



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20050052 A2

HR P20050052 A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.⁷: C 11 B 3/00
C 11 B 7/00

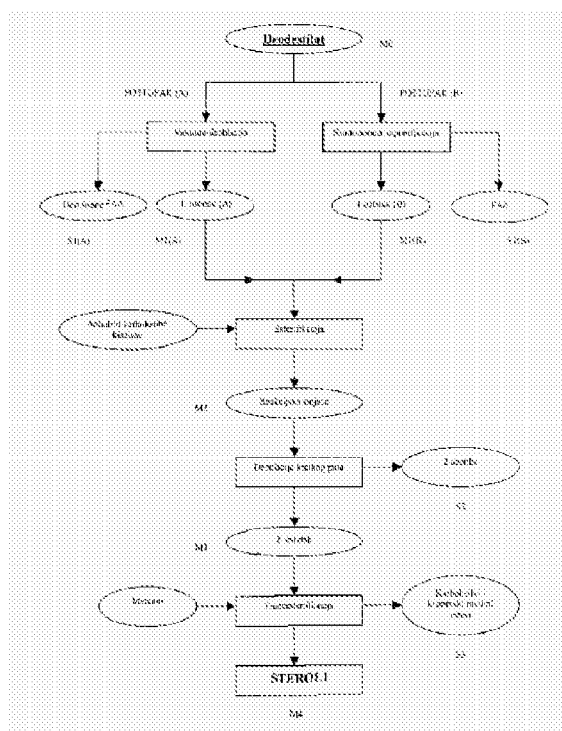
(21) Broj prijave u HR: P20050052A
(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 19.01.2005.
(43) Datum objave prijave patenta u HR: 31.08.2005.
(86) Broj međunarodne prijave: PCT/HU02/000062
Datum podnošenja međunarodne prijave: 02.07.2002.
(87) Broj međunarodne objave: WO 04/000979
Datum međunarodne objave: 31.12.2003.

(31) Broj prve prijave: P 0202024 (32) Datum podnošenja prve prijave: 19.06.2002. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: HU

(71) Podnositelj prijave: Bunge Rt., Rumbach S. u. 19-21, 1075 Budapest, HU
(72) Izumitelji: Tibor Czuppon, Róna u. 154 IV/2, 1145 Budapest, HU
Zsolt Kemény, Irisz u. 10, 1237 Budapest, HU
Endréné Kövári, Pejko u. 29, 1162 Budapest, HU
Katalin Recseg, Zrínyi u. 10/B, 1188 Budapest, HU
(74) Punomoćnik: PRODUCTA d.o.o., ZAGREB, HR

(54) Naziv izuma: POSTUPAK ODJELJIVANJA BILJNIH STEROLA OD NUSPRODUKATA RAFINACIJE
BILJNOG ULJA

(57) Sažetak: Postupak za odjeljivanje biljnih sterola i tokoferola iz deodorizacijskog destilata nastalog tijekom kemijskog ili fizikalnog rafiniranja biljnih ulja sastoji se od slijedećih koraka: slobodne masne kiseline se uklanjaju iz deodorizacijskog destilata vakuum-destilacijom ili kontinuiranom saponifikacijom otapala, nakon uklanjanja masnih kiselina, preostala smjesa reagira s anhidridom aromatske karboksilne kiseline pri temperaturi od 50-150 °C, pod smanjenim tlakom, nakon tretiranja s anhidridom iz smjese se uklanjaju tokoferoli, a kristalični slobodni steroli odjeljuju se transesterifikacijom iz destilacijskog ostatka koji sadrži sterolne estere, di- i trigliceride.



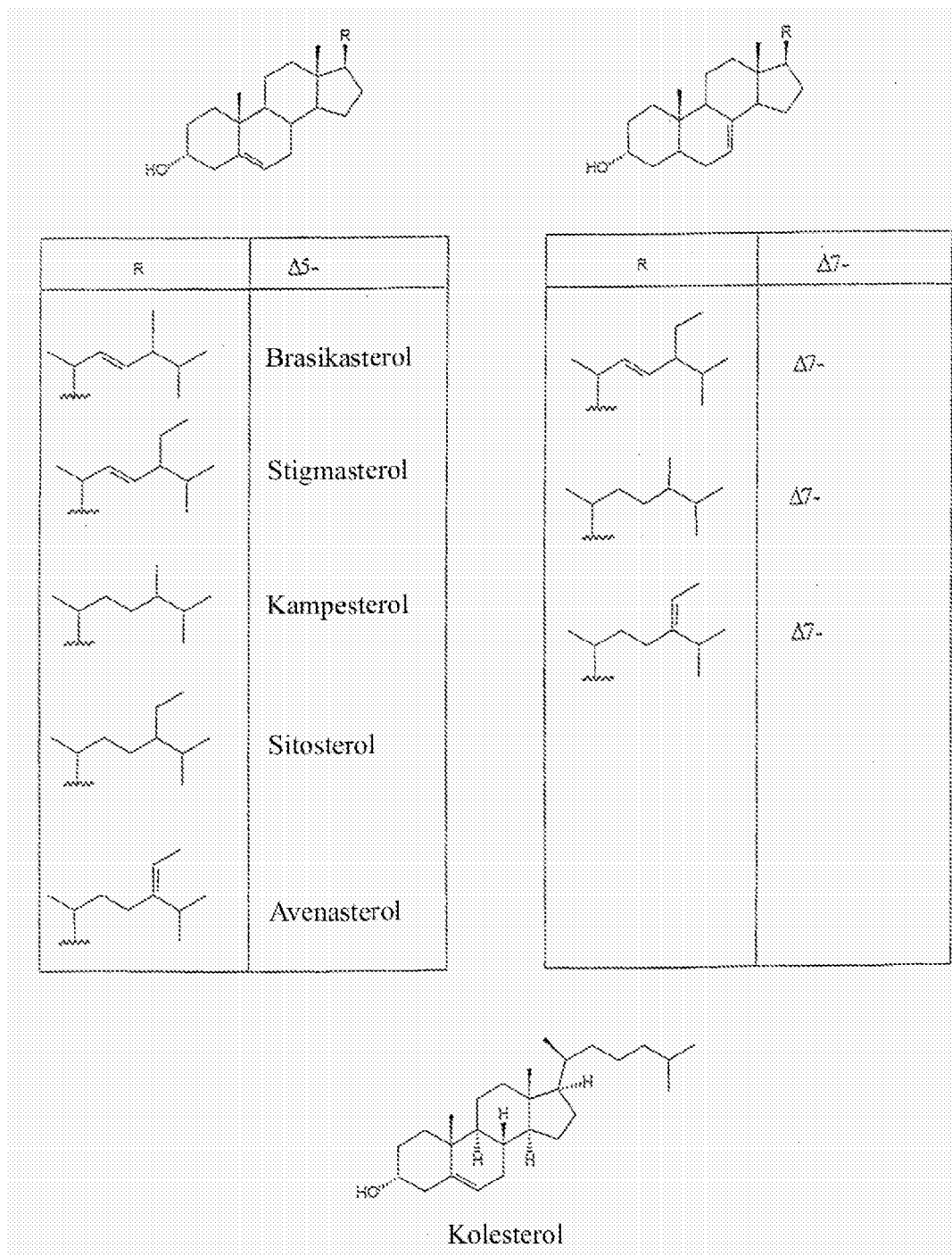
HR P20050052 A2

OPIS IZUMA

Izum se odnosi na odjeljivanje biljnih sterola i ostalih dragocjenih sastojaka kao što su tokoferoli iz nusprodukta rafiniranja biljnog ulja, deodorizacijskog destilata koji se sastoji od sterola, sterolnih estera, tokoferola, masti i ulja, te njihovih derivata, kao i masnih kiselina.

Steroli su skupina prirodnih spojeva koji su prisutni kod životinja i biljaka, a najvažniji su prikazani u sljedećoj tablici:

Glavni fitosteroli



Nutricionističke studije potvrdile su da biljni steroli smanjuju razinu kolesterola u krvnom serumu, te da pozitivno utječu na omjer LDL i HDL kolesterola (Westrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concretations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition* 1998 52: 334-43; Miettinen TA, Puska P, Gylling H, i ostali. Reduction of

serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolaemic population. *New Engl. Journal of Medicine* 1995; 333: 1308-1312). Biljni se steroli pretežno primjenjuju u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

- 5 Tokoferoli i tokotrienoli (općenito tokolni spojevi) posjeduju aktivnost vitamina E, pogotovo α -tokoferol.

Tokoferoli imaju važnu ulogu u ljudskom organizmu, zahvajući svojim antioksidativnim svojstvima neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala, te također vežu molekularni kisik (A. Kamal-Eldin i L.A. Appelqvist: The Chemistry and Antioxidant properties of Tocopherols and Tocotrienols. *Lipids* 31. (1996) 671-701).

10

Koncentracija sterola i tokoferola u biljnim uljima je preniska za njihovo ekonomično industrijsko odjeljivanje. U industrijskom se razmjeru prirodni steroli i tokoferoli dobivaju iz takozvanog deodorizacijskog destilata koji nastaje tijekom rafiniranja biljnih ulja.

15

Biljna ulja se naširoko refiniraju primjenom kemijskih ili fizikalnih postupaka rafiniranja. U zadnjem koraku oba postupka ulje se podvrgne vakuum-destilaciji za otklanjanje okusa i mirisnih tvari, kao i slobodnih masnih kiselina, a na taj se način poboljšava i oksidativna stabilnost ulja. Deodorizacija se općenito provodi pri temperaturi od 210-270 °C, pod smanjenim tlakom (1-8 mbar), a deodorizacijski destilat se dobiva kondenzacijom para koja se stvaraju tijekom postupka. Osim glavnih sastojaka, s obzirom na nepostojanost drugih tvari koje se javljaju u deodorizacijskom destilatu,

20

njegov je sastav slijedeći:

slobodne masne kiseline	30-85%
neosapunjivi sastojci	7-35%
tokoferoli	1-8%
slobodni steroli	2-15%
25 sterolni esteri	0-5%
gliceridi	5-30%
ostali	0-5%

* postotne vrijednosti odnose se na maseni %

30

Za odjeljivanje sterola i tokoferola opisan je velik broj postupaka. U nekoliko se patenata destilacija preferirano primjenjuje za uklanjanje masnih kiselina i metilnih estera masnih kiselina (EP 0 333 472, USP 5,424,457, USP 5,627,289, USP 4,454,329). Postupak saponifikacije predlaže se za uklanjanje slobodnih masnih kiselina u slijedećim patentima: USP 3,335,154, USP 4,550,183 i WO 99/42471.

35

Prema USP 5,512,691, prije destilacije masne kiseline, slobodni steroli se esterificiraju masnim kiselinama prisutnim u deodorizacijskom destilatu. Prednost ovog koraka je ta što je raspon točke vrenja formiranih sterola mnogo veći od raspona neizreagiranih tokoferola što olakšava odjeljivanje dvije skupine spojeva uz upotrebu destilacije kratkog puta..

40

Prema USP 5,487,817, kristalični slobodni steroli mogu se odijeliti iz sterolnih estera koncentriranih u ostatku destilacije.

45

Esterifikacija slobodnih sterola sa slobodnim masnim kiselinama prisutnim u deodorizacijskom destilatu zahtjeva relativno visoku temperaturu (150-250 °C), dugo reakcijsko vrijeme (1-12 sati) i smanjeni tlak (manji od 50 mbar), a ponekad je potrebna primjena kiselog tipa katalizatora. Kao posljedica nepovoljnih uvjeta (visoka temperatura, dugo reakcijsko vrijeme) dolazi do nepoželjnih sporednih reakcija kao što su degradacija tokoferola, transformacija sterola u ugljikovodike gubitkom funkcionalne -OH skupine i H atoma kao vode i pojačano formiranje katrana.

50

Postupak prisutnog izuma za odjeljivanje biljnih sterola i tokoferola iz deodorizacijskog destilata nastalog tijekom kemijskog i fizikalnog rafiniranja biljnih ulja, destilacijom ili saponifikacijom prisutnih sastojaka može se okarakterizirati slijedećim koracima:

- a) slobodne masne kiseline se uklanjaju iz deodorizacijskog destilata vakuum-destilacijom ili kontinuiranom saponifikacijom otapala,
- b) nakon uklanjanja slobodnih masnih kiselina, preostala smjesa koja se sastoji od sterola, tokoferola, ugljikovodika, mono-, di-, i triglicerida kao glavnih sastojaka reagira s anhidridom aromatske karboksilne kiseline koji ima najmanje 7 atoma ugljika pri temperaturi od 50-150 °C, pod smanjenim tlakom tijekom 0,5-2 sata,
- c) nakon tretiranja s anhidridom, tokoferoli se uklanjaju iz smjese primjenom destilacije kratkog puta,
- d) kristalični slobodni steroli odjeljuju se transesterifikacijom iz destilacijskog ostatka koji sadrži sterolne estere, di- i trigliceride.

60

Sirovinu za postupak predstavlja deodorizacijski destilat dobiven tijekom rafiniranja ulja suncokreta, sjemenki uljane repice, soje ili kukuruza, no također može se upotrijebiti i deodorizacijski destilat ostalih ulja.

Slobodne masne kiseline se uklanjaju u destilacijskoj koloni ili u film evaporatoru pri tlaku od 1-8 mbar i temperaturi od 180-250 °C.

5 Alternativno, slobodne masne kiseline mogu se saponificirati u nepolarnom/polarnom otapalu pri 10-40 °C tijekom 0,5-5 minuta uz mali suvišak lužine, a zatim se masne kiseline odvajaju u obliku sapuna separiranjem polarne faze.

Za esterifikaciju deodorizacijskog destilata, pri čemu se odvajaju masne kiseline, koristili smo anhidride karboksilnih kiselina kao što su anhidridi benzojeve, benzilne, fenoksiacetatne, ftalne, supstituirane ftalne kiseline.

10 Anhidridi se dodaju u malom suvišku (maksimalno 5 mol%) s obzirom na količinu slobodnih sterola određenu plinskom kromatografskom analizom.

Nakon esterifikacije provodi se destilacija kratkog puta pri tlaku od 1,01-0,1 bar, te pri temperaturnom rasponu od 200 do 260 °C.

15 Steroli se oslobađaju iz ostatka tokoferolne destilacije koji sadrži 20-60% sterolnih estera upotrebom transesterifikacije u metanolu, te preferirano u prisutnosti katalizatora natrijevog metilata.

20 Tijekom transesterifikacije sterolnih estera, destilacijski ostatak koji sadrži sterolne estere preferirano se uvodi kontinuirano u vrelu otopinu natrijevog metilata, a reakcija završava unutar 2-4 sata.

Kristalinični biljni steroli dobiveni prema izumu upotrebljavaju se u svrhe farmaceutske, kozmetičke ili prehrambene industrije. U specifičnim se slučajevima steroli mogu dodatno pročistiti prije primjene.

25 U postupku, detaljno opisanom u izumu, sirovinu predstavlja nusprodukt rafiniranja (deodorizacije) biljnog ulja tj. deodorizacijski destilat koji se dobiva vakuum-decilacijom ulja suncokreta, sjemenki uljane repice, soje ili kukuruza. Deodorizacijski destilat sadrži 2-15% sterola i 30-85% slobodnih masnih kiselina. Kada je deodorizacijski destilat nusprodukt fizikalnog rafiniranja biljnih ulja, udio slobodnih masnih kiselina je veći od 50% (obično 60-85%). Uklanjanjem prvo slobodnih masnih kiselina iz deodorizacijskog destilata mogli smo smanjiti količinu smjese najmanje 30 na pola. Posljedično, mogli smo smanjiti i veličinu opreme koja je neophodno potrebna za slijedeći reakcijski korak.

35 Sterolna frakcija se uglavnom sastoji od slijedećih spojeva: β -sitosterola, kampesterola, stigmasterola, brasikasterola (samo u slučaju sjemenki uljane repice) i avanasterola. Frakcija slobodnih masnih kiselina obuhvaća C14-C24 zasićene i nezasićene masne kiseline (između ostalih miristinska, palmitinska, arahidinska, behenska i lignocerinska kao zasićene, oleinska, linoleinska, linolenska, gadoleinska i nervonska kiselina kao nezasićene masne kiseline). Osim prehodno navedenih sastojaka deodorizacijski destilat se sastoji i od mono-, di- i triglicerida kao i od tokoferola (1-8%), tokotrienola, ugljikovodika, sterolnih estera i ostalih, manje važnih spojeva.

Postupak prema izumu prikazan je na slici 1.

40 Prvi korak postupka sastoji se u uklanjanju većine slobodnih masnih kiselina prisutnih u deodorizacijskom destilatu (M0) da bi se smanjila količina reakcijske smjese. Koncentracijski faktor kreće se između 1,5 i 5,0, ovisno o udjelu slobodnih masnih kiselina i primjenjenim parametrima destilacije. Slobodne masne kiseline, zajedno sa sastojcima nižeg vrelišta neosapunjive smjese, predestiliraju se u destilacijskoj koloni ili film evaporatoru pri tlaku od 0,1-8 mbar i 45 temperaturi od 180-250 °C.

Postoji mogućnost separacije para parcijalnom kondenzacijom ili izoliranom kondenzacijom para. Prva frakcija sadrži najnepostojanije spojeve, kratkolančane masne kiseline i produkte raspada masnih kiselina. Glavna destilacijska frakcija (S1-A) sastoji se uglavnom od različitih masnih kiselina, a u maloj količini (1-9%) sadrži i neke druge spojeve kao što 50 su monogliceridi, ugljikovodici, tragove tokoferola i sterola.

Ostatak destilacije slobodnih masnih kiselina (M1-A) sadrži sterole, tokoferole, ugljikovodike, mono-, di- i trigliceride, kao i neke ostale spojeve s visokim vrelištem. Degradacijski i evaporacijski gubitak sterola i tokoferola je manji od 1,0%.

55 Alternativno, slobodne masne kiseline mogu se ukloniti iz deodorizacijskog destilata neutralizacijom s lužinom u mediju koji se sastoji od polarnih i nepolarnih otapala. Reakcija se odvija pod blagim uvjetima: niskom temperaturom (10-40 °C) uz kratko reakcijsko vrijeme s lužinom (0,5-5 min) i uz mali suvišak lužine ili bez suviška lužine (0-20%).

Nakon saponifikacije masnih kiselina, sastojci deodorizacijskog destilata topljivi u nepolarnom otapalu mogu se odvojiti iz sapuna jednostavnim dekantiranjem. Kao nepolarno otapalo mogu se upotrijebiti masna otapala kao što je heksan, a kao polarno otapalo može se upotrijebiti kratkolančani alkohol poput metanola, etanola, propanola ili butanola. Lužina (natrijev ili kalijev hidroksid) primjenjuje se u obliku vodene otopine od 40-300g/L.

Nakon saponifikacije otapala, tijekom dekantiranja nastaju dvije faze, nepolarna faza koja sadrži trigliceride i neosapunjive tvari, te polarna faza koja sadrži otopljene sapune. Obje se faze moraju dobro isprati zbog unakrsne topljivosti otapala. Polarna se faza ispire nepolarnim otapalom za dobivanje većeg iskorištenja, a nepolarna faza se ispire polarnim otapalom za uklanjanje preostalih sapuna i tragova lužine.

Konačno, otapalo se upari iz nepolarne faze što rezultira nastankom produkta (M1-B) koji sadrži manje od 0,5% slobodnih masnih kiselina. Kao posljedica gotovo potpunog uklanjanja svih masnih kiselina, za sterole, sterolne estere i tokoferole može se postići teoretski koncentracijski faktor od 1,5 do 5.

Masne kiseline se iz polarne faze mogu se odijeliti skupljanjem molekula sapuna u micele upotrebom jake anorganske kiseline kao što je sulfatna ili kloridna kiselina pri umjerenom pH i sobnoj temperaturi. Općenito, koristili smo sulfatnu kiselinu, a pH je podešen na 1-5. Faza masnih kiselina odvojena je gravitacijom, a zatim su masne kiseline isprane vodom do neutralnog, a otapalo je upareno. Udio slobodnih masnih kiselina dobivene smjese (S1-B) je najmanje 95%.

Reakcijska smjesa slobodnih masnih kiselina prema izumu (M1-A ili M1-B) tretira se kiselinskim anhidridom npr. anhidridom benzojeve, benzilne, ftalne, supstituirane ftalne kiseline za prevođenje slobodnih sterola u odgovarajuće sterolne estere. Reakcija se odvija pri temperaturi od 50-150 °C, pod smanjenim tlakom (50-100 mbar), uz korištenje 0-5% suviška anhidrida, a traje otprilike 0,5-2 sata. Reakciju slijedi plinska kromatografska analiza.

Tokoferoli se mogu lagano odijeliti od sterolnih estera destilacijom koja se temelji na razlikama u njihovoj postojanosti. Tokoferoli se odvajaju destilacijom u destilatoru kratkog puta (molekularnom) (0,01-0,1 mbar; 200-245 °C), pri čemu nastaje koncentrat bogat tokoferolom (18-25%) kao destilat (S2) i ostatak (M3) s visokim udjelom sterolnih estera (20-60%).

Slijedeći korak postupka prema izumu predstavlja oslobađanje slobodnih sterola iz sterolnih estera. Ostatak destilacije kratkog puta (M3) koji sadrži uglavnom sterolne estere, di- i trigliceride, kontinuirano se tijekom 1-1,5 sati dodaje otopini metanola uz prisustvo katalizatora natrijevog metilata i uz refluksiranje reakcijske smjese. Za završavanje postupka transesterifikacije potrebno je 2-4 sata. Metilni esteri masnih kiselina nastaju iz sterolnih estera, izvorno prisutnih kao estera masnih kiselina i iz glicerida, a metilni esteri karboksilnih kiselina ovisno o upotrebljenom anhidridu i obliku slobodnih sterola. Pri kraju reakcije se katalizator natrijev metilat neutralizira octenom kiselinom.

Nakon potpunog oslobađanja sterola, reakcijska se smjesa ohladi na sobnoj temperaturi (15-25 °C) uz miješanje, pri čemu nastaju sterolni kristalići koji se profiltriraju na vakuumskom ili tlačnom filteru, preferirano centrifugom. Profiltrirani se steroli prvo trebaju isprati metanolom (2-3 puta), a zatim heksanom (takoder 2-3 puta) za uklanjanje obojenih tvari i ostalih nečistoća.

Pomoću postupka opisanog u izumu mogu se dobiti steroli čistoće 85% koji su potrebni kao farmaceutske sirovine. U prehrambene svrhe zahtjeva se udio sterola veći od 98%.

U slučaju kada su potrebni kristalični steroli veće čistoće treba se povećati količina otapala upotrebljenog u pojedinim koracima ispiranja i/ili vrijeme namakanja između pojedinih filtracijskih koraka. Ako je potrebno, može se provesti prekrizalizacija uz izbjeljivanje s aktivnim ugljenom. Dugolančani ugljikovodici (heksan i njegovi homolozi s većom molekulskom masom) i alkoholi (n-oktanol i njegovi homolozi s višom točkom vrelišta), te njihove smjese mogu se upotrijebiti kao otapala u prekrizalizacijskom koraku.

Prva matična tekućina (S3) sastoji se uglavnom od metilnih estera masnih kiselina, metilnih estera ostalih kiselina i suviška metanola, a sadrži i malu količinu natrijevih soli koje potječu od katalizatora. Da bi se odijelile korisne tvari, metanol se predestilirao iz smjese, natrijeve soli i glicerol se uklone ispiranjem s vodom, te se konačno sušenjem i vakuum-destilacijom dobivaju čisti metilni esteri.

Druga matična tekućina sadrži metanol kao glavni sastojak koji se odjeljuje destilacijom.

Treća matična tekućina sadrži uglavnom heksan koji se odjeljuje destilacijom.

Bijeli kristalići sterola posuše se u prikladnom sušioniku pod umjerenim vakuumom (50-100 mbar) i pri temperaturi između 60 i 120 °C.

Kristalični produkt (M4) koji je dobiven na ovaj način sadrži najmanje 92% slobodnih sterola, dok su tokoferoli i otapala gotovo potpuno uklonjeni.

- 5 Uobičajen sastav kristaličnog sterolnog produkta dobivenog u ovom postupku je sljedeći:

β-sitosterol	40-65%
kampesterol	10-35%
stigmasterol	2-25%
braskasterol	0-25%
Δ5-avenasterol	0-3%
ostali steroli	0-9%

* postotne vrijednosti odnose se na maseni %

Prednosti navedenog postupka prema izumu su sljedeće:

- 15 On je posebno pogodan za odjeljivanje sterola iz deodorizacijskog destilata prilikom fizikalnog rafiniranja u rafinerijama, pri čemu je udio sterola obično niži od 4%, a udio slobodnih masnih kiselina kreće se u rasponu između 60 i 85%. Smanjivanjem količine reakcijske smjese može se smanjiti veličina prijeko potrebnih reaktora. Smanjivanje procesne temperature povećava iskorištenje tokoferola, smanjuje formiranje katrana, te znatno poboljšava kvalitetu krajnjeg produkta tj. kristaličnog sterola. Količina otapala upotrebljena u postupku je također manja. Kod esterifikacije sterola nije potrebna upotreba katalizatora, gubitak uzrokovan dehidratacijom sterola je manji kada se izbjegava korištenje visoke reakcijske temperature i visokog vakuumu. Vrijeme potrebno za odjeljivanje sterola može se skratiti, visoka koncentracija sterola i visoka reaktivnost anhidrida u usporedbi sa slobodnim masnim kiselinama čini transformaciju šarže u kontinuiranom postupku izvedivom.
- 25 Navedeni postupak prema izumu ilustriraju sljedeći primjeri:

Primjer 1

- Pomiješani deodorizacijski destilat (uljana repica i suncokret, dobiven fizikalnim i kemijskim postupkom rafiniranja) upotrebljen je kao ishodišna tvar. Sastav početne smjese (M0) okarakteriziran je u tablici I. Analize su provedene prema sljedećim metodama:
- 30 Tokoferoli i slobodni steroli: AOCS Ce 7-87 metoda plinske kromatografije (GC);
slobodne masne kiseline (FFA): ISO 660:1996 titrimetrijska metoda;
ostali sastojci (sterolni esteri, gliceridi, skvalen): posebno osmišljena GC metoda (HP-1 kapilarna kolona s poprečno vezanim metil-siloksanom: 30 m/0,2 mm/0,11 μm, unutarnji standard: heksatriakontan 1 mg/mL, temperatura peći od 170 do 320 °C pri 5 °C/min, od 320 do 355 °C pri 4 °C/min, vrijeme zadržavanja 10 min, temperatura injektora: 350 °C, temperatura detektora: 355 °C, plin nosač: vodik).
- 35

- Postupak je opisan na slici 1. Deodorizacijski destilat (1000 g M0) podvrgnut je destilaciji pri 1 mbar i 180 °C u film evaporatoru (0,075 m²) koji je opremljen s dvostruko obloženim lijevkom za doziranje i kontroliranim igličastim ventilom. Tako je dobiveno 594 g predestilirane masne kiseline (S1-A) i 396 g ostatka (M1-A). Sastav ovog destilacijskog produkta prikazan je u tablici I.
- 40

Tablica I

Oznaka	M0		S1-A		M1-A	
Masa (gram)	1000		594,8		396,0	
Jedinica	%*	gram	%*	gram	%*	gram
Slobodna masna kiselina	62,34	623,40	92,25	547,97	18,76	74,29
Ukupno tokaferola	2,07	20,65	0,51	3,04	4,41	17,49
Ukupno sterola	3,29	32,86	0,51	3,05	7,42	29,37
Sterolni esteri	2,26	22,60	0,00	0,00	5,67	22,45
Gliceridi	19,66	196,60	0,11	0,65	48,41	191,70

- 45 * postotne vrijednosti odnose se na maseni %

Primjer 2

- U kontinuiranoj reakciji saponifikacije otapala je kao ishodišna tvar upotrebljen isti deodorizacijski destilat (M0) kao i u primjeru 1. Sirovina (400 g) je otopljena u 2400 mL heksana. Iz 300 mL natrijevog hidroksida (koncentracija: 125 g/L), 400 mL vode i 800 mL metanola pripremljena je lužnata otopina. Lužnata je otopina zatim dodana deodorizacijskom destilatu - otopini heksana i smjesa je intenzivno miješana 5 minuta pri sobnoj temperaturi.
- 50

Zatim je cijela smjesa prenesena u lijevak za odjeljivanje, te dekantirana u jedinici za dekantiranje do nastanka dvije faze s oštrim granicom (4 sata). Zatim su dvije faze odjeljene. Gornja, nepolarna faza sadržavala je gliceride i neosapunjive tvari, a donja, polarna faza sadržavala je otopljene sapune.

- 5 Obe su faze isprane zbog unakrsne topljivosti otapala. Polarna faza je isprana s nepolarnim otapalom (3 x 100 mL heksana) da bi se osiguralo veće iskorištenje, a nepolarna faza je isprana s polarnim otapalom (3 x 100 mL etanola) da bi se uklonili zaostali sapuni. Zatim su spojene polarne faze, odnosno nepolarne faze.

- 10 Tragovi lužnatih tvari su uklonjeni iz spojene polarne faze ispiranjem sa 7% otopinom limunske kiseline (100 mL), a zatim su tragovi limunske kiseline i nastale soli uklonjeni ispiranjem s destiliranom vodom (100 mL).

Konačno, uparavanjem otapala iz nepolarne faze dobiveno je 148 g produkta (M1-B) s udjelom preostalih masnih kiselina manjim od 0,5%. Sastav produkta prikazan je u tablici II.

15 Tablica II

Oznaka	M0		S1-B		M1-B	
Masa (gram)	400		245,4		148,0	
Jedinica	%*	gram	%*	gram	%*	gram
Slobodna masna kiselina	62,34	249,36	98,74	242,31	0,49	0,73
Ukupno tokaferola	2,07	8,26	0,00	0,00	5,08	7,52
Ukupno sterola	3,29	13,14	0,41	1,01	7,63	11,29
Sterolni esteri	2,26	9,04	0,00	0,00	6,06	8,97
Gliceridi	19,66	78,64	0,00	0,00	53,07	78,54

* postotne vrijednosti odnose se na maseni %

Primjer 3

- 20 Ostatak prve destilacije deodorizacijskog destilata (250 g M1-A) tretiran je s 11 g anhidrida benzojeve kiseline (90%, tehnički, *Aldrich*). Na taj smo način iz sterolnih estera dobili slobodne estere.

- 25 Destilacijski ostatak je prvo zagrijan na 120 °C, a zatim je ta temperatura zadržavana tijekom 1 sat pri 10 mbar residualnog tlaka da se uklone tragovi vlage. Zatim je smjesa ohlađena na 80 °C, te je dodan anhidrid benzojeve kiseline. Esterifikacijska reakcija se odvijala dva sata pri temperaturi od 150 °C i rezidualnom tlaku od 100 mbar. Reakciju je slijedila plinska kromatografska (GC) analiza. Na kraju smo dobili 261 g reakcijske smjese (M2). Sastav produkta prikazan je u tablici III.

30 Tablica III

Oznaka	M1-A		M2	
Masa (gram)	250,0		261,0	
Jedinica	%*	gram	%*	gram
Slobodna masna kiselina	18,76	46,90	15,83	41,32
Ukupno tokaferola	4,41	11,02	4,10	10,69
Ukupno sterola	7,42	18,54	0,00	0,00
Sterolni esteri	5,67	14,18	22,11	57,71
Gliceridi	48,41	121,03	47,24	123,30

* postotne vrijednosti odnose se na maseni %

Primjer 4

- 35 Esterificirana smjesa (250 g M2) tretirana je u destilatoru kratkog puta (0,075 m²) koji je opremljen s dvostruko obloženim lijevkom za doziranje i kontrolnim igličastim ventilom.

Postupkom je dobiven drugi destilat (44 g S2) i drugi ostatak destilacije (199 g M3). Destilat dobiven u ovom koraku je koncentrat tokoferola. Sastav produkata destilacije prikazan je u tablici IV.

Tablica IV

Oznaka	M2		S2		M3	
Masa (gram)	250,0		55,0		191,0	
Jedinica	%*	gram	%*	gram	%*	gram
Slobodna masna kiselina	15,83	39,58	66,47	36,56	1,14	2,18
Ukupno tokaferola	4,10	10,25	18,56	10,21	0,00	0,00
Ukupno sterola	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sterolni esteri	22,11	55,28	0,20	0,11	0,11	54,86
Gliceridi	47,24	118,10	9,87	5,43	58,65	112,02

* postotne vrijednosti odnose se na maseni %

5 Primjer 5

Da bi se transesterificirali sterolni esteri dobiveni destilacijom kratkog puta, prvo je načinjena otopina koja se sastoji od 100 mL metanola (udio vode: <0,02%) i 10 mL natrijevog metilata (30%), a zatim je ta otopina zagrijavana do vrenja, te refluksirana uz miješanje. Drugi destilacijski ostatak (100 g M3) zagrijan je do 60 °C, a onda je kap po kap dodan vreloj otopini natrijevog metilata tijekom jednog sata. Nakon dodavanja, smjesa je ključala uz refluks jedan sat.

10 Reakciju je slijedila plinska kromatografska (GC) analiza. Na kraju je reakcije u smjesu dodano 5 mL glacijalne octene kiseline za neutralizaciju natrijevog metilata. Nakon 5 minuta ključanja smjesa je ohlađena do sobne temperature (20 °C). Nastali kristali su profiltrirani i isprani metanolom (3 x 30 mL), a zatim heksanom (3 x 30 mL) do dobivanja bijelih sterolnih kristala.

15 Profiltrirani, isprani kristali su zatim osušeni u sušnici pri 80 °C. Sastav 17 g dobivenih kristaličnih sterola (M4) prikazan je u tablici V.

20 Prva matična tekućina uglavnom se sastoji od metilnih estera i suviška metanola, a sadrži i ostatke katalizatora, glicerol i ostale kontaminante u malim količinama.

Nakon uparavanja otapala iz smjese dobiveno je 77 g međuprodukta, te matična tekućina bogata metilnim esterima (S3) čiji je sastav prikazan u tablici V.

25 Tablica V

Oznaka	M2		Oznaka	M4	
Masa (gram)	77,0		Masa (gram)	17,0	
Jedinica	%*	gram	Jedinica	%*	gram
Metilni esteri**	89,64	69,02	Brasikasterol	20,39	3,47
Slobodne masne kiseline	0,45	0,35	Kampesterol	26,13	4,44
Ukupno tokaferola	0,00	0,00	Stigmasterol	3,30	0,56
Ukupno sterola	2,43	1,87	β-sitosterol	42,92	7,30
Sterolni esteri	0,69	0,53	Ostali steroli	2,77	0,47
Gliceridi	0,76	0,59	Ukupno sterola	95,51	16,24

* postotne vrijednosti odnose se na maseni %

** metilni esteri masnih kiselina i ostalih karboksilnih kiselina

30 Kod daljnjeg pročišćavanja metilnih estera prvo se ispiranjem s vodom uklone tragovi katalizatora i glicerol, kao i ostali sastojci topljivi u vodi, a zatim se isprana smjesa posuši i konačno se, vakuum-destilacijom, dobivaju čisti metilni esteri.

PATENTNI ZAHTJEVI

- 35 1. Postupak za odjeljivanje biljnih sterola i tokoferola iz deodorizacijskih destilata nastalih tijekom kemijskog ili fizikalnog rafiniranja biljnih ulja, destilacijom ili saponifikacijom, **naznačen time**, da
- 40 i) masne kiseline se uklanjaju iz deodorizacijskog destilata vakuum-destilacijom ili kontinuiranom saponifikacijom otapala,
- ii) nakon uklanjanja slobodnih masnih kiselina, preostala smjesa koja se sastoji od sterola, tokoferola, ugljikovodika, mono-, di-, i triglicerida kao glavnih sastojaka, reagira s anhidridom aromatske karboksilne kiseline koji ima najmanje 7 atoma ugljika pri temperaturi od 50-150 °C, pod smanjenim tlakom tijekom 0,5-2 sata,
- iii) nakon tretiranja s anhidridom, tokoferoli se uklanjaju iz smjese primjenom destilacije kratkog puta,

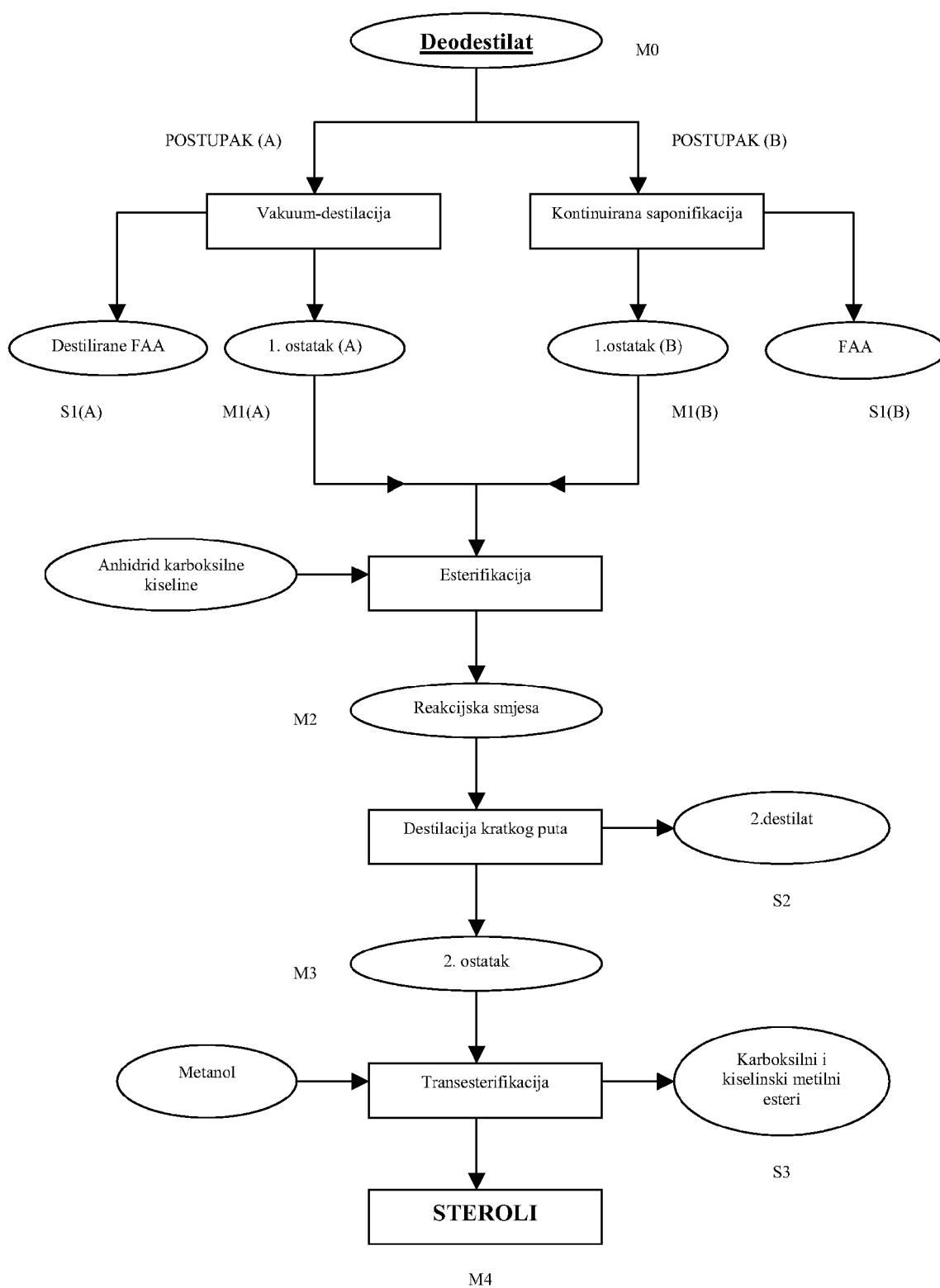
iv) kristalični slobodni steroli odjeljuju se transesterifikacijom iz destilacijskog ostatka koji sadrži sterolne estere, di- i trigliceride.

2. Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da sirovinu predstavlja deodorizacijski destilat dobiven tijekom rafiniranja ulja suncokreta, sjemenki uljane repice, soje i kukuruza.
- 5 3. Postupak prema zahtjevu 1i), **naznačen time**, da se slobodne masne kiseline destiliraju u destilacijskoj koloni ili u film evaporatoru pri tlaku od 0,1-8 mbar i pri temperaturnom rasponu od 180 do 250 °C.
4. Postupak prema zahtjevu 1i), **naznačen time**, da se slobodne masne kiseline saponificiraju u mediju koji se sastoji od polarnih/nepolarnih otapala pri temperaturi od 10-40 °C, tijekom 0,5-5 minuta u prisutnosti malog suviška lužine, a slobodne masne kiseline se uklanjaju odvajanjem polarne faze.
- 10 5. Postupak prema zahtjevu 1ii), **naznačen time**, da se kao anhidrid karboksilne kiseline upotrebljava anhidrid benzojeve, benzilne, fenoksiacetatne, ftalne, supstituirane ftalne kiseline.
6. Postupak prema zahtjevu 1ii) i 5, **naznačen time**, da se anhidridi primjenjuju u suvišku koji je ograničen na 5 mol% s obzirom na količinu sterola koja je određena plinskom kromatografskom analizom.
- 15 7. Postupak prema zahtjevu 1iii), **naznačen time**, da se destilacija kratkog puta tokoferola provodi pri tlaku od 0,01-0,1 bar i pri temperaturi od 200-260 °C.
8. Postupak prema zahtjevu 1iv), **naznačen time**, da se steroli odjeljuju iz ostatka tokoferolne destilacije koji sadrži 20-60% sterolnih estera upotrebom transesterifikacije, preferirano u prisutstvu natrijevog metilata.
9. Postupak prema zahtjevu 8, **naznačen time**, da se tijekom navedene transesterifikacije sterolnih estera, destilacijski ostatak bogat sterolnim esterima kontinuirano dodaje refluksiranoj otopini natrijavog metilata, a reakcija završava
- 20 unutar 2-4 sata.
10. Upotreba kristaličnih biljnih sterola dobivenih postupkom prema bilo kojem od zahtjeva 1-9, **naznačena time**, da se koriste u svrhe farmaceutske, kozmetičke ili prehrambene industrije.

25 SAŽETAK

Postupak za odjeljivanje biljnih sterola i tokoferola iz deodaorizacijskog destilata nastalog tijekom kemijskog ili fizikalnog rafiniranja biljnih ulja sastoji se od slijedećih koraka: slobodne masne kiseline se uklanjaju iz deodaorizacijskog destilata vakuum-destilacijom ili kontinuiranom saponifikacijom otapala, nakon uklanjanja masnih

30 kiselina, preostala smjesa reagira s anhidridom aromatske karboksilne kiseline pri temperaturi od 50-150 °C, pod smanjenim tlakom, nakon tretiranja s anhidridom iz smjese se uklanjaju tokoferoli, a kristalični slobodni steroli odjeljuju se transesterifikacijom iz destilacijskog ostatka koji sadrži sterolne estere, di- i trigliceride.



Slika 1