

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 813015 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **813015**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
B01D

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **28.09.1981**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **28.09.1981**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **03.04.1982**

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

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

02.10.1980 GB 8031784

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Unilever N.V., Burgemeester s' Jacobplein 1, Rotterdam, ALANKOMAAT, (NL)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Gupta, Achintya Kumar Sen, TOWN UNKNOWN, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Leitzinger Oy, High Tech Center, Tammasaarenkatu 1, 00180 Helsinki

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

Erotusmenetelmä ja sillä saadut tuotteet.

Separationsförfarande och med det erhållna produkter.

Erotusmenetelmä ja sillä saadut tuotteet. - Separationsförfarande och med det erhållna produkter.

Keksinnön kohteena on menetelmä, jolla yhdisteitä, jotka oleellisesti polaarittomissa liuottimissa muodostavat sekamisellessä tai ko-misellessä, sisältävästä seoksesta otetaan talteen jonkin mainitun yhdisteen suhteen rikastunut jae.

Eräs tällaisten yhdisteiden luokka on kasvis- tai eläinperäiset fosfatidit tai fosfolipidit. Nämä fosfolipidit, erityisesti soi-japavun fosfolipidit, muodostavat miselli-aggregaatteja polaarittomissa orgaanisissa liuottimissa, erityisesti heksaanissa. Nämä misellit muodostuvat molekyyli-liittymien kautta, ja niiden molekyyli-painot voivat olla niinkin korkeita kuin 500.000. Fosfolipidien polaariset ja varautuneet osat muodostavat misellien ytimen, kun taas esteröityjen rasvahappojen hiilivetyosat muodostavat polaarittomat ulkokuoret. Monet polaarittomat ei-lipidiset komponentit, kuten sokerit, steroliglykosidit, vesi, proteiinit jne. voivat miselloitua mukana, so. näitä komponentteja on mukana fosfolipidimisellien polaarisessa ytimessä. Misellien muodostamisesta johtuen fosfolipidit liukenevat helposti heksaaniin huolimatta niiden polaarista ja ionillista rakenteista. Sama koskee sokereita, steroliglykosideja jne., jne., jotka myös liukenevat heksaaniin ko-misellien muodostumisen kautta.

Soi-japapuöljyä saadaan teollisesti tavallisesti uuttamalla kuumalla heksaanilla murskatut ja pelletoidut pavut. Heksaaniliuos sisältää pääasiassa glyseridiöljyä mutta myös pienempiä määriä fosfolipideitä, vapaita sokereita, steroleja, steroliglykosideja jne. Fosfolipidien suhde glyseridiöljyyn on tavallisesti välillä 1:30 ja 1:40. Fosfolipidit muodostuvat pääasiallisesti neljästä komponentista:

Fosfatidyylikoliini (jäljempänä käytetään lyhennystä FK), fosfatidyvlietanoliini (FE), fosfatidyyli-inositoli (FI), fosfatidiinihappo (FH). Soijapavun fosfolipidit sisältävät lisäksi pieniä määriä muita yhdisteitä, esimerkiksi fosfatidyyliiseriiniä (FS), kardiolipiiniä (KL), sfingofosfatideja (SF), ja osittain hydrolysoituneita yhdisteitä, joita yleisesti kutsutaan lysofosfolipideiksi, esimerkiksi lysofosfatidyylikoliinia (LPK). Soijapapujen puhdistamattomassa heksaanuutteessa kaikki nämä eri fosfolipidilajit ovat mukana sekamisellessä, jotka sisältävät myös keramiselloituneita ei-lipidejä, kuten vapaita sokereita, steroliglykosideja jne.

Raa'an soijapapuoöljyn puhdistamista varten on poistettava fosfolipidit ja niiden kontaminaatiot sokereiden jne. kanssa. Olemme keksineet menetelmän (brittiläinen patentti n:o 1,509,543), jossa soijapapujen puhdistamaton heksaanuute, josta käytetään myös nimitystä puhdistamaton soijapapuoöljy-heksaanimisella, ultrasuodatetaan paineen alla sopivan puoliläpäisevän kalvon läpi, joka päästää glyseridiöljyliuoksen kulkemaan heksaaniin, mutta joka pidättää kaikki fosfolipidit yhdessä sokerien, steroliglykosidien jne. kanssa, jotka muodostavat komisellejä fosfolipidien kanssa heksaaniliuoksessa. Tällä menetelmällä on siten mahdollista erottaa täysin fosforittomat lipidit (so. triglyseridit, vapaat rasvahapot jne.) fosfolipideistä ja niihin liittyvistä ei-lipideistä (esimerkiksi sokereista jne.). Heksaanin poistaminen ultrasuodoksesta tuottaa öljyä, jossa ei ole lainkaan fosfatideja, kun taas retentaatti-misellasta saadaan tislattaessa kaupallista lesitiiniä.

Tämän tyyppisiä kaupallisia lesitiinejä voidaan saada myös muulla keinoin, esimerkiksi ensin tislaamalla heksaanin pois puhdistamattomasta soijapapuoöljy-heksaanimisellasta ja sen jälkeen erottamalla fosfolipidit hydratoimalla kuuman veden tai höyryn kanssa, mikä tekee ne liukenemat-

tomaksi öljyyn, josta ne voidaan sen jälkeen helposti poistaa sentrifugoimalla. Fosfolipidien kaupalliset lesitiinit sisältävät myös glyseridirasvoja, pigmenttejä, sokereita, steroliglykosideja ja muita epäpuhtauksia. Kaupallisen soijapapulesitiinin suurinpiirteinen koostumus on annettu seuraavassa taulukossa:

Glyseridirasvat	noin 35 %
Vapaat sokerit	3-5 %
Steroliglykosidit ja niiden esterit	noin 5-7%
FK	noin 13-15%
FE	noin 12-14%
FH	noin 9-12%
FI	noin 10-15%
Muut fosfolipidit	noin 3-5%.

Kuten jo edellä mainittiin, muodostavat kaikki fosfolipidit heksaaniliuoksessa huomattavan kokoisia sekamisellejä, jotka voidaan täysin erottaa glyseridiöliivistä ultrasuodattamalla sopivan puoliläpäisevän kalvon läpi.

Nyttemmin on yllättäen havaittu, että tietyissä liuotinseoksissa on misellien muodostuminen selektiivistä, so. yksi tai useampi yhdiste, joka tavallisesti joutuu suuriin sekamiselleihin, jäävät osaksi tai kokonaan ulos miselleistä ja esiintyvät nyt liuotinseoksessa molekyylitilassa. Tämän havainnon avulla on mahdollista fraktioida tällaiset yhdisteet, jotka muodostavat sekamisellejä. Esimerkiksi, kun yhdisteiden liuos liuotinseoksessa, jossa tapahtuu selektiivistä misellien muodostusta, saatetaan kosketukseen puoliläpäisevän kalvon kanssa, yhdiste tai yhdisteet, jotka osittain tai kokonaan jäävät pois miselleistä, kulkevat membraanin läpi liuenneessa molekyylitilassa.

Keksintö tuo siten esiin menetelmän, jolla yhdisteitä, jotka oleellisesti polaarittomissa liuottimissa muodostavat sekamisellejä, sisältävästä seoksesta otetaan talteen

jonkin mainitun yhdisteen suhteen rikastunut jae, jossa menetelmässä tämän seoksen liuos sopivassa liuotinseoksessa, jossa tapahtuu selektiivistä misellien muodostumista, saatetaan kosketukseen paineen alla puoliläpäisevän kalvon kanssa, joka erottaa seoksen fermeaatiksi ja retentaatiksi, ja otetaan talteen rikastettu jae retentaatista ja/tai permeaatista poistamalla siitä liuotin.

Keksinnön mukainen menetelmä sopii erityisesti fosfatidien fraktiointiin. Kun soi-japavun fosfolipidejä liuotettiin hiilivetyliuottimen ja alkoholin seokseen, esimerkiksi heksaanin ja isopropanolin (4:1) seokseen (sen sijaan, että liuotettiin heksaaniin tai muuhun puhtaaseen hiilivetyliuottimeen), FK ei joutunut fosfolipidien sekamisseleihin tai joutui niihin vain epätäydellisesti. Tällaisen liuoksen ultrasuodatus johti suodokseen (mistä syystä sitä kutsutaan permeaatiksi), joka sisälsi pääasiassa glyseridirasvoja ja FK ja pieniä määriä FH ja FE. Kalvo pidätti lähes kokonaan sokerit, FI:n ja eräät muut määrältään vähäisemmät fosfolipidit kuten myös suurimman osan FH:sta ja FE:stä. Tällä menetelmällä on siten mahdollista fraktioida fosfolipidit ultrasuodattamalla sellaisella tavalla, että lukuisten fosfolipidien seoksesta voidaan valmistaa rikastettua FK ja/tai rikastettua FI.

Sopivat liuotinseokset sisältävät oleellisesti polaaritonta liuotinta ja polaarista liuotinta. Näiden kahden liuottimen suhde määrää sekä erotusmenetelmän selektiivisyyden että saannon. Näiden kahden liuottimen optimisuhde riippuu sekä kyseisistä käytetvistä liuottimista että itse rikastettavasta yhdisteestä. Kyseiseen erotusmenetelmään käytettyjen liuottimien optimisuhde voidaan helposti määrittää yksinkertaisin kokein. Esimerkiksi on havaittu, että kun soi-japapufosfolipidien liuos polaarittoman ja polaarisen liuottimen seoksessa, joka sisältää 1 - 5 % polaarista liuotinta, saatetaan kosketukseen puoliläpäisevän kalvon kanssa, suurin osa steroliglykosideista, steroliglukosidiestereistä, steroleista ja glyserideistä kulkee kalvon

läpi. Esimerkkejä polaarittoman ja polaarisen liuottimen sopivista seoksista ovat: heksaani/alkoholi, dietyylieetteri/asetoni, kloroformi/metanoli jne. Retentaatista voidaan siten saada talteen fosfatidien suhteen rikastunut jae. Kuitenkin, kun polaarisen liuottimen määrä retentaattiliuoksessa nostetaan 20 - 25 %:iin, PK kulkee kalvon läpi. Tällä kaksivaiheisella menetelmällä voidaan viimeisestä permeaatista ottaa talteen PK:n suhteen rikastunut jae, joka sisältää vähän sokereita, sterolia, steroliglukosideja ja niiden estereitä ja glyseridejä. Saadulla tuotteella on hyvin vaalea keltainen väri. Erotusmenetelmä voidaan luonnollisesti toistaa kuinka usein tahansa käyttämällä samoja liuottimia eri suhteissa tai muita liuottimia samassa tai eri suhteessa.

Sopivat polaarittomat liuottimet ovat oleellisesti ap-roottisia, kuten heksaani ja muut hiilivedyt, eetterit, kuten dietyylieetteri, ja esterit, kuten etyyliasetaatti. Myös halogenoituja hiilivetyjä, eettereitä ja estereitä voidaan käyttää, esimerkiksi kloroformia, metyleenikloridia, metyleenidikloridia, etyleenimono-, di- ja trikloridia jne.

Polaariset liuottimet ovat oleellisesti proottisia; parhaiten käytetään alempaa yksiarvoista alkoholia, kuten metanolia, etanolia, propanolia, isopropanolia, butanolia, isobutanolia jne. tai ketonia, joka enolisessa muodossaan käyttäytyy kuten proottinen liuotin, esimerkiksi asetonia, metyyli-etyyliketonia jne.

Polaarisen liuottimen suhde polaarittomaan liuottimeen riippuu mukana olevien aineiden laadusta. yhdisteistä, jotka halutaan pidättää retentaattiin, ja yhdisteistä, jotka halutaan päästää permeaatin läpi. Yleensä liuotinseos sisältää 1 - 50 painoprosenttia polaarista liuotinta. Kun halutaan, että PK kulkee membraanin läpi, liuotinseos sisältää tavallisesti 15 - 30 painoprosenttia polaarista

liuotinta, parhaiten 20 - 25 painoprosenttia.

PK:n suhteen rikastuneiden jakeiden valmistamiseksi on lähtöaine parhaiten kasvisfosfatideja sisältävä seos, kuten puhdistamattomat soi-japapufosfatidit tai lesitiini. Voidaan lähteä myös fosfatidijakeesta, joka on rikastettu PK:n suhteen jollakin muulla menetelmällä, esimerkiksi uuttamalla puhdistamattomat fosfatidit alemmalla alkoholilla.

Edelleen on havaittu, että veden mukanaolo vaikuttaa misellien muodostumiseen ja siten erottumiseen. Fosfatidit voivat sitoa vettä 30 %:iin asti; fosfatideia sisältävä seos voi siten sisältää noin 1 - 30 painoprosenttia vettä.

Misellien muodostumiseen vaikuttaa myös suolojen, erityisesti 2- ja 3-valenssisten kationien, kuten magnesiumin, kalsiumin, alumiinin ja raudan suolojen mukanaolo. Fosfatideja sisältävä seos tehdään tavallisesti sellaiseksi, että se sisältää tällaista suolaa noin 0,1 - 5 painoprosenttia. Yleensä puhdistamattomat fosfatidiseokset sisältävät riittävästi magnesiumia ja kalsiumia. mutta eräissä tapauksissa, erityisesti alkoholiin liukenevilla fosfatidijakeilla, on toivottavaa lisätä enemmän näitä samoja tai erilaisia kationeja.

Kun suoloja lisätään, ne voidaan lisätä fraktioitavaan fosfatideja sisältävään seokseen, mutta myös vesipitoiseen lietteeseen, joka on saatu poistamalla kumimaiset ainekset kasvisöljystä, tai myös kuminpoistoon käytettyyn veteen.

Veden ja/tai suolojen lisääminen suurentaa misellien kokoa, jolloin voidaan käyttää suuremman erotusrajan omaavia membraaneja ja näin lisätä tehoa. Vaikutusta voi kuitenkin olla myös selektiivisyyteen.

Yhdisteiden fraktioitava liuos saatetaan kosketukseen

membraanin kanssa paineessa. Yleensä absoluuttinen käytetty paine on 1 - 50 baria, parhaiten 2 - 10 baria.

Lämpötila, jossa menetelmä suoritetaan, ei ole kriittinen. Menetelmä voidaan siten suorittaa missä tahansa lämpötilassa käytetyn liuotinseoksen jäätymispisteen ja kiehumispisteen välillä. Korkeammissa lämpötiloissa on virtausnopeus kuitenkin tavallisesti suurempi.

Puoliläpäiseville kalvoille, jotka voivat olla isotrooppisia tai anisotrooppisia, huokoisia tai huokesottimia, on tunnusomaista niiden erotusraja, joka määritellään sinä molekyylin tai molekyylikompleksin kokona, joka juuri ja juuri voi kulkea kalvon läpi. Erotusraja ilmoitetaan nimellisinä molekyylipainoyksikköinä. Keksinnön mukaiseen menetelmään sopivat kalvot, joiden erotusraja on välillä 500 ja 300.000. Erotusraja on parhaiten välillä 1000 ja 15.000. Kalvojen tulisi luonnollisesti kestää käytettyä liuotinseosta. Edellä viitatussa brittiläisessä patenttijulkaisussa 1,509,454, joka tässä on annettu viitteenä, on esitetty laaja kuvaus sopivista kalvoista.

Sopivia esimerkkejä ovat Diaflo-kalvoina tunnettujen Amicon XM ja PM sarjojen kalvot, jotka käsittävät polyetyleenistä tehdylle tukikerrokselle asennetun polysulfonikuoren, esimerkiksi difenyyli-4,4'-disulfonyyli- tai difenyyli-eetteri-4,4'-disulfonyylipolymeeri-kuoren. Muita sopivia kalvoja ovat Rhone-Poulenc'in markkinoimat ja polyakrylonitriilikuoren sisältävät kalvot Abcor'in markkinoimat kalvot, jotka on varustettu polyamidikuorella.

Membraania voidaan käyttää missä tahansa tavanomaisesti käytetyssä muodossa, kun nämä sopivat valitulle kalvomateriaalille. Kalvoa voidaan käyttää siten levy-, putki- tai kuitumuodossa, vaikkakin elastomeeriset kalvot sopivat huonommin jälkimmäiseen muotoon. Levy- ja putkimuodossa on kalvoa tuettava ainakin niin hyvin mekaanisesti, että

se kestää ne hydrauliset paineet, jotka siihen kohdistetaan suodatuksen aikaansaamiseksi. Tuki voi olla huokoisena metalli-, lasikuitu- tai muuna huokoisena jäykkänä rakenteena.

Tämän keksinnön menetelmää toteutettaessa voi olla tarpeen käsitellä käytetyt kalvot niin, että ne sopivat myös käyttöön, jossa vettä ei ole mukana. Valmistajalta saataessa monet kalvot ovat jo esimerkiksi kostutetut vedellä tai glyserolilla ja ne on esikäsiteltävä saattamalla ne peräkkäin kosketukseen veden, väliliuottimen ja menetelmässä käytetävän laimennusliuottimen kanssa. Kun jälkimmäinen on heksaani, väliliuottimena voidaan käyttää isopropanolia, mutta alan ammattimiehet voivat löytää muitakin sopivia liuottimia. Väliliuottimen on sekoituttava, vaikkakin vain rajoitetusti, sekä veden että laimennusliuottimen kanssa. Kalvo on myös suositeltavaa käsitellä samanlaisella pesumenettelyllä pitkäaikaisen käytön jälkeen, jotta kalvon tehokkuus palautuisi.

Keksintöä on havainnollistettu seuraavilla esimerkeillä niihin kuitenkin rajoittumatta.

Esimerkki 1

2 kg soijapapulesitiiniä, josta rasva oli poistettu, liuotettiin seokseen, joka sisälsi 6 kg heksaania ja 2 kg isopropanolia. Saatu liuos ultrasuodatettiin 50°C:ssa ja 3,8 bar paineessa polyakrylonitriilikalvon läpi, jonka erotusraja oli 15.000 (T6B, Messrs Patterson Candy International, Whitechurch, Hampshire, Englanti (kokonaispinta-ala 0,04 m²)).

Ensimmäisestä 2,9 kg:sta permeaattia, joka saatiin 2 tunnissa (so. virtaus 36 kg/m².h), saatiin 31,2 g fosfolipidejä. Talteenotettu liuotin lisättiin uudelleen retentaattisäiliöön ja jatkettiin ultrasuodatusta. Yhteensä saatiin 6 jaetta.

Jae I	2,9 kg permeaattia	31,2 g fosfolipidejä
Jae II	3,2 kg "	31,2 g "
Jae III	3,1 kg "	34,6 g "
Jae IV	2,5 kg "	24,2 g "
Jae V	3,2 kg "	25,3 g "
Jae VI	1,9 kg "	19,2 g "

Fosfolipidipermeaatti (165,7 g) analysoitiin kokonaisuutena.

Seuraavassa taulukossa on esitetty tulokset verrattuna lähtöaineina käytettyihin, rasvattomiin soi,apapulesitiineihin.

	Rasvattoman soi,apavun fosfolipidit	Permeaatin fosfolipidit
Fosfori yhteensä	3,01	2,58
Sokerit yhteensä	5,1 %	0,1 %
FK	25,0	51,2 %
FE	24,7 %	14,2 %
FH	9,1 %	3,6 %
FI	14,5 %	0,3 %
LFK	1,6 %	2,8 %
Muut fosfolipidit	5,9 %	0,1 %
Steroliglukosidit	2,1 %	2,6 %
Esteröidyt steroli- glukosidi	7,8 %	10,4 %
Erittelemättömät (steroli+ glyseridit jne.)	4,2 %	14,8 %

Esimerkki 2

Kaupallinen soi,apapulesitiininäyte, joka oli rikastettu FK:n suhteen uuttamalla alkoholilla (Bolec F 304, Oelwerke Spyck), ultrasuodatettiin kuten esimerkissä 1. Lesitiiniä

liuotettiin yhteensä 1,5 kg seokseen, joka sisälsi 7,5 kg heksaania ja 2,5 kg isopropanolia. Permeaattiin saatiin yhteensä 1,066 kg lesitiiniä. Sekä lähtöaineena käytetystä Bolec F 304:stä että permeaatin lesitiinistä poistettiin rasva ja suoritettiin analyysi. Tulokset on esitetty seuraavassa:

	Rasvaton lähtö- ainelesitiini	Rasvaton permeaat- tilesitiini
Sokerit	10,2 %	< 0,1 %
FK	52,8 %	65,0 %
FE	10,6 %	7,7 %
FH	4,0 %	1,2 %
FI	3,4 %	1,0 %
LFK	1,1 %	2,1 %
Muut fosfolipidit	4,5 %	1,2 %
Muut komponentit (sterolit, steroli- glukosidit ja es- terit jne.)	13,4 %	21,8 %

Nämä tulokset osoittavat, että kaupallisesta lesitiinistä voidaan poistaa sokeri ja rikastaa se FK:n suhteen suodattamalla tämä puoliläpäisevän kalvon läpi, jos se on liuotettu sekaluuottimeen.

Esimerkki 3

Soijapapufosfatiidi-näytteestä (kaupallinen lesitiini) valmistettiin rasva pesemällä se useaan kertaan kylmällä asetonilla ja sen jälkeen kuivaamalla. 80 g rasvattomia fosfatideja liuotettiin 320 g:aan heksaanin ja etanolin (75:25, tilavuus/tilavuus) seosta. Edellä mainittu liuos (syöttö yhteensä 400 ml) ultrasuodatettiin 20°C:ssa ja 4 bar paineessa Amicon 401 S modulilla, johon oli sovitettu

polysulfonikalvo PM 10 (valmistaja myös Amicon GmbH, Witten (Ruhr), Saksa-BRD), jonka erotusraja oli 10.000. Tuotetta saatiin 300 ml. Ultrasuodatetusta permeaattiliuoksesta saatiin kuiviin haihdutettaessa 8,4 g vaalean-keltaista jäännöstä, jonka yksittäisten lipidikomponenttien määrä analysoitiin. Samalla tavalla analysoitiin myös kaupallinen rasvaton lesitiini. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa:

TAULUKKO

	Rasvaton lähtö- ainelesitiinni	Rasvaton per- meaattilestitiini
Sokerit	6,8 %	<0,2 %
FK	21,2 %	59,2 %
FE	17,1 %	10,9 %
FH	8,3 %	3,1 %
FI	17,0 %	1,5 %
LFK	2,7 %	0,9 %
Muut fosfolipidit	9,6 %	2,8 %
Muut komponentit (sterolit, steroli- glukosidit ja es- terit jne.)	17,3 %	21,4 %

Esimerkki 4

Liuos, joka sisälsi 3,5 kg kaupallista soijapapulesitiiniä, liuotettiin 30 kg:aan liuotinsäöstä, joka sisälsi heksaania ja etanolia tilavuussuhteessa 95:5. Sen jälkeen seos ultrasuodatettiin kuten esimerkissä 1. 27,7 l ultrasuodosta tislattiin, jolloin saatiin 1 kg rasvaseosta, joka ohutlevykromatograafisen (TLC) analyysin perusteella sisälsi suurimmaksi osaksi triglyseridiä yhdessä vapaiden sterolien, steroliestereiden, vapaiden rasvahappojen kanssa ja pienempiä määriä steroli-
glukosidien rasvahappo-

estereitä.

Tästä ultrasuodoksesta talteenotettu liuotin palautettiin retentaattiin ja jatkettiin ultrasuodatusta. Seuraavasta 20 litrasta ultrasuodosta saatiin, kun liuotin tislattiin, 0,7 kg rasvaseosta, joka sisälsi sen lisäksi, että siinä oli pienehköjä määriä triglyseridejä ja vapaita rasvahappoja, pääasiallisesti steroleja ja esteröityjä steroliglykosideja ja hyvin pieniä määriä FK. Talteenotettu liuotinseos palautettiin jälleen takaisin retentaattiin ja jatkettiin ultrasuodatusta. Lopuksi kaikki jakeet analysoitiin ohutlevykromatograafisesti. Tulokset on esitetty seuraavassa:

Jae	Käytetty liuotinseos	Ultrasuodotetun li- pidin saanto	Pääkomponentit TLC:n perusteella
1	Heksaani + 5% etanoli	1.000 g	Triglyseridit, vapaat rasvahapot, sterolit ja steroliesterit
2	Heksaani + 5% etanoli	700 g	Sterolit, esteröidyt steroliglukosidit, FK
3	Heksaani + 10% etanoli	730 g	Pääasiassa FK (noin 65%), loput muodostuu FE:stä, steroliglukosi- deista ja FH-hivenistä
4	Retentaatti, (so, jae, joka ei lä- päissyt kalvoa)	1.100 g	Pääasiassa Fi, FH, FE ja sokerit

Esimerkit 5 - 9

Useiden erilaisten liuotinseosten vaikutus fosfolipidien fraktioitumiseen ultrasuodatettaessa tutkittiin. Käytetyt laitteistot ja olosuhteet olivat samat kuin mitä on kuvattu esimerkissä 3. Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa. Saadut tuotteet (permeaatin ja retentaatin lipidit) analysoitiin puolikvantitatiivisesti ohutlevykromatografialla. Kaikissa seuraavissa esimerkeissä käytettiin kaupallista, rasvatonta soijapapulesitiiniä, jonka koostumus oli seuraava:

Esimerkeissä 5 - 9 käytetyn, rasvattoman soijapapulesitiinin koostumus

Vapaat sokerit	7,5 %
Steroliglukosidit ja niiden esterit	12,0 %
FK	23,0 %
FE	19,0 %
FH	10,0 %
FI	22,0 %
Muut	6,5 %

Kaikissa esimerkeissä (5-9) on ilmeistä, että FK-konsentraatio permeaateissa kasvoi suuresti, kun taas

FI:n ja sokereiden konsentraatiot pienenevät hyvin tehokkaasti. FI ja sokerit luonnollisesti rikastuivat voimakkaasti retentaattijakeeseen, so. jakeeseen, joka ei läpäissyt kalvoa.

ESIMERKKEJÄ 5 - 9 KOSKEVA TAULUKKO

Esim. n:o	Käytetty kalvo (kauppanimi/ valmistaja)	Käytetty liuotinsysteemi (til.suhde)	Permeaattijakeen si- sältämän tuotteen koostumus (TLC:lla määritettynä)
5	Polykarylonit- riili (Iris 3042 ex Rhone-Poulenc)	Kloroformi- metanoli (85:15)	FK = 56 % FH = 6 % FE = 23 % FI = 1 % Sokerit = 1%
6	Polysulfoni (DIAFLO-PM 10 ex Amicon)	Dietyylieetteri- etanoli (75:25)	FK = 59 % FE = 10 % FH = 3 % FI = 0,2 % Sokerit = 0,5 %
7	Polysulfoni (PM 10 ex Amicon)	1.ajo dietyyli- eetteri-aseto- nilla (90:10)	Steroliglu- kosidit = 50 % ja niiden esterit Sterolit = 25 % Vapaat rasvaha- pot = 15 % FK = 10 %
		2.ajo di- etyylieetteri- etanolilla (75:25)	FK = 65 % FE = 10 % FH = 8 % FI = 0,2 % Sokerit = 0,4 %
8	Polysulfoni (PM 10 ex Amicon)	Heksaani-eta- noli-MgSO ₄ :n 10% vesiliuos (75:22:3)	FK = 58 % FE = 6 % FH = 2 % FI = 0,2 % Sokerit = 0,3 % Steroliglu- kosidit ja niiden esterit = 25 %
9	Polysulfoni (PN 10 ex Amicon)	Heksaani-isopro- panoli-Mg-oleaat- ti (75:24,8:0,2)	FK = 62 % FE = 6 % FH = 1 % FI = 0,2 % Sokerit = 0,4 %

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä ottaa talteen oleellisesti polaarittomissa liuottimissa sekamisellejä muodostavia fosfatideja sisältävästä seoksesta jakeen, joka sisältää runsaasti jotakin edellä mainittua fosfatidia, t u n n e t t u siitä, että mainitun seoksen liuos oleellisesti polaarittoman ja polaarisen liuottimen liuotinsysteemissä, jossa tapahtuu selektiivistä misellien muodostumista, saatetaan kosketukseen paineen alla puoliläpäisevän kalvon kanssa seoksen erottamiseksi permeaatiksi ja retentaatiksi, ja jollakin mainitulla fosfatidilla rikastettu jae otetaan talteen retentaatista ja/tai permeaatista poistamalla siitä liuotin.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että oleellisesti polaarittomana liuottimena käytetään hiilivetyä, kuten heksaania, halogenoitua hiilivetyä, kuten kloroformia, eetteriä, kuten dietyylieetteriä ja/tai esteriiä, kuten etyyliasetaatia.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että polaarisenä liuottimena käytetään ketonia, kuten asetonia ja/tai alempaa yksiarvoista alkoholia, kuten metanolia, etanolia, propanoli, isopropanolia, butanolia tai isobutanolia.

4. Patenttivaatimuksen 1 - 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään puoliläpäisevää kalvoa, jonka erotusraja on 500 - 300.000, edullisesti 1.000 - 15.000.

5. Patenttivaatimuksen 1 - 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että liuos saatetaan kosketukseen kalvon kanssa 1 - 50 barin, edullisesti 2 - 10 barin absoluuttisessa paineessa.

813015

6. Patenttivaatimuksen 1 - 5 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että seos on alkoholiin liukeneva fosfatidijae.

7. Patenttivaatimuksen 1 - 6 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että fosfatideja sisältävä seos sisältää 1 - 50
paino-% vettä.

8. Patenttivaatimuksen 1 - 7 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että fosfatideja sisältävä seos sisältää 0,1 - 5
paino-% 2- tai 3-valenssisen kationin suolaa, parhaiten magne-
sium- tai kalsiumsuolaa.

9. Patenttivaatimuksen 1 - 8 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että permeaatista otetaan talteen fosfatidyyli-
koliinisuhteen rikastunut jae.

10. Patenttivaatimuksen 1 - 9 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että retentaatista otetaan talteen fosfatidyyli-
inositolin suhteen rikastunut jae.

813015

Patentkrav

1. Förfarande för att ur en blandning innehållande föreningar, vilka i väsentligt icke-polära lösningsmedel bildar blandmiceller, tillvarataga en anrikad fraktion av någon av nämnda föreningar, k ä n n e t e c k n a t därav, att en lösning av nämnda blandning i ett lämpligt lösningsmedelssystem, där selektiv micellbildning äger rum, bringas under tryck i kontakt med en halvgenomtränglig hinna, som separerar blandningen till permeat och retentat, och den anrikade fraktionen tillvaratas ur retentatet och/eller permeatet genom att avlägsna lösningsmedlet.
2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att som lösningsmedelsblandning användes en blandning, som väsentligen innehåller icke-polärt lösningsmedel och polär lösning.
3. Förfarande enligt patentkrav 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att som väsentligt icke-polärt lösningsmedel användes kolväte, såsom hexan, halogenerat kolväte, såsom kloroform, eter såsom dietyleter, och/eller ester, såsom etylacetat.
4. Förfarande enligt patentkrav 2 eller 3, k ä n n e t e c k n a t därav, att som polärt lösningsmedel användes keton, såsom aceton och/eller lägre envärdig alkohol, såsom metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol eller isobutanol.
5. Förfarande enligt patentkrav 1 - 4, k ä n n e t e c k n a t därav, att användes en halvgenomtränglig hinna, vars separationsgräns är 500 - 300,000, företrädesvis 1,000 - 15,000.
6. Förfarande enligt patentkrav 1 - 5, k ä n n e t e c k n a t därav, att lösningen bringas i kontakt med en hinna vid ett tryck av 1 - 50 bar, företrädesvis 2 - 10 bar absolut.
7. Förfarande enligt patentkrav 1 - 6, k ä n n e t e c k n a t

n a t därav, att den behandlade blandningen är en blandning som innehåller fosfatider.

8. Förfarande enligt patentkrav 7, k ä n n e t e c k n a t därav, att är en i alkohol löslig fosfatidfraktion.

9. Förfarande enligt patentkrav 7 eller 8, k ä n n e t e c k n a t därav, att den fosfatidhaltiga blandningen innehåller 1 - 30 viktprocent vatten.

10. Förfarande enligt patentkrav 7 - 9, k ä n n e t e c k n a t därav, att den fosfatidhaltiga blandningen innehåller 0,1 - 5 viktprocent 2- eller 3-valent katjonsalt, företrädesvis magnesium- eller kalciumsalt.

11. Förfarande enligt patentkrav 7 - 10, k ä n n e t e c k n a t därav, att ur permeatet tillvaratages en fraktion anrikad på fosfatidylkolin.

12. Förfarande enligt patentkrav 7 - 11, k ä n n e t e c k n a t därav, att ur retentatet tillvaratages en fraktion anrikad på fosfatidylinositol.

13. Förfarande enligt patentkrav 1 - 12, väsentligen såsom ovan beskrivits, speciellt med hänvisning till exemplen.

14. En blandning anrikad på en förening, alltid då den erhållits med förfarandet enligt patentkrav 1 - 13.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patentansökningar:

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

FI

CH

DE

DK

FR

GB P 933814 (CO7 f) , P 1509543 (= FI 62136, CH B 3/16)

NO

SE

US P 4221731 (A23 J 7/00)

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