



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU** 58653
UTLÄGGNINGSSKRIFT

C (45) Patentti myönnetty 10 03 1981
Patent meddelat

(51) Kv.lk.³/Int.Cl.³ C 12 P 19/24

SUOMI—FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus — Patentansöknin	751885
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	25.06.75
(23) Alkupäivä — Giltighetsdag	25.06.75
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	27.12.75
(44) Nähtäväksiapanon ja kuuljulkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	28.11.80
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	26.06.74
Japani-Japan(JP) 73125/74	

(71) Mitsubishi Chemical Industries, Limited, No. 2-5-2, Marunouchi, Chiyoda-ku, Tokyo, Seikagaku Kogyo Co., Ltd., 9, Nihonbashi Hon-cho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo, Japani-Japan(JP)

(72) Yoshimasa Fujita, Tokyo, Akiyoshi Matsumoto, Tokyo, Hachiro Ishikawa, Tokyo, Tadashi Hishida, Tokyo, Hideo Kato, Tokyo, Hiroshi Takamisawa, Kanagawa-ken, Japani-Japan(JP)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä glukoosin isomeroimiseksi fruktoosiksi - Förfarande för isomerisering av glukos till fruktos

Keksinnön kohteena on menetelmä glukoosin isomeroimiseksi fruktoosiksi glukoosi-isomeraasilla, kun läsnä on rautaioneja yhdessä magnesiumionien kanssa glukoosi-isomeraasin deaktivoinnin ehkämiseksi.

On tunnettua, että glukoosi-isomeraasi on entsyymi, joka kykenee muuttamaan glukoosin fruktoosiksi ja päinvastoin ja jota on käytetty fruktoosin valmistamiseksi glukoosista.

Tällaisia glukoosi-isomeraaseja on havaittu erilaisissa mikro-organismeissa, joista esimerkkejä ovat esimerkiksi bakteerit kuten Pseudomonas, Bacillus ja Lactobacillus, actinomyseetit kuten Streptomyces phaeochromogenus, Streptomyces fradie, Streptomyces roseochromogenus, Streptomyces olivaceus, Streptomyces californicus, Streptomyces vinaceus ja Streptomyces albus ja hiivat. Käytännön tarkoituksia varten pidetään edullisena käyttää Streptomyces-lajeista eristettyä liukenemattomaksi tehtyä glukoosi-isomeraasia, joka on saatu joko kohdistamalla

glukoosi-isomeraasia sisältäviin mikrobien soluihin lämpökäsittely solunsisäisen kiinnityksen aikaansaamiseksi tai kiinnittämällä soluista eristetty glukoosi-isomeraasi adsorptio-ioninvaihdolla kantaja-aineelle, muodostamalla kovalenttinen sidos tai inkluusiokäsittelyllä. Kirjallisuuslähteinä mainitaan esimerkiksi julkaisut Chemical Abstracts Vol. 69, 64824 d (1968) Tsumura et al.: US-patenttijulkaisu 3 788 945, Applied Microbiology, April 1971, p. 588-593, G.W. Strandberg et al ja Biotechnology and Bioengineering Vol. XIV, p. 509-513 (1972), G.W. Strandberg et al.

Melkein kaikki mikrobien soluista löydetty glukoosi-isomeraasit vaativat metalli-ioneja, jolloin kysymykseen tulevat eri metallit riippuen isomeraasin alkuperästä. On tunnettua, että Streptomyces-suvusta löydetty glukoosi-isomeraasi vaatii magnesiumioneja ja että aktiviteetti ja lämmönkestävyys kohoavat, kun läsnä on lisäksi koboltti-ioneja (viitataan julkaisuun N. Tsumura et al Agr. Biol. Chem. Vol. 29, 1126 (1965) ja T. Takasaki, Agr. Biol. Chem. Vol. 30, p. 1249 (1966)).

Tähän liittyen fruktoosin kaupallisessa valmistuksessa glukoosista magnesium- ja koboltti-ioneja on ollut läsnä reaktioseoksessa; kuitenkin sellainen menetelmä ei ole suositeltava, koska erilaisia raskaita metalli-ioneja, mukaan luettuna koboltti-ioni, ei sallita monissa maissa elintarvikkeiden lisäaineina ja siksi koboltti-ionien käyttöä tulisi välttää fruktoosin valmistuksessa.

Nyt on suoritettu intensiivisiä tutkimuksia tarkoituksena löytää lisäaine, jonka avulla glukoosi-isomeraasin aktiivisuus ylläpidetään pitkän aikaa käyttämättä koboltti-ioneja.

Näin ollen keksinnön kohteena on menetelmä glukoosin isomeroimiseksi fruktoosiksi liukenemattomaksi tehdyllä glukoosi-isomeraasilla.

Keksinnölle on tunnusomaista, että reaktioseoksessa on läsnä rautaioneja 0,02-0,5 mmol/l ja magnesiumioneja 2-20 mmol/l.

Keksintöä selitetään seuraavassa yksityiskohtaisesti. Rautaionien lähteinä voidaan käyttää keksinnön mukaan esimerkiksi epäorgaanista rautasuolaa kuten rautasulfaattia, rautakloridia ja rautanitraattia ja orgaanista rautasuolaa kuten rautatartraattia. Kuitenkin huomio tulisi kiinnittää joihinkin vesiliukoisiin orgaanisiin rautasuoloihin, koska kanta-anionin koordinoituessa voimakkaasti rautaan rautaionien vaikutus alenee niinsanotun naamiointiefektin vuoksi.

Lisäksi epäorgaanisista suoloista rautafosfaatit ovat epämukavia koska niillä on alhainen liukoisuus veteen ja ne muodostavat liukenemattomia sakkoja. Ferrikloridi, ferrosulfaatti, rautalaktaatit, rautasitraatit ja ammoniumrautasitraatit, jotka ovat hyväksyttäviä elintarvikkeiden lisäaineina, ovat esimerkkeinä tämän keksinnön mukaisista vesiliukoisista rautasuoloista. Kuten seuraavista esimerkeistä käy ilmi, vesiliukoinen rautasuola voi olla joko kaksiarvoinen tai kolmiarvoinen.

Oletetaan, että jos rautaionien ollessa läsnä yhdessä magnesiumionien kanssa reaktioseoksessa, rautaionit kiinnittyvät entsyymiin muodostaen tietyn kompleksin, joka torjuu lämpövaikutuksen ja/tai kemiallisen vaikutuksen aiheuttaman entsyymin deaktivaation. Niinpä on mahdollista esikäsitellä glukoosi-isomeraasia rautasuolan vesiliuksella ja silloin tarkoitettu vaikutus saavutetaan lisäämättä rautasuolaa, mikäli rauta-ioni on läsnä lähellä isomeraasia. Kuitenkin sellaisissa tapauksissa on edullista lisätä rautasuola reaktioseokseen siten ylläpitäen reaktioseoksessa rauta-ionin pitoisuuden vakion tason, koska rauta-ioni, joka on kiinnittynyt glukoosi-isomeraasiin muodostaen sellaisen kompleksin, dissosioituu myöhemmin ja poistuu reaktioseoksesta yhdessä tuotteen kanssa, erityisesti jatkuvassa menetelmässä.

Esimerkkeihin vesiliukoisista rautasuoloista, joita voidaan käyttää tämän keksinnön mukaan, kuuluvat ferrosulfaatti, ferrisulfaatti, ferrokloridi, ferrikloridi, ammoniumferrisulfaatti, ammoniumferrosulfaatti ja näiden seos.

Reaktioseoksessa ylläpidettävän rautaionien pitoisuus vaihtelee 0,02 ja 0,5 millimoolia/litra.

Esimerkkejä vesiliukoisista magnesiumsuoloista, joita voidaan käyttää yhdessä rautasuolan kanssa tässä keksinnössä, ovat magnesiumsulfaatti, magnesiumkloridi, magnesiumsulfiitti, magnesiumkarbonaatti ja näiden seos. Magnesiumsuolan pitoisuus vaihtelee yleensä välillä 2-20 millimoolia/litra.

Tämän keksinnön mukainen glukoosin isomerointi fruktoosiksi sopii jatkuvaan menetelmään, jossa glukoosin vesiliuos saatetaan kontaktiin jatkuvasti liukene-mattomaksi tehdyn glukoosi-isomeraasin kanssa fruktoosin valmistamiseksi. Eri-tyisesti tämä keksintö on mukautettavissa liukenemattomaksi tehtyä glukoosi-iso-meraasia käyttäen jatkuvaan menetelmään, jossa glukoosin vesiliuos johdetaan kolonnin läpi, johon kantaja-aineelle adsorboitunut glukoosi-isomeraasi pakataan, jotta saataisiin aikaan glukoosin muuttuminen fruktoosiksi.

Glukoosi-isomeraasin liukenemattomaksi tekemiseen sopiva kantaja-aine käsittää:

(1) makrohuokoisen anioninvaihtohartsin, jonka matriisi on styreeni-divinyyli-sekapolymeeri ja anioninen vaihtoryhmä on kvaternäärinen ammonium, on esitetty FI-patenttijulkaisussa 53 574.

(2) hiukkasmuodossa olevan verkkoutetun agar-agarin syaanihalogenidijohdannaisen.

Jälkimmäinen valmistetaan käsittelemällä agar-agaria silloitusainella, kuten epikloorihydriinillä emäksisissä olosuhteissa ristisidosten aikaansaamiseksi, mitä seuraa kuumennus korkeassa lämpötilassa ja pesu kuumalla vedellä kuuman vesiliukoisen aineen poistamiseksi, sitten verkkoutettua agar-agaria käsitellään syaanihalogenidin, kuten syaanibromidin vesiliuoksella emäksisissä olosuhteissa.

On havaittu, että keksintöä käytäntöön sovellettaessa liukenemattomaksi tehdyn isomeraasin aktiviteetti säilyy pitkän aikaa ja täten glukoosin isomerointireaktio fruktoosiksi on tyydyttävästi käytettävissä kaupallisesti.

Glukoosin vesiliuosta käsitellään tämän keksinnön mukaan tavanomaisesti jatkuvana prosessina pH-alueella 5,5-9, pitoisuuden ollessa 20-70 painoprosenttia ja lämpötilan 40-80°C ja liuos johdetaan kolonnin läpi tilavuusvirtausnopeudella 0,1-20 h⁻¹.

Keksintöä selitetään edelleen yksityiskohtaisesti seuraavien esimerkkien avulla.

Esimerkki 1

Glukoosi-isomeraasi uutettiin tavanomaisella ultraäänikäsittelyllä valmisteesta "Glucose Isomerase NAGASE", joka muodostuu Streptomyces phaeochromogenes-lajiin kuuluvan suvun soluista ja jossa on suoritettu lämpökäsittelyllä solunsisäinen kiinnitys ja jota toimittaa Nagase Sangyo Kabushiki Kaisha, Osaka, Japani.

Sellaisen uutteen aktiviteettitiitteri, joka määritellään myöhemmin oli 200 U/ml.

Sitten liukenemattomaksi tehtyä glukoosi-isomeraasia valmistettiin sekoittamalla 75 ml kyseistä uutetta 15 ml:n kanssa kosteaa makrohuokoista voimakkaan emäksistä anioninvaihtohartsia (Diaion HPA, jota toimittaa Mitsubishi Chemical Industries, Limited, ja jonka matriisi oli styreeni-divinyylin ja bentseenin sekapolymeeri ja jonka ioninvaihtoryhmä oli kvaternäärinen ammoniumryhmä) huoneen lämpötilassa kuuden tunnin ajan, jotta saataisiin aikaan isomeraasin adsorptio anioninvaihtohartsille, mitatun adsorptioasteen ollessa yli 99 %. Täten valmistettu liukenemattomaksi tehty glukoosi-isomeraasi pakattiin vaipalla varustettuun 8 mm:n sisäläpimittaiseen kolonniin.

3 moolia glukoosin vesiliuosta, joka sisälsi 5 mmol magnesiumsulfaattia ja yhden millimoolin ferrosulfaattia vastaavasti ionipitoisuuksina, johdettiin sellaisen 67°C lämpötilassa pidetyn kolonnin läpi jatkuvan isomerisoinnin aikaansaamiseksi samaan aikaan kun lämmintä vettä johdettiin vaipan kautta.

Tulokset on esitetty taulukossa 1 aktiviteetin retentiona 10 ja 20 päivän kuluttua.

Esimerkit 2-6

Esimerkin 1 kaltaisia menettelytapoja toistettiin, paitsi että ferrosulfaatin asemasta käytettiin erilaisia metallisuoloja taulukossa 1 annettuina tiettyinä pitoisuuksina. Glukoosi-isomeraasin aktiviteetin retentio 10 ja 20 päivän kuluttua on esitetty taulukossa 1, josta todetaan rautasuolojen lisäyksestä johduneet ylivoimaiset tulokset verrattuna muihin suoloihin kysymyksen ollessa pitkittyneen isomeraasiaktiviteetin ylläpitäminen.

Taulukko 1

Esim. n:o	Yhdiste	Ionipitoisuus mmol/l	Aktiviteetin retentio (%)	
			10 pv	20 pv
1	ferrosulfaatti	1,0	70	45
2	ferrikloridi	0,5	62	37
3	rautatartraatti	1,0	68	40
4	-	-	33	11
5	kobolttikloridi	1,0	55	25
6	kalsiumkloridi	1,0	30	13

Esimerkit 7-13

Näissä esimerkeissä noudatettiin esimerkin 1 menettelytapoja, mutta isomerointi toteutettiin lämpötilassa 72°C käyttäen ferrisulfaattia erilaisina taulukossa 2 annettuina pitoisuuksina.

Aktiviteetin retentio 7 ja 13 päivän kuluttua on esitetty taulukossa 2.

Matalahko arvo aktiviteetin laskussa havaitaan rauta-ionin pitoisuuden ollessa 0,02-0,5 mmol/l.

Taulukko 2

Esim. n:o	Rautaionien pitoisuus mmol/l	Aktiviteetin retentio (%)	
		7 päivää	13 päivää
7	0	13	5
8	0,02	40	22
9	0,05	52	35
10	0,1	62	49
11	0,25	50	33
12	0,5	38	11
13	3,0	26	9

Esimerkit 14-16

Käytetty glukoosi-isomeraasi uutettiin *Streptomyces albus* YT n:o 5 viljelmästä, joka mikro-organismi on deponoitu laitokseen The Fermentation Research Institute, Japani (deponointinumero FERM P-463). Isomeraasi tehtiin liukenemattomaksi esimerkin 1 menettelytapojen mukaan ja sitä käytettiin jatkuvissa isomeroineissa, kuten esimerkeissä 1, 4 ja 5. Aktiviteetin retentio 7 ja 13 päivän kuluttua on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3

Esim. n:o	Yhdiste	Ionipitoisuus mmol/l	Aktiviteetin retentio (%)	
			7 päivää	13 päivää
14	ferrosulfaatti	1,0	75	60
15	-	-	40	25
16	kobolttikloridi	1,0	62	49

Esimerkit 17-19Verkkoutettujen agar-agar-hiukkasten valmistus

Litra 4-prosenttisia agar-agar-hiukkasia "Sepharose 4B", jota toimittaa Pharmacia Fine Chemicals, Ruotsi, sekoitettiin perinpohjin litran kanssa natriumhydroksidin vesiliuosta (1 mol/l) huoneen lämpötilassa. 30 millilitraa epikloorihydriiniä lisättiin yllämainittuun seokseen samalla kun pidettiin 60°C:ssa vesihauteessa ja ravisteltiin perinpohjin kahden tunnin ajan jolloin verkkoutusreaktio toteutettiin.

Sitten reaktiomassaa kuumennettiin autoklaavissa lämpötilassa 120°C kahden ilmakehän paineessa kaksi tuntia, kuuma massa pestiin kuumalla vedellä 90°C:ssa kuumaan veteen liukoisen aineksen poistamiseksi ja annettiin jäähtyä vapaasti verkkoutettujen agar-agar-hiukkasten saamiseksi.

Verkkoutettujen agar-agar-hiukkasten aktivointi

Verkkoutetut agar-agar-hiukkaset vakuumisuodatettiin liian veden poistamiseksi ja annettiin jäähtyä 4°C:een. Seokseen, jossa oli 50 g näin saatuja hiukkasia ja 80 ml 2-%:ista syaanibromidi-vesiliuosta, lisättiin tipoitain 2-normaalia natriumhydroksidivesiliuosta sellaisella nopeudella, että liuoksen pH pysyi arvossa $11 \pm 0,5$, jolloin verkkoutettu agar-agar aktivoitui.

Kun emäksen absorptio loppui (tämä havaittiin pH-arvon noususta), emäksen lisäys lopetettiin ja reaktiomassa vakuumisuodatettiin ja pestiin vedellä aktivoitujen ja verkkoutettujen agar-agar-hiukkasten saamiseksi.

Glukoosi-isomeraasin liukenemattomaksi tekeminen

50 grammaa seosta, joka muodostui näin saaduista aktivoituista hiukkasista ja aktiviteetin 25000 U omaavasta esimerkin 1 glukoosi-isomeraasiuutteesta, pidettiin lämpötilassa 4°C 18 tunnin ajan, jotta saataisiin aikaan isomeraasin adsorptio hiukkasiin ja liukenemattomaksi tehtyä glukoosi-isomeraasia hiukkasmuodossa.

Yllä mainittu liukenemattomaksi tehty glukoosi-isomeraasi, jonka aktiviteetti oli 4000 U, pakattiin vaipalla varustettuun kolonniin (sisäläpimitta 1,5 cm, pituus 12 cm), jonka läpi johdettiin alaspäin pitoisuudeltaan 3 mol/l olevaa ja erilaisia taulukossa 4 lueteltuja metalli-ioneja sisältävää glukoosin vesiliuosta nopeudella 8,5 ml/h lämpötilassa 67°C jatkuvan isomeroinnin aikaansaamiseksi.

Taulukossa 4 on esitetty glukoosiliuokseen lisättävien metalli-ionien tyyppi ja pitoisuus ja tuotetun fruktoosin määrä ajan funktiona.

Taulukko 4

Esim. n:o	Metalli-ionin tyyppi	Ionipitoisuudet (mmol/l)	Tuotetun fruktoosin määrä eri päivinä (mg/h)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
17	Mg ⁺⁺	5	1610	1600	1600	1590	1595	1580	1585	1580
	Fe ⁺⁺⁺	0,1								
18	Mg ⁺⁺	5	1500	1450	1462	1455	1453	1450	1450	1451
	Fe ⁺⁺⁺	0,5								
19	Mg ⁺⁺	5	1600	1140	680	540	500	464	415	400

Aktiviteetin retentio ja aktiviteetti, joihin viitataan keksinnön selityksessä ja patenttivaatimuksissa, mitataan kuten seuraavassa esitetään.

Valmistetaan perusliuos, joka sisältää glukoosia, magnesiumsulfaattia, kobolttikloridia ja fosfaattipuskuria (pH = 7,2) vastaavasti pitoisuuksina 0,01 mol/l, 0,05 mol/l, 0,001 mol/l ja 0,05 mol/l. Ennakolta määrätty määrä liukenemattomaksi tehtyjä glukoosi-isomeraaseja, tavallisesti 1-10 ml, sen jälkeen kun niitä on käytetty tietty määrä päiviä isomerointireaktiossa ja ennen käyttöä isomeroinnissa lisätään erikseen 10 ml:aan perusliuosta ja isomerointi toteutetaan lämpötilassa 70°C 60 minuutin ajan varovaisesti sekoittaen.

Sitten isomeraasi erotetaan suodattamalla ja suodoksessa oleva fruktoosin määrä määritetään Kysteiini-karbatsoli-menetelmällä.

Lasketaan tuotettu fruktoosimäärä liukenemattomaksi tehdyn glukoosi-isomeraasin millilitraa kohden ja saatuja arvoja merkitään "A":lla ennen ja "A'":lla vastaavasti käytön jälkeen. Aktiviteetin retentio määritetään seuraavalla yhtälöllä:

$$\frac{A'}{A} \times 100 (\%)$$

Glukoosi-isomeraasin uutteen aktiviteetti

Seos, joka koostuu 0,2 ml:sta 1-molaarisen D-glukoosin vesiliuoksesta, 0,2 ml:sta 0,05-molaarisen $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$:n vesiliuoksesta ja 0,2 ml:sta 0,5-molaarisen fosfaattipuskurin ($\text{pH} = 7,2$) vesiliuoksesta, lisätään 0,2 ml:aan glukoosi-isomeraasiuutetta ja liuos laimennetaan vedellä 2 ml:aan. Saatua laimennettua liuosta pidetään lämpötilassa 70°C 60 minuuttia isomeroinnin toteuttamiseksi ja reaktio pysäytetään lisäämällä 2 ml 0,5-molaarista perkloorihapon vesiliuosta. Tuotetun fruktoosin määrä määritetään Kysteiini-karbatsoli-menetelmällä. Yksiköllä "U" ilmaistu aktiviteetti määritetään seuraavalla yhtälöllä:

$$U = \frac{\text{tuotetun fruktoosin määrä (mg)}}{\text{isomeraasin uutteen määrä (ml)}}$$

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä glukoosin isomeroimiseksi fruktoosiksi liukenemattomaksi tehdyllä glukoosi-isomeraasilla, t u n n e t t u siitä, että reaktioseoksessa on läsnä rautaioneja 0,02-0,5 mmol/l ja magnesiumioneja 2-20 mmol/l.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosi-isomeraasi on ioninvaihtajalle adsorboituneena.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosi-isomeraasi on makrohuokoiselle anioninvaihtohartsille adsorboituneena.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosi-isomeraasi on ristisidotun agar-agarin syaanihalogenijohdannaiselle adsorboituneena.

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että makrohuokoinen anioninvaihtohartsi on makrohuokoinen, vahvasti emäksinen ioninvaihtohartsi, jonka matriisi on styreeni-divinyylin ja bentseenin sekapolymeeri ja ioninvaihtoryhmä on kvaternäärinen ammoniumioni.

6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että glukoosi-isomeraasi on eristetty Streptomyces-suvun mikro-organismien soluista.

7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että rautaionit saadaan ferrosulfaatista, ferrisulfaatista, ferrokloridista, ferrikloridista, ammoniumferrosulfaatista, ammoniumferrisulfaatista, rautatartraatista tai näiden seoksesta ja magnesiumionit saadaan magnesiumsulfaatista, magnesiumkloridista, magnesiumsulfiitista, magnesiumkarbonaatista tai näiden seoksesta.

Patentkrav:

1. Förfarande för isomerisering av glukos till fruktos med olösliggjord glukosisomeras, k ä n n e t e c k n a t därav, att i reaktionsblandningen är närvarande järnjoner 0,02-0,5 mmol/l och magnesiumjoner 2-20 mmol/l.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att glukosisomerasen är adsorberad på en jonbytare.

3. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att glukosisomerasen är adsorberad på ett makroporöst anjonbytarharts.

4. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att glukosisomerasen är adsorberad på ett cyanhalogenidderivat av tvärbunden agar-agar.

5. Förfarande enligt patentkravet 4, k ä n n e t e c k n a t därav, att det makroporösa anjonbytarhartset utgöres av ett makroporöst, starkt basiskt jonbytarharts, vars matris utgöres av en sampolymer av styren-divinyl och bensen och jonbytarhartset utgöres av en kvaternär ammoniumjon.

6. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att glukosisomerasen isolerats ur cellerna av Streptomyces-släktets mikro-organismer.

7. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att järnjonerna erhålles från ferrosulfat, ferrisulfat, ferroklorid, ferriklorid, ammoniumferrosulfat, ammoniumferrisulfat, järntartrat eller deras blandning och magnesiumjonerna erhålles från magnesiumsulfat, magnesiumklorid, magnesiumsulfat, magnesiumkarbonat eller deras blandning.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

-