



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 134383

(51) Int. Cl.² C 13 L 1/12

(21) Patentsøknad nr. 3161/71

(22) Inngitt 25.08.71

(23) Løpedag 25.08.71

(41) Alment tilgjengelig fra 29.02.72

(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 21.06.76

(30) Prioritet begjært 28.08.70, Japan, nr. 75374/70

(54) Oppfinnelsens benevnelse Fremgangsmåte for fraksjonering av amylose.

(71)(73) Søker/Patenthaver
KEN HAYASHIBARA,
9-8, 4-chome, Higashi-Furumatsu,
Okayama-shi, Okayama,
Japan.

(72) Oppfinner
MASASHI KURIMOTO, Ifukucho, Okayama-shi, Okayama,
MIKIHICO YOSHIDA, Higashi-Furumatsu, Okayama-shi,
Okayama, Japan.

(74) Fullmektig Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner
Fransk patent nr. 2007277 (C 13 L 1/00)
BRD utl. skrift nr. 1044767 (12c-1)

Oppfinnelsen vedrører en fremgangsmåte for fraksjonering av amyloser i makromolekylær amylose med en polymeriseringsgrad (DP-verdi) over 50 og lavmolekylær amylose med en polymeriseringsgrad under 50, og fremgangsmåten er karakterisert ved at man med oppløsningsmidler utvalgt blant gruppen som består av varmt vann, en vandig oppløsning av en alkanol med 3-6 karbonatomer, en vandig oppløsning av en fettsyre og en vandig oppløsning av aceton, gjennomfører en eller flere ekstraksjoner av tørkede amyloseblandinger i pulverform inneholdende amylosemolekyler med forskjellig polymerisasjonsgrad, og at man fraskiller den oppløsningen som inneholder oppløst lavmolekylær amylose fra den uoppløste, gjenværende makromolekylære amylose.

Den oppløsning som er oppnådd ved ekstraksjon med ett eller flere oppløsningsmidler, kan så konsentreres, tørkes og pulveriseres, hvoretter fraksjoneringen ved ekstraksjon med ett eller flere oppløsningsmidler gjentas, hvorunder man utvinner den lavmolekylære amylose.

Som oppløsningsmiddel anvendes fortrinnsvis vann og/eller blandinger av vann med alkanoler inneholdende 3-6 karbonatomer eller med fettsyrer.

Den uoppløselige, gjenværende makromolekylære amylose

134383

i pulverform kan ekstraheres pånytt etter gelatinering ved opphetning, tørking og pulverisering.

Stivelse består vanligvis av amylose, som har lineær struktur og en DP-verdi av ca. 1000, samt amylopektin, som inneholder mange forgrenede kjeder. Man kjenner til mange typer av naturlig stivelse, hvis amyloseinnhold ligger innen området 20-80 vektprosent.

Når en vannsuspensjon av en eller annen naturlig stivelse gelatineres og deretter underkastes virkningen av en α -1,6-glukosidase, som er et enzym som selektivt og utelukkende hydrolyserer de α -1,6-glukosidiske bindinger, dvs. amylopektinets forgreningsbindinger, kan stivelsen omdannes fullstendig til molekyler med rette kjeder i likhet med amylose. Selv om det resulterende stivelseshydrolysat naturligvis inneholder amylose med en DP-verdi av nesten 1000, så inneholder hydrolysatet også en stor mengde molekyler med DP-verdien 15-20 beroende på hydrolysen av de i den naturlige stivelsen opprinnelig tilstedeværende forgreningsbindinger. Det er derfor ønskelig å separere den kortkjedete amylose (DP mindre enn 50) fra den naturlige amylose (DP større enn 50) på grunn av de forskjellige anvendelsesområder.

Ved fraksjonering av en amyloseblanding med bredt DP-område er det nødvendig å utnytte egenskapene hos de i amyloseblandingen tilstedeværende amyloser, som f. eks. forskjellene i retrograderingsegenskaper, krystalliserbarhet, oppløselighet i vann og vannholdige organiske oppløsningsmidler, samt oppløsningshastighet som følge av forskjellene i polymeriseringsgrad. De ifølge oppfinnelsen foreslåtte fraksjoneringsmetoder er følgende:

1) En metode for fraksjonering av amyloser ved utnyttelsen av de forskjellige amylosemolekylers forskjellige vannoppløselighet.

2) En metode for fraksjonering av amyloser ved utnyttelsen av de forskjellige amylosers forskjellige oppløselighet i vannoppløsninger av uorganiske salter, som f. eks. magnesiumsulfat.

3) En metode for fraksjonering av amyloser ved utnyttelsen av oppløselighetene av komplekse forbindelser med n-butanol og andre.

Fraksjonering kan tilveiebringes i en viss utstrekning ved en hvilken som helst av de ovenfor beskrevne metoder. Den fraskilte utfelling av langkjedet amylose inneholder imidlertid fremdeles en stor mengde oppløsningsmiddel, hvilket vanskeliggjør rensingen.

Andre metoder enn de ovenfor beskrevne krever enten et stort forbruk av uorganiske salter, hvilket medfører problemer under avsaltingen etter separasjonen, eller krever anvendelse av et organisk oppløsningsmiddel i separeringstrinnet. Metodene har dessuten en annen ulempe, nemlig at bare en utilstrekkelig separasjonsgrad kan oppnåes hvis amyloseblandingen har en for industriell anvendelse egnet konsentrasjon.

Ettersom de fleste ulempene beror på at amylosefellingen inneholder en stor mengde gjenværende oppløsningsmiddel, har man frembragt en fremgangsmåte for fremstilling av en felling med lavt vanninnhold, dvs. en fremgangsmåte for å påskynde separasjonen av væske (oppløsning) og utfelling. Det er lyktes å utvikle en fremgangsmåte som omfatter frysing av den amyloseholdige oppløsning, å fremme amylosens retrogradering, opptining av det frosne produkt ved oppvarming og således separering av den retrograderte langkjedete amylose fra den overstående væske og oppløsning av kortkjedet amylose.

Ifølge oppfinnelsen foregår retrograderingen av langkjedet amylose og isolering av bundet vann fra amylose ved frysing av det ved hydrolysen med α -1,6-glukosidase oppnådde hydrolysat, og ved å fjerne væskedelen umiddelbart etter opptining kan fraksjoneringen av amylosen til produkter med forskjellige DP-verdier gjennomføres med letthet.

Den ovenfor beskrevne separasjonsmetode, som omfatter frysing og opptining, krever imidlertid fullstendig frysing av en stor mengde amyloseoppløsning og gjenopphetning av denne opp til 60-70°C, hvilket medfører høye omkostninger ved industriell drift.

Man har studert forskjellige metoder for å separere amylosefellingen fra oppløsningsmidlene for å finne den best egnete måte. Disse studier resulterte i følgende prosess: I stedet for å separere langkjedet amylose som felling fra amyloseoppløsningen, suspenderes tørt pulver av amyloseblanding i et oppløsningsmiddel. Den kortkjedete amylose i amylosepulveret elueres med letthet, og oppløsningen og den faste masse bestående av langkjedet amylose, separeres innen partiklene av langkjedet amylose begynner å svelle. Denne metode har vist seg å være meget effektiv og ha en ønskelig separeringseffekt. Den langkjedete amylosefraksjonen med en DP-verdi over 50 betegnes i det følgende fraksjon L og den kortkjedete amylosefraksjonen med en DP-verdi av 15-50 betegnes fraksjon K.

134383

Den av de to amylosefraksjoner som trenger igjennom "Diaflo" ultrafiltreringsmembran PM-30 (et produkt fra Amicon Corporation, USA) kalles fraksjon K, mens den fraksjon som ikke trenger igjennom denne membran, kalles fraksjon L.

Man har studert dannelsen av amylosefelling i den vannholdige amyloseoppløsning og har funnet følgende: Fraksjon L danner uregelmessig, fiberlignende masse, som eventuelt er bundet gjennom hydrogenbindinger, og den utfelles lett. Ettersom konsentrasjonen av fraksjon L i den overstående væske er ca. 5 vektprosent ved 65-75°C og konsentrasjonen av fraksjon K er 16-19,5 vektprosent ved samme temperatur, utfelles overskuddet av amylose. Fraksjon L danner dessuten retrogradert stivelse som beskrevet ovenfor. Fraksjon K hydratiseres med vann flere enn ti ganger sin egen vekt. Selv om fellingen av fraksjon K ved røntgenanalyse viste seg å ha en relativt høy krystallinitet, er dehydratiseringen av fraksjonen ytterst vanskelig å gjennomføre, ettersom fellingen inneholder en stor mengde vann. Fellingen av fraksjon L inneholder derfor en oppløsning av fraksjon K hvis vekt er mere enn ti ganger større enn vekten av fraksjon L, noe som eventuelt volder vanskeligheter under den etterfølgende separasjon av de to fraksjoner. Hvis imidlertid oppløsningen av amyloseblanding enten tørkes i en tørkeanordning med luftstrøm og pulveriseres eller sprøytetørkes og dehydratiseres etter konsentrering, og hvis det oppnådde pulver deretter suspenderes i varmt vann eller en varm blanding av oppløsningsmiddel og omrøres, så oppløser fraksjon K seg raskt inntil den når en konsentrasjon av 13-17 vektprosent. Omrøring i ytterligere 60-120 minutter øker imidlertid bare i ubetydelig grad oppløsningens konsentrasjon. Oppløsningen av fraksjon L opphører på den annen side ved en konsentrasjon av 0,2-1,5 vektprosent under lignende betingelser og konsentrasjonen er meget lavere enn konsentrasjonen i den overstående væske av den mettede oppløsning etter kjøling. Konsentrasjonen av fraksjon K nærmer seg 14-17 vektprosent etter en verdi lik den i den overstående væske av den mettede oppløsning.

Selv om et lignende fenomen kan observeres ved kjøling av en mettet oppløsning av en amyloseblanding, forblir flere prosent av L-fraksjonen i oppløsningen, og fellingen av fraksjon L får et høyere vanninnhold, ettersom fraksjon L i oppløsningen er meget mere hydrofil enn det tørkede pulver. Den etterfølgende separasjon blir således vanskelig å gjennomføre.

Hvis på den annen side det tørkede amylosepulver suspenderes i varmt vann, mister den i den dehydratiserte og tørkede amylose tilstedeværende L-fraksjon sitt fuktighetsinnhold, den retrograderes kraftig ved hydrogenbindinger, den minsker kraftig sin oppløselighet og den kan bare oppløses til en konsentrasjon av 0,2-1,5 vektprosent i varmt vann, mens fraksjon K, som har en krystallignende struktur, oppløser seg lett i varmt vann, og hoveddelen av den kan ekstraheres på ytterst kort tid.

Hvis altså amylosepulveret suspenderes og omrøres i varmt vann med et tilstrekkelig volum til å oppløse i pulveret tilstedeværende fraksjon K, ekstraheres fraksjon K effektivt, og bare en ytterst liten del av fraksjon L oppløser seg. Hoveddelen av fraksjon L blir derfor tilbake i pulverform i den uoppløselige faste rest. Den ekstraherte oppløsning inneholder altså hovedsakelig fraksjon K, og det gjenværende faste stoff kan fraskilles som et produkt hovedsakelig bestående av fraksjon L.

Den uoppløselige gjenværende amylose skiller seg dessuten fra fellingen fra den mettede amyloseoppløsning ved at dens fuktighetsinnhold er senket til 60-75 vektprosent, ved at den har en relativt fastere granulær form, som oppviser lavere svelling, og ved at den er meget lett å separere fra moderluten. Den ekstraherte oppløsning består altså av fraksjon K, og den uoppløselige amylose sveller ikke, hvilket medfører at det er lett å separere amylosen fra oppløsningen. Disse to oppdagelser har resultert i utviklingen av foreliggende oppfinnelse.

Det tørkede amylosepulver retrograderes først så kraftig som mulig ved dehydratisering. Ettersom man foretar en ekstraksjon i et fasesystem inneholdende fast stoff plus væske, er det fordelaktig å anvende amylosen i form av et fint pulver med maksimal spesifikk overflate. Det er derfor nødvendig å tørke og pulverisere amylosen til et fint pulver uten altfor kraftig heving av den konsentrerte amyloseoppløsnings temperatur for å fremme amylosens retrogradering. For dette formål bør den høykonsentrerte amyloseoppløsning enten tørkes ved lufting og pulveriseres eller sprøyte-tørkes, slik at man får retrograderte granuler, eller tørkes ved anvendelse av en pneumatisk transport-tørkeanordning.

Selv om vann er et oppløsningsmiddel, i hvilket amylose er meget lett oppløselig, kan man ifølge oppfinnelsen også anvende en blanding av vann og med vann blandbare organiske oppløsningsmidler, som f. eks. n-butanol, propanol, fettsyrer, aceton etc.

134383

som lett danner komplekse forbindelser med amylose. Når f. eks. amylose ekstraheres med varmt vann inneholdende 7 % n-butanol, kan fraksjon K ekstraheres til en konsentrasjon av 18-18,5 vektprosent sammenlignet med en konsentrasjon av 13-16 vektprosent ved ekstraksjon med bare vann. I begge tilfeller er konsentrasjonen av ekstrahert L-fraksjon 0,5 -1 vektprosent. Man antar at det dannes spiralformede komplekser mellom n-butanol og amylosefraksjon K, hvilket ytterligere letter ekstraksjonen av denne fraksjon.

Ettersom den ovenfor beskrevne metode er basert på forskjellen i oppløsningshastighet mellom forskjellige amyloser i et ikke-likevektssystem omfattende fraksjon L, fraksjon K og oppløsningsmiddel, og er en metode for å unngå svelling av amylosepulver i varmt vann, er det nødvendig å holde ekstraksjonstiden så kort som mulig og å fraskille fast stoff fra oppløsningen så raskt som mulig for effektivt å ekstrahere fraksjon K. Vanligvis foretrekker man å ekstrahere og å fraskille den uoppløselige rest fra oppløsningen ved 60-80°C i løpet av 1-20 minutter.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen skal beskrives i detalj i det følgende. Den amyloseblanding som anvendes som utgangsmateriale kan utgjøres av amylose fraksjonert fra stivelse. For å skaffe en amyloseblanding inneholdende amylose med en DP-verdi lavere enn 50 anvendes imidlertid vanligvis stivelse inneholdende amylopektin, f. eks. amylomaisstivelse, maisstivelse, batatstivelse, potetstivelse, tapiokastivelse, sagostivelse og hvetestivelse. En suspensjon av en eller annen av disse stivelsestyper opphetes og omrøres ved 100-170°C, gelatineres til en DE-verdi (dekstroseekvivalent-verdi) lavere enn 0,5 %, og kjøles deretter til 40-60°C. Til den gelatinerte stivelse tilsettes derpå en dyrkingsbuljong som inneholder α -1,6-glukosidase, og som fås ved dyrking av en eller annen av følgende stammer, nemlig *Pseudomonas amyloclavata* ATCC 21216, *Escherichia intermedia* ATCC 21073, *Lactobacillus brevis* IFO 3345, *Nocardia asteroides* IFO 3384 og *Micrococcus lysodeikticus* IFO 3333. Man passer på at stivelsen ikke retrograderes. Blandingen inkuberes for å frembringe spaltning av amylopektinets forgreningsbindinger.

Som resultat fås en blanding som utelukkende inneholder amylose med rette kjeder. Blandingen består nærmere bestemt av naturlig amylose, som foreligger i det opprinnelige stivelsesmateriale, og er en langkjedet amylosefraksjon med en DP-verdi over 50, samt kortkjedet amylose dannet ved hydrolysen av amylopektinfraksjonen i det opprinnelige stivelsesmateriale.

7

134383

Den ovenfor beskrevne amyloseblanding konsentreres til en konsentrasjon over 30 vektprosent, omrøres samt kjøles for å fremme retrogradering eller krystallisering av amylosen, samt dehydratiseres og tørkes deretter etter en eller annen vanlig tørkemeto-
de, f. eks. sprøytetørking, tørking ved hjelp av en luftstrøm eller trommeltørking. Fuktighetsinnholdet bringes ned til under 18 vektprosent. I det etterfølgende trinn anvendes et granulært produkt med en partikkelstørrelse mindre enn 0,15 mm. Man foretrekker å finfordele det produkt som fåes ved lufttørking eller trommeltørking til et fint pulver med en partikkelstørrelse mindre enn 0,15 mm. Ettersom det sprøytetørkede produkt foreligger i porøs form, kan oppfinnelsen gjennomføres med et granulært produkt med partikkelstørrelse 0,15 - 0,84 mm.

Det finnes ingen særskilt begrensning for ekstraksjons-temperaturen, men man foretrekker å gjennomføre ekstraksjonen innen temperaturområdet 40-80°C av hensyn til amylosens oppløselighet. Opphetning ved temperaturer over 80°C i 1-60 minutter frembringer absorpsjon av vann i amylosepulveret, hvilket fører til svelling av dette og vanskeliggjør separasjonen av fast stoff og væske. Hvis derimot ekstraksjonen gjennomføres ved temperaturer lavere enn 40°C, kreves en lengere ekstraksjonstid.

Ettersom hoveddelen av fraksjon K kan oppløses under omrøring i løpet av ca. 2 minutter, foretrekker man å gjennomføre ekstraksjonen ved 60-75°C i løpet av 20 minutter. Ekstraksjon innen dette temperaturområde under anvendelse av vann som oppløsningsmiddel kan gjennomføres inntil konsentrasjonen av fraksjon K i ekstraksjonsoppløsningen er 13-17 vektprosent, mens en konsentrasjon av 18-18,5 vektprosent kan oppnåes, når vann som inneholder 7 % n-butanol anvendes for ekstraksjonen. Ved denne temperatur kan fraksjon L ekstraheres med vann til en konsentrasjon av mindre enn 1,5 vektprosent, og med en blanding av vann og n-butanol til en konsentrasjon av 0,5- 1 vektprosent.

Den for ekstraksjonen nødvendige vannmengde bestemmes av den ovenfor angitte oppløselighet av fraksjon K. Det vil kreves en vanntilsetning som er tilstrekkelig til å frembringe ekstraksjon av fraksjon K i hele det faste stoff. Ved tilsetning av et oppløsningsmiddel som gir 10-25 %'s amyloseoppløsning, kan hoveddelen av fraksjon K ekstraheres fra amylosepulver oppnådd fra vanlig stivelse. Ettersom amylose, oppnådd ved spaltning av amylomais-

134383

stivelse, inneholder en mindre mengde av fraksjon K, kan et lignende resultat oppnåes selv med en mindre mengde oppløsningsmiddel.

Såsom oppfinnelsen imidlertid går ut på en ekstraksjon i et fasesystem med fast stoff plus væske, er det vanskelig fullstendig å ekstrahere den indre del av amylosepartiklene i et eneste ekstraksjonstrinn. Ekstraksjonsproduktet bør derfor ekstraheres ytterligere én gang og om nødvendig to ganger med friskt varmt vann. Ettersom det er vanskelig å ekstrahere fraksjon K fra den indre del av amylosepartiklene, minsker ekstraksjonseffekten meget kraftig i løpet av det andre og tredje ekstraksjonstrinn. Konsentrasjonen av ekstraksjonsoppløsningen minsker til 10 vektprosent resp. 5 vektprosent.

Hvis en fullstendig separasjon er ønskelig, er det derfor hensiktsmessig å svelle det uoppløselige amylosepulver pånytt ved tilsetning av vann og opphetning, og deretter tørke og pulverisere materialet, hvorefter en fornyet ekstraksjon gjennomføres.

Et amylosepulver som fåes ved hydrolyse av vanlig stivelse og som inneholder ca. 30 % L-fraksjon kan ifølge den i det foregående beskrevne fremgangsmåte renses til en amylose, som inneholder mere enn 90 % L-fraksjon.

Oppfinnelsen er illustrert ved følgende, ikke begrensede eksempler.

Eksempel 1.

A. Fremstilling av amylosepulver som skal anvendes som utgangsmateriale.

Enten maisstivelse eller amylomaisstivelse (tilsynelatende innhold av naturlig amylose 50 vektprosent) ble vasket med vann, hvorefter man fremstilte en 15 %'s stivelsesoppslemming, som ble oppvarmet i 15 minutter ved 135°C under kontinuerlig omrøring. Derpå ble den resulterende, homogent gelatinerte oppløsning raskt kjølet (DE-verdi 0,5). Ved 50°C og pH 3,5 ble deretter tilsatt per gram stivelse 50 enheter α -1,6-glukosidase fra en dyrkingsbuljong av *Pseudomonas amyloclavata* ATCC 21216, hvorpå blandingen ble inkubert ved 45°C i 35 timer. Det resulterende hydrolysat ble konsentrert til 30 vektprosent under anvendelse av en vakuumfordamper forsynt med en roterende spiral. Halvparten av det konsentrerte produkt ble tørket ved lufting ved

134383

50-60°C, og den andre halvdelen ble sprøytetørket under anvendelse av pneumatiske forstøvningsmunnstykker. Det første produkt ble finfordelt og siktet gjennom en sikt med siktåpning 0,15 mm. En prøve av det materiale som passerte sikten ble oppsamlet og analysert. Det sprøytetørkede produkt var et fint pulver som passerte gjennom en sikt med siktåpning 0,15 mm. Fuktighetsinnholdet i de to produkter var 3 resp. 7 vektprosent.

Prøvene ble fraksjonert ved hjelp av ultrafiltreringsmembran PM-30, hvorunder det viste seg at den prøven som var fremstilt med maisstivelse som utgangsmateriale inneholdt 70 % fraksjon K, mens den prøven som var fremstilt med amylomaisstivelse som utgangsmateriale inneholdt ca. 50 % fraksjon K.

B. Ekstraksjon av maisstivelsehydrolysat (amylose) tørket ved lufting.

1000 gram maisstivelseshydrolysat (amylose) tørket ved lufting, ble suspendert i 4150 ml vann, hvorunder man fikk 5150 gram av en 19,4 %'s blanding. Blandingen ble holdt ved 70°C under omrøring i 15 minutter, hvorpå blandingen umiddelbart ble sentrifugert i en sentrifugalseparator av kurvtypen for å utskille uoppløst amylose. Man fikk 1730 gram uoppløselig rest. Restens tørrvekt var 521 gram, hvorav 260 besto av fraksjon L og 261 gram av fraksjon K, dvs. forholdet K:L var ca. 50:50.

Ekstraksjonsoppløsningen veide 3420 gram og inneholdt 14 % tørrstoff, hvorav 40 gram besto av fraksjon L, hvilket er bare 13 % av den mengde fraksjon L som opprinnelig var tilstede i utgangsmaterialet. En stor mengde fraksjon K ble ekstrahert derimot.

Til den påny utfelte del ble tilsatt 1745 ml vann av 70°C, slik at man fikk en 15 %'s suspensjon. Derpå ble suspensjonen omrørt ved 70°C i 15 minutter, hvorefter den umiddelbart ble sentrifugert. Man fikk 430 gram utfelling. Denne uoppløselige amyloseutfelling inneholdt 237 gram fraksjon L og 193 gram fraksjon K, altså et forhold K:L av 45:55. Denne utfelling ble ekstrahert på lignende måte med et like stort volum varmt vann. Den mengde som kunne ekstraheres var imidlertid ytterst liten, og forholdet K:L ble endret bare meget ubetydelig.

C. Fornytt tørking og ekstraksjon av gjenværende uoppløselig amylosepulver.

Til uoppløselig gjenværende amylose, oppnådd ved en enkel ekstraksjon som beskrevet i det foregående, ble tilsatt vann

134383

hvorpå man gelatinerte ved opphetning og deretter igjen retrograderte, tørket og pulveriserte. Pulveret ble siktet gjennom en sikt med siktåpning 0,15 mm, hvorpå 500 gram av det produkt som passerte gjennom sikten ble blandet med 1500 ml varmt vann (70°C) til en 25 %'s blanding, som ble omrørt i 15 minutter og deretter sentrifugert. Av den uoppløselige amylose ble det fremstilt en 17,4 %'s suspensjon, som deretter ble ekstrahert og sentrifugert. På lignende måte ble en tredje ekstraksjon med en 15 %'s suspensjon gjennomført. Herunder ble oppnådd et produkt som inneholdt 94 % fraksjon L. Fraksjon L ble oppnådd i et utbytte av 71 %, beregnet på mengden som opprinnelig var tilstede i utgangsmaterialet. Det ble ikke oppnådd noen endring i forholdet K:L ved en ytterligere ekstraksjon. De oppnådde resultater er stillet opp i følgende tabell 1.

Tabell 1.

		1ste amylosepulver, tørket etter hydrolyse med α -1,6-glukosidase		2dre amylosepulver tørket etter den første ekstraksjon.		
		1ste ekstr.	2den ekstr.	1ste ekstr.	2den ekstr.	tredje ekstr.
Ut-gangs-suspen-sjon for ekstrak-sjon	Suspensjonens vekt, gram	5150	3470	2000	2200	1800
	innh. tørrstoff, vekt %	19,4	15	25	17,4	15,2
	Vekt av tørrstoff, gram	1000	520	500	383	273
	Vekt % fraksjon K	70	50	50	37	17
	Vekt % fraksjon L	30	50	50	63	83
	Vekt av fraksjon K, gram	700	260	250	143	45
	Vekt av fraksjon L, gram	300	260	250	240	228
Ekstra-hert oppløs-ning	Vekt av ekstrahert oppløsning gram	3420	2040	900	1300	1059
	Konsentrasjon, vekt %	14	4,4	13	8,5	4,9
	Vekt av fraksjon K, gram	440	67	107	98	38
	Vekt av fraksjon L, gram	40	23	10	12	14
Uopplø-selig rest	Vekt uoppløselig rest, gram	1730	1430	1100	900	741
	Vekt % fraksjon K	50	45	37	17	6
	Vekt % fraksjon L	50	55	63	83	94
	Vekt fraksjon K, gram	260	193	143	45	13
	Vekt fraksjon L, gram	260	237	240	228	213
utbytte	Utbytte av fraksjon L % beregnet på mengden av fraksjon L i utgangsmaterialet	87	79	80	76	71

134383

Eksempel 2. Amylomaissstivelseshydrolysat i pulverform, oppnådd ifølge den i eksempel 1A beskrevne fremgangsmåte, ble behandlet på lignende måte som beskrevet i eksempel 1C. Hydrolysatet ble omrørt ved 75°C i 20 minutter, og man ekstraherte tre ganger. Det etter den første ekstraksjon oppnådde uoppløselige amyloseprodukt inneholdt 64 % fraksjon L, produktet etter den andre ekstraksjon inneholdt 81 % fraksjon L og produktet etter den tredje ekstraksjon 91 % fraksjon L. Utbyttet av fraksjon L var 86 %, altså et godt resultat.

Eksempel 3. En amylosepulverprøve, oppnådd ved hydrolyse av maisstivelse og sprøytetørking ifølge eksempel 1A, ble ekstrahert med varmt vann. Først ble fremstilt en 10 %'s suspensjon, som ble ekstrahert ved 75°C i 20 minutter, og deretter umiddelbart sentrifugert. Det således oppnådde uoppløselige amylosepulver var meget lett å utskille ved sentrifugering. Ettersom pulveret var porøst, fikk man ved ekstraksjon tre ganger en suksessiv økning av innholdet av L-fraksjon til 41 %, 62 % resp. 78 % fra utgangsinnholdet 30 % i utgangsmaterialet. Dette viser at det var lett å ekstrahere fraksjon K i de indre deler av det porøse amylosepulver. Utbyttet av fraksjon L var dog bare 50 %.

Eksempel 4. Av amylosepulver fremstilt ved sprøytetørking av maisstivelseshydrolysat ifølge eksempel 1A ble fremstilt en 25 %'s suspensjon, som ble ekstrahert ved 75°C i 10 minutter. Som oppløsningsmiddel ble anvendt en vandig oppløsning som inneholdt 7 % n-butanol. Amylosepulveret ble ekstrahert tre ganger. Innholdet av L-fraksjon i den som utgangsmateriale anvendte stivelse var 30 %, hvilket innhold øket til 45 %, 59 % resp. 75 % i de etter de tre ekstraksjoner oppnådde amylosepulver. Utbyttet av fraksjon L var imidlertid bare ca. 50 %. Man fant at butanolen øket amylosens oppløselighet, at både L- og K-fraksjonene oppløste seg lett ved de suksessive ekstraksjoner og at selv om innholdet av fraksjon L øket, så hadde utbyttet av denne fraksjon en tendens til å minske. Man forsøkte derfor å gjennomføre ekstraksjonen med en lavere utgangskonsentrasjon i suspensjonen, nemlig 15 %, og fant at et produkt med et innhold av L-fraksjon på 75 % kunne oppnåes ved den andre ekstraksjonen, og at utbyttet kunne økes til ca. 75 %.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte for fraksjonering av amyloser i makromolekylær amylose med en polymeriseringsgrad over 50 og lavmolekylær amylose med en polymeriseringsgrad under 50, k a r a k t e r i s e r t ved at man med oppløsningsmidler utvalgt blant gruppen som består av varmt vann, en vandig oppløsning av en alkanol med 3-6 karbonatomer, en vandig oppløsning av en fettsyre og en vandig oppløsning av aceton, gjennomfører en eller flere ekstraksjoner av tørkede amyloseblandinger i pulverform inneholdende amylosemolekyler med forskjellig polymerisasjonsgrad, og at man fraskiller den oppløsningen som inneholder oppløst lavmolekylær amylose fra den uoppløste, gjenværende makromolekylære amylose.
2. Fremgangsmåte som angitt i krav 1, k a r a k t e r i s e r t ved at den oppløsning som er oppnådd ved ekstraksjon med ett eller flere oppløsningsmidler, konsentreres, tørkes og pulveriseres, hvoretter fraksjoneringen ved ekstraksjon med ett eller flere oppløsningsmidler gjentas, hvorunder man utvinner den lavmolekylære amylose.
3. Fremgangsmåte som angitt i krav 1, k a r a k t e r i s e r t ved at man som oppløsningsmiddel anvender vann og/eller blandinger av vann med alkanoler inneholdende 3-6 karbonatomer eller med fettsyrer.
4. Fremgangsmåte som angitt i krav 1, k a r a k t e r i s e r t ved at den uoppløselige, gjenværende makromolekylære amylose i pulverform ekstraheres pånytt etter gelatinering ved opphetning, tørking og pulverisering.