



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **325536**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

A23L 1/30 (2006.01)

A23D 9/05 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20024994	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2001.04.17 PCT/US01/12463
(22)	Inng.dag	2002.10.17	(85)	Videreføringsdag	2002.10.17
(24)	Løpedag	2001.04.17	(30)	Prioritet	2000.04.18, US, 198487 2001.04.17, US, 836788
(41)	Alm.tilgj	2002.12.03			
(45)	Meddelt	2008.06.09			
(73)	Innehaver	Aker Biomarine ASA, Strandveien 15, 1366 LYSAKER			
(72)	Oppfinner	Duane Fimreite, 2551 North Burling Street, IL60614 CHICAGO, US			
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 7085 Majorstua, 0306 OSLO			

(54)	Benevnelse	Blanding omfattende et pulver inneholdende konjugert linolsyre, fremgangsmåte for fremstilling og anvendelse derav.		
(56)	Anførte publikasjoner	US-A-5919451, WO-A1-9737546		
(57)	Sammendrag			

Pulver inneholdende en høy mengde konjugert linolsyre eller en annen olje. Pulveret inneholder enten triglyserider som inneholder CLA, frie CLA-fettsyrer, CLA-alkylestere eller en annen ønsket olje. Pulveret er frittrislende og har gode organoleptiske egenskaper. Pulveret kan anvendes som diett-tilskudd eller bli kombinert med næringsmidler for å danne et næringsmiddelprodukt som er egnet for å bli konsumert av mennesker eller dyr.

OMRÅDE FOR OPPFINNELSEN

Den foreliggende oppfinnelse gjelder området ernæring for mennesker og dyr, og spesielt en pulverblanding med konjugert linolsyre (CLA), fremgangsmåte for fremstilling og anvendelse av blandingen.

BAKGRUNN FOR OPPFINNELSEN

I 1978 påviste forskere ved universitetet i Wisconsin et stoff i tilberedt storfekjøtt som syntes å inhibere mutagenesis. Stoffet ble funnet å være en blanding av posisjonsisomerer av linolsyre (C18:2) med konjugerte dobbeltbindinger. Isomerene c9,t11 og t10,c12 var til stede i størst mengde, men det var usikkert hvilke isomerer som var ansvarlige for den observerte biologiske aktivitet. Studier med opptak av merkede forbindelser viste at 9,11-isomeren syntes å være noe foretrukket ved opptak og innlemmelse i fosfolipidfraksjonen i dyrevev, og i mindre grad 10,12-isomeren. (Se Ha, et al., Cancer Res., 50: 1097 (1990)).

Den biologiske aktivitet forbundet med konjugerte linolsyrer (kalt CLA) er mangfoldig og kompleks. For tiden er svært lite kjent angående virkningsmekanismene, selv om flere pågående prekliniske og kliniske undersøkelser sannsynligvis vil kaste nytt lys over den fysiologiske og biokjemiske virkningsmodus. De antikarsinogene egenskaper hos CLA er blitt vel dokumentert. Administrasjon av CLA inhiberer tumorigenesis hos hunnrotter, som demonstrert av Birt et al., Cancer Res., 52:2035s (1992). Ha, et al., Cancer Res., 50: 1097 (1990) rapporterte tilsvarende resultater i formage hos mus ved en neoplasimodell. CLA er også blitt identifisert som et målrettet sterkt cytotoxisk middel mot human melanom, colorektal- og brystcancerceller in vitro. En nylig stor oversiktsartikkel bekrefter konklusjonene trukket av de individuelle studier (Ip, Am, J. Clin. Nutr., 66 (6 Supp): 1523s (1997)).

Selv om mekanismene ved CLA-virkningen fortsatt er uklare, så er det bevis på at en eller flere komponenter i immunsystemet kan være involvert, i det minste in vivo. I US patentskrift nr. 5585400 beskrives en fremgangsmåte for å dempe allergiske reaksjoner forårsaket av type I- eller TgE-hypersensitivitet hos dyr ved å administrere en diett som inneholder CLA. CLA i konsentrasjoner fra 0,1 til 1,0 % ble også vist å være et effektivt adjuvans ved bevaring av hvite blodceller. I US patentskrift nr. 5674901 beskrives at oral eller parenteral administrasjon av CLA i form av enten fri syre eller salt resulterte i en forhøyning i CD-4 og CD-8 lymfocyt-subpopulasjoner i forbindelse med celleformidlet immunitet. Uheldige virkninger som skyldes forbehandling med eksogen tumor-nekrosefaktor kunne mildnes indirekte ved å forhøye eller beholde nivåene av CD-4- og CD-8-celler i dyr som var gitt CLA. Til slutt beskrives i US patentskrift nr. 5430066 virkningen av CLA når det gjelder å hindre vekttap og anoreksi ved immunstimulering.

Bortsett fra mulige terapeutiske og farmakologiske anvendelser av CLA, som angitt over, har det vært mye oppstyr angående anvendelse av CLA ernæringsmessig og som et diett-supplement. Det er funnet at CLA har en dyp generell virkning på kroppens sammensetning, spesielt omdirigering av fordelingen av fett og mager vevsmasse. I US patentskrift nr. 5554646 beskrives en fremgangsmåte hvor CLA benyttes som et diett-supplement ved at griser, mus og mennesker ble gitt dietter som inneholdt 0,5 % CLA. Hos hver art ble det observert et signifikant fall i fettinnholdet med en samtidig økning av proteinmassen. Det er interessant at hos disse dyr resulterte økningen i fettsyreinhold i dietten gjennom tilsetning av CLA, ikke i noen økning i kroppsvekt, men var forbundet med en omfordeling av fet og mager masse i kroppen. Et annet diettfenomen av interesse er virkningen av CLA-tilskudd på stoffskiftet. I US patentskrift nr. 5428072 presenteres data som viser at innlemmelse av CLA i dyrefôr (fugler og pattedyr) økte virkningen av stoffskiftet og ledet til større vektøkning hos dyr som hadde fått CLA-tilskudd. De potensielle gunstige virkninger av CLA-tilskudd for kjøttprodusenter er åpenbare.

Et annet viktig og interessant trekk ved CLA, og som understreker det tidlige kommersielle potensiale, er at det forekommer naturlig i næringsmidler og fôr som fortæres både av mennesker og dyr. Spesielt er CLA rikelig til stede i produkter fra drøvtyggere. For eksempel har flere studier blitt gjennomført hvor CLA er blitt kartlagt i forskjellige meieriprodukter. Aneja et al., Dairy Sci., 43:231 (1990) observerte at bearbeiding av melk til yoghurt resulterte i en konsentrasjon av CLA. Shanta, et al., Food Chem., 47:257 (1993) viste at en kombinert økning i bearbeidingstemperatur og tilsetning av myse økte CLA-konsentrasjonen under fremstilling av smelteost. I en separat undersøkelse rapporterte Shanta et al., J. Food Sci., 60:695 (1995) at selv om bearbeidings- og lagringsbetingelser ikke reduserte CLA-konsentrasjonene vesentlig, så observerte de ingen økninger. Faktisk har mange undersøkelser vist at sesongmessige variasjoner, eller variasjoner fra dyr til dyr, kan tilskrives så mye som en trefoldig forskjell i CLA-innhold i kumelk (se f.eks. Parodi, et al., J. Dairy Sci., 60:1550 (1977)). Også diettfaktorer er blitt trukket inn i variasjonen i CLA-innhold, som angitt av Chin et al., J Food Camp. Anal. 5: 185 (1992). På grunn av denne variasjon i CLA-innhold i naturlige kilder, vil fortæring av foreskrevne mengder av forskjellige næringsmidler ikke garantere at individet eller dyret vil få optimale doser for å sikre at det oppnås en ønsket ernæringsmessig effekt.

Linolsyre er en viktig komponent i biolipider og utgjør en signifikant andel av triglyserider og fosfolipider. Linolsyre er kjent som en "essensiell" fettsyre, hvilket betyr at dyret må skaffe seg den fra eksterne næringskilder siden den ikke kan bli autosyntetisert. Innlemmelse av CLA-formen av linolsyre kan resultere i en direkte substitusjon av CLA i lipidposisjoner hvor ukonjugert linolsyre ville ha migrert. Imidlertid er dette ikke blitt bevist, og noen av de svært gunstige men uforklarte virkninger som er blitt observert, kan til og med resultere i en reposisjonering av CLA i lipidarkitekturen på steder

hvor ukonjugert linolsyre ellers ikke ville ha migrert. Det er nå klart at én kilde for animalsk CLA, særlig i meieriprodukter, kommer fra den biokjemiske virkning av visse vombakterier på naturlig linolsyre, først isomerisering av linolsyren til CLA, og deretter utskillelse av den i vommen. Kepler, et al., J. Nutrition, 56:1191 (1966) isolerte en vombakterie, *Butyrivibrio fibrisolvens*, som katalyserer dannelse av 9,11-CLA som et mellomprodukt ved biohydrogeneringen av linolsyre. Videre fant Chin, et al., J. Nutrition, 124:694 (1994), at CLA i vevet hos gnagere hang sammen med bakterier fordi tilsvarende mikrobefrie rotter ikke produserte CLA.

I WO 97/37546 beskrives et rislebart pulver som omfatter en blanding av langkjedede, flerumettede fettsyrer eller konjugerte linolsyrer (CLA) og et hardt fett.

I US 5 919 451 beskrives et dyrefôr i form av partikler som har en kjerne med fettfritt næringsstoff, påført et belegg som kan inneholde blant annet linolsyre (CLA) sammen med antistoffer, vitaminer, etc.

I utviklingen av en definert kommersiell CLA-kilde for både terapeutisk og ernæringsmessig anvendelse, er det behov for en fremgangsmåte hvor det dannes CLA som er spisbart og som kan bli innlemmet som en komponent i matvareprodukter. CLA fremstilt i form av en fri fettsyreolje har ofte ubehagelig smak og hos noen individer kan fordøyelsen medføre uønskede oppstøt. Dessuten kan frie fettsyreoljer være vanskelige å innlemme i næringsmiddelprodukter, spesielt tørre næringsmiddelprodukter. Følgelig behøves i faget CLA-blandinger med gode organoleptiske egenskaper og formulerings-egenskaper.

SAMMENFATNING AV OPPFINNELSEN

Med den foreliggende oppfinnelse tilveiebringes en blanding omfattende et pulver med en andel av konjugert linolsyre, kjennetegnet ved at pulveret har mer enn 20 % andel med konjugert linolsyre på vektbasis og at pulveret omfatter en eksipient valgt blant HI-CAP 100 og HI-CAP 200.

Den foreliggende oppfinnelse er ikke begrenset til noen bestemt konjugert linolsyreforbindelse. Faktisk kan det anvendes forskjellige konjugerte linolsyreforbindelser, innbefattende, men ikke begrenset til, triglyserider, frie fettsyrer og alkylestere.

I noen utførelsesformer inneholder pulveret mer enn 35% konjugert linolsyreforbindelse på vektbasis. I ytterligere utførelsesformer inneholder pulveret mer enn 50% konjugert linolsyreforbindelse på vektbasis. I ytterligere utførelsesformer inneholder pulveret mer enn 65% konjugert linolsyreforbindelse på vektbasis. I enda ytterligere utførelsesformer inneholder pulveret mellom 20% og 65% konjugert linolsyreforbindelse på vektbasis. I noen utførelsesformer er pulveret frittrislende. I andre utførelsesformer er pulveret luktfritt.

Med den foreliggende oppfinnelse tilveiebringes også en fremgangsmåte for fremstilling av frittrislende pulver, hvor fremgangsmåten er kjennetegnet ved at den omfatter:

- a) det tilveiebringes en olje som omfatter en CLA-andel og en eksipiens valgt blant HI-CAP 100 og HI-CAP 200,
- b) en emulsjon av olje-i-vann dannes av oljen og eksipienten, og
- c) emulsjonen forstøvningstørkes under slike betingelser at det dannes et frittrislende pulver. Den foreliggende fremgangsmåte er ikke begrenset til pulver som inneholder noen bestemt olje. Faktisk kan det anvendes forskjellige oljer, som for eksempel konjugerte linolsyretiglyserider, agurkurteolje, nattlysolje, linolje og frie fettsyreoljer som frie fettsyrer av konjugert linolsyre. I noen foretrukne utførelsesformer tilveiebringes oljen og eksipiensen i en slik konsentrasjon at det resulterende pulver inneholder mer enn ca. 40% olje på vektbasis i forhold til eksipiensen. I ytterligere utførelsesformer tilveiebringes oljen og eksipiensen i slike konsentrasjoner at det resulterende pulver inneholder mer enn ca. 50% olje på vektbasis i forhold til eksipiensen. I andre utførelsesformer tilveiebringes oljen og eksipiensen i slike konsentrasjoner at det resulterende pulver inneholder mer enn ca. 60% olje på vektbasis i forhold til eksipiensen. I andre foretrukne utførelsesformer omfatter oljen en CLA-forbindelse valgt blant frie fettsyrer, triglyserider og alkylestere, og kombinasjoner derav.

Oppfinnelsen angår også anvendelse av en blanding ifølge oppfinnelsen, ved fremstilling av et næringsmiddel.

Den foreliggende oppfinnelse er ikke begrenset til noe bestemt næringsmiddel. Faktisk kan forskjellige matvarer komme i betraktning, som for eksempel grønnsaker, kjøtt, frukt, meieriprodukter, brød og pulverholdige bearbeidede produkter (for eksempel næringsplater, drikker, etc.), og kombinasjoner derav.

DEFINISJONER

Slik det er anvendt her, henviser "konjugert linolsyre" eller "CLA" til hvilken som helst konjugert linolsyre eller fri oktadekadiensyre. Det er ment at dette begrep skal innbefatte og angi alle posisjonelle og geometriske isomerer av linolsyre med to konjugerte karbon-karbon-dobbelbindinger på hvilket som helst sted i molekylet. CLA skiller seg fra ordinær linolsyre ved at den ordinære linolsyre har dobbelbindinger ved karbonatomer 9 og 12. Eksempler på CLA innbefatter cis- og trans-isomerer ("E/Z-isomerer") av følgende posisjonsisomerer: 2,4-oktadekadiensyre, 4,6-oktadekadiensyre, 6,8-oktadekadiensyre, 7,9-oktadekadiensyre, 8,10-oktadekadiensyre, 9,11-oktadekadiensyre og 10,12-oktadekadiensyre, 11,13-oktadekadiensyre. Slik det er anvendt her, innbefatter "CLA" en enkeltisomer, en utvalgt blanding av to eller flere isomerer og en ikke utvalgt blanding av isomerer, oppnådd fra naturlige kilder, samt syntetisk og semisyntetisk CLA.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "isomerisert konjugert linolsyre" til CLA fremstilt ved kjemiske metoder (for eksempel vandig alkali-isomerisering, ikke-vandig alkali-isomerisering eller alkali-alkoholat-isomerisering).

5 Slik det er anvendt her, henviser begrepet "konjugert linolsyreforbindelse" til enhver forbindelse eller flere forbindelser som inneholder konjugerte linolsyrer eller -derivater. Eksempler innbefatter, men er ikke begrenset til, fettsyrer, alkylestere og triglyserider med konjugert linolsyre.

10 Slik det er anvendt her, er det ment at "triglyserider" med CLA vil inneholde CLA i hvilken som helst av, eller i alle, de tre posisjoner (for eksempel posisjoner SN-1, SN-2 eller SN-3) på triglyseridryggraden. Følgelig kan et triglyserid som inneholder CLA inneholde hvilke som helst av de posisjonelle og geometriske isomerer av CLA.

15 Slik det er anvendt her, er det ment at "estere" av CLA innbefatter hvilke som helst eller alle posisjonelle og geometriske isomerer av CLA som er bundet gjennom en esterbinding til en alkohol eller en annen kjemisk gruppe, innbefattende men ikke begrenset til, fysiologisk akseptable naturlig forekommende alkoholer (f.eks. metanol, etanol, propanol). En ester av CLA eller en forestret CLA kan derfor inneholde hvilke som helst av de posisjonelle og geometriske isomerer av CLA.

20 Det er ment at "ikke naturlig forekommende isomerer" av CLA innbefatter, uten å være begrenset til, c11,t13; t11,c13; t11,t13; c11,c13; c8,t10; t8,c10; t8,t10; c8,c10 og trans-trans-isomerer av oktadekadiensyre, men ikke innbefatter t10, c12- og c9,t11-isomerer av oktadekadiensyre. "Ikke naturlig forekommende isomerer" kan også bli betegnet "mindre isomerer" av CLA, fordi disse isomerer generelt dannes i små mengder når CLA syntetiseres ved alkaliisomerisering.

25 Slik det er anvendt her, henviser "lav-forurensset" CLA til CLA-blandinger, innbefattende frie fettsyrer, alkylestere og triglyserider, som totalt inneholder mindre enn 1 % 8,10-oktadekadiensyrer, 11,13-oktadekadiensyrer og trans-trans-oktadekadiensyrer.

30 Slik det er anvendt her, menes med "c" en kjemisk binding med cis-orientering og "t" henviser til en kjemisk binding med trans-orientering. Dersom en posisjonsisomer av CLA er angitt uten "c" eller "t", innbefatter angivelsen alle de fire mulige isomerer. For eksempel innbefatter 10,12-oktadekadiensyre både c10,t12-, t10,c12-, t10,t12- og c10,c12-oktadekadiensyre, mens t10,c12-oktadekadiensyre eller CLA henviser til kun den ene isomer.

35 Slik det er anvendt her, henviser begrepet "olje" til en frittflytende væske som inneholder langkjedede fettsyrer (for eksempel CLA), triglyserider eller andre langkjedede hydrokarbongrupper. De langkjedede fettsyrer innbefatter, men er ikke begrenset til, de forskjellige isomerer av CLA.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "fysiologisk akseptabel bærer" til enhver bærer eller eksipiens som vanligvis anvendes for oljeaktige farmasøytika. Slike

bærere eller eksipienser innbefatter, men er ikke begrenset til, oljer, stivelse, sukrose og laktose.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "oral avgivende bærer" til enhver innretning for avlevering av et farmasøytika oralt, innbefattende, men ikke begrenset til, kapsler, piller, tabletter og siruper.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "næringsmiddelprodukt" til ethvert næringsmiddel eller fôr som er egnet for å bli fortært av mennesker, ikke drøvtyggende dyr eller drøvtyggende dyr. "Næringsmiddelprodukt" kan være ethvert fremstilt og emballert næringsmiddel (for eksempel majones, salatdressing, brød eller ost) eller et dyrefôr (for eksempel ekstrudert og granulert dyrefôr eller grovblandet fôr). "Tilberedt næringsmiddelprodukt" betyr ethvert pre-emballert næringsmiddel godkjent for humant konsum.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "matvare" til ethvert stoff som er egnet for å bli fortært av mennesker eller dyr.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "flyktig organisk forbindelse" til enhver karbonholdig forbindelse som ved en gitt temperatur eksisterer helt eller delvis i gassformig tilstand. Flyktige organiske forbindelser kan bli dannet ved oksidasjon av en organisk forbindelse (for eksempel CLA). Flyktige organiske forbindelser innbefatter, men er ikke begrenset til, pentan, heksan, heptan, 2-butenal, etanol, 3-metylbutanal, 4-metylpentanon, heksanal, heptanal, 2-pentylfuran, oktanal.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "metalloksidantchelator" til enhver antioksidant som chelaterer metaller. Eksempler innbefatter, men er ikke begrenset til, lecithin og sitronsyreestere.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "alkoholatkatalysator" til alkali-metallforbindelser av enhver énverdig alkohol, innbefattende, men ikke begrenset til, kaliummetylat og kaliumetylal.

Slik det er anvendt her, henviser begrepet "frittrislende" til at et partikkelformig materiale har evne til å strøme uten at partiklene agglomererer til hverandre eller til andre materialer.

Slik det anvendes her, brukes begrepet "luktfri" i sammenheng med CLA-pulvere, til å angi at et pulver har samme lukt (eller mangel på lukt) som eksipiensten anvendt til å danne pulveret.

Slik det anvendes her, henviser begrepet "pulverdannende middel" til et materiale (for eksempel et stivelsesbasert materiale) som anvendes til å danne pulvere av oljer eller andre væsker.

NÆRMERE BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Den foreliggende oppfinnelse gjelder området ernæring for mennesker og dyr, og spesielt en pulverblanding med konjugert linolsyre (CLA). CLA-pulveret finner

mange anvendelser. Nærmere bestemt kan CLA-pulveret anvendes for alle de anvendelser hvor frie fettsyrer eller triglyserider med CLA normalt anvendes. CLA-pulveret er også mer stabilt for oksidasjon enn blandinger som består kun av frie fettsyrer. Videre har CLA-pulveret gode organoleptiske egenskaper. Pulveret er
 5 hovedsakelig uten smak og pulveret kan fordøyes uten at det medfører uønskede oppstøt slik frie fettsyreoljer med CLA forårsaker hos noen individer.

CLA-pulveret i blandingen ifølge den foreliggende oppfinnelse, er særlig egnet for anvendelse i næringsmiddelprodukter og dyrefôr. For formålene med denne oppfinnelse betyr næringsmiddelprodukter som inneholder CLA ethvert naturlig, bearbeidet,
 10 diettmessig eller ikke-diettmessig næringsmiddelprodukt som CLA er blitt tilsatt til. CLA-pulveret kan bli direkte innlemmet i forskjellige næringsmiddelprodukter, innbefattende, uten å være begrenset til, diettlikører, diettplater, supplementer, tilberedte fryste måltider, sukkertøy, snacksprodukter (for eksempel chips), tilberedte kjøttprodukter, melk, ost, yoghurt og alle andre fett- eller oljeholdige næringsmidler. I noen
 15 foretrukne utførelsesformer blir CLA-pulveret anvendt i produkter formulert for svært kalorifattige dietter. Det skal bemerkes at CLA-pulveret ifølge den foreliggende oppfinnelse har overlegen smak og lukt sammenlignet med næringsmiddelprodukter som inneholder frie CLA-fettsyrer. Med noen utførelsesformer av den foreliggende oppfinnelse tilveiebringes følgende et næringsmiddelprodukt som inneholder CLA-pulver,
 20 hvor smaken og lukten på næringsmiddelproduktet ikke er påvirket.

CLA-pulveret i blandingen ifølge den foreliggende oppfinnelse kan tilføres i forskjellige former. I noen tilfeller er administreringen oral. CLA-pulveret kan videre bli formulert sammen med egnede bærere, så som stivelse, sukrose eller laktose, til tabletter, piller, drops og kapsler. Fortrinnsvis inneholder CLA-pulverformuleringene anti-
 25 oksidanter, som for eksempel "Controx" (Grunau (Henkel), Illertissen, DE), "Herbalox" (en ekstrakt av rosmarin); Kalsec, Kalamazoo, MI), "Covi-OX" (Grunau (Henkel), Illertissen, DE) og oljeløselige former av vitamin C. CLA kan foreligge som vannløsning, oljeløsning eller i hvilken som helst av formene diskutert over. Tabletten eller kapselen kan være overtrukket med et enterisk belegg som oppløses ved en pH på ca. 6,0
 30 til 7,0. Et egnet enterisk belegg som oppløses i tynntarmen men ikke i magesekken, er celluloseacetatftalat.

CLA-pulveret i blandingen ifølge den foreliggende oppfinnelse, er dannet ved å kombinere en CLA-del (for eksempel frie CLA-fettsyrer, CLA-alkylestere eller triglyserider som inneholder CLA) med en eksipiens eller et pulverdannende middel.
 35 Blandingens formes deretter til et pulver ved fremgangsmåter som forstøvningstørking (se for eksempel US patentskrift nr. 4 232 052. Generelt innebærer forstøvningstørking at et stoff gjøres flytende eller emulgeres og så forstøves slik at alt, unntatt en liten andel, vann fjernes, og det oppnås et frittrislende pulver. Egnet utstyr for forstøvningstørking innebærer både forstøvningstørkere med høytrykksdyse, roterende skivetørkere og sentri-

fugalforstøvningstørkere. Oppfinnerne har funnet at pulvere som inneholder store konsentrasjoner (for eksempel 40%-65%) med konjugert linolsyre og/eller andre oljer (for eksempel nattlysolje, agurkurtolje, linolje, CLA-olje) kan bli dannet ved ganske enkelt å forstøvningstørke emulsjonen av olje, eksipiens og vann. Det er ikke nødvendig
 5 å benytte mer komplekse metoder som innebærer sprøyting inn i et fluidisert sjikt eller sprøyting på en motstrømsmåte.

I den foreliggende oppfinnelse kan det anvendes en eksipiens valgt blant "HI-CAP 100" (National Starch, Bridgewater, NJ) og "HI-CAP 200" (National Starch, Bridgewater, NJ). Blandingen ifølge den foreliggende oppfinnelse inneholder en høy
 10 andel olje i forhold til eksipiensen. Pulveret inneholder 20% olje på vektbasis (dvs. pulveret inneholder 20 g olje for hver 100 g pulver). I andre utførelsesformer inneholder pulveret 35% olje på vektbasis. I andre utførelsesformer inneholder pulveret minst 50% olje på vektbasis. I ytterligere utførelsesformer inneholder pulveret 60%-65% olje på vektbasis. I ethvert tilfelle er oljepulveret frittrilende og luktfritt. Oljen omfatter en
 15 CLA-del. I særlig foretrukne utførelsesformer omfatter oljen CLA-fettsyrer, CLA-triglyserider og/eller CLA-alkylestere.

I noen utførelsesformer er CLA-delen et triglyserid som inneholder CLA, som beskrevet i eksempler 5, 6 og 12. I disse utførelsesformer kan triglyseridene delvis eller fullstendig omfatte CLA bundet til en glyserolryggrad. Fortrinnsvis vil CLA anvendt til
 20 fremstilling av triacylglyserol være fremstilt ved å anvende alkalialkoholat-katalysator under slike betingelser at isomerisert CLA inneholder mindre enn 1% med 8,10-oktadekadiensyre, 11,13-oktadekadiensyre og trans-trans-oktadekadiensyre. CLA anvendt til fremstilling av triacylglyseroler er fortrinnsvis behandlet (for eksempel med molekyldestillasjon og adsorpsjon) for å fjerne flyktige organiske forbindelser til en konsen-
 25 trasjon på under 100 ppm, fortrinnsvis under 10 ppm. De rene triacylglyseroler som er kraftig anrikt med CLA (90-96%) kan kontrolleres med ^1H NMR. Forestring skjer ved å anvende immobilisert *Candida antarctica* lipase. Fortrinnsvis vil CLA inneholde minst 40%, og opp til 45-48% med c9,t11-oktadekadiensyre og t10,c12-oktadekadiensyre, og blandinger derav.

30 Den immobiliserte *Candida antarctica* lipase må benyttes på tilsvarende måte som beskrevet for flerumettede fettsyrer av type n-3. Forestringsreaksjonen utføres ved 50-75 °C, fortrinnsvis 65 °C, i fravær av løsningsmiddel og det benyttes vakuum for å fjerne samtidig produsert vann eller alkohol (fra estere) ved dannelsen. Dette forskyver triacylglyserolproduksjonen til fullstendig omsetning med hovedsakelig kvantitative
 35 utbytter og sikrer et høyrent produkt som er praktisk talt fritt for alle mono- og diacylglyseroler. Støkiometriske mengder frie fettsyrer kan anvendes (dvs. 3 molar ekvivalenter basert på glyserol eller 1 molar ekvivalent basert på antall molekvalenter med hydroksylgrupper som er til stede i glyserolgruppen. Det er nødvendig med kun 10 % dosering av lipase basert på totalvekten av substrater, som kan anvendes flere ganger.

Dette er svært viktig fra et produktivitetsmessig synspunkt. Alt dette, sammen med det faktum at ikke noe løsningsmiddel er påkrevet, gjør denne fremgangsmåte svært egnet for oppskalering og industrialisering, siden kuttet i volum og voluminøsitet er enorm. Også et lite overskudd av frie fettsyrer kan anvendes for å få opp reaksjonshastigheten mot slutten og sikre at reaksjonen går fullstendig.

Ved initieringen av reaksjonen dannes det først 1- eller 3-monoacylglyserid, fulgt av 1,3-diacylglyserid, og til slutt triglyseridet ved de lengre reaksjonstider. Mono- og diacylglyseridene er anvendelige som mellomprodukter ved at de viser biologisk aktivitet, men de har større løselighet i vandige celleomgivelser og kan delta i alternative molekylære synteseveier, som syntese av fosfolipider eller andre funksjonelle lipider. Derimot blir triglyserider ofte avsatt intakt i cellemembraner eller lagringsvesikler. Således vil administrasjon av CLA i form av mono-, di- eller triglyserol istedenfor fri fettsyre eller fettsyreester, kunne innvirke på opptaksmodus og -fordeling, metabolisme-hastighet og strukturell eller fysiologisk rolle for CLA-komponenten.

EKSPERIMENTELT

De følgende eksempler er gitt for å demonstrere og ytterligere belyse utførelsesformer og aspekter ved den foreliggende oppfinnelse.

I beskrivelsen av eksemplene som følger, gjelder følgende forkortelser:

M(molar); mM (millimolar); μ M (mikromolar); kg (kilogram); g (gram); mg (milligram); μ g (mikrogram); ng (nanogram); l (liter); ml (milliliter); μ l (mikroliter); cm (centimeter); mm (millimeter); nm (nanometer); °C (grad Celsius); KOH (kaliumhydroksid); HCL (saltsyre); Hg (kvikksølv).

Eksempel 1

Isomerisering av saflorolje ved anvendelse av propylenglykol ved lav temperatur.

Saflorolje ble isomerisert i propylenglykol ved lave temperaturer ved å anvende KOH som katalysator. Isomeriseringsapparatet besto av en to-halset kolbe med et termometer anbragt i én hals slik at det var tilbake en liten åpning for å avlaste overtrykk. En nitrogentilførsel ble forbundet med den andre kolbehalsen. Løsninger fylt i kolben ble omrørt ved å anvende en magnetstav og en magnetrører. Temperaturen i kolben ble regulert ved å anbringe kolben i et termostatregulert oljebad plassert på magnetrøreren.

Kolben ble fylt med 60,27 g propylenglykol og 28,20 g KOH, og senket ned i oljebadet. Temperaturen ble økt til 130 °C for å oppløse KOH. Etter at KOH var oppløst, ble 60,09 g saflorolje fylt i kolben. Et stort nitrogenvolum ble sirkulert gjennom to-halskolben i 5 min, og deretter et redusert volum. Blandingen ble oppvarmet til 150 °C, hvilket tok ca. 40 min. Blandingen fikk deretter reagere ved 150 °C i 3,5 timer. Med intervaller ble 3 ml prøver tatt ut for analyse.

Prøvene ble anbragt direkte i 6 ml varmt vann og sitronsyre ble tilsatt i overskudd inntil de frie fettsyrer separerte ut som et topplag. Oppvarming var nødvendig for å forhindre stivning mens sitronsyren ble tilsatt. For å omdanne de frie fettsyrer til metylestere for analyse med gasskromatografi, ble 0,025 g av de frie fettsyrer, 5 ml av en 4 %
 5 løsning av HCl og etanol tilsatt i et prøverør. Nitrogen ble tilført til røret, deretter ble røret forseglet og anbragt i et vannbad av 60 °C i 20 min. Røret ble deretter avkjølt og 1 ml rensset vann og 5 ml isooktan ble tilsatt. Nitrogen ble tilført til røret og røret ble rystet i 30 sekunder. Det resulterende øverste lag ble tilsatt til 1 µl rensset vann i et nytt prøverør og igjen rystet under nitrogen. Det resulterende øverste lag ble deretter vasket med isooktan og dekantert over i et tredje prøverør. En liten mengde natriumsulfat ble tilsatt for å
 10 absorbere vann. En 1 µl prøve ble deretter injisert direkte i gasskromatografen.

De gasskromatografiske betingelser var som følger:

System:	Perkins-Elmer Auto System
15 Injektor:	Splittløs ved 240 °C
Detektor:	Flammmeioniseringsdetektor ved 280 °C
Bærer:	Helium
Kolonne:	WCOT smeltet silika 0,25 mm X100M, CP-SL 88 for FAME, DF 0,2
20 Ovnprogram:	80 °C (0 min) økende til 220 °C ved 10 °C/min og holdt ved 220 °C i 10 min.

Alle resultater er uttrykt som relativt prosentareal under topp. Standarder er vanligvis utilgjengelige, slik at de eluerte topper ble verifisert med andre systemer.
 25 Med GC-MS bestemmes antallet, men ikke posisjonen, for cis- og trans-bindinger. Derfor ble NMR-analyse anvendt til å verifisere posisjonene for bindingene. Hovedtoppene var c9,t11 og t10,c12. For NMR-analyse av CLA-isomerer, vennligst se Marcel S.F. Lie Ken Jie og J. Mustafa, Lipids, 32 (10) 1019-34 (1997), innlemmet her gjennom henvisning.

30 Disse data, presentert i tabell 6 og oppsummert i tabell 10, viser at isomerisering av saflorolje ved anvendelse av polypropylenglykol som løsningsmiddel, KOH som katalysator og lave temperaturer, resulterer i dannelsen av konjugert linolsyre som mangler 8,10- og 11,13-isomerer. De sterkt polare kolonner anvendt ved dette forsøk kan med hell anvendes til å separere 8,10- og 11,13-isomerene fra c9,t11- og t10,c12-isomerer. 8,10-isomerene har en tendens til å eluere sammen med eller umiddelbart etter
 35 c9,t11-isomerer. 11,13-isomerene eluerer i front av t10,c11-isomerer eller eluerer sammen med t10,c12-isomerer, avhengig av kolonnebetingelsene.

Den konjugerte linolsyre fremstilt ifølge denne fremgangsmåte, kan karakteriseres ved å sammenligne de forskjellige dannede isomerer. For det første gikk isomeri-

seringsreaksjonen hovedsakelig fullstendig. Fullstendig omsetning bestemmes ved å dividere det totale areal under toppene for linolsyre-isomerene minus gjenværende c9,t12-linolsyre, med det totale areal under toppene. Denne verdi var 0,994. For det andre ble forholdet mellom c9,t11- og t10,c12-isomerene og det totale areal under toppene bestemt. Denne verdi var 0,953. For det tredje ble forholdet mellom t9,t11-, t10,t12-isomerene og c9,t11-, t10,c12-isomerene bestemt. Denne verdi var 0,010. For det fjerde ble forholdet mellom t9,t11-, t10,t12-isomerene og totalarealet under toppene bestemt. Denne verdi var 0,009. For det femte ble forholdet mellom t10,c12-isomerene og c9,t11-isomerene bestemt. Denne verdi var 1,018. Disse forhold er oppsummert i tabell 11.

Eksempel 2

Vandig isomerisering ved høy temperatur og høyt trykk

I en høytrykksreaktor ("Parr Model 450 ML Benchtop Alloy 400", utstyrt med trykkmåler og rører) ble det fylt 50 g vann og 25,32 g NaOH. Etter at NaOH var oppløst, ble 94,0 g saflorolje tilsatt i reaktoren. Reaktoren ble lukket og spylt i 2 min med nitrogen, hvorefter alle ventiler ble lukket. Reaktoren ble oppvarmet med en elektrisk mantel til 210 °C og holdt ved denne temperatur i 6 timer. Temperaturen ble deretter redusert til 60 °C før trykket ble avlastet og reaktoren åpnet. Av den resulterende stivnede såpe i reaktoren ble 2 g oppløst i vann av ca. 40 °C. Det ble så tilsatt sitronsyre for å redusere pH i løsningen til under 6. Det ble tatt en prøve av topplaget med fettsyre og tilberedt for gasskromatografisk analyse som i eksempel 1.

Resultatene av gasskromatografien er presentert i tabell 2 og oppsummert i tabell 5. Disse data viser at denne isomeriseringsmetode resulterer i dannelse av forholdsvis store mengder av 8,10- og 11,13-isomerene. Forholdene er presentert i tabell 6.

Eksempel 3

Ikke-vandig alkalisk isomerisering av saflorolje ved høy temperatur og høyt trykk

I høytrykksreaktoren beskrevet i eksempel 2, ble det fylt 100,48 g propylen-glykol og 46,75 g KOH. Reaktoren ble deretter oppvarmet til 130 °C for å oppløse KOH. Det ble deretter tilsatt 100,12 g saflorolje til blandingen av KOH/propylen-glykol. Reaktoren ble lukket, spylt i 1 min med nitrogen og alle ventiler lukket. Reaktoren ble deretter oppvarmet til 210 °C og holdt ved denne temperatur i 1 time. Reaktoren ble avkjølt og innholdet dekantert i 120 g varmt vann. Under omrøring ble 35,3 g 37 % HCl og 27,59 g sitronsyre tilsatt i rekkefølge til fettsyrene. En prøve tatt av topplaget ble tørket i en vakuumkolbe ved 60 °C. En prøve av de resulterende fettsyrer ble analysert gasskromatografisk som beskrevet i eksempel 1.

Resultatene er presenter i tabell 3 og oppsummert i tabell 5. Dette forsøk viser at isomeriseringen av saflorolje med KOH og et ikke-vandig løsningsmiddel ved høy

temperatur resulterer i dannelse av signifikante mengder 8,10- og 11,13-isomerer, samt t9,t11- og t10,t12-isomerer. Forholdene er presentert i tabell 6.

Eksempel 4

5 Omsetning i nærvær av vandig alkali ved lav temperatur

I en høytrykksreaktor som beskrevet i eksempel 3 ble det fylt 49,94 g vann og 39,96 g NaOH. Denne blanding ble oppvarmet inntil NaOH var oppløst. Deretter ble 100,54 g saflorolje tilsatt i høytrykksreaktoren, reaktoren ble spyllt med nitrogen og alle ventiler lukket. Høytrykksreaktoren ble oppvarmet til 179 °C i 22,5 timer. Prøver ble 10 tilberedt for gasskromatografi som i eksempel 3. Dataene er gitt i tabell 4 og oppsummert i tabell 5. Dette forsøk viser at når lave temperaturer anvendes for isomerisering i nærvær av vandig alkali, går konjugeringsreaksjonen ikke fullstendig. Dessuten ble det dannet signifikante mengder av 8,10- og 11,13-isomerene. Forholdene er presentert i tabell 6.

TABELL 1

Topp nr.	Tid (min)	Komponent-navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
1	38.164		0.08	4101.65	622.28
2	49.539	C16:0	6.29	335897.80	32745.95
3	53.107	C16:1	0.06	3240.60	447.82
4	61.620	C18:0	2.38	127182.30	12999.14
5	64.821	C18:1 c9	12.34	659111.72	52209.40
6	65.254		0.57	30402.68	3475.09
7	67.263		0.11	5757.35	758.08
8	67.940		0.10	5523.00	700.44
9	68.755		0.24	12816.90	1543.27
10	69.310		0.22	11803.80	1430.59
11	69.846	C18:2 c9,c12	0.44	23336.75	2500.24
12	73.618		0.28	14828.70	1838.66
13	76.621		0.16	8400.65	1050.19
14	77.388	CLA c9,t11	36.51	1950669.98	124313.83
15	78.370	CLA t10,c12	37.16	1985488.96	132265.33
16	78.664	CLA c9,c11	1.06	56583.10	5699.43
17	78.880	CLA c10,c12	1.26	67503.55	4572.65
18	80.102	CLA t9,t11/ t10,t12	0.73	39110.00	4743.28
19	85.165		0.03	1621.65	231.32
			100.00	5343381.15	384147.01

TABELL 2

Topp nr.	Tid (min)	Komponent-navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
1	36.554		0.09	4122.05	627.02
2	47.785	C16:0	6.68	290571.30	28224.34
3	51.280	C16:1	0.07	3188.05	425.57
4	59.787	C18:0	2.63	114362.95	12678.63
5	62.923	C18:1 c9	13.12	570712.08	42259.71
6	63.346		0.72	31329.22	3774.35
7	65.355		0.54	23620.70	2848.31
8	66.034		0.67	28980.78	3333.95
9	66.574		0.10	4370.91	594.22
10	66.811		0.35	15045.61	1469.30
11	67.352		0.41	18002.20	2035.53
12	67.889	C18:2 c9,c12	1.43	62002.15	6714.22
13	69.200		0.09	3840.85	474.10 474.10
14	71.680		0.30	13099.10	1744.21
15	74.640		1.62	70689.87	4117.23
16	75.310	CLA c9,t11/ 8,10	24.87	1082087.96	57619.24
17	76.032	CLA 11,13	14.72	640440.14	42975.86
18	76.277	CLA t10,c12	16.00	695923.85	63512.81
19	76.450	CLA c8,c10	1.26	54676.10	7614.29
20	76.626	CLA c9,c11	2.08	90411.44	10891.36
21	76.881	CLA c10,c12	3.00	130593.96	11727.80
22	77.022	CLA c11,c13	1.77	77065.69	9906.74
23	77.477		0.66	28867.85	3322.69
24	77.868		0.63	27391.94	2934.68

TABELL 2 (forts.)

Topp nr.	Tid (min)	Komponent-navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
25	78.173	CLA t9,t11/t10,t12	6.00	260985.40	26124.10
26	83.140		0.12	5164.40	586.21
27	85.878		0.06	2735.80	347.01
			100.00	4350282.35	348883.46

TABELL 3

Topp nr.	Tid (min)	Komponent-navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
1	38.249		0.08	3999.70	599.26
2	49.639	C16:0	6.41	333807.80	32279.13
3	53.218	C16:1	0.06	3123.00	427.39
4	55.508		0.03	1322.20	190.60
5	61.753	C18:0	2.55	132854.50	14939.09
6	64.104	C18:1 c9	0.03	1640.30	245.73
7	64.950		12.92	672672.91	53345.47
8	65.382		0.64	33297.29	3728.28
9	65.783		0.03	1411.20	219.76
10	67.403		0.62	32194.66	2836.09
11	67.793		0.24	12660.05	1495.10
12	68.088		0.68	35371.43	3210.82
13	68.421		0.07	3684.10	473.77
14	68.635		0.04	1948.63	257.65
15	68.890		0.29	14979.18	1499.63
16	69.192		0.04	2268.69	324.39

TABELL 3 (forts.)

Topp nr.	Tid (min)	Komponent- navn	Areal (%)	Areal (μ V.s)	Høyde (μ V)
17	69.430		0.25	13028.21	1369.93
18	69.947	C18:2 c9,c12	0.23	11895.70	1125.77
19	70.341		0.02	1168.20	196.75
20	73.741		0.31	15930.60	1965.82
21	75.448		0.08	3906.00	387.98
22	76.768		1.79	93172.74	6637.34
23	77.002		0.63	32882.76	5024.06
24	77.389	CLA c9,t11/ 8,10	15.62	813447.45	57234.62
25	77.735		1.92	99754.50	8641.88
26	78.045	CLA 11,13	4.03	209728.35	19826.20
27	78.335	CLA t10,c12	12.63	657681.44	62016.93
28	78.566	CLA c8,c10	0.64	33432.80	5277.06
29	78.727	CLA c9,c11	2.21	114935.49	10791.54
30	79.079	CLA c10,c12	3.98	207339.28	12766.61
31	79.663	CLA c11,c13	1.40	73036.34	6275.58
32	80.516	CLA t9,t11/ t10,t12	29.39	1529956.09	100323.85
33	82.318		0.03	1563.70	230.42
34	85.289		0.07	3657.50	423.53
35	88.093		0.05	2368.50	301.03
			100.00	5206121.30	416889.05

TABELL 4

Topp nr.	Tid (min)	Komponent-navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
1	38.154		0.09	3371.70	501.86
2	49.501	C16:0	6.80	253221.00	25807.11
3	53.100	C16:1	0.07	2723.55	353.01
4	55.391		0.03	1078.10	142.65
5	61.618	C18:0	2.68	100015.20	11002.94
6	63.990		0.03	946.40	156.50
7	64.791	C18:1 c9	13.13	489016.55	38313.02
8	65.270		0.69	25645.55	2670.46
9	67.296		0.12	4466.65	558.35
10	67.960		0.11	4012.70	517.76
11	68.800		0.37	13840.49	1314.91
12	69.370		0.30	11141.11	1245.85
13	70.001	C18:2 c9,c12	20.52	764287.35	62474.1031 9.72
14	73.538		0.30	11075.20	1357.19
15	76.519		0.42	15662.14	1154.22
16	77.231	CLA c9,t11/8,10	22.45	836230.58	56972.76
17	77.911	CLA 11,13	7.56	281633.54	24467.27
18	78.197	CLA t10,c12	19.77	736384.86	66688.46
19	78.559	CLA c8,c10	1.21	45158.40	3837.29
20	78.787	CLA c9,c11	0.87	32564.06	3409.07
21	78.953	CLA c10,c12	0.89	33053.57	2499.70
22	79.413	CLA c11,c13	0.12	4453.10	353.06
23	79.792		0.13	4936.60	436.59

TABELL 4 (forts.)

Topp nr.	Tid (min)	Komponent-navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
24	80.052	CLA t9,t11/t10,t12	1.13	42203.55	4550.59
25	82.298		0.03	981.60	150.46
26	82.946		0.03	1107.95	151.48
27	85.135		0.10	3639.90	383.36
28	87.927		0.06	2212.50	254.61
			100.00	3725063.90	311570.23

TABELL 5 - Relativt Areal

Isomer	Eksempel 1	Eksempel 2	Eksempel 3	Eksempel 4
c9,t12	0,44	1,43	0,23	20,52
c9,t11	36,51	na	na	na
c9,t11/8,10	<0,5*	24,87	15,62	22,45
t10,c12	37,16	16,00	12,63	19,77
c9,c11	1,06	2,08	2,21	0,87
c8,c10	<0,5	1,26	0,64	1,21
c10,c12	1,26	3,00	3,98	0,89
t9,t11/t10,t12	0,73	6,00	29,39	1,13
11,13	<0,5	10,23	4,05	7,65
c11,c13	<0,5	1,77	1,40	0,12
Uidentifisert	<0,5	2,91	4,34	0,55
CLA Totalt	76,88	72,61	74,24	54,55
Totalt areal	77,32	74,04	74,47	75,07

* -total andel av 8,10 er mindre enn 0,5

na- ikke detektert, inngår i komponent c9,t11/8,10

TABELL 6

Isomer-forhold		Eksempel 1	Eksempel 2	Eksempel 3	Eksempel 4
Total CLA-isomer	Totalareal under topp	0,994	0,981	0,997	0,727
c9,t11-t10,c12	Totalareal under topp	0,953	0,552*	0,379*	0,562*
t9,t11-t10,t12	c9,t12-t10,c12	0,010	0,147*	1,040*	0,027*
t9,t11-t10,t12	Totalareal under topp	0,009	0,081	0,395	0,015
Totalt 11,13	Totalareal under topp	na	0,223	0,073	0,102
t10,c12	c9,t11	1,018	1,554*	0,809*	0,881*

* c9,t11 inkluderer 8,10-isomer

5 na: ingen 11,13 detektert

Eksempel 5

Fremstilling av triacylglyseroler med CLA ved direkte forestring

Generelt. H-kjernemagnetiske resonansspektra ble tatt opp med et "Bruker AC
 10 250" NMR-spektrometer i deuterisert kloroform som løsningsmiddel. HPLC-separasjoner ble utført med et "PrepLC System 500A" instrument fra Waters ved anvendelse av kolonnen "PrePak 500 Silica Cartridge" fra Millipore, eluering med 10% dietyleter i petroleumeter. Analytisk GLC ble utført med en "Perkin-Elmer 8140" gasskromatograf ifølge en allerede angitt utførelse beskrevet av Haraldsson. et al., Acta Chem Scan 45:
 15 723 (1991).

Det immobiliserte *Candida antarctica* lipase ble anskaffet fra Novo Nordisk i Danmark som "Novozyme". Det ble anvendt direkte som anskaffet ved forestringsforsøkene. Dietyleter av analysekvalitet kjøpt fra Merck ble anvendt uten rensing, mens n-heksan av syntesekvalitet, også fra Merck, ble destillert umiddelbart før bruk i ekstraheringer og HPLC-kromatografi. Glyserol (99 %) ble kjøpt fra Sigma and Aldrich Chemical Company og anvendt uten ytterligere rensing. CLA-konsentratet ble anskaffet fra Natural Lipids i Norge som frie fettsyrer, under navnet "Tonalin". Renheten ble be-
 20 kreftet med analytisk GLC og høyfelts NMR-spektroskopi, som avslørte noen glyseridforurensninger. CLA-konsentratet ble funnet å inneholde 43,3 % 9-cis, 11-trans-linolsyre, 44,5 % 10-trans, 12-cis-linolsyre, 5,4 % av andre CLA-isomerer, 5,6 % oljesyre og 0,6
 25 % av hver av palmitinsyre og stearinsyre, bestemt med GLC ved Vitenskapelig institutt.

Eksempel 6

Fremstilling av triacylglyseroler med CLA ved direkte forestring

Immobilisert *Candida antarctica* lipase (1,25 g) ble tilsatt til en blanding av glyserol (1,22 g, 13,3 mmol) og CLA som fri fettsyre (molekylvekt 280,3 g/mol, 11,6 g, 41,5 mmol). Blandingen ble forsiktig omrørt med magnetrører på varmeplate ved 65 °C under kontinuerlig vakuum på 0,01-0,5 torr. Flyktig vann dannet under reaksjonsforløpet ble kontinuerlig kondensert i kjølefeller med flytende nitrogen. Etter 48 h ble reaksjonen avbrutt, n-heksan ble tilsatt og enzymet skilt fra ved filtrering. Den organiske fase ble behandlet med en basisk vannløsning av natriumkarbonat for å fjerne overskudd av frie fettsyrer (om påkrevet). Det organiske løsningsmiddel (etter tørking over vannfritt magnesiumsulfat om hensiktsmessig) ble fjernet i vakuum i en rotasjonsinndamper, fulgt av behandling ved høyvakuum for å oppnå et praktisk talt rent produkt som en svakt gulaktig olje (10,9 g, gjennomsnittlig molekylvekt 878,6 g/mol, 93 % utbytte). Når det ble anvendt støkiometriske mengder frie fettsyrer, ble det foretatt titrering med standardisert natriumhydroksid for å bestemme innholdet av fri fettsyre i råproduktet fra reaksjonen (innhold mindre enn 1 % fri fettsyre basert på antall mol estergrupper, tilsvarende minst 99 % innlemmelse, som er lik et minste innhold av triglyserid på 97 %). Råproduktet ble ført direkte inn i HPCL og eluert med 10 % dietyler i n-heksan slik at det ble oppnådd 100 % rent triglyserid som en fargeløs olje. 250 MHz ¹H NMR (CDCl₃) 8 (ppm) 6,35-6,23 (3H, ddt, J_{trans}=15,0 Hz, J=10,9 Hz, J_{allyl}=1,3 =CHCH=CH), 5,98-5,90 (3H, dd, J_{cis}=10,9, J=10,9, -CH=CHCH=), 5,71-5,59 (3H, dtd, J_{trans}=15,0 Hz, J=6,9 Hz, J=6,9 Hz, J=2,2 Hz, =CH=CHCH₂-), 5,35-5,26 (4H, m, =CH₂CH=CH- og -CH₂C-ICH₂-), 4,33-4,26 (2H, dd, J_{gem}=11,9 Hz, J=4,3, -CH₂CHCH₂-), 4,18-4,10 2H, dd, J_{gem}=1,8 Hz, J=6,0, -CH₂CHCH₂-), 2,37-2,31 (6H, t, J=7,4 Hz, -CH₂COOR), 2,19-2,05 (12H, m, -CH₂CH=CH-), 1,66-1,60 (6H, qu., J=Hz, -CH₂CH₂COOR). 1,43-1,30 (18H, m, -CH₂-), 0,91-0,86 (9H, t, J=6,7 Hz, -CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃): 8 (ppm) 173,2, 172,8, 134,6, 130,0, 128,6, 125,5, 68,8, 62,0, 34,0, 32,9, 31,6, 29,6-28,9 (6C), 27,6, 24,8, 22,5, 14,1.

For å kartlegge reaksjonsforløpet og oppnå flere detaljer angående sammensetningen av de individuelle glyserider under reaksjonen, ble det tatt prøver jevnlig under reaksjonsforløpet. Disse ble analysert med HNMR-spektroskopi og ga god innsikt i sammensetningen av mono-, di- og triacylglyseroler under reaksjonsforløpet. Resultatene er vist i tabell 7 nedenfor. Som det kan ses av tabellen, så dominerte 1,3-diacylglyseroler reaksjonsblandingen under de to første timer av reaksjonsforløpet. Etter fire timer tok triacylglyseroler over og nådde 98 % av blandingen etter 22 timer og 100 % etter 48 timer. Som forventet nådde 1,2-diacylglyseroler betraktelig lavere nivåer enn 1,3-diacylglyserolene. 1-monoacylglyseroler nådde et maksimum under den første time av reaksjonen, mens 2-monoacylglyseroler ikke ble detektert under reaksjonen.

TABELL 7

Tid		% innlemmelse		Rest-FFA	
h	1-MG	1,2-DG	1,3-DG	TG	%
0	0	0	0	0	100
1	8,3	15,2	39,4	7,8	29,3
2	2,7	9,3	46,5	17,4	24,1
4	1,7	7,9	25,4	49,4	15,5
6	0,5	5,2	16,0	68,1	10,1
8	0,0	3,9	9,9	80,5	5,7
10	0,0	3,0	7,0	85,8	4,2
12	0,0	2,7	5,6	89,2	2,5
22	0,0	1,0	1,4	95,8	1,8
48	0,0	0,0	0,0	100	0,0

5

Eksempel 7**Virkning av varierende temperatur og reaksjonsvarighet på CLA-utbytte og -sammensetning**

10 Virkningen av temperatur og reaksjonsvarighet på konjugeringen av saflorolje ble bestemt. Vann og NaOH ble fylt i en høytrykksreaktor ("Parr Model 450 ML Benchtop Alloy 400", utstyrt med trykkmåler og rører) som angitt i tabell 1, kolonner 1 og 2. Etter at NaOH var oppløst, ble saflorolje (kolonne 3) tilsatt i reaktoren. Reaktoren ble lukket og spylt med nitrogen i 2 min, hvorefter alle ventiler ble lukket. Reaktoren ble oppvarmet med en elektrisk varmekappe til ønsket temperatur (kolonne 4) og holdt ved

15 denne temperatur i ønsket tid (kolonne 5). Temperaturen ble deretter redusert til 60 °C før trykket ble avlastet og reaktoren åpnet. For hver reaksjon ble to gram av den resulterende stivnede såpe tatt fra reaktoren og oppløst i vann av ca. 40 °C. Sitronsyre ble deretter tilsatt for å redusere pH i løsningen til under 6. En prøve ble tatt ut av topplaget med fettsyre og tilberedt for gasskromatografi.

20 Resultatene fra den gasskromatografiske analyse er presentert i kolonne 6 (total prosentandel av 9,11- og 10,12-isomerer), kolonne 7 (total prosentandel av 11,13-isomerer) og kolonne 8 (total prosentandel av alle CLA-isomerer eller utbytte). Disse data viser at når reaksjonsvarigheten og temperaturen øker, så øker den totale mengde konjugering og prosentandelen av 11,13-isomerer. Under betingelser hvor dannelse av

25 11,13-isomerene er lav, er den totale mengde konjugering også lav.

TABELL 8

Vann g	NaOH g	Saflorolje g	Midlere reaksjonstemp. °C	Tid timer	9,11+10,12 areal %	11,13 areal%	CLA totalt areal%
50,21	29,93	99,94	189	6,36	45,99	5,73	55,86
70,20	29,93	99,94	187	6,40	44,94	3,23	51,28
50,10	30,17	100,74	183	6,39	40,23	3,37	48,07
49,91	29,93	100,40	179	6,52	32,00	1,48	34,92
49,97	29,80	100,02	179	10,08	41,86	3,12	48,21
49,94	39,84	99,84	179	6,30	32,6	3,04	37,12
29,50	24,83	99,21	240	3,25	28,37	10,78	71,58
30,33	25,15	100,43	221	2,30	40,87	14,72	72,61
49,92	30,00	100,36	150	6,34	7,07	0	7,44

Eksempel 8**5 Konjugering av saflor-fettsyremetylester (FAME)**

Reaksjonen ble utført i et lukket kar. De følgende komponenter ble blandet sammen: 100 g saflor-FAME og en blanding av ca. 2,8 g KOCH₃ og 2,8 g metanol. Det var sannsynligvis mer KOMe enn metanol på grunn av fordampning av metanol under blandingen av de to komponenter. Blandingen ble omrørt i 5 timer ved 111-115 °C i nitrogenatmosfære i et lukket reaksjonskar. Isomerfordelingen ble analysert med gasskromatografi. Resultatene er oppsummert i tabell 2. Rådata fra GC er presentert i tabell 9. Disse data viser at konjugeringen av saflor-FAME kan oppnås under milde betingelser, hvilket resulterer i et produkt som er fritt for de betydelige mengder av uønskede 8,10- og 11,13-isomerer.

15

TABELL 9
Isomerfordeling

20	Palmitinsyre	6,6 %
	Stearinsyre	2,7 %
	Oljesyre	12,9 %
	Linolsyre	5,7 % (ukonjugert)
25	CLA c9,t11	34,1 %
	CLA t10,c12	33,3 %
	CLA c,c	1,8 %
	CLA t,t	1,0 %
	CLA totalt	70,2 %

Eksempel 9**Satsvis storskalaproduksjon av konjugert saflor-FAME**

Produksjon av konjugert saflor-FAME kan deles i to trinn, metanolyse og konjugering. For metanolyse ble 6000 kg saflorolje trukket inn i en lukket reaktor.

- 5 Reaktoren ble spylt med nitrogen ved atmosfæretrykk og det ble tilsatt 1150 l metanol og 160 kg NaOCH_3 (30 % løsning). Blandingen ble oppvarmet til 65 °C under omrøring og fikk reagere ved 65 °C i 2 timer. Det resulterende bunnlag ble fjernet mens reaktoren ble spylt med nitrogengass, hvorefter det under omrøring så ble tilsatt 1000 l vann (40-50 °C, hvori det var oppløst 50 kg sitronsyremonohydrat). Lagene fikk separere (ca. 60 min) og
- 10 bunnlaget ble fjernet mens reaktoren ble spylt med nitrogengass. Det resulterende produkt av saflor-FAME ble tørket ved 80 °C under vakuum i én time.

- For å konjugere saflor-FAME ble 250 kg KOCH_3 oppløst i metanol slik at det ble dannet en pasta som ble fylt i reaktoren. Blandingen ble deretter oppvarmet til 120 °C under omrøring og reaksjonen fikk pågå i 3 timer. Blandingen ble avkjølt til 100 °C og
- 15 det ble under omrøring tilsatt 1000 l vann (40-50 °C, hvori det var oppløst 50 kg sitronsyremonohydrat). Blandingen ble omrørt i 15 minutter og deretter fikk lagene separere i 20 minutter. Bunnlaget ble fjernet og produktet tørket ved 80 °C i 1 time, og deretter lagret under nitrogen.

- Det resulterende CLA ble analysert med et "Perkin Elmer Autosystem XL GC" under følgende betingelser:
- 20

Kolonne: WCOT smeltet silika 100 m X 0,25 mm. Belegg CP SIL 88

Bærer: He-gass, 0,2 MPa

Temp: 220 °C

Kjøretid: 35-90 min

- 25 Injeksjon: Splittløs 240 °C

Detektor: FID, 280 °C

GC-resultatene er oppsummert i tabell 10.

TABELL 10

Topp nr.	Tid (min)	Komponent- navn	Areal (%)	Areal ($\mu\text{V.s}$)	Høyde (μV)
1	46.874	C16:0	6.37	29874.50	4026.29
2	58.685	C18:0	2.61	12231.70	1542.34
3	62.141	C18:1 c9	13.14	61668.78	7369.08
4	62.652		0.70	3263.62	391.92
5	66.404		0.35	1627.60	177.41
6	66.917		0.26	1239.15	157.35
7	67.583	C18:2 c9,c12	5.75	26964.95	3153.80
8	70.631		0.25	1171.90	141.41
9	75.011	CLA c9,t11	34.42	161529.90	17544.79
10	75.936	CLA t10,c12	33.48	157129.82	17157.21
11	76.400	CLA c9,c11	0.84	3935.70	302.61
12	76.631	CLA c10,c12	0.49	2316.98	279.31
13	77.905	CLA t, t 9,11+ 10,12	1.35	6344.50	710.88
			100.00	469299.10	52954.41

EKSEMPEL 10

De følgende eksempler er typiske dyrerasjoner som inneholder frie CLA-fettsyrer, CLA-triglyserider og CLA-ester ifølge den foreliggende oppfinnelse.

5

A. STARTRASJONER FOR SVIN

TABELL 11

Ingredienser	kg
Mais, gul (8,4 % protein)	484,7
Soyabønnemel, løsningsmiddel -ekstrahert, uten skall (47 % protein)	259
CLA-pulver	2,3
Myse, tørket (12,0 % protein)	136
Dikalsiumfosfat	11
Kalk	7
Salt med tilsatt jod	2
Spormineral, premiks	2
Vitaminpremiiks	4
Totalt	908

10

**B. VEKSTAVSLUTTENDE RASJONER FOR SVIN
(FRA 18 TIL 109 KG)**

TABELL 12

Ingredienser	kg
Mais, gul (8,4 % protein)	710,3
Soyabønnemel, løsningsmiddel - ekstrahert (44 % protein)	172,4
CLA-pulver	2,3
Dikalsiumfosfat	9,5
Kalk	6,8
Salt med tilsatt jod	2,3
Spormineral, premiks	1,4
Vitaminpremiiks	1,4
Totalt	906,4

15

**C. VEKSTAVSLUTTENDE RASJONER FOR SVIN
(FOR SVIN 55-109 KG)**

TABELL 13

Ingredienser	kg
Mais, gul (8,4 % protein)	765,2
Soyabønnemel, løsningsmiddel - ekstrahert (44 % protein)	120,2
CLA-pulver	2,3
Dikalsiumfosfat	8,2
Kalk	6,8
Salt med tilsatt jod	2,3
Spormineral, premiks	0,9
Vitaminpremix	1,4
Totalt	906,4

5

SAMMENSETNING OG ANALYSE AV SPORMINERAL-PREMIKS FOR SVIN

TABELL 14

Grunnstoff	Forbindelse	Mengde (kg)
Kobber (Co)	Kobbersulfat	0,680
Jod (I)	Kaliumjodid	0,005
Jern (Fe)	Ferrosulfat	11,340
Mangan (Mn)	Mangansulfat	1,134
Selen (Se)	Natriumselemt)	0,013
Sink(Zn)	Sinksulfat	11,340
	Bærer	20,849
Totalt		45,361

10

SAMMENSETNING AV VITAMIN-PREMIKS FOR SVIN

TABELL 15

Vitaminer	Mengde
Essensielle	
Vitamin A.....(million IU)	5,0
Vitamin D.....(million IU)	0,6
Vitamin E.....(tusen IU)	26,0
Niacin.....(g)	25,0
d-pantotensyre.....(g)	20,0
Riboflavin.....(g)	6,0
Vitamin B-12.....(mg)	25,0
Valgfritt	
Biotin.....(g)	0,3
Menadion.....(g)	4,0
Bærer.....	til 4,54 kg
Totalt	4,54

D. RASJON MED 18 % PROTEIN FOR HØNS

5

TABELL 16

Ingredienser	kg
Malt, gul mais	564,5
CLA-pulver	2,3
Alfalfa-mel, 17 %	11,3
Søyabønnemel, uten skall	205,3
Kjøtt- og benmel (47 %)	23,0
DL-,metionin	0,5
Dikalsiumfosfat	3,1
Malt kalkstein	79,1
Salt med tilsatt jod	3,1
Stabilisert gult fett	17,2
Mineral- og vitamintilskudd	
Kalsiumpantotenat (mg)	5,000
Mangan (g)	52
Selen (mg)	90,8
Sink (g)	16
Vitamin A (IU)	6,000,000
Vitamin D ₃ (IU)	2,000,000
Cholin (mg)	274,000
Niacin (mg)	12,000
Riboflavin (mg)	2,000
Vitamin B-12	6
Totalt	909,4

E. START- OG SLUTTRASJONER FOR BROILERE

TABELL 17

Ingredienser	Start (opp til 24 døgnet)	Slutt (25 døgnet til slakt)
	kg	kg
Malt gul mais	503	561
CLA-pulver	2,3	2,3
Soyabønnemel, uten skall	275	191
Alfalfa-mel, 17 %	-	11
Maisglutenmel, 60 %	23	34
Fiskemel, sild, 65 %	23	23
Kjøtt- og benmel, 47 %	23	23
Dikalsiumfosfat	4	4
Malt kalkstein	7	6,3
DL-metionin	0,3	-
Stabilisert gult fett	45,7	49,4
Salt med tilsatt jod	3	3
Mineral- og vitamintilskudd		
Kalsiumpantotenat (mg)	5,000	5,000
Mangan (g)	75	75
Organisk-arsenisk tilskudd	0,1	0,1
Selen (mg)	90,8	90,8
Sink (g)	30	30
Vitamin A (IU)	4,000,000	4,000,000
Vitamin D (IU)	1,000,000	1,000,000
Vitamin E (mg)	2,000	2,000
Vitamin K (mg)	2,000	2,000
Cholin (mg)	503,000	672,000
Niacin (mg)	20,000	20,000
Riboflavin (mg)	3,000	3,000
Vitamin B-12 (mg)	12	12
Totalt	909,3	909,5

F. VEKST/SLUTT-RASJONER FOR KALKUN

TABELL 18

Ingredienser	Vekst (8-16 uker)	Avslutning (16 uker - slakt)
	kg	kg
Malt gul mais	595	677,2
Hvete, sekunda	23	-
Alfalfa-mel, 17 %	11,3	11,3
Soyabønnemel, uten skall	259	152,3
Kjøtt- og benmel, 47 %	23	23
Dikalsiumfosfat	14,5	10,5
Malt kalkstein	6	8
Stabilisert gult fett	20,7	20,7
CLA-pulver	2,3	2,3
Salt med tilsatt jod	4,5	4,5
Mineral- og vitamintilskudd		
Kalsiumpantotenat (mg)	4,500	4,500
Mangan (g)	30	30
Selen (mg)	181,6	181,6
Sink (g)	30	30
Vitamin (IU)	1,500,000	7,500,000
Vitamin D (IU)	1,700,000	1,700,000
Vitamin E (IU)	10,000	10,000
Biotin (mg)	100	100
Cholin (mg)	388,000	417,000
Niacin (mg)	46,000	48,000
Riboflavin (mg)	5,000	5,000
Vitamin B-12	6	6
Totalt	909,3	909,3

G. TØRRFØR-FORMULERING FOR HUNDER

TABELL 19

Ingredienser	Formulering 1, %	Formulering 2, %
Kjøtt- og benmel, 50 % CP	8,0	15,0
Fiskemel, 60 %, fett-fattig	5,0	3,0
Soyabønnemel, 44 % CP	12,0	-
Soyabønnemel, 50 % CP	-	19,0
Hvetekimmel, 25 % CP	8,0	5,0
Skummet melk, tørr	4,0	2,75
Blandede cerealer	51,23	-
Maisflak	-	23,25
Hvetekli	4,0	-
Hveteflak	-	23,35
Dyrefett	1,75	2,75
CLA-pulver	0,25	0,25
Dampbehandlet benmel	2,0	-
Ølgjær	2,0	5,0
Løselige gjæringsstoffer, dehydratisert	1,0	-
Salt- og spormineraler	0,5	0,5
Vitaminblanding	0,25	0,25
Ferrioksid	0,02	-
Totalt	100,00	100,00

5

H. Halvfuktig hundefôr, formuleringer

TABELL 20

10

Ingredienser	Formulering 1, %	Formulering 2, %
Soyaflak	30,9	33,5
Kjøttbiprodukter, 70% fuktighet	32,0	-
Kjøtt- og benmel, dehydratisert	-	7,3
Vann	-	25,6
Sukker	21,0	21,0
Kalsium- og fosfortilskudd	3,3	-
Soyabønneskall	3,1	3,1
Skummet melk, tørket	2,5	-
Propylenglykol	2,1	2,1
Sorbitol	2,0	2,0
Dyrefett	0,75	3,95
CLA-pulver	0,25	0,25

Emulgatorer	0,9	-
Kalsiumsorbit	0,35	0,35
Salt	0,6	0,6
Vitaminer	0,25	0,25
Totalt	100,00	100,00

EKSEMPEL 11

Fremstilling av CLA i stor skala

- 5 Dette eksempel illustrerer en fremgangsmåte for fremstilling av frie CLA-fettsyrer i pilotskala ved isomerisering av saflorolje. Det ble oppløst 1000 kg KOH i 2070 l propylenglykol. Blandingen ble deretter oppvarmet til 100 °C under omrøring. Deretter ble 2340 l saflorolje tilsatt og temperaturen hevet til 150 °C i 3 timer. Blandingen ble deretter avkjølt og 1000 l vann og 1350 l HCl ble tilsatt. På dette punkt
10 separerte oppløsningen i to lag, med de frie fettsyrer som topplag. Lagene ble separert og det vandige bunnlag kastet. Topplaget ble vasket med 1000 l vann som inneholdt 50 kg sitronsyre. Vannlaget ble kastet og det olje(CLA)-holdige lag ble tørket under vakuum.

15 EKSEMPEL 12

Produksjon av triacylglyserider

- CLA ble fremstilt i henhold til fremgangsmåten i eksempel 11. Produktet ble så destillert i et molekyldestillasjonsanlegg ved 150 °C og et trykk på 10^{-2} mbar. Deretter ble 1000 kg av det destillerte produkt blandet med 97 kg ren glyserol og 80 kg lipase.
20 Reaksjonen fikk pågå i 12 timer ved 55 °C under vakuum og med omrøring. Triacylglyserid-produktet ble destillert i en molekyldestillasjonsapparat for å fjerne uomsatte fettsyrer.

EKSEMPEL 13

25 Behandling med absorpsjonsmidler

- Et CLA-triacylglyserid ble fremstilt som beskrevet i eksempel 14. Prøven ble deodorisert ved 150 °C og 1 mmHg i 3 timer. Deretter ble 500 ml av prøven behandlet med silikapulver. Det ble tilsatt silika til 2% og det ble varmet ved 90-100 °C under vakuum i 30 minutter. Prøven ble deretter avkjølt og filtrert.

30

EKSEMPEL 14

Fremstilling av CLA med alkoholatkatalysatorer

- I dette eksempel beskrives fremstilling av CLA fra saflorolje ved å anvende kaliummetylat som katalysator. Destillert metylester av solsikkeolje (41,5 g) ble
35 anbragt i en reaktor sammen med 0,207 g metanol og 0,62 g kaliummetylat, og

reaktoren ble spylt med nitrogen før den ble lukket. Innholdet i reaktoren ble omrørt under oppvarming til 120 °C. Reaksjonen fikk så pågå ved 120 °C i 4 timer. Reaktoren ble deretter avkjølt til 80 °C og innholdet overført til en skilletrakt og vasket med varmt destillert vann og deretter med varmt vann som inneholdt sitronsyre.

- 5 Metylesteren ble så tørket under vakuum med moderat varme. Den tørkede metylester ble oppløst i isooktan og analysert med GLC ved å anvende en Perkin Elmer automatisk prøvetaker. Kolonnen var av type høypolar smeltet silika. Det ble benyttet følgende program:

Injeksjon:	Splittet ved 250 °C
Deteksjon:	Flammeioniseringsdetektor ved 280 °C
Bærer:	Helium med overtrykk
Ovnsprogram:	80 °C - 130 °C (45 °C/min), deretter 1 °C/min til 220 °C og så holdt ved 220 °C i 10 min.
Kolonne:	WCOT smeltet silika 0,25 m, 100 m, CP-SIL-88 for FAME, cf + 0,2

10

Det oppnådde CLA besto nesten utelukkende av c9,t11- og t10,c12-isomerer av CLA, som vist i tabell 21.

15

Tabell 21
CLA fremstilt ved isomerisering med kaliummetylat

Fettsyre	Før isomerisering	Etter isomerisering
C 16:0	5,41	5,54
C 18:0	3,87	3,72
C 18:1	29,01	29,19
C 18:2, c9,c12	59,43	0,84
CLA, c9,c11	0	28,84
CLA, t10,c12	0	28,45
CLA, c9,c11	0	0,56
CLA, c10,c12	0	0,40
CLA, t9,t11; t10,t12	0	0,27

EKSEMPEL 15

20 Fremstilling av CLA-pulver

I dette eksempel beskrives fremstilling av et pulver som inneholder CLA-triglyserider. CLA-triglyseridene kan fremstilles som beskrevet over. Varmt vann (538,2 ml, 43-49 °C) og "HI-CAP 100" (ca. 230,9 g, National Starch, Bridgewater, NJ) ble kombinert og omrørt inntil dispersjonen var fri for klumper. CLA-triglyserid

(230,9 g) ble så tilsatt og blandingen homogenisert i 2 min i en Arde Berinco laboratoriehomogenisator innstilt på 30. Pre-emulsjonen ble så homogenisert med full hastighet i 2-5 min (én passering ved 24,1 MPa totaltrykk). Partikkelstørrelsen ble så kontrollert og skulle være fra ca. 0,8 til 1,0 μm . Emulsjonen ble deretter

5 forstøvningstørket i en 2,1 m konisk tørker med følgende innstillinger: innløpstemperatur (190-215 °C); utløpstemperatur (95-100 °C). Utløpstemperaturen ble opprettholdt ved å justere hastigheten på tilførselen av emulsjon. Med denne fremgangsmåte fremstilles et frittrislende pulver som inneholder ca. 50% CLA-triglyserid.

10

EKSEMPEL 16

Fremstilling av pulveret som inneholder andre oljer

Fremgangsmåten beskrevet i eksempel 15 ble gjentatt, med unntak av at "Tonalin"-fri CLA-fettsyre, linolje, nattlysolje og agurkurteolje ble anvendt i stedet for

15 CLA-triglyseridene. Det ble oppnådd et frittrislende pulver med ca. 50% av de respektive frie fettsyrer eller oljer.

EKSEMPEL 17

Fremstilling av pulveret med andre innkapslingsmidler

20 Fremgangsmåten beskrevet i eksempel 15 ble gjentatt, med unntak av at "MIRA-CAP" (A.E. Stanley) og maltodekstrin ble anvendt i stedet for "HI-CAP 100". Med 50% oljeinnhold viste en test at disse midler ikke kunne danne en emulsjon og således ikke kunne bli forstøvningstørket.

25

EKSEMPEL 18

Fremstilling av pulveret med høyere oljeinnhold

Fremgangsmåten beskrevet i eksempel 15 ble gjentatt, med unntak av at oljekonsentrasjonen ble økt til henholdsvis 60% eller 65%. "HI-CAP 100" gjorde det mulig å danne en emulsjon og det ble fremstilt et frittrislende pulver ved

30 forstøvningstørking. Imidlertid inneholdt emulsjonen småkorn på opp til 10 μm .

Det skulle fremgå klart av ovenstående at med den foreliggende oppfinnelse tilveiebringes et frittrislende pulver som inneholder en stor mengde CLA-triglyserid eller andre oljer. Pulveret kan anvendes til formulering av dyrefôr og i

35 næringsmiddelprodukter som er egnet for humant konsum.

P a t e n t k r a v

1. Blanding omfattende et pulver med en andel av konjugert linolsyre,
5 k a r a k t e r i s e r t v e d a t pulveret har mer enn 20 % andel med konjugert linolsyre
på vektbasis og at pulveret omfatter en eksipiens valgt blant HI-CAP 100 og HI-CAP
200.
2. Blanding ifølge krav 1, hvor pulveret har mellom 20 vekt% og 65 vekt% andel
10 med konjugert linolsyre.
3. Blanding ifølge krav 1 eller 2, hvor andelen med konjugert linolsyre er et
triglyserid.
- 15 4. Blanding ifølge krav 1-3, hvor andelen med konjugert linolsyre er valgt blant fri
fettsyre og alkylester.
5. Blanding ifølge krav 1-3, hvor pulveret har mer enn 25 % andel med konjugert
linolsyre på vektbasis.
- 20 6. Blanding ifølge krav 1-3, hvor pulveret har mer enn 40 % andel med konjugert
linolsyre på vektbasis.
7. Blanding ifølge krav 1-3, hvor pulveret har mer enn 50 % andel med konjugert
25 linolsyre på vektbasis.
8. Blanding ifølge krav 1-7, hvor pulveret er frittrislende.
9. Blanding ifølge krav 1-8, hvor pulveret er luktfritt.
- 30 10. Fremgangsmåte,
k a r a k t e r i s e r t v e d a t den omfatter:
 - a) det tilveiebringes en olje som omfatter en CLA-andel og en eksipiens valgt
blant HI-CAP 100 og HI-CAP 200,
 - 35 b) en emulsjon av olje-i-vann dannes av oljen og eksipiensen, og
 - c) emulsjonen forstøvningstørkes under slike betingelser at det dannes et
frittrislende pulver.

11. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor oljen og eksipiensen foreligger i en slik konsentrasjon at det frittrislende pulver omfatter minst 40 % olje på vektbasis.

5 12. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor oljen og eksipiensen foreligger i en slik konsentrasjon at det frittrislende pulver omfatter minst 50 % olje på vektbasis.

13. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor oljen og eksipiensen foreligger i en slik konsentrasjon at det frittrislende pulver omfatter minst 60 % olje på vektbasis.

10

14. Fremgangsmåte ifølge krav 10-13, hvor CLA-andelen velges blant frie fettsyrer, triglyserider og alkylestere, og kombinasjoner derav.

15. Anvendelse av en blanding ifølge krav 1-9, ved fremstilling av et næringsmiddel.

15

16. Anvendelse ifølge krav 15, hvor næringsmidlet omfatter et pulver med mellom 20 vekt% og 65 vekt% konjugert linolsyre og en eksipiens valgt blant HI-CAP 100 og HI-CAP 200.

20

25