

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 832901 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **832901**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C12P

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **11.08.1983**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **11.08.1983**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **15.02.1984**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etu oikeus - Prioritet - Priority

14.08.1982 DE P_3230301.7

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Hoechst Aktiengesellschaft, 65926 Frankfurt am Main, SAKSA, (DE)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Fischer, Edgar, TOWN UNKNOWN, SAKSA, (DE)

2 • Schlingmann, Merten, BRD, SAKSA, (DE)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Mikrobisten polysakkaridien eristäminen niiden rasva- amiiniliitännäistuotteista.

Isolering av mikrobiella polysackarider ur deras fettaminaddukter.

Mikrobisten polysakkaridien eristäminen niiden rasva-amiiniliitännäistuotteista

5 Keksintö kohdistuu menetelmään mikrobisten polysakkaridien eristämiseksi niiden liitännäistuotteista rasva-amidien kanssa.

Käymisen avulla valmistetuilla ekstraselluläärisillä mikrobisilla polysakkarideilla on niiden erinomaisten ominaisuuksien vuoksi teollista käyttöä sakeuttajina, geeliytys- tai suspendointiaineina, suojakolloideina tai vettä sitovina aineina. Niiden valmistusmenetelmästä johtuen ovat nämä tuotteet verrattain kalliita, jolloin tähän mennessä tunnetut, monimutkaiset erotusmenettelyt vaikuttavat huomattavasti niiden korkeaan hintaan.

15 US-patentista 3 928 316 tiedetään anionisen heteropolysakkaridin, jota saadaan käymistapahtumassa bakteerin *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 avulla, eristäminen primäärisen pitkäketjuisen amiinin vesiliukoisena suolana hapotetusta, laimennetusta käymisliuoksesta. Haluttaessa suorittaa tämän suolan lohkaus tapahtuu se alkoholipitoi-
20 sen kaliumhydroksidiliuoksen avulla, jolloin saadaan kaliumsuola, mutta joka sisältää vielä amiinia.

Samana päivänä ilmoitettu patentti-ilmoitus (DE-patenttihakemus P 32 30 303.3) kohdistuu menetelmään mikrobisten polysakkaridien eroittamiseen vesiliuoksistaan saostamalla happamassa väliaineessa liitännäistuotteena pitkäketjuisen alkyyliamiinin kanssa, mille menetelmälle on tunnusomaista se, että käytetään kaavan

30
$$NR^1R^2R^3$$

mukaista amiinia, jossa R^1 tarkoittaa 10-20 hiiliatomia sisältävää alkyyliä ja R^2 ja R^3 , jotka voivat olla samoja tai erilaisia, tarkoittavat metyyliä tai etyyliä.

35 Tunnetut menetelmät amiini-liitännäistuotteiden lohkaisemiseksi etenevät osaksi erittäin epätäydellisesti ja johtavat suolapitoisiin polymeereihin. Siten tarvi-

taan muita puhdistuskäsittelyjä, jotka erikoisesti jäteveden käsittelyn vuoksi ovat kakkiita. Liitännäistuotteiden käsittely voimakkailla emäksillä voi myös aiheuttaa polymeerin vahingoittumisen.

5 Samana päivänä ilmoitettu patentti-ilmoitus (DE-patenttihakemus P 32 30 302,5) kohdistuu menetelmään mikrobisten polysakkaridien eristämiseen niiden amiiniliitännäistuotteista käsittelemällä alkalisilla aineilla 1-3 hiiliatomia sisältävien yksiarvoisten alkanolien läsnäollessa, mille menetelmälle on tunnusomaista se, että 10 alkalisisena aineena käytetään ammoniakkia tai helposti haihtuvaa amiinia.

Keksintö kohdistuu edellä esitetystä poiketen menetelmään mikrobisten polysakkaridien eristämiseen niiden 15 rasva-amiiniliitännäistuotteista, mille menetelmälle on tunnusomaista se, että näitä liitännäistuotteita käsitellään alkoholin läsnäollessa tähän alkoholiin liukenevan tai lämmön avulla helposti dissosioituvan ammoniakki-suolan kanssa tai helposti haihtuvalla amiinilla.

20 Seuraavassa esitellään tarkemmin keksinnön suositeltavia toteutusmuotoja.

Lähtömateriaaleina ovat sellaiset liitännäistuotteet edullisia, jotka on johdettu ksantaanista mikrobisena polysakkarina ja primäärisestä tai tertiäärisestä rasvaalkyyliamiinista (kahden lyhytketjuisen alkyyliähteen 25 kanssa). Edullisesti käytetään näitä liitännäistuotteita kosteassa tilassa, esimerkiksi suodoskakkuina, joita saadaan eroitettaessa mikrobisia polysakkarideja käymisliuoksesta. Tällöin ei tarvita liitännäistuotteiden kuivausta, mikä ei vaadi pelkästään huomattavia energiamääriä 30 vaan voi vaikuttaa myös haitallisesti liitännäistuotteiden liukoisuus- ja turpoamiskykyyn. Vähäiset vesimäärät, joita esiintyy kosteita liitännäistuotteita käytettäessä, eivät häiritse keksinnön mukaista menetelmää.

35 Alkoholeiksi soveltuvat periaatteessa kaikki, joiden liuotuskyky mainittujen suolojen suhteen on riittävä tai

Alkoholeiksi soveltuvat periaatteessa kaikki, joiden liuotuskyky mainittujen suolojen suhteen on riittävä tai joissa nämä suolat dissosioituvat helposti lämmön vaikutuksesta. Suositeltavia ovat lakoholit, joiden kiehumispiste normaalipaineessa on noin 100°C , erikoisesti alemmat alkanolit, edullisesti metanoli, etanoli, n- ja iso-propanoli. Aloholeja käytetään edullisesti kaupallisina, teknillisinä laatuina, jolloin myös tällöin pätee, että näiden tuotteiden sisältämät vähäiset vesimäärät eivät vaikuta haitallisesti keksinnön mukaisessa menetelmässä. Suurehko vesimäärät eivät kuitenkaan ole edullisia, koska vapaat mikrobiset polysakkaridit, erikoisesti ksantaani, ovat veteen liukenevia, mutta eivät liukene alkoholeihin. Suurehko vesipitoisuus väliaineessa vaikeuttaisi siten käsittelyä.

Helposti haihtuvilla amiineilla, joiden suoloja käytetään, ymmärretään ensi sijassa niitä, joiden kiehumispiste normaali-paineessa on alempi kuin 150°C . Amiini-suolat, joiden kiehumispisteet ovat korkeampia, ovat vähemmän sopivia. Edullisia ovat täten primääristen alkyyliamiinien suolat, joiden alkyylilähteessä on korkeintaan 6 hiiliatomia, sekundääriset amiinit, joiden alkyylitähteet ovat samoja tai erilaisia ja sisältävät korkeintaan 4 hiiliatomia ja tertiääriset amiinit, joiden alkyylitähteet ovat samoja tai erilaisia ja sisältävät korkeintaan 3 hiiliatomia. Erikoisen suositeltavia ovat trimetyyliamiinin, trietyyliamiinin, dimetyylietyyliamiinin ja dietyylimetyyliamiin suolat.

Suoloina ovat suositeltavia lämmön avulla helposti dissosioituvat tuotteet kuten ammoniumkarbonaatti, ammoniumformiaatti, ammoniumasettaatti, trietyyliammoniumasettaatti, trimetyyliammoniumformiaatti ja trietyyliammoniumformiaatti. Termisesti stabiilempien suolojen suhteen on tärkeää, että niiden liukenevuus alkoholiin valitussa menetelmälämpötilassa on riittävä, mikä voidaan helposti todeta yksinkertaisen esikokeen avulla. Käyttökelpoisia

ovat esimerkiksi ammoniumkloridi, -bromidi tai -nitraatti, edelleen analogiset mono-, di- ja trietyyliammoniumsuolat.

Jos primäärisen tai sekuncäärisen rasva-amiinin liitännäistuote lohkaistaan tai jos käytetty, helposti
 5 dissosioituva suola johdetaan ammoniakista tai primääristä tai sekunäärisestä amiinista, on huolehdittava siitä, että vapautuneet amiinit voivat reagoida reaktiivisten ryhmien, erikoisesti esteriryhmien kanssa mikrobisissä polysakkaredideissa. Näissä tapauksissa työskennellään siten tarkoituksenmukaisesti matalissa tai kohtuul-
 10 lisesti kohotetuissa lämpötiloissa.

Käytettäessä tertiääristen amiinien, myös helposti dissosioituvien, suoloja ja käytettäessä tertiääristen amiinien liitännäistuotteita voidaan sitä vastoin työskennellä kohotetuissa lämpötiloissa ilman, että tuote vahingoittuu. Korkeammat lämpötilat ovat suositeltavia,
 15 koska käsittelyaika lyhenee huomattavasti.

Reaktio suoritetaan tarkoituksenmukaisesti reaktioseoksen palautuskeittolämpötilassa. Erikoisesti alem-
 20 pia alkoholeja lisättäessä voidaan käyttää painetta.

Liitännäistuotteen lohkaisemiseksi käytetään vähintään ekvimolaarinen määrä suolaa, liitännäistuotteen aminipitoisuudesta laskettuna, edullisesti kuitenkin enemmän tai vähemmän suuri ylimäärä, esimerkiksi 2-10-kertainen molaarinen määrä. Koska vapautuneet mikrobiset polysakkaridit eivät liukene alkoholipitoiseen suolaliuokseen,
 25 ei suolan ylimäärä häiritse, mikäli se jää liuenneeksi, koska tällöin liuos voidaan palauttaa uudestaan takaisin menetelmään. Tämä menettelytapa tulee kyseeseen myös jatkuvassa toteutuksessa.
 30

Mikrobiset polysakkaridit saadaan helposti eroitettavassa muodossa ja ovat ne kuivauksen jälkeen pääasiassa vapaassa happomuodossa. Tuotteen viskositeettiominaisuudet ovat erittäin edulliset.

35 Alkoholiin ja lohkaistavaan amiiniin sisältyvä nestefaasi voidaan käsitellä tislaamalla. Liitännäistuotteesta

lohkaistu amiini voidaan käyttää välittömästi uudestaan mikrobisten polysakkaridien eroittamiseen niiden käymisliuoksista. Alkoholi voidaan palauttaa uudestaan menetelmään.

5 Seuraavissa esimerkeissä ovat osat ja prosenttimäärät painon mukaan, ellei toisin ole mainittu. Tilavuusosat suhteutuvat paino-osiin kuten litra kilogrammaan.

Ensin esitetään liitännäistuotteen kirjallisuudesta tuntematon valmistus ksanataanista ja tertiäärisestä rasva-alkyyliamiinista (DE-patenttihakemus P 32 30 303.3).

10 Tuotantokantana käytettiin *Xanthomonas campestris* bakteeria NRRL- B-1459. Esiviljelyä varten ympätettiin agar-viljelmä glukoosi/peptoni-väliaineessa ja käyminen suoritettiin ravistelupulloissa 30°C lämpötilassa. Tätä viljelyä käytettiin inokulointiin (3 %) 10 litran käymis-
15 astiassa, jonka elatusväliaine sisälsi 3-5 % glukoosia tai sakkaroosia, 0,15-0,25 % maissinturvotusvettä, 0,1 - 0,2 % natriumnitraattia, 0,1 % dikaliumfosfaattia ja 0,05 % magnesiumsulfaattihydraattia. Ympättyä käymis-
20 liuosta pidettiin 28°C lämpötilassa ja sekoittaen (400 rpm) johdettiin siihen 10 litran ilmaa minuutissa. Noin 36 tunnin kuluttua sisälsi käymisväliaine 18-20 grammaa ksantaania litraa kohti.

100 grammaan ksantaaniliuosta, jonka polysakkaridipitoisuus oli 1,8 %, sekoitettiin 0,85 g talirasva-alkyyli-dimetyyliamiinia (C-ketjun jakauma ralirasva-alkyyliähteessä: noin 5 % C₁₄; 30 % C₁₆; 65 % C₁₈). Lisättäessä 2,5 g 2N etikkahappoa juoksuttui saatu dispersio ja liitännäistuote eroittui ensin voimakkaasti
30 turvonneina kokkareina, jotka kuitenkin sekoitettaessa uudestaan nopeasti desolvatoituvat. Liitännäistuote eroitettiin suodattamalla, pestiin deionisoidulla vedellä ja kuivattiin puristamalla. Saatiin 6,2 g kosteaa suodatinkakkua, joka sisälsi 1,8 g ksantaania ja 0,43 g
35 amiinia.

Esimerkki 1

100 osaa kosteaa puristekakkua, joka muodistui ksantaanin heksadesyyli dimetyyliamiini-liitännäistuotteesta, joka sisälsi 32 % ksantaania, pienennettiin leikkuuteril-
 5 lä varustetussa sekoittimessa yhdessä 4000 osan kanssa metanolia ja 100 osan lisäämisen jälkeen ammoniumbromidia kuumennettiin 6 tuntia palauttaen. Tällöin kuitumaisena vapautunut ksantaani eroitettiin suodattamalla ja pestiin käytännössä bromidipuhhtaaksi. Suodoskaku
 10 kuivattiin ja pienennettiin. Ksantaanin saanto oli lähes kvantitatiivinen (31,9 paino-osaa). Tuote liukenei täydellisesti deionisoituun veteen.

Esimerkki 2

Meneteltiin kuten esimerkissä 1 paitsi, että käytettiin kosteaa suodoskakkua, joka sisälsi heksadesyyliamiinin ja ksantaanin liitännäistuotetta, 3200 osaa metanolia ja 100 osaa ammoniumasettaattia. Käytännöllisesti katsoen kvantitatiivisesti saatu ksantaani liukeni täytel-
 15 lisesti deionisoituun veteen.

20

Esim.	Ksantaaniliitännäistuote yhdessä	Alkoholi (osaa)	Suola (osaa)
3	Kookosrasva-alkyyli dimetyyliamiinin	Isopropanoli (2500)	Trimetyyliammonium-asettaatti (170)
25	4 Talirasva-alkyyliamiinin	Metanoli (4000)	Ammoniumformiaatti (120)
	5 Heksadesyyliamiinin	Metanoli (3000)	Ammoniumvetykarbonaatti (80)
	6 Soijarasva-alkyyli dimetyyliamiinin	Etanoli (3500)	Metyyli dietyyli ammoniumasettaatti (180)
30	7 Talirasva-alkyyli dimetyyliamiinin kanssa	Metanoli (3500)	Trietyyliammonium-kloridi

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä mikrobisten polysakkaridien erittä-
seksi niiden rasva-amiiniliitännäistuotteista, t u n -
5 n e t t u siitä, että tätä liitännistuotetta käsitellään
alkoholin läsnä ollessa tähän alkoholiin liukenevan tai
lämmön vaikutuksesta helposti dissosioituvan ammoniakkin
suolan avulla tai helposti haihtuvalla amiinilla.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n -
10 n e t t u siitä, että käytetään alkoholia, jonka kiehu-
mispiste normaalipaineessa on noin 100°C.
3. Patenttivaatimuksien 1 ja 2 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että alkoholi on alempi alkanoli.
4. Yhden tai useamman patenttivaatimuksen 1-3 mu-
15 kainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että helposti
haihtuvan amiinin kiehumispiste normaalipaineessa on
150°C alapuolella.
5. Yhden tai useamman patenttivaatimuksen 1-4 mu-
kainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että reaktio
20 suoritetaan reaktioseoksen palautuskeittolämpötilassa.
6. Yhden tai useamman patenttivaatimuksen 1-5
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mikrobi-
nen polysakkaridi on ksantaani.
7. Yhden tai useamman patenttivaatimuksen 1-6 mu-
25 kainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että rasva-
amiini on primäärinen rasva-alkyyliamiini.
8. Yhden tai useamman patenttivaatimuksen 1-6
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että rasva-
amiini on tertiäärinen rasva-alkyyliamiini, joka sisältää
30 kaksi lyhytketjuista alkyyliähdettä.

Patentkrav:

1. Förfarande för isolering av mikrobiella polysackarider ur deras fettamin-addukter, k ä n n e -
5 t e c k n a t därav, att dessa addukter behandlas i när-
varo av en alkohol med ett i denna alkohol lösligt eller
termiskt lätt dissocierande salt av ammoniak eller av en
lättflyktig amin.
2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
10 t e c k n a t därav, att man insätter en alkohol med en
kokpunkt vid normaltryck av ungefär 100°C.
3. Förfarande enligt patentkraven 1 och 2,
k ä n n e t e c k n a t därav, att alkoholen är en lägre
alkanol.
- 15 4. Förfarande enligt ett eller flera av patent-
kraven 1-3, k ä n n e t e c k n a t därav, att den lätt-
flyktiga aminen har en kokpunkt vid normaltryck under
150°C.
5. Förfarande enligt något av patentkraven 1-4,
20 k ä n n e t e c k n a t därav, att reaktionen utföres vid
reaktionsblandningens återflödestemperatur.
6. Förfarande enligt ett eller flera av patent-
kraven 1-5, k ä n n e t e c k n a t därav, att den mikro-
biella polysackariden är xantan.
- 25 7. Förfarande enligt ett eller flera av patent-
kraven 1-6, k ä n n e t e c k n a t därav, att fettaminen
är en primär fettalkylamin.
8. Förfarande enligt ett eller flera av patent-
kraven 1-6, k ä n n e t e c k n a t därav, att fettaminen
30 är en tertiär fettalkylamin med två kortkedjande alkyl-
rester.