



SUOMI—FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

[B] (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLÄGGNINGSSKRIFT

72345

C (45) *[Faint text]*

(51) Kv.lk./Int.Cl.⁴ C 12 P 19/12

(21) Patentihakemus — Patentansökning	831105
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	30.03.83
(23) Alkupäivä — Giltighetsdag	30.03.83
(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig	08.10.83
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. — Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	30.01.87
(86) Kv. hakemus — Int. ansökan	
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	07.04.82
Saksan liittotasavalta-Föbundsrepubliken Tyskland(DE) P 3213107.0 Toteennäytetty-Styrkt	

(71) Süddeutsche Zucker-Aktiengesellschaft, Maximilianstrasse 10, Mannheim, Saksan liittotasavalta-Föbundsrepubliken Tyskland(DE)

(72) Mohammad Munir, Obrigheim, Saksan liittotasavalta-Föbundsrepubliken Tyskland(DE)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä isomaltuloosin (6-0- α -D-glukopyranosidi-D-fruktoosin) valmistamiseksi immobilisoitujen bakteerisolujen avulla - Förfarande för framställning av isomaltulos (6-0- α -D-glukopyranosido-D-fruktos) med tillhjälp av immobiliserade bakterieceller

(57) Tiivistelmä

Keksinnön kohteena on menetelmä isomaltuloosin valmistamiseksi entsyymaattisella reaktiolla sakkaroosista käyttäen immobilisoituja, kuolleita mikro-organismeja, jotka pystyvät muuttamaan sakkaroosin isomaltuloosiksi. Sakkaroosiliuokseen sekoitetaan tällöin edellisestä isomaltuloosikiteytyksestä saatu emäliuos, ja mikro-organismien annetaan vaikuttaa tähän liuokseen 25 - 40°C:ssa, edullisesti 30 - 40°C:ssa, saadusta reaktioliuoksesta otetaan isomaltuloosi talteen kiteisenä sinänsä tunnetulla tavalla. Keksintö koskee myös sivutuotteena muodostuneen 1-0 α -D-glukopyranosidi-D-fruktoosin talteenottoa melassista.

(57) Sammandrag

Uppfinningen hänför sig till ett förfarande för framställning av isomaltulos genom enzymatisk omvandling ur sackaros medelst immobiliserade, döda mikroorganismer, som har förmåga att omvandla sackaros till isomaltulos. Med sackaroslösningen blandas därvid moderluten från en tidigare isomaltuloskristallisation, och mikroorganismerna får inverka på denna lösning vid 25-40°C, företrädesvis 30-40°C; och isomaltulose utvinns kristallint ur den erhållna reaktionslösningen på i och för sig känt sätt. Uppfinningen hänför sig även till utvinningen av det som biprodukt bildade 1-0- α -D-glukopyranosido-D-fruktoset ur melass.

Menetelmä isomaltuloosin (6-O- α -D-glukopyranosidi-D-fruktoosin) valmistamiseksi immobilisoitujen bakteerisolujen avulla

5 Keksintö koskee menetelmää isomaltuloosin (6-O- α -D-glukopyranosidi-D-fruktoosin) valmistamiseksi entsymaattisesti muuttamalla sakkaroosia isomaltuloosia sakkaroosista muodostavien mikro-organismien avulla käsittelemällä puhtaita sakkaroosiliuoksia tällaisten mikro-organismien
10 kuolleilla, immobilisoiduilla soluilla tai saattamalla sakkaroosi kosketuksiin tällaisten solujen kanssa ja menetelmää, jossa otetaan talteen 1-O- α -glukopyranosidi-D-fruktoosi.

 FI-hakemusjulkaisussa 812 560 on ehdotettu isomaltuloosin valmistusta entsymaattisesti sakkaroosista käsittelemällä puhdasta sakkaroosiliuosta isomaltuloosia sakkaroosista muodostavan mikro-organismin kuolleilla, immobilisoiduilla soluilla. Tällöin konsentraatioalueella 45-75 paino-% olevia, edullisesti 65-75 paino-%:isia sakkaroosiliuoksia johdetaan jatkuvasti 40-60°C:n lämpötilassa immobilisoiduilla soluilla täytetyn reaktorin lävitse. Syntynyt isomaltuloosi otetaan talteen kiteisenä sinänsä tunnetuin menetelmin.

 Menetelmässä käytetyt mikro-organismit ovat *Protaminobacter rubrum* (CBS 574.77), *Serratia plymuthica* (ATCC 15928), *Serratia marcescens* (NCIB 8285) ja *Leuconostoc mesenteroides* (NRRL B-512 F (ATCC 10 830a)), edullisesti *Protaminobacter rubrum* (CBS 574.77).

 Ehdotetun menetelmän suorituksessa on osoittautunut,
30 että usein suuri osa lähtöaineena käytetystä sakkaroosista (aina noin kolmasosaan asti) ei muutu halutuksi yhdisteeksi (isomaltuloosi), vaan sivutuotteiksi ja/tai jää reagoimattomana reaktioliuokseen. Koska nämä sivutuotteet ehkäisevät myös syntyneen isomaltuloosin kiteytymistä ja siten edelleen
35 alentavat kiteytyssaantoa, menetelmällä, joka estää täysin tai osaksi ei toivottujen ja häiritsevien sivutuotteiden muodostumisen, on suurta taloudellista merkitystä.

Nyt on yllättäen keksitty, että on mahdollista valmistaa erittäin puhdasta isomaltuloosia hyvällä saannolla sakkaroosista siten, että sakkaroosiliuos sekoitetaan edeltävästä isomaltuloosikiteytyksestä saadun emäliuoksen kanssa, saadun liuoksen pitoisuus säädetään aluelle 40-75 paino-%, edullisesti 45-60 paino-%, tätä liuosta käsitellään isomaltuloosia sakkaroosista muodostavien mikro-organismien immobilisoiduilla kuolleilla soluilla tai saatetaan kosketuksiin tällaisten solujen kanssa lämpötila-alueella 25-40°C, edullisesti 30-40°C, ja syntynyt isomaltuloosi otetaan talteen kiteisenä sinänsä tunnetulla tavalla.

Menetelmän edullisessa suoritusmuodossa sakkaroosiliuos, jonka pitoisuus on 40-75 paino-%, edullisesti 45-60 paino-%, jaetaan kahteen osaan, jolloin toinen osa johdetaan isomaltuloosia sakkaroosista muodostavien mikro-organismien immobilisoiduilla, kuolleilla soluilla täytetyn reaktorin kautta 25-40°C:ssa, edullisesti 30-40°C:ssa, siten, että 80-90 % sakkaroosista reagoi, toinen osa sakkaroosiliuoksesta sekoitetaan edeltävästä isomaltuloosikiteytyksestä saadun emäliuoksen kanssa, tämä liuos johdetaan toisen isomaltuloosia sakkaroosista muodostavien mikro-organismien immobilisoiduilla, kuolleilla soluilla täytetyn reaktorin kautta 25-40°C:ssa, edullisesti 30-40°C:ssa siten, että sakkaroosi reagoi lähes täydellisesti, tästä toisesta liuoksen osasta syntynyt isomaltuloosi otetaan talteen sinänsä tunnetulla tavalla kiteisenä, kiteet liuotetaan reaktioliuoksen reagoineeseen ensimmäiseen osaan ja saatetaan kiteytymään, syntyneet isomaltuloosikiteet erotetaan ja emäliuos sekoitetaan sakkaroosiliuoksen toiseen osaan.

Sakkaroosiliuoksen keskimääräinen viipymisaika määrätty kulloinkin käytettyjen immobilisoitujen solujen ominaisaktiivisuudesta. Ominaisaktiivisuus määritellään immobilisoitujen solujen grammaa (kuivapaino) kohti minuutissa reagoineen sakkaroosin määräksi µmooleina. Esimerkiksi reaktori, jonka halkaisija on 100 mm ja kerrokorkeus 450 mm, sisältää 950 g immobilisoituja soluja (kuivapaino), joiden

ominaisaktiivisuus on 60 yksikköä/g. Tämän reaktorin lävitse on johdettava 1 900 ml tunnissa sakkaroosiliuosta (50 paino-%), jotta 90 % sisäänjohdetusta sakkaroosista reagoisi. Koska aktiivisuus jatkuvasti ajon kuluessa alenee,
5 on virtausnopeutta koko ajan säädettävä, jotta saataisiin vakiokoostumuksen omaavaa tuotetta.

Keksinnön mukaisen menetelmän erityisiä etuja valaistaan lähemmin seuraavissa esimerkeissä. Tällöin esimerkissä 1 kuvattu työskentelytapa ja tulokset kuvaavat
10 FI-hakemusjulkaisun 812 560 mukaista tunnettua menetelmää.

Esimerkki 1

a) Protaminobacter rubrum (CBS 574.77)-kannan ympin soluja lietetään 10 ml:aan steriiliä ravintoväliainetta, joka sisältää 8 kg paksua siirappia sokeritehtaalta (kuiva-
15 ainepitoisuus = 65 %), 2 kg maissin liuotusvettä, 0,1 kg $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ja 89,9 kg tislattua vettä (tarpeen vaatiessa säädetty pH 7,2:een). Tämä suspensio toimii ympinä ravitusesiviljelyä varten 1 l:n pulloissa 200 ml:n kanssa ravintoliuosta, jolla on edellä esitetty koostumus.

20 30-tuntisen inkubointiajan jälkeen 29°C :ssa ympätään kullakin 20 pullolla (4 l) 16 l ravintoaineliuosta, jolla on edellä esitetty koostumus, 30 l:n pienoispermentorissa ja käytetään 29°C :ssa johtaen 20 l ilmaa minuutissa ja sekoittaen kierrosluvulla 350 r/min. Kasvava ituluku
25 määritetään mikroskooppisesti. Kun ituluku 5×10^9 itua/ml on saavutettu, siirretään fermentorin sisältö toiseen astiaan, ja siihen lisätään kationi-aktiivista höytälöimisainetta (kuten esim. PRIMAFLOC C 7 firmasta Rohm & Haas, Philadelphia/USA). Höytälöityneiden solujen annetaan laskeutua, dekantoidaan, pestään 0,1 M fosfaattipuskurilla, pH 7,0, ja poistetaan vesi linkoamalla. Massa pursotetaan sitten säikeiksi, kuivataan ilmassa ja jauhetaan.

b) Seulajaa 0,3-0,8 mm edellä saadusta preparaatisesta sekoitetaan 0,1-%:isessa glutaarialdehydiliuoksessa 10
35 minuuttia, pestään fosfaattipuskurilla (0,1 M, pH 7,0) ja täytetään veden alla temperoitavaan pylvääseen. Pylväs kuu-

mennetaan sitten 50°C:seen ja sen läpi saatetaan jatkuvasti virtaamaan 70 paino-%:inen sakkaroosiliuos. Virtausnopeus asetetaan tällöin niin, että pylvään päässä ei sakkaroosia enää ole osoitettavissa.

5 Näin saadulla isomaltuloosiliuoksella on seuraava keskimääräinen koostumus (HPLC = suurpainenestekromatografia):

	Fruktoosi	7,4 g/100 g kuiva-ainetta
	Glukoosi	0,3 g/100 g kuiva-ainetta
10	Sakkaroosi	0,1 g/100 g kuiva-ainetta
	Isomaltuloosi	62,6 g/100 g kuiva-ainetta
	1-O- α -D-glukopyranosidi-D-fruktoosi	16,6 g/100 g kuiva-ainetta
	Oligosakkaridit	13,0 g/100 g kuiva-ainetta

15 Tämä liuos johdetaan jäähdytyskiteyttimeen, jäähdytetään 20°C:seen, ja kiteytynyt isomaltuloosi erotetaan emäliuoksesta suodatuskorilingolla. Emäliuos haihdutetaan 78-82 %:n kuiva-ainepitoisuuteen, sille suoritetaan toinen jäähdytyskiteytys jäähdyttäen 20°C:seen asti, ja kiteytynyt
20 toinen isomaltuloosierä erotetaan emäliuoksesta suodatuskorilingolla.

Saanto:

100 kg:sta sakkaroosiliuosta, joka sisältää 70 kg sakkaroosia, saadaan reaktion jälkeen 43,8 kg isomaltuloosia (62,6 % kuiva-ainepitoisuudesta). Siitä saadaan ensimmäisessä kiteytyksessä puhdasta isomaltuloosia 15,9 kg ja toisessa kiteytyksessä 13,4 kg isomaltuloosia, jonka puhtausaste on 98 %. Se vastaa puhtaan isomaltuloosin kokonaissaantoa 29 kg 70 kg:sta sakkaroosia eli 41,4 % raaka-aineesta.
30 (Tässä esimerkissä ja seuraavissa esimerkeissä laskutoimituksissa tarkoitetaan vedetöntä isomaltuloosia).

Esimerkki 2

Esimerkistä 1 a) saatua seulontafraktiota 0,3-0,8 mm sekoitetaan 0,1-%:isessa glutaraldehydiliuoksessa 10 minuuttia, se pestään fosfaattipuskurissa (0,1-m, pH 7,0)
35 ja täytetään veden alla temperoitavaan pylvääseen. Pylväs lämmitetään 30°C:seen, ja sen lävitse annetaan jatkuvasti

virrata 50-paino-%:ista sakkaroosiliuosta. Virtausnopeus säädetään tällöin sellaiseksi, ettei pylvään päässä enää voida osoittaa sakkaroosia. Näin saadulla isomaltuloosiliuoksella on seuraava keskimääräinen koostumus (HPLC):

5	Fruktoosi	3,6 g/100 g kuiva-ainetta
	Glukoosi	1,8 g/100 g kuiva-ainetta
	Sakkaroosi	0
	Isomaltuloosi	78,4 g/100 g kuiva-ainetta
	1-O- α -D-glukopyra-	
10	nosidi-D-fruktoosi	12,6 g/100 g kuiva-ainetta
	Oligosakkaridit	3,6 g/100 g kuiva-ainetta

Tämä liuos haihdutetaan kuiva-ainepitoisuuteen 78-82 %, liuos viedään jäähdytyskitytimeen, jäähdytetään 20°C:seen, ja liuoksesta kiteytynyt isomaltuloosi erotetaan emäliuoksesta suodatuskorilingolla.

Saanto:

100 kg:sta sakkaroosiliuosta, joka sisältää 50 kg sakkaroosia, saadaan reaktion jälkeen 39,2 kg isomaltuloosia (78,4 % kuiva-ainepitoisuudesta). Siitä saadaan ensimmäisessä kiteytyksessä 25,0 kg puhdasta isomaltuloosia ja toisessa kiteytyksessä 9,6 kg isomaltuloosia, jonka puhtausaste on 98 %. Tämä vastaa 34,4 kg:n kokonaissaantoa puhdasta isomaltuloosia 50 kg:sta sakkaroosia eli 68,8 % raaka-aineesta.

25 Esimerkki 3

Esimerkissä 1 a) saadun preparaatin seulontafraktiota 0,3-0,8 mm sekoitetaan 10 minuuttia 0,1-%:isessa glutaraldehydiliuoksessa, seos pestään fosfaattipuskurilla (0,1-m, pH 7,0) ja täytetään veden alla kahteen 30°C:seen lämmitettyyn pylvääseen.

Työskentelytapa kuvataan viitaten kuvion 1 juoksu-kaavioon.

Toisen pylvään (1) lävitse johdetaan jatkuvasti 50 paino-%:ista sakkaroosiliuosta. Virtausnopeus säädetään tällöin sellaiseksi, että liuoksen virratessa pylvään lävitse vain noin 90 % sakkaroosista reagoi. Näin saadun reaktioliuoksen koostumus on esimerkiksi seuraava (HPLC):

	Fruktoosi	2,9 g/100 g kuiva-ainetta
	Glukoosi	1,6 g/100 g kuiva-ainetta
	Sakkaroosi	10,8 g/100 g kuiva-ainetta
	Isomaltuloosi	75,2 g/100 g kuiva-ainetta
5	1-O- α -D-glukopyra-	
	nosidi-D-fruktoosi	6,4 g/100 g kuiva-ainetta
	Oligosakkaridit	3,1 g/100 g kuiva-ainetta
10	Ensimmäisen pylvään kanssa rinnakkain johdetaan toiseen pylvääseen (2) substraattia, joka koostuu sakkaroosin ja aikaisemman isomaltuloosikiteytyksen emäliuoksen seoksesta. Tämän substraatin koostumus on esimerkiksi seuraava (HPLC):	
	Kuiva-ainepitoisuus	50 paino-%
	Fruktoosi	2,0 g/100 g kuiva-ainetta
15	Glukoosi	1,0 g/100 g kuiva-ainetta
	Sakkaroosi	76,2 g/100 g kuiva-ainetta
	Isomaltuloosi	10,8 g/100 g kuiva-ainetta
	1-O- α -D-glukopyra-	
	nosidi-D-fruktoosi	8,2 g/100 g kuiva-ainetta
20	Oligosakkaridit	1,8 g/100 g kuiva-ainetta

Virtausnopeus tämän pylvään lävitse säädetään sellaiseksi, että pylvään päässä 100 g kohti kuiva-ainetta on korkeintaan 1 g sakkaroosia. Näin saadun reaktioliuoksen koostumus on esimerkiksi seuraava (HPLC):

25	Fruktoosi	5,4 g/100 g kuiva-ainetta
	Glukoosi	2,2 g/100 g kuiva-ainetta
	Sakkaroosi	1,1 g/100 g kuiva-ainetta
	Isomaltuloosi	72,3 g/100 g kuiva-ainetta
	1-O- α -D-glukopyranosi-	
30	di-D-fruktoosi	16,6 g/100 g kuiva-ainetta
	Oligosakkaridit	2,5 g/100 g kuiva-ainetta

Tämä liuos haihdutetaan 78-82 %:n kuiva-ainepitoisuuteen, liuokselle suoritetaan jäädytyskiteytys jäädyttäen 20°C:seen asti ja kiteytynyt isomaltuloosi erotetaan tästä toisesta emäliuoksesta suodatuskorilingolla.

Tässä vaiheessa saatu isomaltuloosi liuotetaan ensimmäisestä pylväästä saatuun reaktioliuokseen, liuos haih-

5 dutetaan 78-82 %:n kuiva-ainepitoisuuteen, kiteytetään kiteyttimessä jäähdyttään 20°C:seen, ja kiteytynyt puhdas isomaltuloosi erotetaan emäliuoksesta suodatuskorilingolla. Tässä vaiheessa saatua emäliuosta käytetään toisen pylvään substraatin valmistukseen.

10 Toinen emäliuos, jota voidaan nimittää myös melasiksi, sisältää noin 30-40 % kuiva-aineesta 1-O- α -glukopyranosidi-D-fruktoosia, ja sitä voidaan käyttää tämän sokerin valmistuksessa raaka-aineena. Tämä sokeri voidaan
15 ottaa talteen esimerkiksi kromatografisesti erottamalla ioninvaihtajalla tai muilla sopivilla erotusaineilla, jolloin liuos ennen talteenottoa esirikastetaan kiteyttämällä siitä edelleen isomaltuloosia metanolissa ja poistamalla liuoksesta hiivalla käytettävä sokeri käsittelemällä vapaalla tai immobilisoidulla hiivalla.

Saanto:

Tässä esimerkissä kuvatulla työskentelytavalla saadaan 100 kg:sta sakkaroosia 80,0 kg puhdasta isomaltuloosia.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä isomaltuloosin (6-O- α -D-glukopyranosidi-D-fruktoosin) valmistamiseksi entsymaattisesti muuttamalla sakkarosia isomaltuloosia sakkarosista muodostavien mikro-organismien avulla, jossa menetelmässä käsitellään puhtaata sakkarosiliuoksia tällaisten mikro-organismien kuolleilla, immobilisoiduilla soluilla tai saatetaan sakkarosiksi kosketuksiin tällaisten solujen kanssa, t u n n e t t u siitä, että sakkarosiliuos sekoitetaan edeltävästä isomaltuloosikiteytyksestä saadun emäliuoksen kanssa, saadun liuoksen pitoisuus säädetään alueelle 40-75 paino-%, edullisesti 45-60 paino-%, tätä liuosta käsitellään isomaltuloosia sakkarosista muodostavien mikro-organismien immobilisoiduilla, kuolleilla soluilla tai saatetaan kosketuksiin tällaisten solujen kanssa lämpötila-alueella 25-40°C, edullisesti 30-40°C, ja syntynyt isomaltuloosi otetaan talteen kiteisenä sinänsä tunnetulla tavalla.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että sakkarosiliuos, jonka pitoisuus on 40-75 paino-%, edullisesti 45-60 paino-%, jaetaan kahteen osaan, jolloin toinen osa johdetaan isomaltuloosia sakkarosista muodostavien mikro-organismien immobilisoiduilla, kuolleilla soluilla täytetyn reaktorin kautta 25-40°C:ssa, edullisesti 30-40°C:ssa, siten että 80-90 % sakkarosista reagoi, toinen osa sakkarosiliuoksesta sekoitetaan edeltävästä isomaltuloosikiteytyksestä saadun emäliuoksen kanssa, tämä liuos johdetaan toisen isomaltuloosia sakkarosista muodostavien mikro-organismien immobilisoiduilla, kuolleilla soluilla täytetyn reaktorin kautta 25-40°C:ssa, edullisesti 30-40°C:ssa, siten, että sakkarosiksi reagoi lähes täydellisesti, tästä toisesta liuoksen osasta syntynyt isomaltuloosi otetaan talteen kiteisenä sinänsä tunnetulla tavalla, kiteet liuotetaan reagoineeseen ensimmäiseen liuoksen osaan, saatetaan kiteytymään, ja syntyneet isomaltuloosikiteet erotetaan, ja reagoineen

ensimmäisen liuososan emäliuos sekoitetaan - edeltävän isomaltuloosikiteytyksen emäliuoksena - sakkaroosiliuoksen toiseen osaan.

5 3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että käytetään seuraavia mikro-organismeja: Protaminobacter rubrum (CBS 574.77, Serratia plymuthica (ATCC 15928), Serratia marcescens (NCIB 8285) ja Leuconostoc mesenteroides (NRRL B-512 F (ATCC 10830a)), edullisesti Protaminobacter rubrum (CBS 574.77).

10 4. Menetelmä 1-O- α -glukopyranosidi-D-fruktoosin talteenottamiseksi, t u n n e t t u siitä, että patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukaisesta isomaltuloosin valmistuksesta saadusta toisesta emäliuoksesta esirikastuksen jälkeen kiteyttämällä metanolissa lisää isomaltuloosia ja poistamalla liuoksesta hiivalla käytettävä sokeri vapaalla tai immobilisoidulla hiivalla, 1-O- α -glukopyranosidi-D-fruktoosi otetaan talteen kromatografisella erotuksella ioninvaihtajalla tai muilla sopivilla erotusmateriaaleilla ensin vesiliuoksena ja muutetaan sitten sinänsä tunnetulla tavalla
20 kuivaan muotoon.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av isomaltulos
(6-O- α -D-glukopyranosido-D-fruktos) genom enzymatisk omvand-
ling av sackaros med tillhjälp av mikroorganismer som bildar
isomaltulos ur sackaros, i vilket förfarande rena sackaros-
lösningar behandlas respektive bringas i kontakt med döda,
immobiliserade celler av dylika mikroorganismer, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att man blandar en sackaroslösning
med moderluten från en tidigare isomaltuloskristallisation,
reglerar den erhållna lösningens koncentration till 40-
75 vikt-%, företrädesvis 45-60 vikt-%, behandlar respektive
bringar denna lösning i kontakt med immobiliserade, döda
celler av mikroorganismer som bildar isomaltulos ur sackaros,
vid en temperatur av 25-40°C, företrädesvis 30-40°C, och
tillvaratar det uppkomna isomaltulose i kristallin form
på i och för sig känt sätt.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att man delar sackaroslösningen, vilken
har en koncentration av 40-75 vikt-%, företrädesvis 45-
60 vikt-%, i två delar, varvid man leder den ena delen över
en med immobiliserade, döda celler av mikroorganismer, vilka
bildar isomaltulos ur sackaros, fylld reaktor vid 25-40°C,
företrädesvis 30-40°C, så att 80-90 % av sackarose omsätts,
blandar den andra delen av sackaroslösningen med moderluten
från en tidigare isomaltuloskristallisation, leder denna
lösning över en andra med immobiliserade, döda celler av
mikroorganismer, vilka bildar isomaltulos ur sackaros,
fylld reaktor vid 25-40°C, företrädesvis 30-40°C, så att
sackarose omsätts nästan helt, tillvaratar det ur denna
andra lösningsdel uppkomna isomaltulose i kristallin form
på i och för sig känt sätt, löser kristallerna i den omsatta
första lösningsdelen, bringar lösningen till kristallisation
och separerar de uppkomna isomaltuloskristallerna, och blandar
moderluten från den omsatta första lösningsdelen - som
moderlut från en tidigare isomaltuloskristallisation -
med sackaroslösningens andra del.

3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n -
n e t e c k n a t därav, att man använder följande mikro-
organismer: Protaminobacter rubrum (CBS 574.77), Serratia
plymuthica (ATCC 15928), Serratia marcescens (NCIB 8285)
5 och Leuconostoc mesenteroides (NRRL B-512 F (ATCC 10830a),
företrädesvis Protaminobacter rubrum (CBS 574.77).

4. Förfarande för utvinning av 1-O- α -glukopyrano-
sido-D-fruktos, k ä n n e t e c k n a t därav, att man
ur en annan moderlut från isomaltulosframställning enligt
10 patentkravet 1 eller 2, efter föranrikning genom utkris-
tallisation av ytterligare isomaltulos i metanol och genom
avlägsning av medelst jäst jäsbart socker från lösningen
genom behandling med fri eller immobiliserad jästs, ut-
vinner 1-O- α -glykopyranosido-D-fruktos först som vatten-
15 lösning genom kromatografisk separation på jonbytare eller
på andra lämpliga separationsmaterial och sedan överför
det på i och för sig känt sätt i torr form.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Kuulutusjulkaisuja:-Utläggningsskrifter: Suomi-Finland(FI) 51 714
(C 12 D 13/02).

Muita julkaisuja:-Andra publikationer: Chem. Abstr. vol. 80 (1974)
1327a.

72345

Kuvio 1

Juoksukaavio

