

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 933405 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **933405**

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

C12N 9/00

C12N 9/50

B01D 21/01

(22) Tekemispäivä - Ingningsdag - Filing date **29.07.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **29.07.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **31.01.1994**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

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

30.07.1992 US 921666

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • American Cyanamid Company, One Cyanamid Plaza, Wayne, NJ 07470-8426, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Cibulskas, Algird S., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 • Asbell, Henri R., USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Mannichin akryyliamidipolymeerien ja kvaternaaristen polyamiinien seosten käyttö entsyymiliemivirtojen flokkuloinnissa

**Användning av blandningar av Mannich-akrylamidpolymerer och kvaternärpolyaminer för flockulering av
enzymlösningens flöden**

Mannichin akryyliamidipolymeerien ja kvaternaaristen polyamiinien seosten käyttö entsyymiliemivirtojen flokkuloinnissa

5 Keksinnön tausta

Entsyymien valmistusta fermentoimalla on harjoitettu jo monien vuosien ajan. Fermentointi suoritetaan tavallisesti ruostumattomasta teräksestä valmistetuilla laitteilla, eli sekoitus- ja seostussäiliöissä, sekä siemen- ja pääfermenttoreissa. Vakiolämpötilaa, automaattisia vaahdon ja pH:n säätäjiä sekä ilmanpuhdistimia käytetään, koska vieraiden mikro-organismien poissaolo on välttämätöntä. Hanavesi yhdistetään yleensä väliaineen ainesten kanssa, ja entsyymien talteen ottaminen alkaa heti kun fermentointi päättyy. Väliaine jäädytetään ja sentrifugeja käytetään bakteerien ja suurten liukenemattomien kappaleiden poistamiseen emäliuoksesta, ja sen jälkeen pienemmät partikkelit erotetaan suodattimilla. Entsyymit konsentroidaan ja poistetaan suodoksesta lisäämällä saostusainetta. Sitten saostumaa käsitellään edelleen uudella suodoatuksella ja kuivauksella jne. ja sitten se standardisoidaan, kuten esimerkiksi käyttämällä natriumkloridia.

Proteaasit ovat entsyymejä, joiden on havaittu olevan erityisen käyttökelpoisia sellaisilla teollisuuden aloilla kuten juuston valmistus, lihan mureuttaminen, leivän paistaminen, oluen sameuden poistaminen, ruuansulatuspapuvälineet, vaatteiden puhdistaminen, lääkeaineiden valmistaminen ja vastaavat. Viljelemällä tuotettuja proteaaseja voidaan käyttää ruokien lisäaineina.

30 Tunnusomaista proteaasientsyymiliemelle on sellaisen suspension muodostuminen, joka ei laskeudu. Sentrifugoitaessa näyte koeputkessa kiintoaine laskeutuu koeputken alempaan 70 %:iin ja ainoastaan putken ylin 30 % on emäliuosta.

Eräs vaikeimmista entsyymien valmistukseen liittyvistä ongelmista on entsyymien erottaminen liemestä. Vaikka monia saostusaineita on käytetty entsyymiliemien saostamiseen, ovat useimmat näistä kärsineet tehottomuudesta, mikä tekee nämä aineet kaupallisesti vähemmän houkutteleviksi. Esimerkkejä kaupallisesti käytetyistä saostusaineista ovat epikloorihydriini-dimetyyliamiini-kondensaatiotuotteet jotka on silloitettu dietyleenitriamiini/disyanamidilla; sekä Mannichin akryyliamidipolymeerit sekä polydimetyyli-

10 diallyyliammoniumhalogenidiseokset, joita on kuvattu US-patentissa 4 997 759. Nämä lisäaineet, vaikka ne ovat hyödyllisiä monissa tilanteissa, eivät ole osoittautuneet yleisesti hyväksyttäviksi kaikkien entsyymiliemien kirkastamiseen, ja sen vuoksi teollisuus etsii jatkuvasti muita materiaaleja jotka ovat käyttökelpoisia tässä tarkoituk-

15 sessa.

Keksinnön yhteenveto

Tämä keksintö koskee koostumuksia ja menetelmiä vesipohjaisten entsyymiliemien saostamiseksi, käsittäen seosten Mannichin akryyliamidipolymeeristä ja sellaisesta kvaternaarisesta polyamiinista jonka moolimassa on vähintään noin 25 000 käyttämisen saostusaineena. Tällaisten saostusaineiden on havaittu tuottavan tehokkaan saostuman laskeutumisen.

20

25 Keksinnön ja edullisten suoritusmuotojen kuvaus

Tämä keksintö koskee koostumusta ja menetelmää vesipohjaisen entsyymiliemen saostamiseksi, joka menetelmä käsittää sellaisen saostusaineen lisäämisen mainittuun liemeen, joka koostuu seoksesta (1) Mannichin akryyliamidipolymeeriä ja (2) sellaista kvaternaarista polyamiinia, jonka moolimassa on vähintään noin 25 000.

30

Seokset sisältävät näitä kahta polymeeriä (1) ja (2) suhteessa 99:1 - 1:99, edullisesti 90:10 - 10:90, todellisten polymeerikiintoaineiden painon mukaan, vastavasti.

35

Mannichin akryyliamidipolymeerit ovat alalla yleisesti hyvin tunnettuja, esimerkkejä niistä on kuvattu US-patentissa 4 137 164. Yleisesti nämä polymeerit ovat akryyliamidin homopolymeerejä tai sen kopolymeerejä sellaisen komonomeerien kuten akrylonitriilin, metakryyliamidin, akryylihapon jne. kanssa, määrinä korkeintaan 50 %, edullisesti 5 - 50 % tuloksena olevan kopolymeerin painosta. Polymeerien moolimassat ovat alueella noin 10 000 - noin 3 000 000, ja ne on kemiallisesti modifioitu tuottaen dimetyyliaminometyyliryhmiä sellaisessa määrin, että polymeeri sisältää 25 - 100 mol-% näitä ryhmiä, edullisesti ainakin 40 mol-%.

Kvaternaarinen polyamiini voi olla mitä tahansa polyamiinia, jota on kaupallisesti saatavilla, tai se voidaan valmistaa alalla aikaisemmin tunnetuilla menetelmillä. Kvaternaarisen polyamiinin moolimassa on edullisesti alueella 50 000 - 350 000, erityisen edullisesti välillä 250 000 - 300 000. Edulliset kvaternaariset polyamiinit voidaan valmistaa antamalla yhden moolin mono- (tai di-) alkyliamiinia tai mono- (tai di-) alkanoliamiinia reagoida noin 0,5 - noin 1,5 moolin, edullisesti noin 0,7 - noin 1,2 moolin, epihalohydriiniä kanssa lämpötilassa joka on alueella noin 0 °C - 100 °C. Pienten määrien, eli korkeintaan noin 10 mol-% multifunktionaalista amiinia voidaan antaa reagoida mukana. Edellä oleva selostus on US-patentissa 4 717 550, sekä siinä lainattujen viitteiden, erityisesti US-patenttien 1 977 253 ja 3 248 353, kuvattun menetelmän mukainen. Sopivia amiineja ovat ammoniakki, metyyliamiini, dimetyyliamiini, metanoliamiini, dimetanoliamiini, etyleenidiamiini, dietyleenitriamiini, fenyleenidiamiini ja vastaavat, tai seokset mistä tahansa edellä mainituista. Edullinen on seos joka sisältää dimetyyliamiini ja etyleenidiamiinia.

Edullisia kvaternaarisiä polyamiineja ovat reaktiotuotteet (i) mono- (tai di-) alkyliamiinista tai mono-

(tai di-) alkanoliamiinista ja (ii) epihalohydriniä sekä (iii) korkeintaan noin 10-mooli-%:ista alkyleenidiamiinia tai ammoniakkia. Edullinen monoalkyyliamiini on monometyyliamiini, edullinen monoalkanoliamiini on monoetanoliamiini, edullinen dialkyyliamiini on dimetyyliamiini, ja edullinen epihalohydrini on epikloorihydriini.

Edullisin kvaternaarinen polyamiini on reaktiotuote noin 50-mol-%:ista epikloorihydriiniä, noin 49-mol-%:sta dimetyyliamiinia ja noin 1-mol-%:ista etyleenidiamiinia. Erinomaisia tuloksia saavutetaan, jos tuloksena olevan polymeerin moolimassa on noin 250 000 - noin 300 000.

Polymeerikoostumusta sekoitettaessa Mannichin akryyliamidipolymeeri on edullisesti vesiliuoksena jossa on 3 - 8 % kiintoainetta, ja kvaternaarinen polyamiini on edullisesti vesiliuoksena, jossa on 50 paino-% kiintoainetta.

Polymeeriseos voidaan lisätä entsyymiliemeen sellaisenaan tai nämä kaksi polymeeriä voidaan lisätä erillään, mutta niin tarkasti samaan aikaan kuin mahdollista, koska polymeerien tuottama parantunut hyöty liittyy niiden läsnä oloon liemessä samanaikaisesti. Liemeen lisättävä seoksen määrä on sellainen joka on tehokas tuottamaan kirkkaimman emäliuoksen ja saavuttamaan suurimman mahdollisen kiintoaineen pakkautumisen. Yleensä määrät jotka ovat noin 10 - 100 g polymeeriä yhtä liemilitraa kohti, edullisesti noin 25 - 75 g/litra, ovat tehokkaita, vaikka erityisissä tapauksissa suuremmat tai pienemmät määrät saattavat olla hyödyllisiä.

Tämän keksinnön mukainen menetelmä sen edullisissa suoritustavoissa sisältää myös vaiheet (b) entsyymiliemen ja saostusaineen sekoittaminen; sekä (c) entsyymiliemi/saostusaineseoksen laskeuttaminen.

Edullisten suoritusmuotojen kuvaus

Seuraavat esimerkit on esitetty ainoastaan kuvaus-
tarkoituksessa, eikä niitä tule käsittää rajoituksina täl-
le keksinnölle. Tuotteet A ja B on esitelty seuraavissa
5 taulukoissa, suhteessa käytettyihin määriin, 0,065-%:sina
polymeerin vesiliuoksina, kun taas tuotteet C ja D on il-
moitettu 50,0-%:sina polymeerin vesiliuoksina. Kirkkaus on
mitattu UV-absorbanssilla 660 mikronissa, 550 mikronissa,
tai visuaalisella havainnolla, riippuen näytteestä.

10 Seuraavissa esimerkeissä käytetyt Mannichin akryy-
liamidipolymeerit ovat kukin Mannichin polyakryyliamidia
jossa on 70 %:n aminometylointi, ja lisäksi ne on määri-
telty seuraavasti:

15	Tuote	% kiintoainetta	Brookfield-viskositeetti, cps
	A	5,9-6,4 %	26 000 - 34 000
	B	5,5-6,1	34 000 - 46 000

20 Kvaternaariset polyamiinit ovat reaktiotuotteita
epikloorihydriinistä, dimetyyliamiinista ja etyleenidia-
miinista, ja ne on lisäksi määritetty seuraavasti:

	Tuote	% kiintoainetta	Keskimääräinen moolimassa
	C	49-51 %	300 000
25	D	49-51 %	250 000

Erilaisten polymeerien tehokkuuden entsyymiliemien
saostamisessa kokeilemiseksi käytettiin seuraavaa koeme-
nettelyä: 5 ml:aan lientä 15 ml:n asteikolla varustetussa
30 sentrifuugiputkessa lisättiin 5 ml polymeeriliuosnäytettä
jonka pitoisuus vaihteli. Kutakin näytettä sekoitettiin
kääntämällä tulpalla varustettu putki 20 kertaa ylösalai-
sin, sitten putkea sentrifugoitiin 5 minuutin ajan ja ko-
koon puristuneen entsyymin tilavuus mitattiin visuaalises-
35 ti. Mitä pienempi arvo, sen parempi. Lisäksi emäliuoksen

kirkkaus mitattiin UV-absorbanssilla 550 ja 660 mikronissa, tapauksen mukaan. Arvo välillä 0,3 - 0,4 % on hyväksyttävä, ja alle 0,1 on erinomainen.

- 5 Taulukko I esittää yksittäisten polymeerisaostusaineiden vaikutuksen entsyymiliienten saostumiseen UV-absorbanssilla joka on mitattu 660 mikronilla. Se on vertailutaulukko ja se osoittaa, että vaikka tuotteet A, B ja/tai C yksittäin voivatkin toimia tehokkaasti suhteessa kokoonpuristumiseen (til-% kiintoainetta) tai kirkkauteen, epä-
- 10 onnistuvat nämä saostusaineet eivät kä toimi tyydyttävästi, mitä tulee molempiin kriteereihin.

Taulukko 1

Yksittäisten polymeerisaostusaineiden vaikutus entsyymiliemen saostumiseen

Vertailuesi- merkki, nro	Saostusaine	Saostusainetta (g/l)	Sentrifugi 5 minuuttia Tilavuus-% Kiintoainetta	Emäliuoksen kirkkaus 660 mikronia
1*	A	20	14	ES**
2*	A	30	17	1,04
3*	A	40	17	0,267
4*	A	25	18	0,646
5*	A	30	16	0,349
6*	A	35	18	0,220
7*	B	24	16	0,565
8*	B	27	17	0,455
9*	B	33	15	0,231
10*	C	15	24	0,487
11*	C	20	23	0,466
12*	C	25	23	0,496

* Vertailuesimerkki, ei tämän keksinnön mukainen

** ES -- ei suodattunut

5 Taulukko II esittää yksittäisten polymeerisaostus-
aineiden vaikutuksen entsyymiliienten saostuksessa UV ab-
sorbanssilla joka on mitattu 550 mikronissa. Se on vertai-
lutaulukko, joka osoittaa että vaikka tuotteet A ja D yk-
sinään voivatkin toimia tehokkaasti, mitä tulee kokoonpu-
ristumiseen (tilavuus-% kiintoainetta) tai kirkkauteen,
eivät nämä saostusaineet yksinään toimi tyydyttävästi suh-
teessa molempiin kriteereihin.

Taulukko II

Yksittäisten polymeerisaostusaineiden vaikutus entsyymiliemen saostumiseen

Esi- merkki, nro	Saostusaine	Saostusainetta (g/l)	Sentrifugi 5 minuuttia Tilavuus-% Kiintoainetta	Emäliuoksen kirkkaus 550 mikronia
13*	A	20	EL**	-
14*	A	25	EL**	-
15*	A	30	EL**	-
16*	A	35	23	1,69
17*	A	40	23	0,96
18*	A	45	25	0,43
19*	D	5	32	-
20*	D	10	30	0,24
21*	D	15	26	0,26
22*	D	20	25	0,25
23*	D	25	25	0,18
24*	D	30	26	0,17

* Vertailuesimerkki, ei tämän keksinnön mukainen

** EL -- ei laskeutunut

Taulukko III esittää odottamattoman ylivoimaiset tulokset jotka saavutettiin käytettäessä seoksia B- ja C-polymeereistä entsyymiliemessä tämän keksinnön mukaisesti. Vaikka ei halutakaan sitoutua mihinkään erityiseen teoriaan, osoittavat esimerkkien 1 - 6 tulokset, että saostusainekoostumus jossa on polymeerin B suhde polymeeriin C 50:50, käytettynä pienissä annostelumaarissa välillä 15 - 25 grammaa yhtä entsyymiliemilitraa kohti, tuottaa emäliuoksen jolla on parantunut kirkkaus ja kokoonpuristuminen verrattuna emäliuokseen joka saadaan joko polymeerillä B (vertailuesimerkit 7*-9*) tai polymeerillä C (vertailuesimerkit 10*-12*) yksinään.

Taulukko III

Parantunut kokoonpuristuminen ja emäliuoksen kirkkaus polymeeriseoksilla

Esimerkki nro	Saostusaine	Suhde	g/l	Sentrifugi	
				5 minuuttia tilavuus-% kiintoainetta	Emäliuoksen kirkkaus 660 mikronia
1	B/C	4:1	20	18	0,242
2	B/C	4:1	30	18	0,497
3	B/C	4:1	40	20	0,793
4	B/C	1:1	15	18	0,344
5	B/C	1:1	20	18	0,218
6	B/C	1:1	25	20	0,263

- Taulukko IV esittää odottamattoman hyviä tuloksia jotka saavutettiin kun käytettiin seoksia joissa oli vaihtelevat suhteet A- ja D-polymeerejä, entsyymiliemiin tämän keksinnön mukaisesti. Tulokset sisältävät havaitut kokoonpuristumiset ja absorbanssit ilmoitetuilla annostelumäärillä. Esimerkkien 7 - 24 tulokset osoittavat, että polymeerien A ja D seos tuottaa synergistisen vaikutuksen joka antaa tuloksena emäliuoksen jolla on parantunut kirkkaus ja kokoonpuristuminen verrattuna emäliuokseen joka saadaan joko polymeerillä A (vertailuesimerkit 13*-18*) tai polymeerillä D (vertailuesimerkit 19*-24*) yksinään.

Taulukko IV

Parantunut kokoonpuristuminen ja emäliuoksen kirkkaus polymeeriseoksilla

Esimerkki nro	Saostusaine	Suhde	g/l	Sentrifugi 5 minuuttia tilavuus-% kiintoainetta	Emäliuoksen kirkkaus 550 mikronia
7	A/D	70:30	20	25	-
8	A/D	70:30	25	27	0.16
9	A/D	70:30	30	28	0.25
10	A/D	70:30	35	26	0.57
11	A/D	70:30	40	27	0.49
12	A/D	70:30	45	25	0.49
13	A/D	50:50	20	25	0.35
14	A/D	50:50	25	27	0.31
15	A/D	50:50	30	27	0.45
16	A/D	50:50	35	25	0.42
17	A/D	50:50	40	25	0.33
18	A/D	50:50	45	25	0.29
19	A/D	30:70	20	25	-
20	A/D	30:70	25	27	0.24
21	A/D	30:70	30	28	0.28
22	A/D	30:70	35	27	0.23
23	A/D	30:70	40	24	0.15
24	A/D	30:70	45	25	0.14

Taulukko V esittää odottamattoman hyvät tulokset, jotka saavutettiin kun käytettiin seoksia, joissa oli vaihtelevat suhteet A- ja D-polymeerejä, entsyymiliemessä tämän keksinnön mukaisesti. Tulokset sisältävät kirkkauden ja kokoonpuristumisen ilmoitetuilla annostuksilla. Kirkkaus perustuu visuaaliseen havaintoon, ja kutakin näytettä sekoitettiin kääntämällä tulpalla suljettu putki ylösalaisin viisitoista (15) kertaa. Nämä tulokset osoittavat, että edullinen A- ja D-polymeerien suhde on välillä 30 - 70 paino-osaa A:ta 70 - 30 paino-osaa D:tä kohti, edullisimman suhteen ollessa välillä 30 - 50 paino-osaa A:ta - 70 - 50 paino-osaa D:tä. Esimerkkien 49 - 60 tulokset osoittavat, että entsyymiliemen ja saostusaineseoksen sekoittamisen lisäämisellä ei ole havaittavaa vaikutusta emäliuoksen kirkkauteen tai kokoonpuristumiseen.

Taulukko V

Parantunut kokoonpuristuminen ja emäliuoksen kirkkaus polymeeriseoksilla

Esimerkki nro	Saostusaine	Suhde	g/l	Sekoitus (ravistus- ten lkm.)	Sentrifugi 5 minuuttia tilavuus-% kiintoainetta	Emäliuoksen kirkkaus (visuaalinen havainto)
25	A/D	30:70	25	10+5	42	Hyvä
26	A/D	30:70	30	10+5	37	Erinomainen
27	A/D	30:70	35	10+5	37	Hyvä
28	A/D	30:70	40	10+5	38	Erinomainen
29	A/D	30:70	45	10+5	35	Hyvä-Erinom.
30	A/D	30:70	50	10+5	36	Erinomainen
31	A/D	50:50	25	10+5	37	Huono
32	A/D	50:50	30	10+5	26	Hyvä
33	A/D	50:50	35	10+5	39	Hyvä-Erinom.
34	A/D	50:50	40	10+5	33	Erinomainen
35	A/D	50:50	45	10+5	28	Erinomainen
36	A/D	50:50	50	10+5	30	Erinomainen
37	A/D	70:30	25	10+5	32	Tyydyttävä
38	A/D	70:30	30	10+5	32	Hyvä-Erinom.
39	A/D	70:30	35	10+5	27	Erinomainen
40	A/D	70:30	40	10+5	30	Hyvä-Erinom.
41	A/D	70:30	45	10+5	29	Hyvä-Erinom.
42	A/D	70:30	50	10+5	31	Hyvä-Erinom.

Taulukko V (jatkuu)

Esimerkki nro	Saostusaine	Suhde	g/l	Sekoitus (ravistus- ten lkm.)	Sentrifugi 5 minuuttia tilavuus-% kiintoainetta	Emäliuoksen kirkkaus (visuaalinen havainto)
43	A/D	90:10	25	10+5	27	Erinomainen
44	A/D	90:10	30	10+5	29	Erinomainen
45	A/D	90:10	35	10+5	28	Hyvä-Erinom.
46	A/D	90:10	40	10+5	27	Hyvä-Erinom.
47	A/D	90:10	45	10+5	29	Erinomainen
48	A/D	90:10	50	10+5	29	Hyvä-Erinom.
49	A/D	70:30	40	15	32	Erinomainen
50	A/D	70:30	40	30	28	Erinomainen
51	A/D	70:30	40	45	29	Erinomainen
52	A/D	70:30	45	15	31	Hyvä-Erinom.
53	A/D	70:30	45	30	31	Erinomainen
54	A/D	70:30	45	45	28	Erinomainen
55	A/D	90:10	30	15	26	Erinomainen
56	A/D	90:10	30	30	28	Erinomainen
57	A/D	90:10	30	45	27	Erinomainen
58	A/D	90:10	35	15	30	Hyvä-Erinom.
59	A/D	90:10	35	30	27	Erinomainen
60	A/D	90:10	35	45	27	Erinomainen

Edellä mainitut patentit, julkaisut ja koemenetelmät sisällytetään tähän viitteiksi.

Monia muunnelmia tästä keksinnöstä tulee alan tuntijoiden mieleen edellä olevan, yksityiskohtaisen kuvauksen avulla. Esimerkiksi, dimetyyliamiinin sijasta polyamiini voi sisältää yksiköitä jotka on johdettu metyyliamiinista, metanoliamiinista, tai dimetanoliamiinista. Mannichin akryyliamidihomopolymeerin sijasta voidaan käyttää Mannichin kopolymeeriä akryyliamidista joka sisältää 5 - 50 % komonomeeriä. Etyleenidiamiinin sijasta kvaternaarinen polyamiini voi olla johdettu ammoniakista tai dietyleenitriamiinista. Kaikki tällaiset ilmeiset muunnellamat ovat täysin liitteenä olevien patenttivaatimusten suojapiirin sisäpuolella.

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä vesipohjaisen entsyymiliemen saostamiseksi, t u n n e t t u siitä, että se käsittää (a) sellaisen saostusaineen lisäämisen mainittuun liemeen, joka koostuu seoksesta (1) Mannichin akryyliamidipolymeeriä ja (2) kvaternaarista polyamiinia, jonka moolimassa on vähintään noin 25 000.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että (1):n suhde (2):een on alueella noin 99:1 - 1:99, todellisen polymeerikiintoaineen painon mukaan, vastaavasti.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että (1) on Mannichin akryyliamidihomopolymeeri.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että (1) on Mannichin akryyliamidikopolymeeri joka sisältää 5 - 50 % komonomeeriä.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että (1) sisältää 25 - 100 mol-% dime-
tyyliaminometyyliryhmiä.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetty kvaternaarinen polyamiini on valmistettu (i) mono- (tai di-) alkyliamiinista tai mono- (tai di-) alkanoliamiinista ja (ii) epihalohydriinistä sekä (iii) korkeintaan noin 10-mol-%:ista alkyleenidiamiinia tai ammoniakkia.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetty mono- (tai di-) alkyliamiini on monometyyliamiini tai dimetyyliamiini.

8. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetty monoalkanoliamiini on monoetanoliamiini.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että se sisältää myös vaiheet (b) ent-

syymiliemen ja saostusaineen sekoittaminen keskenään; ja
(c) entsyymiliemi/saostusaineseoksen laskeuttaminen.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että (2) on kvaternaarinen poly-
5 amiini joka on reaktiotuote epihalohydriinistä ja amiinis-
ta tai amiinien seoksesta, mainitun polyamiinin moolimas-
san ollessa alueella noin 25 000 - noin 350 000.

11. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että epihalohydriini on epikloori-
10 hydriini.

12. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että amiini koostuu dimetyyliamiin-
nin ja etyleenidiamiinin seoksesta.

13. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä,
15 t u n n e t t u siitä, että kvaternaarinen polyamiini (2)
on reaktiotuote noin 50-mol-%:ista epikloorihydriiniä,
noin 49-mol-%:ista dimetyyliamiinia ja noin 1-mol-%:ista
etyleenidiamiinia, mainitun polyamiinin moolimassan olles-
sa noin 50 000 - noin 300 000.

20 14. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että entsyymi on proteaasi.

15. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että lisätään noin 10 - noin 100
grammaa saostusaineseosta yhtä liemilitraa kohti.

25 16. Saostusainekoostumus, joka parantaa emäliuoksen
kirkkautta ja kokoonpuristumista vesipohjaisessa entsyymi-
liemessä siihen lisättynä määränä noin 10 - noin 100 gram-
maa yhtä liemilitraa kohti, t u n n e t t u siitä, että
mainittu saostusainekoostumus sisältää:

30 (1) 1,0 - 99,0 paino-osaa Mannichin akryyliamidipo-
lymeeriä ja

(2) 99,0 - 1,0 paino-osaa kvaternaarista polyamii-
nia, jonka moolimassa on vähintään noin 25 000.