



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU**
UTLÄGGNINGSSKRIFT 66830

C (45) Patentti myönnetty 10 12 1984
Patentimodellina

(51) Kv.Ik. /Int.Cl.³ C 07 C 31/26 // C 07 H 3/02

SUOMI—FINLAND

(FI).

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus — Patentansöknin	763616
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	16.12.76
(23) Alkuperäisyys — Giltighetsdag	16.12.76
(41) Tulut julkiseksi — Blivt offentlig	20.06.77.
(44) Nähtävöityminen ja kuulutus julkiseksi — Ansökan utlagd och utskriften publicerad	31.08.84
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	19.12.75

Japani-Japan(JP) 150637/75
Toteennäytetty-Styrkt

(71) Towa Kasei Kogyo Co., Ltd., 2-chome 1-2, Otemachi, Chiyoda-ku, Tokyo,
Japani-Japan(JP)

(72) Motohiro Takemura, Saitama-ken, Mochihiro Iijima, Saitama-ken,
Yoshiaki Tateno, Saitama-ken, Yuji Osada, Tokyo,
Hiroyuki Maruyama, Saitama-ken, Japani-Japan(JP)

(74) Antti Impola

(54) Menetelmä D-mannitolin valmistamiseksi -
Förfarande för framställning av D-mannitol

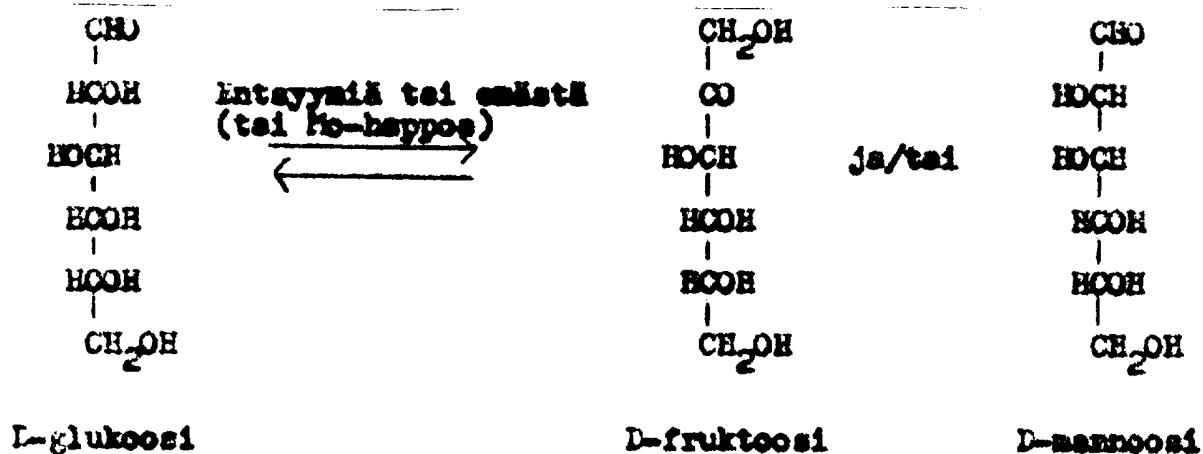
Keksinnön kohteena on menetelmä D-mannitolin valmistamiseksi.
Lähemmin selitettynä keksinnön kohteena on D-mannitolin sellainen valmistusmenetelmä, jonka mukaan D-glukoosia isomeroitetaan tämän D-glukoosin erään osan muuttamiseksi D-mannoosiksi ja D-fruktoosiksi, minkä jälkeen saatu sokeriseos hydrolysoitetaan suuren paineen alaisen vedyn avulla.

D-mannitoli on viime aikoina saavuttanut laajaa käyttöä lääkkeiden, ruokatarvikkeiden ja kemiallisten tuotteiden materiaalina. D-mannitolia esiintyy yleensä sellaisenaan kasveissa, varsinkin merikasveissa. D-mannitolia muodostuu myös kemiallisesti D-mannoosia tai D-fruktoosia hydrogenoitaessa. Hydrogenoitaessa on D-mannitolin teoreettinen muodostumissuhde D-mannoosista 100 %, kun taas D-mannitolin hydrogenoiminen D-fruktoosista tapahtuu 50-prosenttisesti, koska puolet käytetystä D-fruktoosimoolista muuttuu D-sorbitoliksi. (Tässä selityksessä ja patenttivaatimuksissa sekä prosentti-ilmaisuksissa -osat perustuvat kuiva-aineeseen.)

D-mannitolia valmistetaan nykyään kemiallisesti siten, että 100 paino-osaa sakkaroosia invertoidaan (toisin sanoen hydrolysoitetaan) 52 paino-osaa D-glukoosia ja 52 paino-osaa D-fruktoosia sisältävän seoksen muodostamiseksi, ja seos hydrogenoidaan siten, että se muuttuu D-sorbitolin ja D-mannitolin seokseksi, minkä jälkeen D-mannitoli kiteytetään sen erottamiseksi seoksesta. Tämän menetelmän mukaan D-fruktoosin muodostumissuhde sakkaroosista on enintään 52 paino-% niin, että D-mannitolin muodostumissuhde hydrogenoitaessa pienenee edellä mainitusta teo-

reettisestä muodostumissuhteesta (toisin sanoen 50 %) pakosta 26-painoprosenttiin tai tätä pienemmäksi, kun D-mannitolia valmistetaan D-fruktoosista, minkä seurauksena saadun kiteisen D-mannitolin määrä on noin 17 paino-% lähtöaineesta, koska huomattava määrä D-mannitolia väistämättömästi kiteyttämismvaiheessa jää emäliuokseen.

Edellä esitetyn yhteydessä on tunnettua, että D-glukoosi isomeroituu siten, että osa siitä muuttuu D-fruktoosiksi ja/tai D-mannoosiksi entsyymin tai emäksen ollessa läsnä. D-glukoosin tämän isomeroitumisen kemiallinen kaava on esitetty seuraavassa. (Sokerien näiden isomeroimisreaktioiden joukossa ovat sellaiset reaktiot kuin D-glukoosin muuttuminen D-mannoosiksi erikoisesti eli rajoitetusti määritelty "epimeroinniksi".)



D-glukoosin tunnettuja isomeroitimerkkejä ovat seuraavat: Lisättäessä glukoosi-isomeraasia vesiliuokseen, jossa on 100 osaa D-glukoosia ja lämmitettäessä saatua seosta 65 °C:ssa 3 vuorokautta, muodostuu tasapainotila, jossa on 54 osaa D-glukoosia ja 46 osaa D-fruktoosia. Edelleen mainittakoon, että pidettäessä kyllästynyttä kalkkiliuosta, jossa on 100 osaa D-glukoosia, 35 °C:ssa 5 vuorokautta, muodostuu tasapainotila, jossa on 63,5 osaa D-glukoosia, 31,0 osaa fruktoosia, 2,5 osaa D-mannoosia ja 3,0 osaa epäpuhtauksia. Viimemainittuun menetelmän yhteydessä reaktiolämpötilan nousu johtaa D-fruktoosin muodostumissuhteen alenemiseen.

Myöhemmin on julkaisussa Angew. Chem. 83 (23), 967 (1971) samoin kuin tsekkoslovakialaisessa patentissa no. 149 051 esitetty, että saadaan tasapainotilassa oleva seos, jossa on 75 osaa D-glukoosia ja 25 osaa D-mannoosia ilman mitään D-fruktoosin muodostumista, kun 1 osa molybdeenihappoa lisätään pienen konsentraation (toisin sanoen noin 17 %) omaavan vesiliuokseen, jossa on 100 osaa D-glukoosia, ja saatua seosta lämmitetään 70...100 °C:ssa 5...10 tuntia pH-arvon ollessa 7,0

tai tätä pienempi (reaktiojärjestelmien pH-arvojen mitään säätää ei kuitenkaan ole suoritettu näiden kirjallisuusviitteiden esimerkeissä, kun taas pH-arvoa noin 5 on käytetty meidän suorittamissamme näiden esimerkkien jäljittämiskokeissa).

D-glukoosia isomeroimalla eli epimeroimalla edellä mainitulla tavalla saatujen kaikkien D-glukoosin, D-fruktoosin ja/tai D-mannoo- sin tasapainotilassa olevien seosten oletetaan vastaavan ainoastaan mainittua seosta, jossa on 52 paino-osaa D-glukoosia ja 52 paino-osaa D-fruktoosia, tai pienempää muodotumissuhdetta, kun näitä valmiste- taan sovetlamalla nykyisiä kemiallisia menetelmiä, ja on kysymys D-mannitolin muodostumissuhteesta käytettyyn lähtöaineeseen verrattuna.

Hakija on tutkinut D-glukoosin isomeroitusreaktioita, varsinkin tsekkiläisen patetin esittämän menetelmän mukaista D-glukoosin epiroitusreaktiota, jolloin on todettu, että suoritettaessa tämä epimeroitusreaktio alhaisessa pH-arvossa ja korkeassa lämpötilassa, toisin sanoen pH-arvon ollessa 2,0...4,5 ja lämpötilan ollessa 110... 160 °C, paranee D-mannoosin muodostumissuhde, käytettyyn D-glukoosiin verrattuna huomattavasti, toisin sanoen 30...36 %, D-glukoosin ja D-mannoosin kriittiseen seossuhteeseen 75:25 nähden, joka saavutetaan mainitun ennestään tunnetun menetelmän avulla. Edellä mainituissa re- aktio-olosuhteissa voidaan epiroimisreaktio myös suorittaa käyttämällä suuren konsentraation omaavaa D-glukoosiliuosta ja pientä määrää mo- lybdeenihappoyhdistettä. Reaktio tapahtuu hyvin nopeasti esim. 40 minuuttia lyhyemmässä ajassa.

On myös tutkittu mahdollisuuksia entsymaattisesti isomeroida D-glukoosia, joka esiintyy yhdessä D-mannoosin kanssa edellä epime- roituneessa seoksessa. Ensin on tutkittu, vaikuttaako epimeroituneeseen seokseen pakosta jäänyt molybdeenihappoyhdiste estävästi glukoosi-iso- meraasin aiheuttamaan isomeroitusreaktioon. Edelleen on tutkittu seokseen lisätyn glukoosi-isomeraasin vaikutusta siihen tasapainotilaan, joka epimeroituneessa seoksessa muodostuu D-glukoosin ja D-mannoosin välillä.

Näiden tutkimusten perusteella on todettu, että tällainen entsymaattinen isomeroituminen siinä tapauksessa, että epimeroitunees- sa seoksessa olevan molybdeenihappoyhdisteen määrä on ollut pienempi kuin 0,2 % seoksen kuiva-aineesta, on tapahtunut normaalisti, ja että enintään noin 46 % epimeroituneessa seoksessa jäljellä olevasta D-glukoosista on muuttunut D-sakkaridiksi ilman, että mukana oleva D-mannoosi vaikuttaa tähän. Siinä tapauksessa, että molybdeenihappo- yhdisteen määrä on suurempi kuin 0,2 %, esiintyy päinvastoin D-fruktoo-

sin muodostumissuhteen pienenemistä ja isomeroitireaktion pietenemistä. Kun epimeroituneessa seoksessa oleva molybdeenihappoyhdisteen määrä on pinempi kuin 0,2 % voidaan toisin sanoen keksinnön mukainen entsyymaattinen isomeroitireaktio suorittaa tehokkaasti käyttämällä täysin puhdistamatonta epimeroitunutta seosta ainoastaan säätämällä pH-arvoa. Tämä edustaa keksinnön mukaisen menetelmän erästä etua siinä suhteessa, että käsittely yksinkertaistuu huomattavasti.

Täten edellä selitetyllä tavalla saatuun D-glukoosin, D-fruktoosin ja D-mannoosin seokseen kohdistetaan katalyyttinen hydrogeointi, jolloin D-mannitolia muodostuu suuressa suhteessa, kuten korkeintaan 50 % lähtöaineena käytetystä D-glukoosista laskettuna, minkä seurauksena kiteistä D-mannitolia saadaan niinkin suurin tuotoksin kuin 40...45 %.

Keksinnön tarkoituksena on näin ollen aikaansaada menetelmä D-mannitolin valmistamiseksi D-glukoosista suurin tuotoksin.

Keksinnön tarkoituksena on myös aikaansaada menetelmä D-mannitolin valmistamiseksi D-glukoosista entistä yksinkertaisimmin keinoin.

Keksinnön tarkoituksena on myös aikaansaada menetelmä D-mannitolin valmistamiseksi D-glukoosista entistä nopeampaa reaktiota soveltaen.

Keksintö ja sen muut kohteet ja edut selitetään seuraavassa lähemmin oheisten piirustusten perusteella.

Kuvion 1 näyttämä käyrästä havainnollistaa käytetyn D-glukoosimäärän perusteella lasketun D-mannoosin muodostumissuhteen ja reaktiojakson pituuden välistä suhdetta, kun D-glukoosin 60-prosenttiseen vesiliuokseen lisätään ammoniummolybdaattia 0,2 % D-glukoosimäärästä, ja saatua seosta lämmitetään 130 °C:ssa, mutta pH-arvoa vaihdellaan rajoissa 1...7.

Kuvion 2 näyttämä käyrästä havainnollistaa D-mannoosin muodostumissuhteen ja reaktiojakson pituuden suhdetta, kun 60 % D-glukoosia sisältävään vesiliuokseen lisätään 0,2 % ammoniummolybdaattia, ja täten saadun seoksen pH säädetään arvoon 3,0 laimean rikkihapon avulla ja seos lämmitetään lämpötilaan, jota vaihdellaan rajoissa 95...160 °C.

Keksinnön mukaisen menetelmän ensimmäisessä vaiheessa, siis D-glukoosin epimeroimisreaktiossa säädetään D-glukoosin vesiliuosta ja molybdeenihappoyhdistettä sisältävän seoksen pH-arvo rajoihin 2,0...4,5, sopivasti 3,0...4,0, ja lämmitetään 110...160 °C:seen, jolloin reaktio sujuu loppuun lyhyessä ajassa, alle 40 minuutissa, ja D-mannoosin muodostumissuhde on suuri verrattuna lähtömateriaalina käytettyyn D-glukoosiin. Reaktio tapahtuu edelleen tehokkaasti siinäkin tapauksessa, että käytetään D-glukoosin suuren konsentraation,

40...80 %, omaavaa liuosta ja molybdeenihappoyhdisteen pientä määrää.

Keksinnön mukaisen menetelmän epimeroitusreaktiota edistää todennäköisesti reaktiojärjestelmän pH-arvon ja lämpötilan yhteisvaikutus eli synergistinen vaikutus siten, että D-mannoosin muodostumissuhde on suuri. Reaktiolämpötilan noustessa rajoissa 110...160 °C suurenee D-mannoosin muodostumissuhde, kun taas reaktiojakson pituus vastaavasti lyhenee. Niinpä on kuvion 2 mukaan D-mannoosin muodostumissuhde noin 32 % kun reaktioajan pituus on noin 30 minuuttia ja reaktiolämpötila on 120 °C, ja tämä suhde on noin 34 %, kun reaktioajan pituus on 7 minuuttia ja lämpötila on 140 °C, kun taas suhde on noin 36 % siinä tapauksessa, että reaktioajan pituus on noin 4 minuuttia ja lämpötila on 160 °C. Lämpötilan ylittäessä 160 °C reaktioseos kuitenkin tummenee sen takia, että sen sisältämät sokerit hajoavat.

Keksinnön mukaisen menetelmän epimeroimisreaktion vaatima aika lyhenee niin korostetusti, että tätä reaktiota voidaan helposti käyttää jatkuvassa reaktiojärjestelmässä. Niinpä D-glukoosiliuosta, johon on lisätty molybdeenihappoyhdistettä, voidaan pumpputa jatkuvasti paineen alaisena määrätyn pituisen reaktioputken läpi ja lämmitellä tätä liuosta paineen alaisena sen virratessa reaktioputken läpi, jolloin valmis liuos jatkuvasti poistuu putken toisesta päästä.

Keksinnön mukaisen epimeroitusreaktiojärjestelmän pH-arvot vaikuttavat myös huomattavasti D-mannoosin muodostumiseen kuten kuvioista 1 nähdään. pH:n ylittäessä arvon 4,5 D-mannoosin muodostumissuhde laskee, kun taas pH:n alittaessa arvon 2,0 havaitaan liuoksen tummenemista sokerien hajoamisen seurauksena. Reaktiojärjestelmän pH-arvon säätöön voidaan käyttää joko epäorgaanista happoa kuten kloorivetyhappoa, rikkihappoa tai fosforihappoa, tai orgaanista happoa kuten oksaalihappoa.

Mainitussa tsekkoslovakialaisessa patentissa esitetyn D-glukoosin epimeroimisreaktion suorittamiseksi tässä patentissa selitetyllä tavalla reaktiojärjestelmä, kuten mainittiin, lämmitettiin alle 100 °C lämpötilassa 5...10 tuntia, jolloin oletettavasti pH-arvo oli 5...7. Tämän perusteella ymmärretään, että keksinnön mukaisen menetelmän epimeroimisreaktiossa käytettävä olosuhdeyhdistelmä, toisin sanoen yhdistelmänä pieni pH-arvo 2,0...4,5, korkea reaktiolämpötila 110...160 °C ja lyhyt reaktioaika esim. 4...40 minuuttia, edustaa uutta tunnusmerkkiä, jota ei ole tsekkoslovakialaisessa patentissa no. 149 051 esitetty.

Tämän menetelmän epimeroitusreaktiossa käytettävänä molybdeenihappoyhdisteenä on vähintään yksi yhdiste, joka valitaan ammoniummolybdaatin, natriummolybdaatin ja kaliummolybdaatin joukosta. Reaktio

nopeutuu sitä mukaa, kun suurennetaan lisättyä molybdeenihappoyhdisteen määrää, ja samalla D-glukoosimateriaali hajoaa enemmän sivureaktioiden vaikutuksesta. Keksinnön mukaisen epimerointireaktion yhteydessä käytettävä molybdeenihappoyhdisteen määrä on kuitenkin ainoastaan 0,05...0,20 % alkuperäisestä D-glukoosimäärästä, mikä vastaa ainoastaan noin 1/20...1/5 -osaa siitä molybdeenihappoyhdistemäärästä, jota on käytetty ennestään tunnetussa menetelmässä. (Siinä tapauksessa, että käytetään sellaista D-glukoosimateriaalia, joka sisältää paljon epäpuhtauksia kuten seuraavassa selitettävää hydroolia, lasketaan molybdeenihappoyhdisteen määrä (%) D-glukoosimateriaalin koko kuivapainosta). Molybdeenihappoyhdisteen (toisin sanoen katalysaattorin) määrän väheneminen riippuu yksinomaan keksinnön mukaisen epimerointireaktion ja tavanomaisen menetelmän välisistä varsin erilaisista olosuhteista. Käytetyn katalysaattorimäärän pieneneminen on eduksi myös siinä suhteessa, että myöhemmin suoritettava puhdistuskäsittely helpottuu.

Keksinnön mukaisen epimerointireaktion D-glukoosimateriaalina voidaan käyttää D-glukoosia, tärkkelyshydrolysaattia tai ns. hydroolia, joka on tärkkelyshydrolysaatin konsentraattia, josta kiteinen D-glukoosi on erotettu. Käytettäessä epäpuhdasta D-glukoosimateriaalia kuten hydroolia, käytetään "dektroosiekvivalenttia" (josta seuraavassa käytetään lyhennettä DE), joka on yli 80.

Täten saadun epimerointireaktion (eli epimeroituneen liuoksen) tuloksena saatu valmiiksi käsitelty liuos on väriltään keltaista tai vaaleanruskeaa, ja se sisältää D-mannoosia esim. 30...36 % käytetystä D-glukoosista. Väri poistetaan epimeroituneesta seoksesta esim. käyttämällä pientä aktiivihiihimäärää, ja edelleen puhdistamalla ioninvaihtohartsikäsittelyn avulla siten, että saadaan väritön ja läpinäkyvä liuos. Tämän puhdistetun liuoksen pH-arvo on 5,0...7,0.

Keksinnön mukaisen menetelmän toisessa vaiheessa epimeroituneeseen seokseen tai puhdistettuun liuokseen kohdistetaan entsymaattinen isomerisaatio, joka suoritetaan siten, että epimeroituneen seoksen pH-arvo säädetään rajoihin 6,5...8,5 ja seoksen kuiva-ainepitoisuus rajoihin 50...65 %, sekä lisätään seokseen ennalta laskettu määrä glukoosi-isomeraasia, minkä jälkeen muodostunutta vesiseosta pidetään 48...72 tuntia 65...75 °C:ssa, jolloin samalla sekoitetaan varovasti ja pH-arvo pysytetään rajoissa 6,5...8,5. Isomerointireaktion tuloksena saatu liuos (tai isomeroitunut seos) suodatetaan entsyymin erottamiseksi, minkä jälkeen liuosta käsitellään aktiivihiihilellä ja edelleen ioninvaihtohartseilla värittömän läpinäkyvän liuoksen saamiseksi. Saadun puhdistetun liuoksen pH-arvo on 5,0...7,0 ja sen kuiva-ainepi-

toisuus on esim. 39...35 % D-glukoosia, 31...29 % D-fruktoosia ja 30...36 % D-mannoosia, kun kiteistä D-glukoosia on käytetty alkuperäisen epimerointireaktion lähtömateriaalina.

Keksinnön mukaisessa entsyymaattisessa isomeroointireaktiossa voidaan glukoosi-isomeraasina käyttää kaikkia tämänkaltaisia markkinoilla olevia entsyymivalmisteita, jotka on valmistettu viljelemällä sukuihin *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Aerobacter*, jne. kuuluvia mikro-organismeja. Käytetyn glukoosi-isomeraasimäärän suuretessa isomeroointireaktion nopeus kasvaa ja D-fruktoosin muodostumissuhde paranee. Teollisuussovellutuksissa käytetään kuitenkin sopivasti 0,2...2,0 %, reaktiossa käytetyn D-glukoosimateriaalin kuiva-aineesta laskettuna, entsyymivalmistetta, jonka entsyymaattinen aktiviteetti on 1000 GIU/g, kun 1 GIU määritellään tarkoittamaan sellaista entsyymaattista aktiviteettia, joka kehittää 1 mg D-sakkaroosia 70 °C:ssa 60 minuutin kuluessa.

Isomeroituneen seoksen puhdistettu liuos voidaan hydrogenoida katalyyttisesti. Puhdistetun liuoksen konsentraatio säädetään siten, että sen kuiva-ainepitoisuus on esim. 50...70 %, minkä jälkeen siihen lisätään hydrogenoimiskatalysaattoria, esim. nikkelikatalysaattoria (kuten Raney-nikkeliä) tai platinaryhmään kuuluvaa katalysaattoria (platina-, ruteeni-, tai palladiumkatalysaattoria), minkä jälkeen lämmitetään sekoittaen 110...180 °C:ssa 1,0...2,5 tuntia ja vedyn paineen ollessa 100...200 kp/cm². Hydrogenointireaktion tuloksena saadun lopullisen liuoksen (tai hydrogenoidun seoksen) kuiva-ainepitoisuus on siinä tapauksessa, että epimerointireaktion materiaalina on käytetty kiteistä D-glukoosia, esim. 54...50 % D-sorbitolia ja 46...50 % D-mannitolia.

Katalysaattori poistetaan esim. suodattamalla hydrogenoidusta seoksesta, minkä jälkeen värinpoisto suoritetaan aktiivihiiilen avulla, käsitellään seosta ioninvaihtohartseilla ja konsentroidaan seos alipaineessa siirapiksi, minkä jälkeen jäähdytetään D-mannitolin saattamiseksi kiteytymään. Saatu kiteinen D-mannitolimäärä on esim. 25...30 % alkuperäisestä D-glukoosista, mikä tuotos on huomattavasti suurempi kuin ennestään tunnetun menetelmän avulla saatu tuotos, eli noin 17 %.

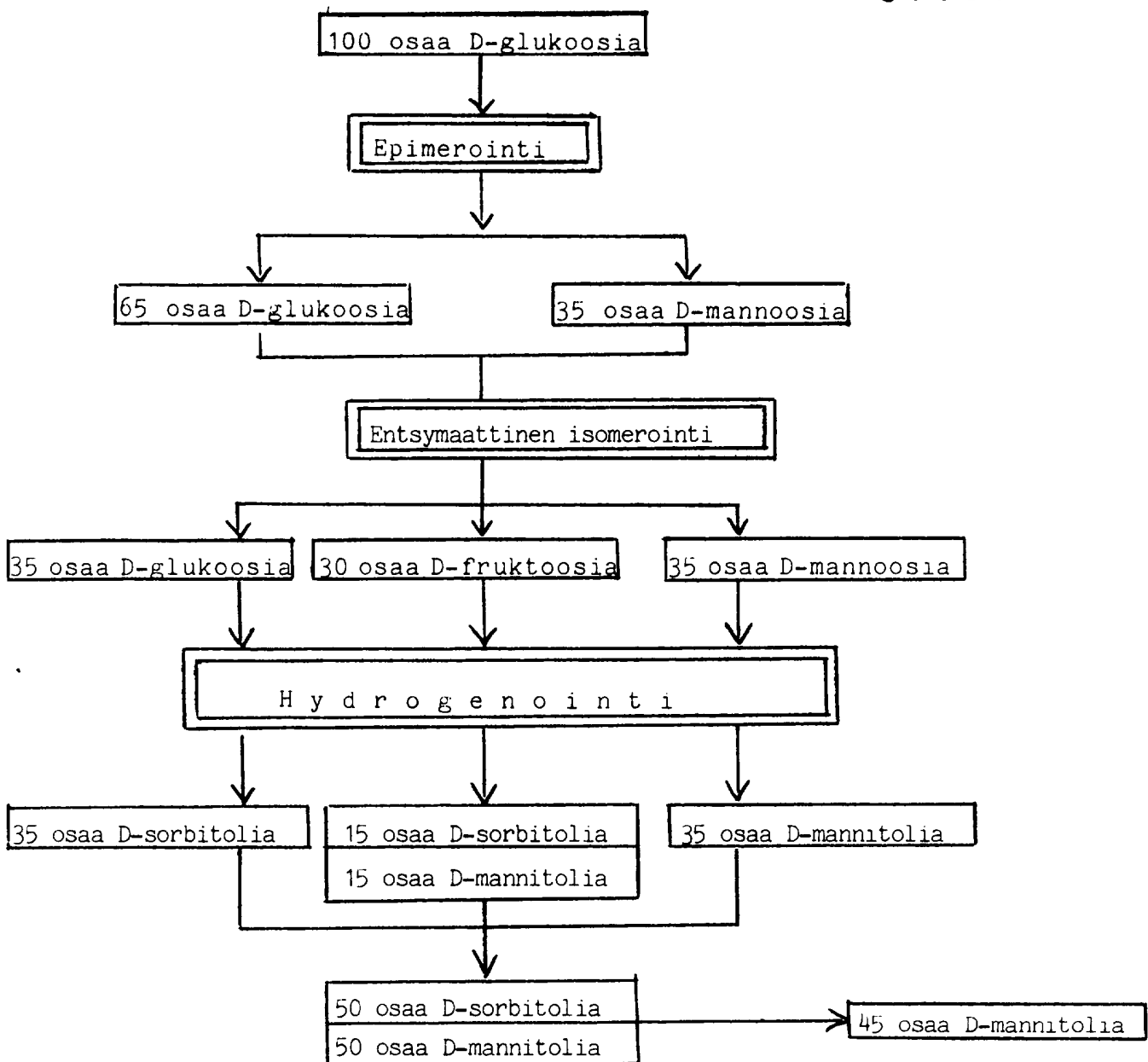
Käytettäessä keksinnön mukaisessa epimerointireaktiossa epäpuhdasta D-glukoosimateriaalia, esim. hydrolia, jossa on oligosakkarideja, suoritetaan hydrogenointireaktio sopivasti käyttämällä alhaista pH-arvoa, esim. 2...3, ja kovaa lämpötilaa kuten 160...180 °C, jolloin hydrogenointi johtaa oligosakkaridien hydrolysoitumiseen niin, että muodostuneen hydrogenoituneen seoksen viskositeetti pienenee, mikä parantaa kiteisen D-mannitolin tuotosta.

Keksinnön mukaisessa menetelmässä epimeroituneen seoksen, entsymaattisesti isomeroituneen seoksen ja hydrogenoidun seoksen vastaavat koostumukset määritetään kvantitatiivisesti kaasu-nestekromatografoinnin avulla. Tätä menetelmää on viime aikoina laajalti sovellettu sokerien ja/tai sokerialkoholien seoksen eri komponenttien määrittämiseksi erikseen. Keksinnön mukaisen hydrogenoidun seoksen D-sorbitoli ja D-mannitoli määritetään molemmat tehokkaasti sen jälkeen, kun ne on muutettu vastaaviksi heksa-asetyyliestereiksi. Sen sijaan on epimeroituneessa seoksessa olevan D-glukoosin ja D-mannoosin, samoin kuin isomeroituneessa seoksessa olevan D-glukoosin, D-mannoosin ja D-fruktoosin määrittäminen erikseen vaikeaa, koska joko näiden sokerien tai niiden johdannaisien huiput ovat kaasukromatogrammissa vaikuttaneet toisiinsa. Tästä syystä näiden sokeriseosten koostumukset on laskettu taaksepäin kaasukromatografoimalla määritetyistä vastaavista D-sorbitoli- ja D-mannitolimääristä, kun nämä sokeriseokset on hydrogenoitu, jolloin on sovellettu D-sorbitolin ja/tai D-mannitolin vastaavia teoreettisia muuttumissuhteita, kun näitä on valmistettu D-glukoosista, D-mannoosista tai D-fruktoosista kuten edellä selitettiin.

Runsaasti epäpuhtauksia kuten hydroolia sisältävien D-glukoosimateriaalien kuiva-ainepitoisuudet on laskettu sen perusteella, että näitä materiaaleja on kuivattu alipaineessa 16 tuntia 95...100 °C:ssa.

Seuraavassa on esitetty keksinnön mukaisen reaktion eri vaiheiden kulku siinä tapauksessa, että lähtömateriaalina käytetään D-glukoosia.

66830



Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä.

Esimerkki 1

3,3 kg kaupan saatavaa kiteistä D-glukoosia (jossa on 9 % kidevettä kuten seuraavissakin esimerkeissä) liuotetaan 1,7 kg:aan deionoitua vettä. Saatuun liuokseen lisätään 4,5 g (mikä vastaa 0,15 % D-glukoosimäärästä) ammoniummolybdaattia $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, minkä jälkeen liuoksen pH säädetään arvoon 3,5 laimealla rikkihapolla ja liuosta lämmitetään 10 litran autoklaavissa sekoittaen 120°C :ssa 30 minuuttia D-glukoosin epimeroisimisreaktion suorittamiseksi. Saadun epimeroituneen seoksen pH-arvo on 3,2, ja liuos on väriltään vaaleankeltaista. 500 g epimeroidusta seoksesta erotetaan, mistä jäädyttyä väri poistetaan pienellä määrällä hiiltä, liuos saatetaan vuoron perään valumaan kolonnien läpi, jotka on täytetty vastaavasti 50 ml:lla kationinvaihtohartsia (H^+) (tavaramerkki "Amberlite IR-120", samaa käytetään seuraavissakin esimerkeissä) ja 100 ml:lla anioninvaihtohartsia (OH^-) (tavaramerkki "Amberlite ISA-68", samaa käytetään seuraavissakin esimerkeissä). Toisesta kolonnista virtaavan nesteen eli puhdistetun liuoksen pH-arvo on 6,2; tämän liuoksen kuiva-ainepitoisuus säädetään arvoon 60 %.

Yllä puhdistettuun liuokseen kohdistetaan katalyyttinen hydrogeenointi samoin kuin jäljempänä tässä esimerkissä selitetään, ja katalyysaattori poistetaan suodattamalla saadusta hydrogenoituneesta seoksesta, väri poistetaan aktiivihiiilen avulla, minkä jälkeen edelleen puhdistetaan saattamalla liuos virtaamaan kahden kolonnin läpi, jotka on täytetty vastaavasti 50 ml:lla kationinvaihtohartsia (H^+) ja 10 ml:lla anioninvaihtohartsia (OH^-). Puhdistetun liuoksen koostumus määritetään kvantitatiivisesti kaasukromatografoimalla, jolloin käytetään Shimadzu GC-4A-tyyppistä kojetta. Tällöin menetellään seuraavasti:

(a) Näytteen valmistus: Ennalta määrätty määrä puhdistettua liuosta haihdutetaan ja kuivataan alipaineessa kaiken kosteuden poistamiseksi, lisätään etikkahapponanhydridiä ja pyridiiniä, minkä jälkeen saatua seosta lämmitetään palautustislausta soveltaen tunnin ajan sokerialkoholien muuttamiseksi niiden heksa-asetaattiestereiksi. Näihin heksa-asetaattiestereihin lisätään ennalta määrätty määrä di-2-etyyliadipaattia standardina, ja täten saadaan valmistetuksi kaasukromatografoimiskojeeseen suihkutettava näyte.

(b) Käyttöparametrit: Kolonni on muodostettu ruostumatonta teräsputkea, 3 m x 3 mm Ø, johon on täytetty 1,5 % tuotetta QF-1 Chromosorb W, 60...80 meshiä, kolonnin lämpötila 200°C , ilmaisimen lämpö-

tila 250 °C, kanninkaasun virtaus 70 ml/min, vedyn virtaus 50 ml/min, ilman virtaus 1,0 l/min.

(c) Standardikäyrän laatiminen: Tarkasti punnittujen puhtaiden D-sorbitoli- ja D-mannitolinäytteiden ryhmiä asetyloidaan ja kaasukromatografoidaan edellä selitetyllä tavalla, ja tulosten perusteella laaditaan standardikäyrät, jotka kuvaavat vastaavien kaasukromatogrammien huippualueiden ja käytettyjen sokerialkoholien vastaavien painojen suhteita.

(d) sokerialkoholien määrittäminen: Kohdan (a) mukaan valmistettu näyte kaasukromatografoidaan käyttämällä kohdan (b) mukaisia parametrejä ja mitataan kaasukromatogrammien vastaavat huippualueet, jotka verrataan kohdan (c) mukaan valmistettujen standardikäyrien vastaaviin arvoihin, ja näin määritetään näytteessä olevat D-sorbitoli- ja D-mannitolimäärät.

Tämän tuloksena havaitaan, että hydrogenoidussa seoksessa olevan D-mannitolin muuttumissuhde on 31,8 % alkuperäisestä D-glukoosimäärästä, ja tämä arvo kuvaa myös toisaalta epimeroituneessa seoksessa olevan D-mannoosin muodostumissuhdetta.

Epimeroituneen seoksen jäljellä olevan osan pH säädetään arvoon 7,0 laimealla natriumhydroksiliuoksella, ja lisätään liuokseen 30 g entsyymivalmistetta (tavaramerkki "Glucose-isomerase Nagase", valmistaja Nagase & Co., Ltd., entsyymattinen aktiviteetti 1000 GIU/g), minkä jälkeen seosta lämmitetään samalla varovasti sekoittaen 70 °C:ssa 50 tuntia, ja pH pysytetään reaktion aikana rajoissa 6,5...7,0. Näin suoritetaan epimeroituneessa seoksessa jäljellä olevan D-glukoosin entsyymattinen isomeroimisreaktio.

Entsyymi erotetaan saadusta isomeroituneesta seoksesta suodattamalla, väri poistetaan aktiivihiekin avulla, ja liuos valutetaan kahden kolonnin läpi, jotka on täytetty vastaavasti 20 ml:lla kationinvaihtohartsia (H^+) ja 400 ml:lla anioninvaihtohartsia (OH^-). Saadun puhdistetun liuoksen pH-arvo on 6,2, ja liuoksen kuiva-ainepitoisuus säädetään arvoon 60 %.

Otetaan 550 g edellä selitettyä puhdistettua ja ominaisuuksiltaan säädettyä liuosta, lisätään siihen 20 g Raney-nikkeliä, ja lämmitetään saatu seos litran autoklaavissa sekoittaen 120 °C:ssa 120 minuuttia ja vedyn paineen ollessa 150 kp/cm².

Saatu hydrogenoitu seos suodatetaan ja puhdistetaan samalla tavalla kuin yllä on selitetty, minkä jälkeen sokerialkoholit määritetään kvantitatiivisesti kaasukromatografoimalla, jolloin todetaan, että D-mannitolin muodostumissuhde on 46,4 % ja D-sorbitolin muodostumissuhde on 53,6 % alkuperäisestä D-glukoosimäärästä. Puhdistettu liuos

konsentroidaan alipaineessa D-mannitolin kiteyttämiseksi. Kiteiden sulamispiste on $166,0^{\circ}\text{C}$, ja tuotos on $133,0\text{ g}$, mikä vastaa $40,3\%$ alkuperäisestä D-glukoosimäärästä.

Toisaaalta lasketaan entsymaattisesti isomeroidussa seoksessa olevan D-fruktoosin muodostumissuhde taaksepäin ja saadaan arvo $29,2\%$, kun on käytetty hydrogenoituneessa seoksessa olevan D-mannitolin muodostumissuhdetta $46,4\%$ ja epiroituneessa seoksessa olevan D-mannoosin muodostumissuhdetta $31,8\%$.

Esimerkki 2

$3,8\text{ kg}$ kaupan saatavaa kiteistä D-glukoosia liuotetaan $1,2\text{ g}$:aan deionoitua vettä. Saatuun liuokseen lisätään $3,5\text{ kg}$ ($0,10\%$ D-glukoosimäärästä) natriummolybdaattia $\text{Na}_2\text{MoO}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, liuoksen pH säädetään arvoon $3,5$ laimealla rikkihapolla, ja liuosta lämmitetään 10 litran autoklaavissa sekoittaen 130°C :ssa 15 minuuttia . Epimeroituneen seoksen pH-arvo on $3,2$ ja sen väri on vaaleankeltainen.

Seoksen pH säädetään arvoon $7,0$, lisätään 35 g entsyymiä "Glucose Isomerase Nagase" ja lämmitetään varovasti sekoittaen 65°C :ssa 64 tuntia . pH-arvo pidetään rajoissa $6,5 \dots 7,0$ reaktion aikana. Saatu isomerisoitunut seos puhdistetaan samalla tavoin kuin esimerkissä 2 on selitetty. Puhdistetun liuoksen pH-arvo on $6,2$ ja liuos säädetään 60% prosentin kuiva-ainepitoisuuteen.

Otetaan 600 g puhdistettua ja ominaisuuksiltaan säädettyä liuosta, lisätään siihen 20 g Raney-nikkeliä ja lämmitetään sekoittaen 10 litran autoklaavissa 120 minuuttia 130°C :ssa, jolloin vedyn paine on 150 kp/cm^2 . Hydrogenoitu seos suodatetaan ja puhdistetaan samalla tavoin kuin esimerkissä 1, jolloin todetaan, että D-mannitolin muodostumissuhde on $47,5\%$ alkuperäisestä D-glukoosimäärästä. Puhdistettu liuos konsentroidaan alipaineessa D-mannitolin kiteyttämiseksi. Kiteiden sulamispiste on $165,8^{\circ}\text{C}$ ja tuotos on $147,6\text{ g}$, mikä vastaa $41,0\%$ alkuperäisestä D-glukoosimäärästä.

Esimerkki 3

$5,0\text{ kg}$:aan tärkkelyshydrolysaattia ($\text{DE} = 97$, vesipitoisuus 40%) lisätään $6,0\text{ g}$ ($0,20\%$ tärkkelyshydrolysaatin kuiva-aineesta) natriummolybdaattia, pH säädetään arvoon $3,2$ ja lämmitetään sekoittaen 10 litran autoklaavissa 35 minuuttia 120°C :ssa. Epimeroituneen seoksen pH-arvo on $2,9$ ja väri on hiukan ruskea.

Otetaan 500 g seosta ja määritetään D-mannoosin muodostumissuhde soveltamalla samaa D-mannoosin muodostumissuhteen määrittystapaa, jota sovellettiin esimerkin 1 epimeroituneen seoksen yhteydessä. Todetaan suhteen olevan $29,8\%$ tärkkelyshydrolysaatin kuiva-aineesta.

Epimeroituneen seoksen jäljellä olevan osan pH säädetään arvoon 6,6, lisätään 50 g entsyymiä "Glucose Isomerase Nagase" ja lämmitetään 48 tuntia 72 °C:ssa varovasti sekoittaen, jolloin pH pidetään arvossa 6,5...7,0 reaktion aikana. Saatu isomeroitunut seos puhdistetaan samalla tavoin kuin esimerkissä 1. Puhdistetun liuoksen pH-arvo on 6,2 ja sen kuiva-ainepitoisuus säädetään arvoon 60 %.

600 g:aan puhdistettua ja ominaisuuksiltaan säädettyä liuosta kohdistetaan katalyyttinen hydrogenointi samalla tavalla kuin esimerkin 2 isomeroituneen seoksen yhteydessä on selitetty. Hydrogenoituneen seoksen D-mannitolin muodostumissuhde on puhdistuksen jälkeen 42,7 % käytetyn tärkkelyshydrolysaatin kuiva-aineesta. Tämä puhdistettu liuos konsentroidaan alipaineessa D-mannitolin kiteyttämiseksi. Kiteiden sulamispiste on 166,2 °C ja tuotos on 124,0 g, mikä vastaa 34,4 % lähtömateriaalin kuiva-aineesta.

Toisaalta entsyymaattisesti isomeroituneen seoksen D-fruktoosin muodostumissuhde lasketaan taaksepäin ja saadaan arvoksi 25,8 % lähtömateriaalin kuiva-aineesta, kun käytetään hydrogenoituneen seoksen D-mannitolin muodostumissuhteen arvoa 42,7 % ja epimeroituneen seoksen D-mannoosin muodostumissuhteen arvoa 29,8 %.

Esimerkki 4

5,0 kg:aan hydrolia (DE 91, vesipitoisuus 40 %) lisätään 6,0 kg (0,20 %) hydrolin kuiva-aineesta) ammoniummolybdaattia, pH säädetään arvoon 3,0 ja lämmitetään sekoittaen 10 litran autoklaavissa 10 minuuttia 140 °C:ssa. Epimeroituneen seoksen pH-arvo on 2,7 ja väri on hiukan ruskea.

Otetaan 500 g seosta ja määritetään D-mannoosin muodostumissuhde soveltamalla esimerkin 1 epimeroituneen seoksen yhteydessä selitettyä D-mannoosin muodostumissuhteen määrittystapaa, jolloin suhteen todetaan olevan 27,2 % käytetyn hydrolin kuiva-aineesta.

Epimeroituneen seoksen jäljellä olevan osan pH säädetään arvoon 6,8, lisätään 50 g entsyymiä "Glucose Isomerase Nagase" ja lämmitetään 65 °C:ssa 48 tuntia varovasti sekoittaen, jolloin pH-arvo pidetään rajoissa 6,5...7,0 reaktion aikana. Isomerisoitunut seos puhdistetaan samalla tavoin kuin esimerkin 1 mukainen isomerisoitunut seos. Puhdistetun liuoksen pH-arvo on 6,2, ja sen kuiva-ainepitoisuus säädetään arvoon 60 %.

Otetaan 600 g puhdistettua ja ominaisuuksiltaan säädettyä liuosta, lisätään siihen 30 g Kaney-nikkeliä, säädetään pH arvoon 3,0 laimealla rikkihapolla ja lämmitetään sekoittaen litran autoklaavissa 120 minuuttia 175 °C:ssa ja vedyn paineen ollessa 150 kp/cm². Hydrogenoi-

tu seos puhdistetaan, minkä jälkeen sen D-mannitolin muodostumissuhde määritetään ja todetaan tämän suhteen olevan 39,1 %. Puhdistettu liuos konsentroidaan alipaineessa D-mannitolin kiteyttämiseksi. Kiteiden sulamispiste on 165,5 °C ja tuotos on 108,6 g, mikä vastaa 30,2 % lähtömateriaalin kuiva-ainepitoisuudesta.

Toisaalta lasketaan taaksepäin isomeroituneen seoksen D-fruktoosin muodostumissuhde hydrogenoidun seoksen D-mannitolin muodostumissuhteesta 39,1 ja epimeroituneen seoksen D-mannoosin muodostumissuhteesta 27,2, jolloin todetaan D-fruktoosin muodostumissuhteen olevan 23,8 % käytetyn hydrolin kuiva-aineesta.

PATENTTIVAATIMUS

Menetelmä D-mannitolin valmistamiseksi, t u n n e t -
t u s i i t ä, että

(A) lämmitetään D-glukoosin vesiliuosta, jonka materiaalina on materiaali, joka on valittu kiteisen D-glukoosin, tärkkelys-hydrolysaatin ja hydrolin joukosta, jolloin sekä tärkkelys-hydrolysaatin että hydrolin DE-luku on yli 80, ja jonka vesiliuoksen kuiva-ainepitoisuus on 40-80 %, 110 - 160°C:ssa pH-arvon ollessa 2,0 - 4,5 alle 40 min, ammoniummolybdaatin, natriummolybdaatin ja kaliummolybdaatin joukosta valitun molybdeenihappoyhdisteen (-yhdisteiden) ollessa läsnä, jolloin molybdeenihappoyhdisteen määrä on 0,05 - 0,20 % D-glukoosin vesiliuoksen kuiva-aineesta, D-glukoosin erään osan muuttamiseksi (tai epiroimiseksi) D-mannoosiksi;

(B) kun vaiheessa (A) saadun epimeroidun seoksen kuiva-ainepitoisuus on säädetty 50 - 65 %:ksi ja pH-arvo 6,5 - 8,5 :ksi, lisätään glukoosi-isomeraatti seokseen, jota sitten pidetään 65 - 75°C:ssa 48 - 72 tuntia seoksessa jäljellä olevan D-glukoosin erään osan muuttamiseksi (tai isomeroimiseksi) D-fruktoosiksi;

(C) kun vaiheessa (B) saadun isomerooidun seoksen kuiva-ainepitoisuus on säädetty 50 - 70 %:ksi, lämmitetään seosta hydrogenoivan katalyytin läsnäollessa 110 - 180°C:ssa 1,0 - 2,5 tuntia vedyn 100 - 200 kg/cm²:n paineen alaisena, seoksessa olevien sokereiden hydrogenoimiseksi; ja

(D) konsentroidaan vaiheen (C) valmis liuos D-mannitolin kiteyttämiseksi siitä.

66830

PATENTKRAV

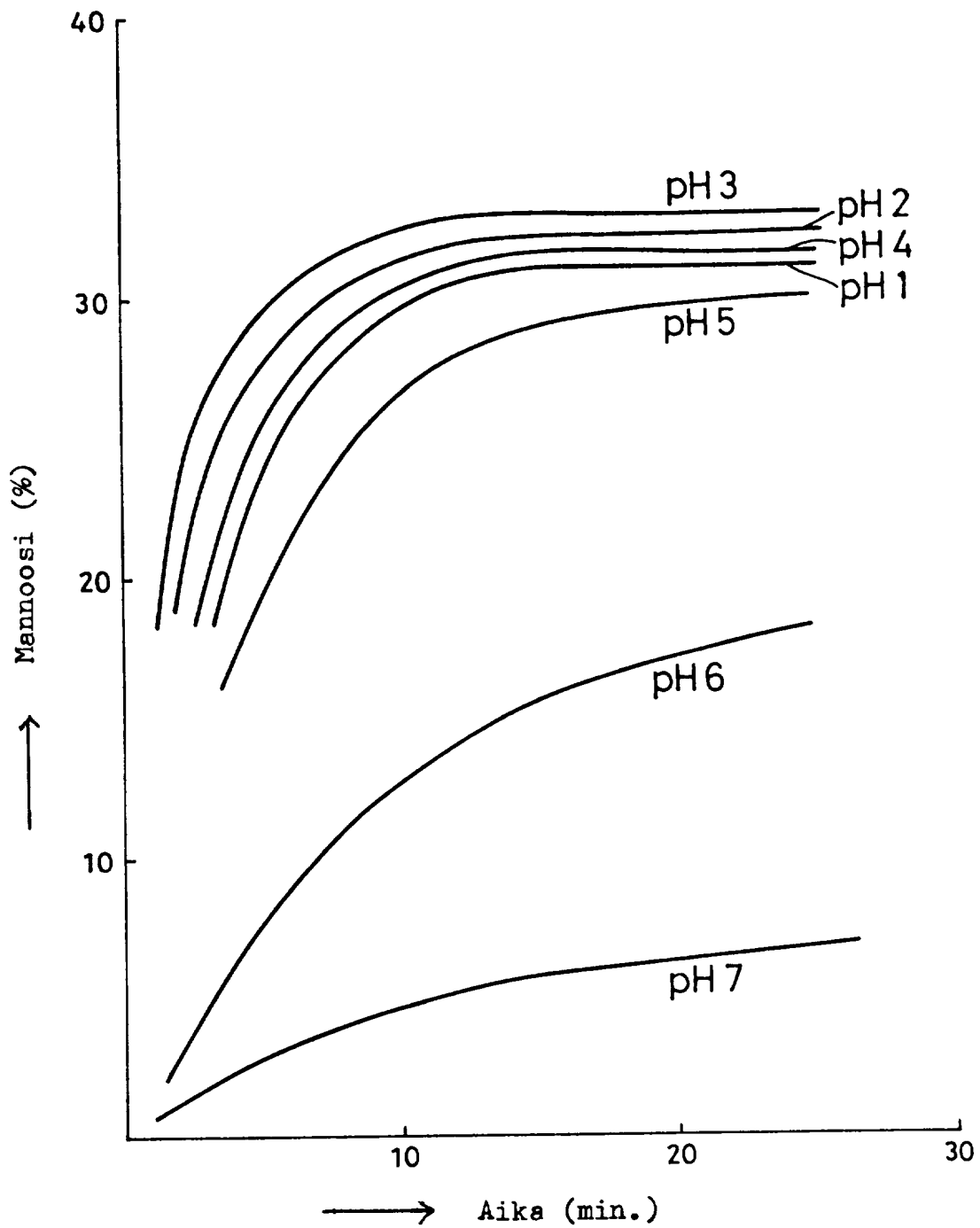
Förfarande för framställning av D-mannitol, k ä n-
n e t e c k n a t d ä r a v, att

- (A) en vattenlösning av D-glukos vars material är ett material som valts bland kristallinsk D-glukos, stärkelsehydrolysat och hydrol, varvid såväl nämnda stärkelsehydrolysat som hydrol har ett DE-värde över 80, och varvid torrämneshalten hos vattenlösningen är 40 - 80 %, uppvärms vid en temperatur om 110 - 160°C och ett pH-värde om 2,0 - 4,5 under 40 minuter i närvaro av en molybdensyraforening (-foreningar) som valts bland ammoniummolybdat, natriummolybdat och kaliummolybdat, varvid mängden av molybdensyraforeningen är 0,05 - 0,20 % av torrämneshalten i vattenlösningen av D-glukos, för att omvandla (eller epimerisera) en del av D-glukosen till D-mannos;
- (B) när torrämneshalten av den epimeriserade blandningen från steg (A) har reglerats till 50 - 65 % samt dess pH-värde till 6,5 - 8,5, tilläggas glukos-isomerisatet i blandningen, vilken hålles vid en temperatur om 65 - 75°C under 48 - 72 timmar för att omvandla (eller isomerisera) en del av D-glukosen som återstår i den epimeriserade blandningen till D-fruktos;
- (C) när torrämneshalten av den isomeriserade blandningen från steg (B) har reglerats till 50 - 70 %, blandningen uppvärms i närvaro av en hydrogennerande katalyt vid en temperatur om 110 - 180°C under 1,0 - 2,5 timmar under vätetryck av 100 - 200 kg/cm² för att hydrogennera sockren som ingår i blandningen; och
- (D) den färdigställda lösningen från steg (C) koncentreras för att bringa D-mannitolen att kristalliseras.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia:-Offentliga finska patentansökningar: 761413 (C 07 H 3/02) (PL 2 § 2 mom. 3 virke).

KUV. 1



66830

