



**NORGE**

**[NO]**

**STYRET  
FOR DET INDUSTRIELLE  
RETTSVERN**

**[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 142962**

(51) Int. Cl.<sup>3</sup> C 08 B 37/00,  
C 12 P 19/06 // C 12 R 1/64

(21) Patentsøknad nr. 772683

(22) Inngitt 28.07.77

(23) Løpedag 28.07.77

(41) Alment tilgjengelig fra 03.02.78  
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 11.08.80  
(30) Prioritet begjært 02.08.76, USA, nr. 710812

(54) Oppfinnelsens benevnelse Gjenvinningsprosess for xantangummi.

(71)(73) Søker/Patenthaver HERCULES INCORPORATED,  
910 Market Street,  
Wilmington, DE,  
USA.

(72) Oppfinner GORDON ANSON TOWLE,  
Landenberg, PA,  
USA.

(74) Fullmektig Bryns Patentkontor A-S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner Ingen.

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av visse biologisk fremstilte vannoppløselige polysakkaridgummier. Mere spesielt angår den en ny og forbedret teknikk for isolering av en slik polymer fra fermenteringskraften hvori den er fremstilt.

I de senere år er relativt mye forskning rettet mot forbedring og optimalisering av fremgangsmåter for fremstilling av polysakkaridgummier ved fermentering. Av spesiell interesse har vært det heteropolysakkarid som er fremstilt ved aerob fermentering av bakterier av *Xanthomonas*-slekten. Representative arter av *Xanthomonas*-slekten, ved hjelp av hvilke dette polysakkarid fremstilles, omfatter *X. begoniae*, *X. carotae*, *X. hederæ*, *X. incari*, *X. malvacearum*, *X. phaseoli*, og spesielt *X. campestris*. Polysakkaridet, som er gitt navnet "xantan" eller "xantangummi", er et komplekst heteropolysakkarid inneholdende glucose, mannose og glucuronsyregrupper i polymerkjeden.

Kommersiell eksploatering av xantangummi har vært holdt tilbake på grunn av de relativt høye omkostninger sammenlignet med andre vannoppløselige gummier med hvilke den må konkurrere når det gjelder salg. Mens fremstillingen av en gummi ved fermentering uunngåelig er kostbar, har en vesentlig andel av de totale omkostninger for xantangummi vært direkte forbundet med gjenvinningen av gummien fra fermenteringsråkraften.

Fermenteringsråkraften er en meget viskøs og sterkt pseudoplastisk oppløsning inneholdende omkring 0,5-4 vekt-% xantangummi, sammen med en liten mengde salter, *Xanthomonas*-celler og uoppløselige nedbrytningsprodukter. I den typiske gjenvinningsprosess blir kraften ytterligere fortynnet med vann for å redusere viskositeten, og således lette behandlingen i etterfølgende utfellingstrinn. Eventuelt kan den fortynnede oppløsning sentrifugeres eller filtreres på dette punkt av prosessen for å fjerne uønskede faste uoppløselige stoffer. Metanol eller et annet ikke-oppløsningsmiddel og kaliumklorid blir deretter tilsatt for å flokkulere gummien i kaliumsaltform, hvilket deretter

fjernes ved sentrifugering eller en faststoff-væske-separasjonsteknikk. Ytterligere oppløsning, gjenutfelling og vasking gjennomføres deretter, alt avhengig av den ønskede renhetsgrad. I den senere tid har US-patent nr. 3.382.299 beskrevet at utfelling kan gjennomføres ved virkningen av polyvalente (hovedsakelig divalente) kationer med pH-nivåer over omkring 8,5. Fordi xantangummi er en karboksylert heteropolymer, er det tilfeller det er ønskelig å gjennomføre gjenvinningsoperasjonen i surt medium. Imidlertid beskriver teknikkens stand, slik som representert av det anførte US-patent, at polyvalente metallsalter er oppløselige ved pH-verdier under 8,5. Annen teknikk, f.eks. US-patent 3.383.307 beskriver at visse trivalente salter, inkludert aluminiumsulfat, benyttes i nærvær av et metall som frigjør fritt hydrogen for å danne gel av xantangummi. En slik gel kan imidlertid ikke lett gjenvinnes fra den vandige fase.

Ifølge foreliggende oppfinnelse frembringes det en fremgangsmåte for utfelling av xantangummi fra en vandig oppløsning som utgjøres av en fermenteringskraft av en bakterie av Xanthomonas-slekten, særlig Xanthomonas campestris, og fremgangsmåten karakteriseres ved at den omfatter tilsetning av aluminiumacetat, aluminiumklorid eller aluminiumnitrat, til oppløsningen og deretter å øke pH-verdien i oppløsningen til et nivå mellom 3,5 og 4,5.

pH-verdien for en xantanoppløsning, slik den oppnås etter at fermenteringstrinnet er ferdig, er 5 - 8,5. Tilsetning av den støkiometriske mengde av de spesifiserte aluminiumsalter reduserer denne pH-verdi til ca. 3 eller mindre. Ved pH 3 befinner aluminiumsaltet eller komplekset seg på skillelinjen for oppløselighet i vandige media slik at det oppstår enten en klar oppløsning, eller en oppløsning inneholdende en liten mengde av faststoffer. Hvis man betrakter læren ifølge teknikkens stand hva angår oppførselen for andre polyvalente metallxantanatsalter ved sure pH-verdier og for aluminiumxantanat ved høy pH-verdi, skulle man ikke kunne forutsi denne oppførsel.

Et annet overraskende trekk ved oppfinnelsen, er at reduksjonen av pH-verdien i xantanoppløsningen til det lave ovenfor angitte nivå ved tilsetning av aluminiumsalt ofte resulterer i en reduksjon av viskositeten for oppløsningen uten å skade xantanet, dvs. uten å forårsake nedbrytning av polymerkjedelengden. For eksempel vil en fermenteringskraft med en viskositet på ca. 1000 centipois ved reaksjons-pH-verdien få viskositeten redusert til ca. 500 centipois ved pH 2 i nærvær av aluminiumioner.

Som angitt ovenfor har det ved tidligere kjente xantanprosesser, vært nødvendig å fortynne fermenteringsråkraften i en betydelig grad for å redusere viskositeten til et punkt der gjenvinningen kunne gjennomføres. Graden av fortynning som er nødvendig når man går frem ifølge foreliggende oppfinnelse, er redusert. I virkeligheten er det mulig å gjennomføre utfelling ved hjelp av de spesifiserte aluminiumsalter så å si uten fortynning fra oppløsningene som oppnås fra fermenteringen.

Det å gjennomføre fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, slik at pH-verdien reduseres til det antydde nivå, sikrer at geldannelse unngås eller, hvis det danner seg en gel, sikrer at denne kan brytes ned og at xantangummi går i oppløsning som beskrevet ovenfor. Utilfredsstillende resultater oppstår i det tilfelle at det ikke oppnås noe lett separerbart produkt hvis pH-verdien for fermentet ikke reduseres og deretter justeres til det område der xantan er oppløselig og ikke-geldannende.

Etter tilsetningen av det spesifiserte aluminiumsalt, og etter den derav resulterende reduksjon av pH-verdien, gjennomføres utfelling av xantangummi ved å øke pH-verdien til området mellom 4 og 4,5. Dette pH-området ser ut til å være av vesentlig betydning. Utenfor dette området er stoffet enten marginalt oppløselig slik at det ikke felles ut, eller det vil sannsynligvis danne en gel. Slik det beskrives ifølge teknikkens stand, begynner aluminiumsaltet å nærme seg en oppløselig tilstand når pH'en økes i vandig medium. Den øvre grense på omkring 4,5 er vesentlig for å unngå

begynnende oppløselighet og geldanning som vil opptre på dette punkt i vandige media.

Som angitt ovenfor, er en av fordelene ved foreliggende oppfinnelse at utfellingen av xantangummien kan gjennomføres uten sterkt å fortynne fermenteringskraften, slik det har vært vanlig i teknikkens stand. Gummien kan felles ut også fra relativt viskøse oppløsninger. Hvis det er ønskelig å separere uoppløselige stoffer, slik som cellevegger, som er blitt igjen fra fermenteringen før utfellingstrinnet, kan kraften fortynnes på vanlig måte for å redusere viskositeten til en mere lett filtrerbar tilstand. I mange, hvis ikke i de fleste tilfelle, er fjerning av slike stoffer imidlertid ikke nødvendig, og dette trinn kan sløyfes.

Aluminiumsaltene, som er funnet brukbare ved gjennomføring av fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, er vannoppløselige salter med monovalente anioner, nemlig aluminiumklorid, aluminiumnitrat og aluminiumacetat. Salter med polyvalente anioner, som er prøvet, slik som aluminiumsulfat og aluminiumcitrat, er funnet ineffektive, på grunn av geldannelse eller andre former som er vanskelig separerbare.

Aluminiumsaltene benyttes fortrinnsvis i lett overskudd i forhold til den støkiometriske mengde som er nødvendig for å reagere med alle frie karboksylgrupper i gummien. Den støkiometriske mengde er vanligvis i størrelsesorden ca. 0,18 g aluminium pr. gram gummi som skal gjenvinnes. Vanligvis er ca. 10% overskudd, i forhold til den støkiometriske mengde, tilstrekkelig. Større mengder er ikke skadelige, men bruken av større mengder er bortkastet og krever større volumer av reagenser senere i prosessen når aluminium fjernes.

Den optimale mengde av nødvendig aluminiumsalt kan lett bestemmes ved å utføre aluminiumutfelling i små prøveporsjoner av fermentet ved bruk av økende mengder aluminiumsalt. Ved optimale nivåer for aluminiumsalt, oppnås det en tett aluminium-xantanatutflokkning som lett gjenvinnes ved sikting og som lett kan presses sammen til et

faststoffnivå på ca. 20%. Optimal aluminiumionekonsentrasjon er vanligvis funnet å være ca. 1 del aluminiumioner pr. 5 deler tørr gummi (vektbasis).

Det uoppløselige aluminiumsalt eller kompleks blir deretter oppslemmet i et flytende medium som ikke er et oppløsningsmiddel for xantangummi, og der det behandles med en sterk syre for å fjerne aluminium. Et typisk ikke-oppløsende medium for xantan er en blanding av alkohol med lav molekylvekt, f.eks. en alkohol med 1-4 karbonatomer, og vann. Isopropanol er foretrukket. Andre organiske medier, slik som aceton, eller andre ketoner med lav molekylvekt, kan også benyttes, avhengig av tilgjengeligheten og andre faktorer. Noe vann er fortrinnsvis tilstede i dette medium, da vann er det beste oppløsningsmiddel for aluminiumsaltet som stammer fra syrebehandlingen av aluminiumxantanat. Så å si alle de sterke mineralsyrer, som danner vannoppløselige aluminiumsalter, kan benyttes i rensetrinnene, f.eks. svovelsyre, saltsyre og salpetersyre.

Produktet underkastes gjentatt vasking med alkohol inntil i det vesentlige alle rester av aluminium er fjernet. Den aluminiumfrie gummi blir deretter tørket ved lett forhøyet temperatur og oppmalt, slik at man oppnår et tett og frittrislende pulver som lett dispergeres i vann og danner en homogen viskøs oppløsning.

#### Eksempel 1

En liter *Xanthomonas campestris* fermenteringskraft inneholdende ca. 1,8% xantangummi ble fortynnet med to ganger sitt eget volum av vann fra vannkranen. 15 ml 28 %-ig vandig aluminiumkloridoppløsning ble tilsatt, noe som reduserte pH-verdien til ca. 3. Den fortynnede kraft ble deretter sentrifugert ved 25-30.000 omdr./min. i en sentrifuge med kontinuerlig gjennomstrømming for å fjerne celler og nedbrytningsprodukter. pH-verdien for den klarede kraft ble deretter hevet til 4 ved langsomt å tilsette ca. 75 ml 10 %-ig natriumhydroksydoppløsning. Etter hvert som pH-verdien nærmet seg 4, skilte xantangummien seg ut fra oppløsningen i form av en fast og kohesiv utflokking.

142962

6

Utfellingen ble filtrert gjennom en 100 mesh nylonduk og presset sammen, og man oppnådde en filterkake inneholdende ca. 20% faststoffer. For å fjerne aluminium ble filterkaken suspendert i 400 ml isopropanol inneholdende 20 ml konsentrert saltsyre og blandet i en blander for å oppnå en enhetlig oppslemming. Oppslemmingen ble satt hen i ca. 5 minutter, og den uopløselige gummi ble samlet på en 100 mesh nylonduk og presset for å fjerne overskytende oppløsningsmiddel, og man oppnådde en filterkake på ca. 40% faststoffer. Dette ble gjentatt ved bruk av 200 ml isopropanol:vann:saltsyre (14:5:1 v/v). Filterkaken ble deretter suspendert i 250 ml 70 %-ig vandig isopropanol i en blander og nøytralisert til pH 7-8 ved tilsetning av ca. 10 ml 20 %-ig natriumhydroksydoppløsning. Produktet ble samlet på en 100 mesh nylonduk, presset sammen til en kake med ca. 45% faststoffer og tørket i en vakuumovn ved 50°C.

Det ble oppnådd ca. 18 g lyst gyldent pulver av xantangummi. Analyser viste mindre enn 1% nitrogen og mindre enn 0,3% restaluminium. Produktet løste seg lett i springvann til en sterkt viskøs translucent oppløsning.

#### Eksempel 2

Til en liter *Xanthomonas campestris* fermenteringskraft inneholdende ca. 1,8% xantangummi, ble det tilsatt 30 g aluminiumnitrat oppløst i et lite volum vann. Etter grundig blanding ble pH-verdien hevet til ca. 4 ved tilsetning av 75 ml 10 %-ig natriumhydroksydoppløsning. Etter hvert som pH-verdien nærmet seg 4, ble xantan felt ut som en fast kohesiv utflokking. Denne ble samlet på en 100 mesh nylonduk og sammenpresset til en filterkake inneholdende ca. 20% faststoffer.

Kaken ble tørket i en ovn med tvungen trekk ved 60-70°C og oppmalt slik at pulveret gikk gjennom en 20 mesh sikt. Det tørre pulver ble suspendert i 200 ml isopropanol:vann:saltsyre (14:5:1 v/v) og omrørt i 15 minutter og deretter filtrert ved bruk av en sintret glasstrakt med middels porøsitet og under redusert trykk. Resten ble resuspendert i 150 ml av den ovenfor angitte blanding og filtreringen

ble gjentatt. Resten ble deretter suspendert i 150 ml 70 %-ig vandig isopropanol, filtrert og resuspendert i 150 ml 70 %-ig vandig isopropanol og nøytralisert til pH 7-8 ved tilsetning av kaliumhydroksydoppløsning. Suspensjonen ble filtrert og resten tørket i en vakuumovn ved 50°C.

Tørrproduktet ble oppmalt, og man oppnådde et lyst gyldent pulver, som lett oppløste seg i vann og ga en sterkt viskøst translucent oppløsning. Materialet ble funnet å inneholde mindre enn 1% nitrogen og mindre enn 0,05% restaluminium.

### Eksempel 3

Til en liter *Xanthomonas campestris* fermenteringskraft inneholdende omkring 1,8% xantangummi, ble det tilsett 6 g aluminiumacetat oppløst i et lite volum vann. Etter grundig blanding av aluminiumsaltet i kraften, ble pH-verdien hevet til ca. 4 ved tilsetning av 75 ml 10 %-ig natriumhydroksydoppløsning. Etter hvert som pH-verdien nærmet seg 4, ble xantanet utfelt som en fast kohesiv utflokkning. Denne ble samlet på en 100 mesh nylonsikt og presset sammen til en filterkake inneholdende ca. 20% faststoffer.

Filterkaken ble suspendert i 400 ml isopropanol inneholdende 20 ml konsentrert saltsyre og blandet i en blander for å oppnå en enhetlig oppslemming. Oppslemmingen ble satt hen i ca. 15 minutter hvoretter den uoppløselige gummi ble samlet på en 100 mesh nylonsikt og presset sammen, slik at man oppnådde en filterkake på omkring 40% faststoffer. Dette ble gjentatt ved bruk av 250 ml isopropanol:vann: saltsyre (15:5:1 v/v). Filterkaken ble deretter suspendert i 250 ml 70 %-ig vandig isopropanol i en blander og nøytralisert til pH 7-8 ved tilsetning av ca. 10 ml 20 %-ig natriumhydroksydoppløsning. Produktet ble samlet på en 100 mesh nylonsikt og presset sammen for å gi en filterkake på ca. 45% faststoffer, hvoretter den ble tørket i en vakuumovn ved 50°C.

Det ble oppnådd ca. 18 g lyst gyldent pulverformig

142962

8

xantangummi. Analyser viste mindre enn 1% nitrogen og mindre enn 0,3% restaluminium. Produktet løste seg lett i springvann og ga en sterkt viskøs og translucent oppløsning.

P a t e n t k r a v  
-----

1. Fremgangsmåte for utfelling av xantangummi fra en vandig oppløsning som utgjøres av en fermenteringskraft av en bakterie av Xanthomonas-slekten, særlig Xanthomonas campestris, k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter tilsetning av aluminiumacetat, aluminiumklorid eller aluminiumnitrat, til oppløsningen og deretter å øke pH-verdien i oppløsningen til et nivå mellom 3,5 og 4,5.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at uoppløselige stoffer fjernes før utfelling av gummien.