkezetű dokozaheptaénsav (DHA) az EPA-val azonos hatású. Kisebb szénatom-számú ómega 3 savak a szervezetben EPA-vá alakul-nak az ún. elongációs folyamatban. Az anyagcse-re-utak és metabolit funkciók leírásával igen sok iroda-lom foglalkozik (pl.: Proc. Natl. Acad. Sci., 76, 944 [1979]; B. B. A., 875, 369 [1986]; New England J. of Med., 314, 937 [1986]; Thrombosis Res., 42, 99 [1986]; Nutr. Reviews, 44, 205 [1986]).

Biokémiai vizsgálatok, állatkísérletek és klinikai tesztek egyaránt igazolták, hogy tartósan magas óme-ga-6-/ómega-3 arány a telítetlen zsírsavak megoszlá-sában fokozhatja az érszűkületre, trombózisra, aller-giás, gyulladásos megbetegedésekre való hajlamot. Az arány javításával a betegségek megelőzhetők, a kiala-kult betegségek tünetei mérsékelhetők. Az arány javí-tásához a ma általános táplálkozási szokások mellett ómega-3 telítetlen zsírsavak adagolása szükséges. Az ómega-3-telítetlen zsírsavakban gazdag halhús, vagy készítmény kedvezően befolyásolja a vérplazma lipid tartalmát, az ún. VLDL vagy LDL frakció csökken a HLD frakcióval szemben – ez mérsékli a koleszterin lerakódását és elősegíti a kiürülést. (Prog. Lipid. Res., 25, 461 [1986]). Más irányú kutatások egyes bőrbeteg-ségek kezelésénél tartják fontos feltételnek a korrigált ómega-6/ómega-3 arányt (Arch. Dermatol., 122, 1277. [1986]), sőt rosszindulatú daganatok és áttéte-lek kialakulásának kutatása is igazolni tudta az eltoló-dott zsírsavarányok szerepét (Prog. Lipid. Res., 25, 583 [1986]).

A nagy jelentőségű új ismeretek gyors reagálást vál-tottak ki világszerte. Széles propaganda indult meg a halfogyasztás növelésére, elsősorban hideg tengeri ha-lakat – szardínia, makrela, lazac, hering, tőkehal – ajánlva. Csehszlovák szerző kimutatta, hogy egyes édesvízi halak is besorolhatók az ómega-3 telítetlen zsírsavforrások közé. A vizsgált faj *Cyprinus carpio*, ennek zsírtartalma 7%, ezen belül az EPA-tartalom az össz-zsír 4,0%-a, az AA-értéke 1,3%. (Lancet 717, 1983 és Prog. Lipid. Res., 25, 207 [1986]).

A hazánkban honos és tenyésztett busa – Hypoph-talmichthis húsának zsírsavtartalmát magyar szerzők 1978-ban vizsgálták. A munkában a takarmányozás befolyását követték. Méréseik szerint ezekben a fa-jokban az EPA-tartalom elérheti az össz-zsír 8,3, sőt 9,9%-át. Ehhez tartozó AA-értékek 7,5 illetve 8,5% (Aqaculture Hungarica, 1, 35 [1978]).

A nagyobb mérvű halfogyasztás egyes táplálkozás-tudósok szerint herbicid – peszticid mérgezést okoz-hat, ezek a szerek ugyanis elsősorban halakban halmo-zódnak fel. Ezért, és a pontos adagolhatóság kedvéért az Amerikai Egyesült Államokban megindult az óme-ga-3-telítetlen zsírsavakat tartalmazó készítmények gyártása és forgalmazása. Ezek leggyakrabban kap-szulákban kiszerelt olajok, 20–50% ómega-3-telítet-len zsírsav – EPA- és DHA-tartalommal.

Az eddig ismert lehetőségek táplálkozásunk korri-gálására mégsem hoztak megoldást. Az új cél kielégí-tése közben nem feledkezhetünk meg arról a korábban igazolt tényről, hogy egyes zsírsavak ismételt fogyasz-tása a szervezetre káros. Konkrétan, a 20 és 22 szén-atomos monoén zsírsavak jellegzetesen lerakódnak a szívizom membránjaiban, egyre súlyosbodó degenerá-ciót, ingerületvezetési zavart – kóros EKG-t – okozva. A 22 szénatomos erukasav a repceolajban fordul elő nagy mennyiségben.

Növénynevesítők nagy erőfeszítéseket tettek eru-kasav-mentes repce kinemesítésére. (Lipids 746 és 548 [1972]).

Az elmúlt évben forgalomba került olajkészítme-nyek ebből a szempontból nem deklaráltak, utánvizs-gálatok kedvezőtlen eredményt adnak.

Néhány példa:

	EPA	DHA	20:1 és 22:1
Tőkehal-máj	10%	11%	24%
SUPER-EPA	30%	20%	11%
LOVITRON	9%	11%	20%

A további készítmények is, mint a PROMEGA, PROT-CHOL vagy ÓMEGA-3-EPA a hatóanyag-on kívül 55–86% vegyes kísérőanyagot tartalmaznak.

A találmány célja a fenti hátrányos hatások kikü-szöbölése.

Felismerésünk lényege, hogy a közegészségügy és gyógyászat szempontjából egyaránt fontos feladat megoldható anélkül, hogy a káros hatás kivédése más, a szervezetet veszélyeztető következményeket hor-dozzon. Magas ómega-3-telítetlen zsírsav-tartalmú, 20:1 és 22:1 mentes készítmény állítható elő, ha szaba-don élő vagy üzemszerűen tenyésztett fehér busa – Hypophthalmichthys molitrix – vagy pettyes busa – Aristichthys nobilis –, illetve bizonyos keszegfajták – célszerűen a dévér keszeg, *Abramis brama* – hasúri zsiradékát használjuk fel kiindulási anyagként, ebből a lipideket ismert módon, szerves oldószerrel, oldósze-releggyel, forró vízzel vagy kigőzöléssel extraháljuk, a

nyert lipidkeveréket lipid-karbamid-komplexek képzésével és leválasztásával magasabb fokban telítetlen zsírsavakban dúsítjuk. Az eddig lényegében gazdaságtalan kinyerés hasúri zsíradékból iparilag is értékesé válik.

A fehér busa vagy pettyes busa, illetve a keszegfélék szöveteinek lipidösszetételére jellemző, hogy gyakorlatilag nem tartalmaz 20:1 és 22:1 zsírsavakat, és viszonylag gazdag az EPA- és DHA-tartalma. Az izom zsírtartalma alacsony – 3% –, alig tizede az említett tengeri halak zsírtartalmának – azonban a zsigereken –, melyeket eddig hulladékként kezeltek, igen jelentős mennyiségű zsír rakódik le. A belekről és csepleszről leválasztható zsírszövet közel 100% zsírtartalma mellett meglepő módon és kedvezően az alacsony AA-tartalommal tűnik ki, és legalább 11 t%, keszeg esetén legalább 20 t% ómega-3 telítetlen karbonsavat tartalmaz.

A zsírsavak fő tömege telített zsírsav és olajsav, ezek mennyisége egyszeri karbamid-komplexes kezeléssel nagyságrendileg csökkenthető, ezzel a hatóanyag-tartalom – EPA, DHA és a 8 szénatomos polién EPA-vá alakulva ómega-3 zsírsav – 60% fölé emelhető.

A könnyen kivitelezhető karbamid-komplexes tisztítás a lipid irodalomból ismert (H. P. Kaufman Analyse der Fette und Fettprodukte, I. kötet, 76. oldal, Springer Verlag [1958]). A módszer lényege, hogy monoén vagy telített zsírsavak karbamiddal komplexet képeznek, magasabb fokban telítetlen zsírsavak nem tudják a karbamidot komplexbe zárni. A komplex a rendszerből csapadék formájában leválik. A lépést tengeri hal eredetű olajok kezelésére alkalmazza a 4377526 számú USA-beli szabadalmi leírás. Az eljárás finomvegyeszer tisztaságú – 75–93%-os – EPA-t állít elő, ahol első vagy második lépésként végez karbamidos dúsítást. Az egyes komponensek elkülönítésének módjai az itt alkalmazott frakcionált desztilláció, a frakcionált, alacsony hőmérsékletű kristályosítás, molekuláris desztilláció vagy ioncserélő kromatográfia ezüst-telített gyantán.

Az eljárás előnyei:

- a busa jól szaporítható, igénytelen halfajta
- zsírszövet felhasználása tizedére csökkenti az extrahálendő tömeget
- zsírszövet alkalmazásával nehezen megsemmisíthető hulladékanyagot dolgozunk fel, környezetkáros anyagot hasznosítunk
- a kiinduló anyag jellegzetes lipid-összetétele biztosítja, hogy egyszerű, egylépéses tisztítással is magas hatóanyag-tartalmú, károsanyag-mentes készítményt kapjunk
- A dévérkeszeg jelentős mennyiségben halászható, üzemszerű szaporítása nem szükséges

Az eljárásunk szerint nyert készítmény táplálkozás-kiegészítést és egészségmegőrzést szolgál. Mint ilyen, kiemelkedik magas hatóanyag-tartalmával (EPA + DHA) és kedvezően alacsony AA-tartalma miatt, továbbá veszélytelen, mert nyomokban sem tartalmaz 20:1, 22:1 savakat.

A találmány szerinti eljárás további előnye, hogy

értéktelen hulladékanyagból, húshoz vagy egész halhoz viszonyítva többszörösen kisebb tömegből végez lipid extrakciót. A kapott nyerstermék egyetlen egyszerű lépéssel hatékonyan tisztítható.

- 5 Az eljárással nyert készítmény táplálékba keverve vagy kapszulázva alkalmazható érszűkület, érlemezsedés, érelzáródás, allergiás eredetű bőrgyulladás, daganatos áttétel megelőzésére folytatott egészségvédelmi tevékenység szereként. Ugyanezen megbetegedések gyógykezelése során alkalmazható a helyes diéta beállításának eszközeként. Napi dagja 0,2–2,0 g az alkalmazás indokától és időtartamától függően.

1. példa

- 15 Mesterséges halastóban tenyésztett 3 nyaras fehér busa – 1,2 kg tömegű – feldolgozásakor a belső részek eltávolítása után a zsigereken lerakódott vastag zsírszövetet kézzel könnyedén leválasztjuk. Egy állatból nyert mennyiség átlagosan 135 g. A zsírszövetből és a hal húsból 1–1 g mintát veszünk, ezeket háromszor 5 ml petroléterrel extraháljuk oly módon, hogy az első oldószer mennyiséggel a szövetet 2 g vízmentes nátrium-szulfát jelenlétében homogenizáljuk, a szilárd részeket kiszűrjük, a szűrőn ismételtelen felszuszpendálva még kétszer 5 ml petroléterrel kivonatoljuk. A három oldószer-részletet egyesítjük, vákuumban olajos maradékig desztilláljuk. Az olajat gázkromatográfiával vizsgáljuk.

- 30 Az eredményeket a ponty húsanak extraktumához hasonlítjuk.

Trigliceridek megoszlása (%)

Zsírsav	Fehér busa		Ponty
	hasüregi zsírszövet	hús	hús
14:0	3,0	1,7	1,6
16:0	16,1	18,3	17,0
18:0	0,4	4,6	5,0
16:9 ómega-9	7,9	5,2	7,0
18:1 ómega-9	45,4	12,6	54,7
20:1 ómega-9	–	–	1,8
22:1 ómega-9	–	–	–
18:2 ómega-6	1,5	2,6	6,3
20:2 ómega-6	1,5	0,1	–
20:3 ómega-6	–	0,4	–
20:4 ómega-6	0,5	8,8	1,9
22:4 ómega-6	0,1	0,9	0,2
22:5 ómega-6	0,5	3,3	0,2
18:3 ómega-3	1,4	4,3	0,7
18:4 ómega-3	nyom	0,2	–

Zsírsv	Fehér busa		Ponty
	hasüregi zsírszövet	hús	hús
20:4 ómega-3	-	-	-
20:5 ómega-3	4,6	12,4	0,7
22:5 ómega-3	0,7	2,4	0,1
22:6 ómega-3	3,8	12,3	0,6

A hasüregi zsír nem tartalmaz 20:1 és 22:1 zsírsavat. Alig tartalmaz AA-t. EPA- és DHA-tartalma a húshoz képest alacsony, de a húshoz tartozó értékek az extrahálható szövet egész tömegére viszonyítva 1/30 részükre csökkennek, így a hús tényleges EPA- és DHA-tartalma a zsírszövetének kb. 1/10-e.

2. példa

Háromnyaras pettyes busa, tömege 2100 g. A hal felbontását és kibelezését követően a zsigereken levő zsírszövetet lazán leválasztjuk, tömege 200 g. A zsírszövetből és a hal húsból 1-1 g mintát veszünk, az 1. példa szerint azokat analizésre extraháljuk, és a zsírsavösszetételt gázkromatográfiával vizsgáljuk. Az eredményeket makrellá teljes halból kipréselt olaj összetételével hasonlítjuk össze.

Trigliceridek megoszlása (%)

Zsírsv	Pettyes busa		Makrellá
	hasüregi zsírszövet	hús	
14:0	4,2	2,0	6,0
16:0	20,1	17,4	15,1
18:0	2,4	6,1	2,3
16:1 ómega-9	13,5	3,4	3,9
18:1 ómega-9	31,5	10,0	13,8
20:1 ómega-9	1,1	0,9	8,4
22:1 ómega-9	-	-	10,5
18:2 ómega-6	1,7	2,8	1,1
20:2 ómega-6	0,2	-	0,2
20:3 ómega-6	0,2	0,3	-
20:4 ómega-6	1,0	8,9	0,8
22:4 ómega-6	-	0,6	-
22:5 ómega-6	0,1	2,3	-
18:3 ómega-3	1,9	3,8	1,4
18:4 ómega-3	-	0,2	3,3
20:4 ómega-3	-	0,7	0,3
20:5 ómega-3	6,6	14,3	7,0

Zsírsv	Pettyes busa		Makrellá
	hasüregi zsírszövet	hús	
22:5 ómega-3	1,4	2,4	0,6
22:6 ómega-3	2,4	16,7	10,5

A pettyes busa hasüregi zsírszövetének zsírsavösszetétele azonos jellegű, mint a fehér busáé, a hús zsírtartalmának zsírsavösszetevői is a magas AA és százalékosan EPA- és DHA-tartalomban térnek el. Az extrahálható tömeg viszont itt is többszörös, ha halhús az olajnyerés kiindulási anyaga. Makrellá esetén, noha valóban jó EPA- és DHA-forrása, jól látható a termékben megjelenő 20:1 és 22:1 tartalom oka.

3. példa

Az 1. példa szerint nyert 100 g zsírszövetet kloroform:metanol 2:1 tft/tf elegyének 2000 g-jával homogenizáljuk magas fordulátú laboratóriumi homogenizálón (pl. MSE homogenizer) kétszer 3 perces n=8000 kevertetéssel. A keletkezett emulziót 3 órán át állni hagyjuk, ezután szűréssel (Whatman 1PS papíron) eltávolítjuk a csapadékot képező fehérjéket, és a szűrlethez 400 ml 0,2M kálium-klorid vizes oldatot adunk. A rendszer két fázisra különül, a fázisok kítűkrősödését és teljes elválását megvárjuk, majd a lipideket tartalmazó alsó fázist leválasztjuk, a felső fázist elöntjük. A kloroformos oldatot vízmentes nátrium-szulfáttal szárítjuk, szűrjük és a szűrletet oldószermentesre pároljuk. Színtelen vagy világossárga olajhoz jutunk, ennek mennyisége 83,2 g, zsírsavösszetétele megegyezik az első példa szerinti összetétellel.

4. példa

A 2. példa szerint nyert 100 g zsírszövetet 800 ml petroléterrel extraháljuk 200 g vízmentes nátrium-szulfát jelenlétében homogenizálva. A szövetmaradékot és sóit szűréssel eltávolítjuk, a csapadékot kétszer 100 ml petroléterrel mossuk, a mosófolyadékot az extraktummal egyesítjük. A nyert lipid-oldatot vákuumban oldószermentesre pároljuk. Enyhén sárga olajhoz jutunk, ennek mennyisége 91 g, zsírsavösszetétele megegyezik a 2. példa szerintivel.

5. példa

Egynyaras fehér busának feldolgozása során nyert hasüregi zsírszövetet gyűjtünk. A műanyag tárolóba jég-tábladarabokat dobva, az anyagot olvadó jég hőfokán tartva a feldolgozás helyére szállítjuk.

5000 g zsírszövetet 20 l-es, Turrax-keverővel ellátott saválló tartályba tesszük, hozzá 5 l 70-80 °C hőmérsékletű vizet adunk, és az anyagot fél órán át homogenizáljuk. Újabb, kétszer fél l víz hozzáadásával az anyagot kétszer néhány másodpercig keverjük. A készüléket köpenyében áramlatot hűtővízzel hűtjük. 30 °C elérése után a hűtést abbahagyjuk, az anyagot állni hagyjuk, míg a vizes szuszpenzió tetején olajos réteg gyűlik össze. Dekantáló pipával az olajat le-

szívátjuk, az olajat nem tartalmazó vizes részt elöntjük. Az olajat szűrővel vagy szeparálással vízmentesítjük, színe világossárga, mennyisége 4650 g.

6. példa

3 db, egyenként 250 g-os dévérkeszeg (Abramis brama) hasüregéből a zsigeret eltávolítjuk, és a zsírszövetet összegyűjtjük. Így 30 g zsírszövethez jutunk, melyet 100 ml petróleum-éter jelenlétében későshomogenizátorral felaprítunk, majd a homogenizátumot szűrjük, és a szűrletet vízmentes nátrium-szulfát felett szárítjuk. A petrolétert vákuumban lepároljuk, majd a kapott szintelen zsírmintának (25 g) egy alikvótját metilezzük, és a zsírsav-összetételt gázkromatográfián vizsgáljuk. Az elemzési adatokat az Északi tengerből származó lazac (Salmo salar) testéből izolált trigliceridekkel hasonlítjuk össze.

Trigliceridek megoszlása (%)

Zsírsav	Dévérkeszeg hasúri zsír	Lazac izom triglicerid
14:0	6,6	6,6
16:0	11,9	9,0
18:0	0,5	0,2
16:1 ómega-9	12,5	6,3
18:1 ómega-9	20,6	21,3
20:1 ómega-9	1,2	21,3
22:1 ómega-9	-	13,5
18:2 ómega-6	7,9	4,1
20:2 ómega-6	0,2	0,2
20:3 ómega-6	0,1	0,2
20:4 ómega-6	5,3	0,6
22:4 ómega-6	0,6	-
18:3 ómega-3	7,3	1,0
18:4 ómega-3	2,8	2,7
20:4 ómega-3	0,6	0,6
20:5 ómega-3	8,3	4,8
22:5 ómega-3	1,5	1,4
22:6 ómega-3	5,4	7,2

7. példa

A 3., 4. vagy 5. példa szerint nyert olajban a zsírsav felszabadítását oly módon végezzük, hogy az olajat tízszeres mennyiségű petroléterben oldjuk, hozzáadunk a jelen levő zsírsavakkal ekvivalens mennyiségű, etanolban oldott kálium-hidroxidot. A rendszert szobahőmérsékleten 10–16 órán át állni hagyjuk. Ez idő alatt a trigliceridek elszappanosodnak. Kb. 12 óra letelte után a reakcióelegyhez azonos térfogatnyi vizet

adunk, ezzel összekeverjük, majd a fázisokat állással vagy szeparálással elválasztjuk. A felső petroléteres fázist szennyes oldószerként meggyűjtjük. Az alsó fázis tartalmazza a zsírsavak káliumsóját, ezt sósavas savanyítással – pH=4,0 – értéken megbontjuk, és a zsírsavakat felszabadítjuk. A vizes oldatból a szabad zsírsavakat petroléterbe átrázva, oldószermentesre párolva olajos formában kinyerjük. A zsírsavösszetétel változatlan.

8. példa

A 3., 4. vagy 5. példa szerint nyert olajban levő zsírsavakból zsírsav-metilésztert képezünk oly módon, hogy az olajhoz feles mennyiségű metanolban oldott nátrium-metoxidot adunk. A nátrium-metoxid a zsírsavtartalomra számított ekvivalens mennyiség. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten, 10–16 órán át állni hagyjuk, majd a zsírsavakra viszonyított tízszeres mennyiségű petrolétert és a fáziselváláshoz szükséges mennyiségű vizet adunk hozzá. Az alsó fázist elöntjük, a petroléteres oldatot vízzel mossuk és oldószermentesre pároljuk. A kapott olaj zsírsav-metil-észtereket tartalmaz. A zsírsavösszetétel változatlan.

9. példa

A 7. példa szerint nyert szabad zsírsavak, vagy a 8. példa szerint nyert zsírsav-metil-észterek kezelése a magasabb fokban telített zsírsavak dúsítására az alábbi módon történhet: az olajos anyagokból 20%-os metanolos oldatot készítünk, ehhez a jelen levő zsírsavak molekulatömegére számított 20-szoros mennyiségű karbamidot adunk metanolban oldva. Ennek során a metanol mennyiségét úgy választjuk meg, hogy a végső oldat zsírsav-koncentrációja 10% legyen. A reakcióelegyet +3–5 °C-on 24 órán át állni hagyjuk. Ezen idő alatt a telített, mono- és diénzsírsavak, ill. zsírsav-metil-észterek főtömege a karbamiddal adduktot képez, az addukt a rendszerből kikristályosodik. A kristályokat azonos hőmérsékleten, hűtés mellett a rendszerből kiszűrjük. A szűrletet vízzel kétszeresére hígítjuk, az oldatban levő polién zsírsavakat petroléterbe átrázva és oldószermentesre párolva kinyerjük. Fehér busa zsírszövetéből melegvízes kivonattal nyert, majd elszappanosított és felszabadított zsírsavak karbamidos tisztítását mutatja be a 3. és 4. ábra;

a 3. ábra a kiindulási olaj zsírsavösszetétele;

a 4. ábra a példa szerinti adduktképzés után nyert poliéndús zsírsavkeverék analízise.

Végtermékként 65,5% ómega-3-telítetlen zsírsavtartalmú olajat nyerünk.

Az ábrákról látható, hogy a polién zsírsavakra jellemző csúcs változatlan maradt, azonban a mono- és telített zsírsavak csúcsa a tisztított elegyben alig jelentkezik.

A zsírszövet tartósítására szükség esetén alkalmazhatunk mélyhűtést, adagolhatunk antioxidánsokat, például 0,1% tokoferolt vagy 0,05% butilált hidroxitoluolt. Az oldószeres kivonattal elvégezhetjük ellenáramú extraktorban, a vizes kivonattal elvégezhe-

tő zárt nyomásálló autoklávban a zsírszövet kigőzölésével.

A szabad zsírsavak pufferolt vizes közegben enzim bontással – lipázzal is – felszabadíthatók.

A karbamidkomplex képzést végezhetjük 50–70 °C-ra történő melegítéssel 1/2–1 órás reakcióidővel. A keletkezett addukt leválasztására a rendszert 30 °C alá hűtjük.

Zsírsavak vizes oldatából azok más zsíroidószerrel, például n-hexánnal, benzollal, etil-acetáttal kivonathatók. Oldószermentesre párlás előtt a víztartalmú szolvölenseket, például etil-acetát, nátrium-szulfáttal vagy gyantás kezeléssel szárítani kell.

10. példa

A 9. példában leírtak szerint járunk el, a 6. példában előállított olajból felszabadított zsírsavakat karbamiddal frakcionáljuk. Az eredményeket az alábbi táblázatban mutatjuk be:

Zsírsavak	Frakcionálás	Frakcionált termék
16:0	13,3	0,10
16:1	10,46	7,07
18:0	2,75	1,73
18:1	17,82	2,29
18:2 ómega-2	5,40	8,74
18:3 ómega-3	2,09	3,43
20:2 ómega-2	2,09	3,98
20:3 ómega-6	0,39	1,00
20:4 ómega-6	4,28	10,14
20:4 ómega-3	0,62	1,76
20:5 ómega-3	12,67	28,83
22:4 ómega-6	0,33	1,38
22:5 ómega-6	1,68	1,38
22:5 ómega-3	1,95	4,32
22:6 ómega-3	1,95	5,32
Egyéb	22,37	18,43

A táblázatban csak a legfontosabb zsírsavakat gyűjtöttük ki, az „Egyéb” címszó alatt megjelölt zsírsavak külön-külön az összesnek csak 0,1–1,0%-át tették ki. Az EPA feldúsulása 2,5% körül van. Az összes ómega-3 zsírsav mennyisége 43,66% alatt van. Kevés halolaj kapszulában (tengeri halakból) van ennyi ómega-3 vagy EPA. Előnyös az is, hogy az olajban arachidonsav (20 : 4 ómega-6) is van. A tengeri halolaj kapszulákat nagy mennyiségben fogyasztó emberek ugyanis bizonyos idő után esszenciális zsírsav hiánybetegséget kaphatnak, minthogy azokban az olajokban egyáltalán nincs 20 : 4 ómega-6.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

15

1. Eljárás legalább 20 t% ómega-3-telítetlen zsírsavat tartalmazó táplálkozás-kiegészítő készítmény előállítására halakból a lipidek extrahálásával, és adott esetben a zsírsavak felszabadításával, *azzal jellemezve*, hogy az extrakciót keszeg hasúri zsiradékából végezzük.

(Elsőbbsége: 1988. 03. 31.)

20

2. Eljárás legalább 11 t% ómega-3-telítetlen zsírsavat tartalmazó gazdag és 20 és 22 szénatomos monoén zsírsavaktól lényegében mentes táplálkozás-kiegészítő készítmény előállítására busa halfajból a lipidek extrahálásával, és adott esetben a zsírsavak felszabadításával, *azzal jellemezve*, hogy az extrakciót a busa faj hasúri zsiradékából végezzük.

25

(Elsőbbsége: 1987. 04. 23.)

30

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy fehér busát (*Hypophthalmichthys molitrix*) vagy pettyes busát (*Aristichthys nobilis*) alkalmazunk.

(Elsőbbsége: 1987. 04. 23.)

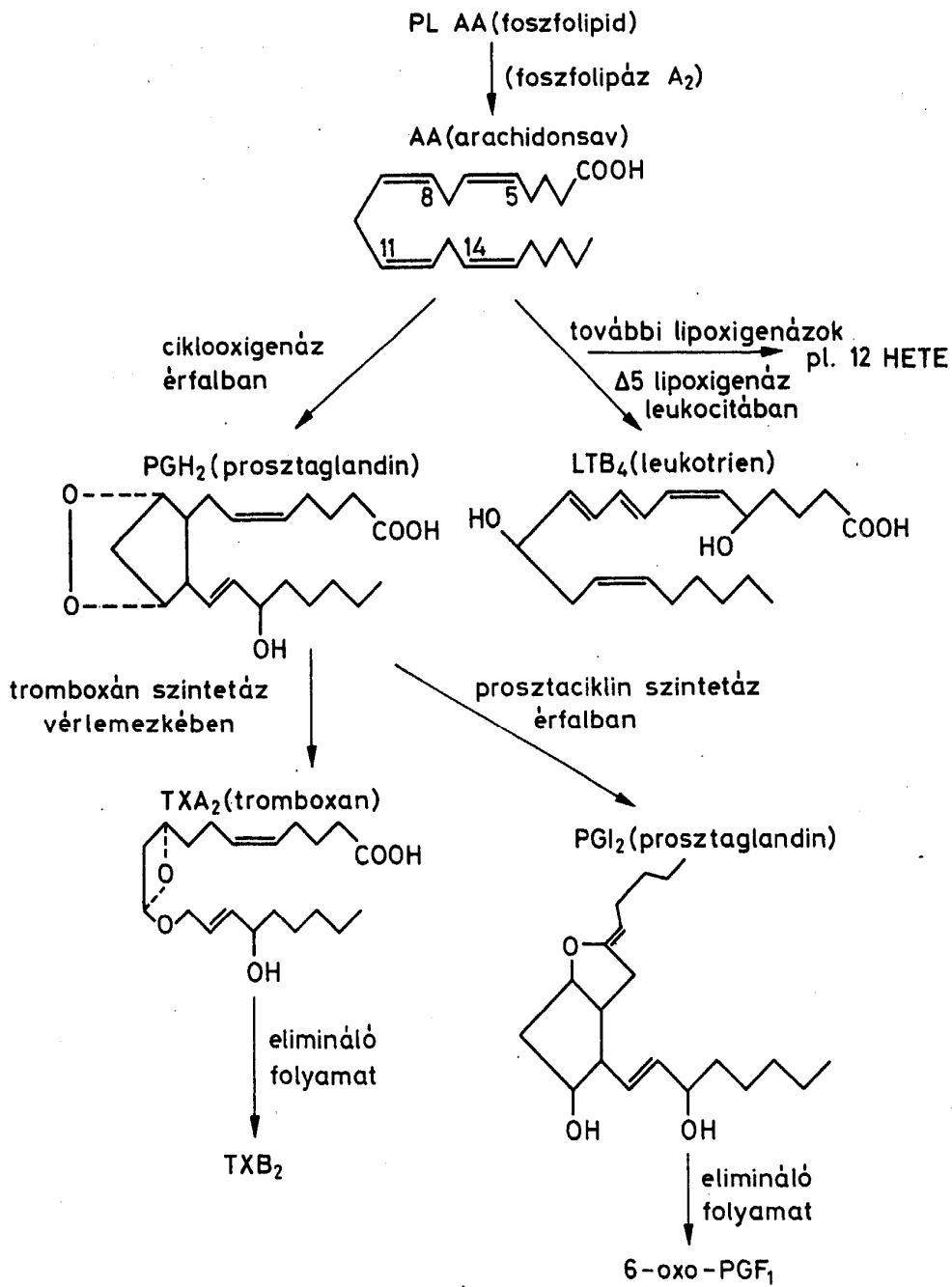
35

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy dévérkeszeget alkalmazunk.

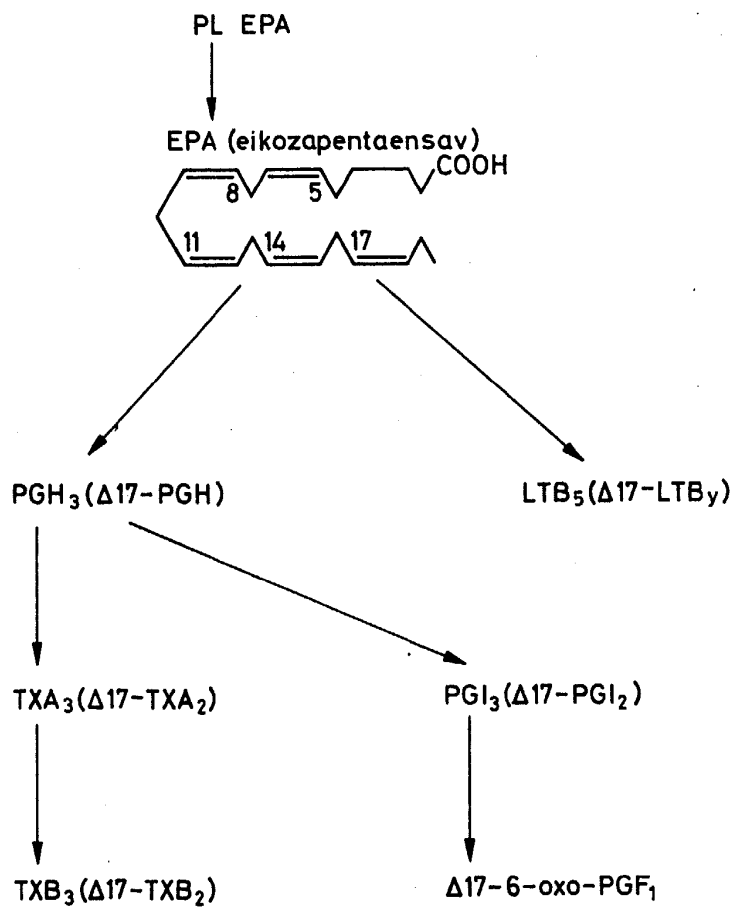
(Elsőbbsége: 1988. 03. 31.)

40

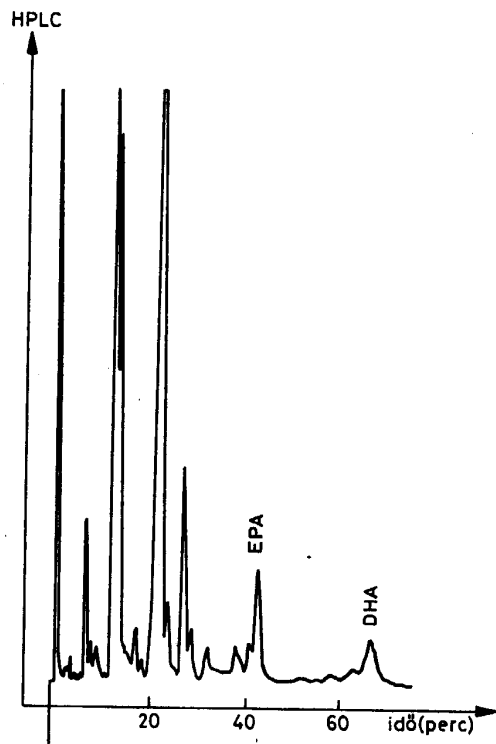
45



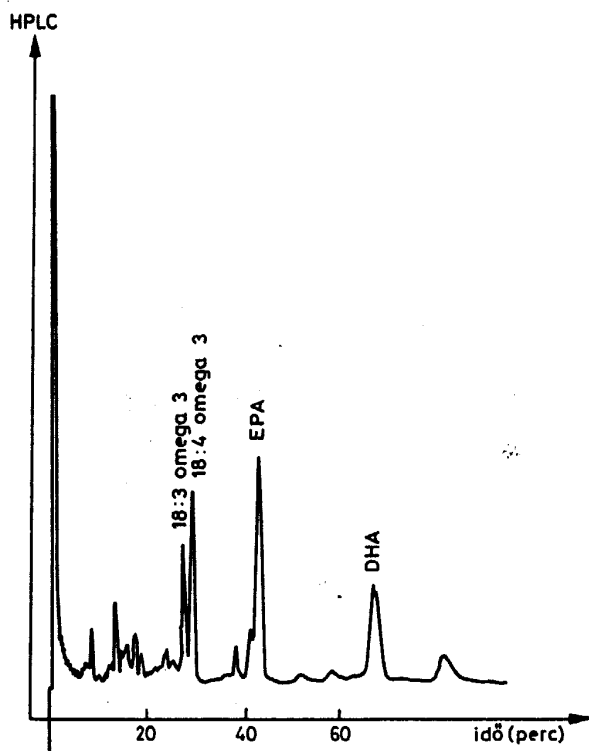
1. ábra



2. ábra



3. ábra



4. ábra