

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 892432 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **892432**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C12N 11/12

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **19.05.1989**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **19.05.1989**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **20.11.1989**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

19.05.1988 US 196152

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Cultor Oy, Kyllikinportti 2, 00240 Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Antrim, Richard L., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Harris, Donald W., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Tuote ja menetelmä entsyymiadsorption lisäämiseksi

Produkt och förfarande för ökande av enzymadsorption

Tuote ja menetelmä entsyymien adsorboitumisen lisäämiseksi

Tämä keksintö liittyy entsyymien immobilisointiin. Tarkemmin määriteltynä keksintö koskee menetelmää rakeis-
 5 ten, selluloosajohdannaista sisältävien ioninvaihtokompo-
 siittien adsorptiokapasiteetin parantamiseksi ja sillä
 valmistettua parannettua tuotetta.

Elintarvikkeiden valmistuksessa ja muissa kauppalisissa sovellutuksissa inertteihin kantajiin adsorboitu-
 10 neiden tai sitoutuneiden mikrobi- tai sienientsyymien
 käyttö immobilisoitujen biologisten katalyysaattoreiden
 aikaansaamiseksi on suurelta osin syrjäyttänyt vanhemmat
 menetelmät, joissa käytettiin liukoisia entsyymejä tai
 kokonaisia mikro-organismisoluja. Immobilisoitujen entsyymien
 15 käyttö tarjoaa yleensä monia merkittäviä etuja van-
 hempiin menetelmiin verrattuna. Suurin etu on se, että
 immobilisoidut entsyymit soveltuvat käytettäväksi jatku-
 vissa muuntoprosesseissa. Sillä tavalla päästään entsyymiin
 tehokkaampaan käyttöön ja kontaktiaika entsyymin ja
 20 substraatin välillä lyhenee, mistä on seurauksena paran-
 tunut tuotteen laatu sekä entsyymi- ja tuotnotokustannus-
 ten aleneminen.

Selluloosa esiintyy luonnossa lineaarisena polymeerina, joka koostuu β -1,4-glukosidisten sidosten yhdistä-
 25 mistä anhydroglukoosiyksiköistä. Kukin anhydroglukoosiyksikkö sisältää 3 vapaata hydroksyyli ryhmää, jotka kykenevät reagoimaan asianmukaisten reagenssien kanssa niin, että muodostuu liukenemattomia selluloosajohdannaisia, joilla inerttiytensä, suuren pinta-alansa ja avoimen, huokoisen rakenteensa ansiosta on suuri adsorptio- tai ionivaihtokapasiteetti proteiinimolekyylien suhteen.
 30

Entsyymejä adsorboivien ionivaihtomateriaalien, jotka ovat selluloosajohdannaisia, valmistus ja hyväksikäyttö on tällä alalla tunnettua. Peterson ja Sober,
 35 J.A.C.S. 78 (1961) 751, sekä Guthrie ja Bullock, I/EC 52

(1960) 935, ovat esittäneet menetelmiä adsorptiokykyisten selluloosatuotteiden, joita voitaisiin käyttää entsyymien ja muiden proteiinien erottamiseen tai puhdistamiseen, valmistamiseksi. Tsumura et al., Nippon Shakuhin Kogyo Gakkaishi 14 (1967) 12, toivat esiin glukoosi-isomeraasin sitomisen DEAE-Sephadexiin.

US-patenttijulkaisu nro 3 708 397 (Sipos) koskee menetelmää glukoosi-isomeraasin immobilisoimiseksi emäksisille anioninvaihtoselluloosille. US-patenttijulkaisu nro 3 823 133 (Hurst et al.) koskee menetelmää kationisten selluloosaeettereiden, joilla on suuri adsorptiokapasiteetti entsyymien ja muiden proteiinimateriaalien suhteen, valmistamiseksi. US-patenttijulkaisussa 3 838 007 (van Velzen) on esitetty menetelmä, jolla entsyymivalmiste saadaan hiukkasmuodossa. US-patenttijulkaisuissa 3 788 945 ja 3 909 354 (molemmat Thompsonin et al. nimissä) on esitetty jatkuvia menetelmiä glukoosin muuntamiseksi fruktoosiksi laskemalla glukoosia sisältävä liuos kiintokerroksen tai leijukerroksen läpi, joka sisältää glukoosi-isomeraasia erilaisiin selluloosatuotteisiin sitoutuneena. US-patenttijulkaisu 3 947 325 (Dinelli et al.) koskee palloiksi muovatun, selluloosaa sisältävän entsyymimateriaalin valmistusta. Selluloosa muodostetaan emulsiosta, joka sisältää entsyymin vesiliuosta ja nitroselluloosaa. US-patenttijulkaisu 3 956 065 (Idaszak et al.) koskee jatkuvaa menetelmää glukoosin muuntamiseksi fruktoosiksi, jossa menetelmässä glukoosia sisältävä liuos lasketaan kerroksen läpi, joka koostuu selluloosajohdannaisesta, jolle glukosi-isomeraasi on immobilisoitu, ja ei-huokoisista tai rakeisista polystyreenipalloista. Pallot estävät kerroksen pakkautumista ja kanavoitumista, kun sitä käytetään virtausreaktoreissa. Peska et al. ovat esittäneet artikkelissa, jonka otsikko on Ion Exchange Derivatives of Bead Cellulose [Die Angewandte Makromolekulare Chemie 53 (1976) 73-80], monia pienten pallojen muodossa valmistettuja selluloosajohdannaisia.

US-patenttijulkaisut 4 110 164 ja 4 168 250 (molemmat Sutthoffin et al. nimissä) koskevat agglomeroituja, kuitumaista ioninvaihtoselluloosaa sisältäviä komposiitteja sekä menetelmiä niiden valmistamiseksi. Näissä menetelmissä kuitumaiseen (mieluummin kuin rakeiseen) selluloosaan, joka on sitä ennen muunnettu ioninvaihto-ominaisuuksien antamiseksi sille, yhdistetään hydrofobinen polymeeri. Vaikka nämä komposiitit toimivat hyvin monissa sovellutuksissa, niiden ioninvaihtokyky ja kyky adsorboida tai sitoa glukoosi-isomeraasia ei ole niin suuri kuin olisi toivottavaa. Sitä paitsi näiden menetelmien taloudellisuus on sellainen, että komposiittien tuottaminen tulee liian kalliiksi.

US-patenttijulkaisu 4 355 117 (Antrim et al.) koskee menetelmää agglomeroidun DEAE-selluloosakomposiitin valmistamiseksi, jolla menetelmällä päästään monista edellä mainituista puutteista ja joka on edullinen menetelmä tämän keksinnön soveltamisessa käytännössä käyttökelpoisen komposiitin valmistamiseksi.

US-patenttijulkaisu 4 205 127 (Fujita et al.) kuvaa suolan vesiliuoksen, jonka lämpötila on 50-75 °C, käyttämistä loppuun käytetyn entsyymin poistamiseen synteettisistä anioninvaihtohartseista, kuten esimerkiksi styreeni-divinyylisentseenihartsista (palsta 1, rivit 39-59). Fujita ei raportoi minkään selluloosahartsin käytöstä.

JP-patenttijulkaisussa 31075/1979 kerrotaan, että DEAE-selluloosaa voidaan käyttää glukoamylaasin kantajana. Entsyymiä lisätään kantoaineeseen vesiliuoksesta, kunnes saavutetaan turpoamistasapaino.

US-patenttijulkaisussa 3 234 199 (Reid) käytetään kationin- ja anioninvaihtohartsin seosta proteiinien fraktiointimenetelmässä. Yksikään Reidin hartseista ei ole selluloosahartsi. Sitä paitsi Reid pesi hartsinsa nimenomaan välttääkseen korotettujen lämpötilojen käytön (palsta 3, rivit 49 - 52).

Tämä keksintö tarjoaa parannetun menetelmän agglomeroidun, varautuneita makromolekyylejä adsorboimaan tai sitomaan kykenevän DEAE-selluloosakomposiitin valmistamiseksi, jossa menetelmässä DEAE-selluloosa ensin agglomeroidaan hydrofobisen polymeerin kanssa rakeisen komposiitin muodostamiseksi ja tulokseksi saatava komposiitti käsitellään sitten vesiväliaineella korotetussa lämpötilassa ja riittävän pitkään komposiitin adsorptio- tai sitomiskapasiteetin lisäämiseksi.

Tämä keksintö tarjoaa myös menetelmän agglomeroidun selluloosakomposiitin, jolla on parantunut adsorptio- tai sitomiskapasiteetti varautuneiden makromolekyylien suhteen, valmistamiseksi rakeisesta, agglomeroituneesta hydrofobisen polymeerin ja selluloosan käsittelemättömästä komposiitista, jolla on ioninvaihto-ominaisuuksia, jossa menetelmässä mainittu komposiitti käsitellään vesiväliaineella vähintään noin 60 °C:n lämpötilassa käsittelyajan ollessa riittävän pitkä, jotta adsorptio- tai sitomiskapasiteettia mainittujen makromolekyylien suhteen pystytään lisäämään vähintään noin 30 %.

Tämä keksintö tarjoaa lisäksi menetelmän rakeisen DEAE-selluloosakomposiitin adsorptio- tai sitomiskapasiteetin lisäämiseksi varautuneiden makromolekyylien suhteen, joka menetelmä käsittää

- a) selluloosan agglomeroinnin hydrofobisen polymeerin kanssa rakeisen komposiitin muodostamiseksi;
- b) komposiitin sisältämän agglomeroidun selluloosan muunnetun johdannaisekseen derivatisointiaineella ioninvaihto-ominaisuuksien antamiseksi sille ainakin osan muunnetusta selluloosasta ollessa vapaa adsorboimaan varautuneita makromolekyylejä;
- c) muunnetun komposiitin säilyttämisen rakeisessa muodossa; ja
- d) rakeisen muunnetun komposiitin käsittelemisen vesiväliaineella korotetussa lämpötilassa ja riittävän pitkään

muunnetun komposiitin adsorptiokapasiteetin lisäämiseksi makromolekyylien suhteen.

Selluloosa voidaan muuntaa johdannaisekseen sellaisten ioninvaihtomateriaalien aikaansaamiseksi, joilla on suuri kuormituskapasiteetti, mitä makromolekyylien adsorbointiin tai immobilisointiin tulee. Tätä tarkoitusta varten selluloosa voidaan muuntaa niin, että saadaan joko anionin- tai kationinvaihtokykyisiä ioninvaihtomateriaaleja sen mukaan, mikä varaus adsorboitavalla aineella on. Kun adsorboitava aine on glukoosi-isomeraasi, selluloosa muunnetaan edullisesti anioninvaihtomuotoon, koska siinä muodossa sen kuormituskapasiteetti tämän entsyymin suhteen on erittäin suuri. Anioninvaihtomuodon aikaansaamiseksi agglomeroitu selluloosa käsitellään tavallisesti sopivilla reagensseilla mm. di- ja tri-etyyliaminoetyyliselluloosien, kuten esimerkiksi DEAE-selluloosan, sekä epikloorihydriinin ja trietanolamiinin selluloosajohdannaisten, kuten esimerkiksi ECTEOLA-selluloosan, muodostamiseksi. Taustatietoja ja menetelmiä selluloosan muuntamiseksi johdannaissiksi on esitetty US-patenttijulkaisussa nro 3 823 133 (Hurst et al.).

Vaikka seuraava selitys ja esimerkit liittyvätkin pääasiallisesti agglomeroidun ioninvaihtoselluloosan käyttämiseen glukoosi-isomeraasin adsorbointiin ja immobilisointiin, osoitetaan myös, että agglomeroitunut materiaali pystyy adsorboimaan muita proteiinimateriaaleja, ja arvelaan, että agglomeroitunut materiaali kykenee adsorboimaan muita varautuneita makromolekyyliä, kuten esimerkiksi nukleiinihappoja ja vastaavia, ja pystyisi lisäksi ottamaan sellaiset molekyylit talteen erilaisista aineista, kuten elintarvikejätevirroista, esimerkiksi erottamaan proteiinin maitoherasta sekä lihan tai kasvien jalostuksesta peräisin olevista virroista, alentamaan jätevirtojen BHK:ta jne.

Käytettäessä glukoosi-isomeraasia sisältäviä ioninvaihtoselluloosavalmisteita hyväksi teollisissa sovellutuksissa, voidaan niidensuuren kuormituskapasiteetin ansiosta käyttää suhteellisen pieniä reaktoreita suurten
5 glukoosimäärien muuntamiseen fruktoosiksi.

Lisäksi substraatti ja syntyvä tuote pidetään tämän suuren kuormituskapasiteetin vuoksi isomerointiolosuhteissa vain lyhyt ajanjakso. Nämä isomerointiolosuhteet vaikuttavat yleensä osaltaan siihen, että fruktoosin reaktiivisen luonteen johdosta syntyy pieniä määriä ei-toivottuja sivutuotteita, ja siis mitä pitempään fruktoosia pidetään
10 sellaisissa olosuhteissa, sitä enemmän ei-toivottuja sivutuotteita syntyy. Ioninvaihtoselluloosan suuren kuormituskapasiteetin seurauksena substraatti saavuttaa siis halutun isomeroitumisasteen lyhyessä ajassa, mikä lyhentää
15 sitä ajanjaksoa, jonka ajan fruktoosikomponentti pidetään isomerointiolosuhteissa. Sellaisten valmisteiden, joiden sisältämä ioninvaihtoselluloosa ei ole rakeista, haittapuolena on kuitenkin "pakkautuminen", ja sen vuoksi niitä
20 käytetään tavallisesti matalina kerroksina liian suuresta vastapaineesta aiheutuvien ongelmien syntymisen välttämiseksi. Matalia kerroksia käytettäessäkin on olemassa mahdollisuus, että tapahtuu kanavoitumista, jolloin substraatti ei pääse halutussa määrin kosketuksiin sitoutuneen tai immobilisoidun glukoosi-isomeraasin kanssa. Vaikka
25 näiden ongelmien minimoimiseksi on kehitetty eräitä immobilisoitua glukoosi-isomeraasia sisältäviä valmisteita, niillä on yleensä muita puutteita, esimerkiksi niiden entsyymikapasiteetti tai-aktiivisuus ei ole niin suuri
30 kuin olisi toivottavaa ja/tai ne eivät ole yhtä taloudellisia kuin ioninvaihtoselluloosa.

Tämän keksinnön käytännön sovellutuksissa voidaan selluloosan agglomerointiin käyttää monia polymeereja. Esimerkkejä niistä ovat sellaiset polymeerit kuin melamii-

ni-formaldehydihartsit, epoksihartsit, polystyreeni ja vastaavat. Edullinen polymeeri on polystyreeni.

US-patenttijulkaisuissa 4 110 164 ja 4 168 250 on esitetty, että agglomeroitaessa selluloosa, joka on muun-

5 nettu johdannaisekseen ioninvaihtomateriaalin aikaansaamiseksi, hydrofobisen polymeerin kanssa sopivissa olosuhteissa sellainen selluloosa säilyttää kykynsä immobilisoida tai sitoa glukoosi-isomeraasin. Esitetty edullinen menetelmä komposiittien valmistamiseksi sisältää alkali-

10 selluloosan käsittelemisen dietyyliaminoetyylikloridihydrokloridin (DEC) liuoksella ja näin muodostetun muunnetun ioninvaihtoselluloosan agglomeroinnin sitten polystyreenin kanssa. Koska polystyreeni on DEC-reaktiooseokseen liukeneva, olisi kuitenkin odotettavissa, että selluloosaa

15 ei voitaisi derivatisoida tehokkaasti, mikäli agglomeraatit muodostetaan ennen sitä.

Kuten edellä mainittiin, Antrim et al. havaitsivat ja esittivät US-patenttijulkaisussa nro 4 335 117, että selluloosa voidaan muuntaa tehokkaalla tavalla johdannaisekseen hydrofobisen polymeerin läsnäollessa säätelämällä

20 prosessiolosuhteita derivatisoinnin aikana niin, että estetään polymeerin tuleminen derivatisointiliuokseen liukenevaksi. Todettiin siis, että lisäämällä derivatisointiaine agglomeraatin vesisuspensioon valvotulla nopeudella

25 emäksisissä olosuhteissa rakeisen komposiitin hydrofobinen polymeerikomponentti ei liukene merkittävässä määrin.

Eräs odottamaton havainto oli lisäksi se, että muunnettaessa selluloosa johdannaisekseen sen jälkeen, kun se on agglomeroitu, selluloosakomposiitin derivatisointi-

30 aste voi olla korkeampi ja sillä voi siten olla suurempi ioninvaihtokapasiteetti kuin agglomeroidulla selluloosakomposiitilla, joka on valmistettu alalla aikaisemmin käytetyllä menetelmällä, jossa selluloosa muunnetaan ennen agglomerointia. Vaikka kyseisen keksinnön mukaisen agglomeroi-

35 meroidun kuitumaisen selluloosakomposiitin ioninvaihto-

kapasiteetti voi vaihdella suuresti, ioninvaihtokapasiteetin pitäisi tyypillisesti olla vähintään noin 0,1 mekv/g ja edullisesti vähintään noin 0,2 mekv/g.

Nyt on yllättäen havaittu, että derivatisoidun komposiitin valmistuksen jälkeen sen käsittely kuumalla vesiväliaineella voi lisätä voimakkaasti komposiitin adsorptiokapasiteettiä. Kuumalla vesiväliaineella käsittelemisellä tarkoitetaan korotetussa lämpötilassa suoritettua käsittelyä sellaisessa väliaineessa kuin vesijohtovesi, deionisoitu vesi tai laimea suolaliuos, jonka konduktanssi on korkeintaan noin 7000 μ S, vielä edullisemmin noin 1000 μ S.

Komposiitin valmistuksessa on edullista käyttää Ant-
rimin et al. menetelmää, joka on esitetty US-patenttijulkaisussa 4 355 117, jonka sisältöön tässä viitataan.

Valmistettiin nimenomaan kahden tyyppistä derivatsoitua rakeista selluloosaa; tyyppi I-GDC sisälsi tiheyttä kohottavana aineena alumiinioksidia, kun taas tyyppi II-GDC sisälsi tiheyttä kohottavana aineena titaanidioksidia. Kummankin komposiitin valmistuksessa käytettiin seuraavaa formulointimenettelyä. Agglomeraatti valmistettiin sekoittamalla keskenään 30 osaa CEPO S-100 selluloosaa (Swedish Cellulose Powder and Woodflower Milk Ltd., Göteborg, Ruotsi) ja 20 osaa massanlisäysainetta (joko alumiinioksidia tyyppin I tapauksessa tai titaanidioksidia tyyppin II tapauksessa) ja sekoittamalla seosta 50 osan kanssa polystyreeniä kuumennetulla (180 - 200 °C) kaksoistelasekoittimella 10 minuuttia. Jäähdytyksen jälkeen sekoitettu komposiitti jauhettiin ja seulottiin niin, että sen raeokoko oli 40 meshin ja 80 meshin välillä.

Toiseen kahdesta nelikaulaisesta 2 litran hartsias-
tiasta, jotka oli varustettu sekoittimella, lämpömittarilla, johon oli yhdistetty Therm-O-Water Regulator-laite, jääyhdyttimellä ja kuumennusvaipalla, laitettiin 300 g joko tyyppiä I ja tyyppiä II olevaa rakeista selluloosaa

(GC_I tai GC_{II}) ja 942 ml deionisoitua vettä. Sekoittaen samalla lisättiin 300 g vedetöntä natriumsulfaattia ja sen jälkeen 82 g 50 %:sta natriumhydroksidia. Kumpaankin 40 °C:seen lämmitettyyn reaktioseokseen lisättiin Techni-
 5 con-pumppua käyttäen 117 g 50 %:sta dietyyliaminoetyyli-
 kloridihydrokloridireagenssia (DEC). Reagenssi lisättiin 2 tunnin aikana. Seosta sekoitettiin 40 °C:ssa 30 minuut-
 tia, jonka jälkeen kumpaankin hartsiin lisättiin 62 g
 NaOH:ta ja 2 tunnin aikana 117 g lisää DEC-reagenssia.
 10 Reaktioseoksia kuumennettiin sitten 60 °C:ssa noin 30 mi-
 nuuttia, jonka jälkeen ne jäähdytettiin ja pH säädettiin
 30 %:sta H₂SO₄:ää käyttäen arvoon 6,5. Tuotteista käyte-
 tään nimityksiä rakeinen muunnettu selluloosa tyyppi I
 (GDC_I) ja rakeinen muunnettu selluloosa tyyppi II (GDC_{II}).
 15 Näin valmistettuja rakeisia komposiitteja voidaan
 pitää käsittelemättöminä komposiitteina, mitä tulee niiden
 käyttämiseen makromolekyylien adsorbointiin. Toisin sanoen
 käsittelemättömällä komposiitilla tarkoitetaan tässä kom-
 posiittia, jota ei ole aikaisemmin kuormitettu sellaisilla
 20 makromolekyyleillä.

Seuraavat esimerkit valaisevat tätä keksintöä, mut-
 ta niitä ei tulisi käsittää keksintöä rajoittaviksi.

Esimerkki 1

Tämä esimerkki valaisee saavutettua adsorptiokapa-
 25 siteetin lisääntymistä glukooosi-isomeraasientsyymin suh-
 teen, kun rakeinen muunnettu (derivatisoitu) selluloosa
 (GDC_I), joka oli valmistettu käyttäen massanlisäysaineena
 alumiinioksidia, käsiteltiin vedellä noin 90 °C:ssa.

50 g (tuoreena) kuivattua GDC_I:tä seulottiin käyt-
 30 täen ruostumattomasta teräksestä valmistettua seulaa,
 jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60, ja käyttäen
 noin 24 litraa suihkuttimesta saatua vettä. Seulotusta
 GDC_I:stä poistettiin vesi lasisintterillä varustetun sup-
 pilon ja imupullon avulla, ja sitten se pullotettiin ja
 35 merkittiin näytteeksi A.

Ruostumattomasta teräksestä valmistettuun 1000 ml:n dekantteriin, joka sisälsi 600 ml deionisoitua vettä, laitettiin 21,7 g (kuivana) edellä seulottua GDC_I:tä. Dekantteri sijoitettiin vesihauteeseen, joka oli kuumennettu
 5 noin 90 °C:seen, ja seosta sekoitettiin 90 °C:ssa vesihauteessa 30 minuuttia.

Kuuma seos suodatettiin karkealla lasisintterillä varustettua suppiloa ja imupulloa käyttäen, ja sen jälkeen GDC-kiintoaine laitettiin takaisin ruostumattomaan 1000
 10 ml:n dekantteriin. Dekantteriin lisättiin toiset 600 ml deionisoitua vettä, ja seosta sekoitettiin toisen kerran 30 minuuttia 90 °C:ssa vesihauteessa.

Kuuma seos suodatettiin kuten edellä, ja sen jälkeen GDC-kiintoainetta käsiteltiin kolmannen kerran 600
 15 ml:lla deionisoitua vettä 30 minuuttia 90 °C:ssa vesihauteessa. Loppusuodatuksen jälkeen kolmesti käsitelty GDC_I, josta oli poistettu vesi, pullotettiin ja merkittiin näytteeksi B.

Käsitellyn GDC:n adsorptiokapasiteetti glukoosi-isomeraasin suhteen määritettiin yksipistemenetelmää käyttäen. Siispä kannella varustettuun 140 ml:n muovipulloon laitettiin 4,835 g (tuoreena; 2,0262 g kuivana) käsiteltyä GDC_I:tä (näytettä B) ja 50,0 ml deionisoitua vettä. Tähän seokseen lisättiin 0,5 ml 1 M Tris-puskuria (pH 7,0) ja
 25 1,25 ml glukoosi-isomeraasia (5412 IGIU/ml), joka sisälsi aktiivisuutta 6765 IGIU.

Glukoosi-isomeraasi voidaan puhdistaa entsyymiä sisältävistä uutteista menettelytavoin, jotka ovat tällä alalla hyvin tunnettuja. Sellaisia puhdistusmenettelytapoja ovat sentrifugointi, suolan (esim. ammoniumsulfaatin) saostus ja pylväskromatografia (esim. ioninvaihto- tai affiniteettikromatografia), mutta ne eivät rajoitu tässä mainittuihin.

Kansainvälinen glukoosi-isomeraasiyksikkö (IGIU, International Glucose Isomerase Unit) on se määrä entsyy-

miä, joka muuttaa 1 μmol :n glukoosia fruktoosiksi minuutissa liuoksessa, joka sisältää 2 mol glukoosia, 0,02 mol MgSO_4 ja 0,001 mol CoCl_2 :ta litraa kohden ja jonka pH on 6,84-6,85 (0,2 M natriummaleaatti) ja lämpötila 60 °C.

5 Noin $9,3 \times 10^3$ μS :n konduktanssin aikaansaamiseksi lisättiin natriumkloridia, ja seosta sekoitettiin 1 tunti. pH säädettiin laimeata HCl:ää käyttäen arvoon 7,1 ja näytettä sekoitettiin 4 tuntia. Laskeutuksen jälkeen kirkas nestemäinen näyte laimennettiin suhteessa 1:10 ja analysoitiin Technicon-määritystä, jonka ovat esittäneet Lloyd
10 et al., Cereal Chemistry 49 (1972), nro 5, 544-553, käyttäen. Kirkkaan nesteen todettiin sisältävän yhteensä 803 IGIU glukoosi-isomeraasiaktiivisuutta. Näin ollessa 2,0262 g (kuivana) GDC:tä adsorboi yhteensä 5960 IGIU
15 glukoosi-isomeraasia eli 2940 IGIU/g (kuivana) GDC_I:tä.

Soveltaen samaa menettelytapaa lähtö-GDC:hen (näytteeseen A) ja käyttäen samaa entsyymiä saatiin adsorptiokapasiteetiksi 1955 IGIU/g (kuivana GDC_I:tä). Käsittely korkeassa lämpötilassa aiheutti siis GDC_I:n entsyymin adsorptiokapasiteetin lisääntymisen 50 %.

Esimerkki 2

Tämä esimerkki valaisee seaavutettua entsyymin adsorptiokapasiteetin lisääntymistä, kun rakeinen muunnettu selluloosa (GDC_{II}), joka oli valmistettu käyttäen massanlisäysaineena titaanidioksidia, käsiteltiin vedellä noin
25 90 °C:ssa.

65,5 g:n (tuoreena; 34,5 g kuivana) erää GDC_{II}:ta sekoitettiin dekantterissa, joka sisälsi noin 600 ml deionisoitua vettä (huoneen lämpötilassa), ja se seulottiin
30 sitten vesisuihkua (noin 24 litraa vettä) käyttäen ruostumattomasta teräksestä valmistetulla seulalla, jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60. Seulotusta GDC:stä poistettiin vesi lasisintterillä varustetun suppilon avulla, ja se pullotettiin ja merkittiin näytteeksi A. Tämä

näyte toimi vertailunäytteenä; mitään 90 °C:ssa käsitte-
lyä ei tehty.

Toinen 34,5 g:n (kuivana) erä GDC_{II} :ta laitettiin
yhdessä 600 ml:n kanssa deionisoitua vettä ruostumattomas-
5 ta teräksestä valmistettuun dekantteriin. Dekantteri si-
joitettiin kuumaan vesihauteeseen, jonka lämpötila oli
noin 90 °C, ja lietettä sekoitettiin tässä lämpötilassa $\frac{1}{2}$
tuntia. Tulokseksi saatu tuote pestiin ruostumatonta te-
rästä olevan seulan, jonka US-standardin mukainen meshluku
10 oli 60, päällä hienon aineksen poistamiseksi käyttäen vet-
tä noin 24 litraa. Näytteestä poistettiin vesi lasisint-
terillä varustetun suppilon avulla, ja se pullotettiin ja
merkittiin näytteeksi B.

Uusi 34,5 g:n (kuivana) erä GDC_{II} :ta laitettiin
15 yhdessä 600 ml:n kanssa deionisoitua vettä ruostumattomas-
ta teräksestä valmistettuun dekantteriin, ja sitä käsitel-
tiin samalla tavalla kuin edellä 90 °C:ssa vesihauteessa
 $\frac{1}{2}$ tuntia. Kiintoaine erotettiin suodattamalla ja suspen-
doitiin uudelleen 600 ml:aan deionisoitua vettä, ja sitä
20 käsiteltiin toisen kerran 90 °C:ssa vesihauteessa $\frac{1}{2}$ tun-
tia. Tuote pestiin ruostumastonta terästä olevan seulan,
jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60, päällä hie-
non aineksen poistamiseksi, sen jälkeen siitä poistettiin
vesi lasisintterillä varustetun suppilon avulla, ja se
25 pullotettiin ja merkittiin näytteeksi C.

Vielä yksi 34,5 g:n (kuivana) erä GDC_{II} :ta käsitel-
tiin kolmesti 600 ml:n erillä deionisoitua vettä 90 °C:ssa
vesihauteessa kunkin käsittelyn kestäessä $\frac{1}{2}$ tuntia. Tulok-
seksi saatu tuote pestiin sitten seulan, jonka US-standar-
30 din mukainen meshluku oli 60, päällä hienon aineksen pois-
tamiseksi käyttäen vettä noin 24 litraa. GDC_{II} -tuotteesta
poistettiin vesi, ja se pullotettiin ja merkittiin näyt-
teeksi D.

Kaikki 4 GDC-tuotetta punnittiin, ja niiden adsorp-

tiokapasiteetti glukoosi-isomeraasientsyymin (GI) suhteen analysoitiin. Tulokset on esitetty alla:

Näyte	A	B	C	D
5 GI-adsorptiokapasiteetti (IGIU/g kuivaa GDC _{II} :ta)	2492	3455	3456	3660
10 Adsorptiokapasiteetin likimääräinen lisääntyminen (%)	-	39	39	47

Esimerkki 3

15 Tämä esimerkki valaisee rakeisesta selluloosasta (GC), joka muunnettiin ensin johdannaisekseen erilaisilla DEC-reagenssimäärillä ja käsiteltiin sitten vedessä noin 90 °C:ssa, saatujen näytteiden adsorptiokapasiteettia.

Derivatisointi

20 Kuuteen nelikaulaiseen 2 litran hartsiastiaan, jotta oli varustettu sekoittimella, lämpömittarilla, johon oli yhdistetty Therm-O-Watch Regulator-laite, jäähdyttimellä ja kuumennusvaipalla, laitettiin 300 g normaalia GDC:tä (seosta, joka koostui polystyreenistä, CEPO S-100 selluloosasta ja massalisäysaineena käytetystä titaanidi-

25 oksidista (50 %, 30 % ja 20 %, tässä järjestyksessä) ja joka oli valmistettu edellä kuvatulla tavalla) ja 942 ml deionisoitua vettä. Sekoittaen samalla lisättiin 300 g vedetöntä natriumsulfaattia ja sen jälkeen 82 g 50 %:sta natriumhydroksidia. Kuhunkin 40 °C:seen lämmitettyyn reaktio-

30 seokseen lisättiin Technicon-pumppua käyttäen 50 %:sta dietyyliaminoetyylikloridihydrokloridireagenssia (DEC) määrä, joka oli joko 50, 60, 70, 80, 90 tai 100 % DEC-reagenssin normaalitasosta. 50 %:nen DEC-reagenssi lisättiin 2 tunnin aikana.

Reaktioseoksia sekoitettiin 40 °C:ssa 30 minuuttia, jonka jälkeen kuhunkin hartsiastiaan lisättiin 62 g 50 %:sta NaOH:ta ja 2 tunnin aikana toinen puoli 50 %:sesta DEC-reagenssista.

- 5 Reaktioseoksia kuumennettiin 60 °C:ssa noin 30 minuuttia, jonka jälkeen ne jäähdytettiin ja pH säädettiin 30 %:sta H₂SO₄:ä käyttäen arvoon 5. Kunkin tuotteen valmistuksessa käytetyt reaktio-olosuhteet on esitetty alla:

10

Kokeen nro	Vesi (g)	GDC (g)	Na ₂ SO ₄ (g)	50-%:nen NaOH (g) 1. 2. lisäykset	50 %:nen Normaa- litasos- ta (%)	DEC-reagenssi 1. 2. lisäykset. (g) (g)
1	942	300	300	82 62	100	117 117
2	942	300	300	82 62	90	105 105
3	942	300	300	82 62	80	93,6 93,6
4	942	300	300	82 62	70	81,9 81,9
5	942	300	300	82 62	60	70,2 70,2
6	942	300	300	82 62	50	58,5 58,5

Seulonta ja pesu

- 25 Reaktiotuotteet laskettiin seulan läpi, jonka US-standardin mukainen meshluku oli 30, ja kerättiin seulalle, jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60, käyttäen kussakin tapauksessa noin 24 litraa suihkuttimesta saatua vettä. Kunkin reaktion tuotetta (koko 30 meshin ja 60 meshin välillä) sekoitettiin 2000 ml:ssa vettä, ja ne pestiin seulan, jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60, päällä 24 litralla vettä suihkutinta käyttäen. Kiintoaine dispergoitiin uudelleen 2000 ml:aan vettä ja pestiin taas seulan, jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60, päällä käyttäen suihkutinta ja 24 litraa vettä kussakin
- 35

pesussa. Kaikista 6 reaktiotuotteesta poistettiin vesi lasisintterillä varustetun suppilon avulla.

Käsittely korkeassa lämpötilassa

Ruostumattomasta teräksestä valmistettuihin dekant-
 5 tereihin laitettiin 50,0 g (kuivana) kutakin tuotetta ja
 600 ml deionisoitua vettä. Dekantterit sijoitettiin
 90 °C:seen vesihauteeseen, ja GDC-lietteitä sekoitettiin
 2 tuntia hauteen lämpötilassa 90 °C. Kiintoaine erotettiin
 kuumasuodatuksella karkealla lasisintterillä varustettua
 10 suppiloa käyttäen ja suspendoitiin sitten uudelleen 600
 ml:aan deionisoitua vettä, ja suspensioita sekoitettiin
 taas 2 tuntia 90 °C:ssa vesihauteessa. Tulokseksi saadut
 kuumat GDC-lietteet suodatettiin karkealla lasisintterillä
 varustettua suppiloa käyttäen, ja kiintoaine suspendoitiin
 15 sitten uudelleen 600 ml:aan deionisoitua vettä ja sitä
 sekoitettiin taas 2 tuntia 90 °C:ssa hauteessa. Suoda-
 tuksen jälkeen kolmesti käsitelty GDC-tuotteet seulottiin
 seulalla, jonka US-standardin mukainen meshluku oli 60,
 käyttäen noin 24 litraa vettä ja suihkutinta. Tuotteista
 20 poistettiin vesi, ja niiden kapasiteetti glukoosi-isome-
 raasin suhteen mitattiin. Tulokset on esitetty alla:

		50 %:sen DEC-reagenssin määrä (%)					
Näytteen nro		100	90	80	70	60	50
25	Adsorptiokapa- siteetti 90 °C: ssa käsittelyn jälkeen (IGIU/g kuivaa GDC:tä)	3130	2714	2538	2538	2468	1953

Kuten voidaan odottaa, adsorptiokapasiteetti glu-
 koosi-isomeraasin suhteen laski DEC-reagenssitason funk-
 tion. GDC-tuotteen, joka oli valmistettu käyttäen DEC-
 35 reagenssia vain 60 % perustasosta, adsorptiokapasiteetti

vastasi sellaisen GDC:n, joka oli derivatisoitu 100 %:sella (perustasosta) määrällä DEC:tä mutta jota ei ollut käsitelty 90 °C:ssa, kapasiteettia. Ks. esimerkki 2.

Esimerkki 4

5 Tämä esimerkki valaisee käsittelylämpötilan vaikutusta GDC:n adsorptiokapasiteettiin.

300 g:n (kuivana) erä GDC_{II}:ta seulottiin ja pestiin 60 meshin seulalla suurin piirtein samalla tavalla kuin esimerkissä 2 on kuvattu. Seulotusta GDC:stä poistettiin vesi lasisintterillä varustetun suppilon avulla, ja se sekoitettiin hyvin. Sekoitetusta GDC:stä otettiin näytteet ja ne suspendoitiin deionisoituun veteen (10 ml/g kuivaa näytettä). Näytteitä sekoitettiin 2 tuntia eri lämpötiloissa, jotka vaihtelivat 50 °C:sta 100 °C:seen.

10 GDC_{II}:t kerättiin sitten suodattamalla lasisintterillä varustettuihin suppiloihin. Kustakin GDC_{II}:sta otettiin sitten näyte analyysiä varten, ja loppuosa GDC_{II}:sta suspendoitiin uudelleen tuoreeseen veteen toista 2 tunnin käsittelyä varten. Toisen käsittelyn jälkeen GDC_{II}:t erotettiin suodattamalla, niistä otettiin näytteet analyysiä varten ja loppuosat suspendoitiin uudelleen veteen kolmatta 2 tunnin käsittelyä varten. Kolmannen käsittelyn jälkeen GDC_{II}:t pestiin 60 meshin seulan päällä kylmällä vedellä, niistä poistettiin vesi suodattamalla ja ne sekoitettiin hyvin.

15 Myös säilytetyt, yhden ja kahden käsittelyn jälkeen otetut näytteet seulottiin, niistä poistettiin vesi ja ne sekoitettiin.

Kun edellä saadun GDC_{II}:n adsorptiokapasiteetti määritettiin glukoosi-isomeraasin avulla suurin piirtein samalla tavalla kuin esimerkissä 1 on kuvattu, paitsi että käytettiin monipisteadsorptioita käyttäen erilaisia määriä GDC_{II}:ta entsyymin määrän pysyessä vakiona. Adsorptiokapasiteetti laskettiin piirtämällä adsorboitunutta isomeraasiaktiivisuutta lisätyn GDC_{II}:n funktiona kuvaava käyrä.

30 Yhteenvedo tuloksista on esitetty seuraavassa taulukossa:

Käsitteltyjen GDC _{II} -tuotteiden adsorptiokapasiteetti			
Käsittely- lämpötila	Käsittelyjen lukumäärä	Adsorptio- kapasiteetti (IGIU/g kui- vaa GDC _{II} :ta)	Kapasiteetin likimääräinen lisäys (%)
5 (°C)			
Vertailu- näyte			
10 (käsitte- lemätön)	0	2550	-
50	1	2465	-3
	2	2762	8
	3	2830	11
15 60	1	2489	-2
	2	2841	11
	3	3303	30
70	1	2592	2
	2	2756	8
20	3	3147	23
80	1	3058	20
	2	2913	14
	3	3460	40
90	1	2858	12
25	2	3491	37
	3	3438	35
100	1	4876	91
	2	5216	105
	3	5158	102
30			

Kaikissa testeissä käytetyissä lämpötiloissa moninkertainen käsittely paransi adsorptiokapasiteettia. Käsittelylämpötilan kohotessa adsorptiokapasiteetti lisääntyi niin, että kaksi tai kolme käsittelyä 100 °C:ssa kaksinkertaisti adsorptiokapasiteetin.

Esimerkki 5

Tämä esimerkki valaisee korkeassa lämpötilassa käsittelyllä GDC_{II}:n adsorptiokapasiteetin paranemiseen muiden proteiinien kuin glukoosi-isomeraasin suhteen.

Sen määrittämiseksi, parantaisiko kuumavesikäsitteily adsorptiokapasiteettia muiden proteiinien suhteen samoin kuin glukoosi-isomeraasin suhteen, valmistettiin 0,2 %:nen naudan seerumialbumiinin (BSA) (Sigma, fraktio V) liuottamalla proteiini 10 mM Trispuuskuriin (pH 7,0). Tämän liuoksen konduktanssi säädettiin 9000 µS:ksi natriumkloridia lisäämällä.

Adsorptiokapasiteetin BSA:n suhteen määrittämiseen käytettiin pestystä ja seulotusta GDC_{II}:sta ja GDC_{II}:sta, joka oli käsitelty kolmesti 100 °C:ssa esimerkissä 4 kuvattulla tavalla, otettuja näytteitä. Punnitut erät kumpaakin GDC_{II}:ta suspendoitiin 50 ml:n eriin BSA-liuosta ja suspensioita sekoitettiin 60 minuuttia. GDC_{II}:n annettiin laskeutua painovoiman vaikutuksesta, ja kirkkaista suspensioista otettiin näytteet liukoisen BSA:n pitoisuuden määrittämiseksi ultraviolettia absorbanssin avulla aallonpituudella 280 nm. Adsorptiokapasiteetti laskettiin liukoisen BSA:n pitoisuuden erosta ennen GDC_{II}:n lisäystä ja sen jälkeen.

100 °C:ssa käsitelty GDC_{II} adsorboi 19,7 mg BSA:ta/g kuivaa GDC:tä verrattuna käsittelemättömän GDC_{II}:n adsorptioon, joka oli vain 11,6 mg/g kuivaa GDC_{II}:ta. 100 °C:ssa käsitteleminen lisäsi siis adsorptiokapasiteettia naudan seerumialbumiinin suhteen noin 70 %.

Esimerkki 6

Tämä esimerkki havainnollistaa korkeassa lämpötilassa käsittelyn vaikutusta muihin kantajiin, joiden tiedetään adsorboivan glukoosi-isomeraasia.

Sen määrittämiseksi, onko adsorptiokapasiteetin paraneminen GDC:n kuumavesikäsitteilyn jälkeen yleinen ominaisuus isomeraasia adsorboivilla aineilla, muutamaa kantaja-ainetta, joiden tiedetään adsorboivan glukoosi-isomeraasia, käsiteltiin kaksi tuntia vedellä 90 °C:ssa. Sen jälkeen määritettiin isomeraasin adsorptiokapasiteetti käsittelemättömiä ja käsiteltyjä kantajia käyttäen. Testattiin kuitumainen DEAE-selluloosa (Whatman DE-23), suurihuokoinen polystyreenistä ja kvaternaarisesta amiinista valmistettu hartsi (Amberlite IRA-900, Rohm & Haas) ja suurihuokoinen polyfenolista ja tertiaarisesta amiinista valmistettu hartsi (Duolite A-568, Diamond Shamrock). 10 g:n erä kutakin hartsia suspendoitiin 100 ml:aan deionisoitua vettä, ja suspensioita sekoitettiin 2 tuntia 90 °C:ssa. Hartsit kerättiin talteen ja niistä poistettiin vesi lasisintterillä varustettujen suppiloiden avulla, ja osia niistä käytettiin isomeraasin adsorptiokapasiteetin määrittämiseen suurin piirtein esimerkissä 4 kuvatulla tavalla. Mitään eroa käsitellyn ja käsittelemättömän kantajan isomeraasin adsorptiokapasiteetin välillä ei havaittu IRA-900:n, IRA-932:n ja Duolite A-568:n tapauksessa. Whatman DE-23:n tapauksessa adsorptiokapasiteetti pieneni käsittelemättömän kantajan arvosta 3407 IGIU/g käsitellyn kantajan arvoon 2429 IGIU/g käsitellyn kantajan arvoon 2429 IGIU/g. Kuumavesikäsitteily ei siten parantanut mikään edellä mainitun muun ei-GDC-hartsin adsorptiokapasiteettia.

Esimerkki 7

Tämä esimerkki havainnollistaa sitä, että kuumassa lämpötilassa käsitteleminen joko vesijohtovedellä tai laimealla suolaliuoksella on myös tehokas GDC:n adsorptiokapasiteetin lisäyksessä.

Deionisoidun veden, vesijohtoveden (konduktanssi 620 μS) ja laimean natriumkloridiliuoksen (konduktanssi 5000 μS) vaikutuksen vertailemiseksi GDC_{II}-näytteet käsiteltiin kolmesti 90 °C:ssa kullakin liuoksella suurin
 5 piirtein esimerkissä 4 kuvatulla tavalla. Käsiteltyjen GDC-tuotteiden adsorptiokapasiteetti määritettiin glukoo-
 si-isomeraasia käyttäen samalla tavalla kuin esimerkis-
 sä 1. Saatiin seuraavat tulokset:

10	Väliaine	Adsorptiokapa- siteetti (IGIU/g kuivaa tuotetta)	Kapasitaatin liki- määräinen lisäys (%)
	Ei mitään	2550	-
15	Deionisoitu vesi	3438	35
	Vesijohtovesi	3170	24
	Suolaliuos	4070	60

Käsittely vesijohtovedellä oli lähes yhtä tehokas
 20 kuin käsittely deionisoidulla vedellä GDC:n adsorptiokapa-
 siteetin lisäyksessä. Laimea suolaliuos (0,05 M NaCl) oli
 tehokkaampi kuin deionisoitu vesi tai vesijohtovesi.

Esimerkki 8

Tämä esimerkki havainnollistaa konduktanssin (suo-
 25 lapitoisuuden) vaikutusta GDC:n käsittelyyn.

Konduktanssin vaikutuksen käsittelyn tehokkuuteen
 määrittämiseksi GDC-näytteet käsiteltiin kolmesti
 100 °C:ssa natriumkloridiliuoksilla, joiden konduktanssi
 oli erilainen, suurin piirtein esimerkissä 4 kuvatulla
 30 tavalla. Kunkin käsitellyn GDC:n adsorptiokapasiteetti
 määritettiin glukoo-
 si-isomeraasia käyttäen esimerkissä 1
 kuvatulla tavalla. Saatiin seuraavat tulokset:

	Konduktanssi (μS)	Adsorptiokapa- siteetti (IGIU/g kuivaa GDC:tä)	Kapasiteetin likimääräinen lisäys (%)
5	52	4259	54
	1000	4642	69
	3000	4260	54
	7000	3980	45
	Vert.näyte	2750	-
10	(käsitlemätön)		

Käsittely paransi kaikissa tapauksissa GDC:n adsorptiokapasiteettia käsitlemättömän vertailunäytteen kapasiteettiin nähden. Suurin parannus todettiin suola-
 15 liuoksella, jonka konduktanssi oli 1000 μS (0,01 N NaCl),
 käsittelyn jälkeen.

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä agglomeroidun selluloosakomposiitin, jolla on parantunut adsorptio- tai sitomiskapasiteetti
5 varautuneiden makromolekyylien suhteen, valmistamiseksi rakeisesta, agglomeroituneesta hydrofobisen polymeerin ja selluloosan käsittelemättömästä komposiitista, jolla on ioninvaihto-ominaisuuksia, t u n n e t t u siitä, että mainittu komposiitti käsitellään vesiväliaineella vähintään noin 60 °C:n lämpötilassa käsittelyajan ollessa riittävä
10 tävän pitkä, jotta adsorptio- tai sitomiskapasiteettia mainittujen makromolekyylien suhteen pystytään lisäämään vähintään noin 30 %.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että selluloosa on agglomeroitu
15 hydrofobisen polymeerin kanssa rakeisen komposiitin muodostamiseksi.
3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu makromolekyyli on
20 proteiini.
4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu proteiini on entsyymi.
5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu entsyymi on
25 glukoosi-isomeraasi.
6. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu käsitte-
lyaika on noin $\frac{1}{2}$ - 5 tuntia.
7. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-6 mukainen
30 menetelmä, t u n n e t t u siitä, että korotettu lämpötila on noin 80-100 °C.
8. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mainittu vesiväli-

aine on vesijohtovesi, deionisoitu vesi tai laimea suolaliuos.

5 9. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että suolaliuoksen konduktanssi on korkeintaan noin 7000 μ S.

10 10. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-9 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että komposiitin sisältämä agglomeroitu selluloosa on muunnettu johdannaisekseen derivatisointiaineella ioninvaihto-ominaisuuksien antamiseksi sille ainakin osan muunetusta selluloosasta ollessa vapaa adsorboimaan varautuneita makromolekyyliä.

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu derivatisointiaine on dietyyliaminoetyylikloridi.

15 12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että rakeet muunnetaan derivatisointiaineella, jonka suhde selluloosaan on suurempi kuin 0,7.

20 13. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-12 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu hydrofobinen polymeeri on polystyreeni.

14. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-13 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu komposiitti sisältää lisäksi tiheyttä kohottavaa ainetta.

25 15. Patenttivaatimuksen 14 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu tiheyttä kohottava aine on jauhettu metallioksidi, silikaatti tai niiden seos.

30 16. Patenttivaatimuksen 15 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että mainittu tiheyttä kohottava aine on alumiinioksidi tai titaanioksidi.

35 17. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-16 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että käsittelyaika on riittävän pitkä komposiitin adsorptio- tai sitomiskapasiteetin lisäämiseksi vähintään 60-100 %.

18. Minkä tahansa patenttivaatimuksen 1-17 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että se sisältää mainittujen makromolekyylien adsorboinnin tai sitomisen käsiteltyyn komposiittiin.

5 19. DEAE-selluloosapohjainen rakeinen käsittelemätön komposiitti, t u n n e t t u siitä, että se koostuu rakeista, jotka on muodostettu agglomeroimalla selluloosa hydrofobisen polymeerin kanssa;

mainitut rakeet on sitten derivatisoitu DEAE:llä käytetyn
10 DEAE:n suhteen selluloosaan ollessa yli 0,7 ioninvaihto-ominaisuuksien antamiseksi selluloosalle;

ainakin osa mainitusta muunetusta selluloosasta on vapaa adsorboimaan varautuneita makromolekyyliä; ja
mainitut rakeet on sitten käsitelty vesiväliaineessa korotetussa, vähintään 60 °C:n, lämpötilassa riittävän
15 pitkään, jotta käsittelyllä on saatu lisätyksi mainitun komposiitin adsorptiokapasiteettia makromolekyylien suhteen vähintään noin 30 %.

20 20. Rakeinen, agglomeroitunut hydrofobisen polymeerin ja selluloosan käsittelemätön komposiitti, t u n n e t t u siitä, että sillä on ioninvaihto-ominaisuuksia, joita on parannettu vesiväliaineessa suoritettulla lämpökäsittelyllä komposiitin käyttöä makromolekyylien adsorbointiin tai sitomiseen ajatellen.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Antustustekinnusta ei ole tehty

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P.

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja: - Ansökningspublikationer, utläggings- och patentskrifter:

FI _____

CH _____

DE _____

DK _____

FR _____

GB _____

NO _____

SE _____

US _____

EP

WO

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

11.12.92 *Pek*

Allekirjoitus