(19) DANMARK

(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **162238 B**

PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: **0634/85**

(51) Int.Cl.[5] **C 12 P 19/24**

(22) Indleveringsdag: **12 feb 1985**

(41) Alm. tilgængelig: **14 aug 1985**

(44) Fremlagt: **30 sep 1991**

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: **13 feb 1984 DE 3405035**

(71) Ansøger: ***KALI-CHEMIE AKTIENGESELLSCHAFT; Hans-Boeckler-Allee 20; D-W-3000 Hannover 1, DE**

(72) Opfinder: **Guenter *Weidenbach; DE, Dirk *Bonse; DE, Boris *Meyer; DE**

(74) Fuldmægtig: **Hofman-Bang & Boutard A/S**

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af isoglucose

(56) Fremdragne publikationer

———

(57) Sammendrag:

634-85

Ved fremstillingen af en opløsning indeholdende glucose og fructose (isoglucose) ved omsætning af en glucoseholdig opløsning på en på basis af en SiO_2-bærer fremstillet katalysator med glucoseisomeraseaktivitet kan produktiviteten af katalysatoren forøges væsentligt, når man sætter SiO_2 til glucoseopløsningen.

DK 162238 B

DK 162238 B

Opfindelsen en fremgangsmåde til fremstilling af en opløsning indeholdende glucose og fructose ved omsætning af en glucoseholdig opløsning på en på basis af en SiO_2-bærer fremstillet katalysator med glucoseisomeraseaktivitet.

En sådan fremgangsmåde er kendt fra DE patentskrift nr. 3148603. Ifølge dette patentskrift kan produktaktiviteten af en på basis af en SiO_2-bærer fremstillet bærerkatalysator med glucoseisomeraseaktivitet forøges betydeligt, når den glucoseholdige opløsning før omsætningen på bærerkatalysatoren bringes i berøring med smålegemer af SiO_2 eller aluminiumsilikat.

Formålet med den foreliggende opfindelse er at tilvejebringe andre muligheder til forøgelse af produktiviteten af de kendte SiO_2-bærerkatalysatorer med glucoseisomeraseaktivitet.

Ved udtrykket "på basis af en SiO_2-bærer fremstillet katalysator med glucoseisomeraseaktivitet" eller "kendt SiO_2-bærerkatalysator med glucoseisomeraseaktivitet" skal forstås sådanne katalysatorer, for hvilke i en eller på en bærer på basis af SiO_2, f.eks. porøs silicagel, glucoseisomerase er indarbejdet (f.eks. ved coudfældning) eller påført (f.eks. ved adsorptiv eller covalent binding eller befugtning af enzymer). Fortrinsvis skal der forstås sådanne katalysatorer, for hvilke glucoseisomerase er påført en porøs silicagel adsorptivt eller covalent bundet eller ved befugtning, idet ligeledes kombinationer er sådanne bindingsfremgangsmåder kan anvendes. De i denne henseende foretrukne katalysatorer er f.eks. kendt fra DE patentskrift nr. 2726188.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved det i krav 1's kendetegnende del anførte.

SiO_2 tilsættes som angivet i form af et vandopløseligt alkalimetalsilikat. Såfremt den opnåede glucose-fructose-opløsning ikke renses specielt, f.eks. ved ionbytning, før sin yderligere anvendelse, må man sørge for, at eventuelle med SiO_2 indførte fremmedioner ikke påvirker den senere anvendelse af glucose-fructose-opløsningen.

Den foretrukne mængde af SiO_2 er ikke særlig kritisk. Undergrænsen på ca. 30 ppm er valgt for at opnå en produktivitetsstigning af samme omfang som ved den kendte fremgangsmåde ifølge DE patentskrift nr. 3148603. Fordelagtigt sætter man mellem 30 og 80 ppm SiO_2 til glucose-opløsningen.

Særlig enkelt og prisgunstigt sker tilsætningen af SiO_2, når man anvender vandglasopløsning, fortrinsvis natron-vandglasopløsning.

I henseende til stigningen af produktiviteten opnår man ved at gå frem efter fremgangsmåden ifølge opfindelsen værdier svarende til dem, man opnår ved fremgangsmåden ifølge DE patentskrift nr. 3148603. Det har dog overraskende vist sig, at tilsætning af SiO_2 i stedet for forkontakt med smålegemer eller aluminiumsilikat udviser en fordelagtig påvirkning på stabiliteten af katalysatoren ved driftsstilstand. Det har nemlig vist sig, at ved at arbejde ved den kendte fremgangsmåde, f.eks. ifølge DE patentskrift nr. 3148603 eller andre fremgangsmåder, påvirkes katalysatorens aktivitet ved driftsstilstand, f.eks. på grund af strømsvigt eller på grund af andre forstyrrelser, irreversibelt, hvis man ikke sørger for, at katalysatoren så hurtigt som muligt afkøles til rumtemperatur. Ganske vist standser f.eks. ved et strømsvigt ikke blot pumperne, men også opvarmningen til opvarmning af substratet. Den i katalysatoren og i den omgivende substratopløsning indeholdte varmekapacitet hindrer dog den nødvendige hurtige afkøling og er tilstrækkelig til

at beskadige katalysatoren. For at undgå sådanne skader må man f.eks. ved nødstrømsaggregater drage omsorg for, at der ved driftsstilstand pumpes kold substratopløsning gennem reaktoren, således at man opnår den nødvendige hurtige afkøling af den ømfindtlige katalysator. Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan man dog undgå sådanne foranstaltninger fuldstændig.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes især ved kontinuerlig arbejdsmåde og hensigtsmæssigt således, at man til en vandig glucoseopløsning med et indhold på ca. 40-50 vægt-% tørstof sætter SiO_2, opløsningen indstilles på en for den bærerbundne glucoseisomerase egnet pH-værdi og opvarmes til en for den bærerbundne glucoseisomerase egnet isomeriseringstemperatur. Den således forberedte glucoseopløsning pumpes gennem en reaktor, der er fyldt med SiO_2-bærerkatalysator med glucoseisomeraseaktivitet. Den fra reaktoren udgående glucose-fructose-opløsning undersøges kontinuerligt eller med regelmæssige mellemrum for sit indhold af fructose, f.eks. ved hjælp af polarimetrisk analyse eller HPLC. Rumhastigheden (v/vh = volumen glucoseopløsning pr. af katalysator beslaglagt reaktorvolumen pr. time), ved hvilken katalysatoren drives, indstilles således, at den fraførte opløsning, baseret på tørstofindhold, har et ringe udsving på f.eks. $\pm$ 1% indhold af fructose ved f.eks. 42 vægt-%. Da katalysatoren til stadighed taber aktivitet i afhængighed af driftstid og især af driftstemperatur, betyder det, at rumhastigheden til stadighed må nedsættes for at opnå en konstant isomeriseringsgrad. Isomeriseringsgraden angiver derved, udtrykt i %, antallet af molekyler fructose, der pr. 100 molekyler af den i udgangsopløsningen indeholdte glucose efter omsætning på katalysatoren er indeholdt i den afgående glucose-fructose-opløsning. Alt efter renhed eller kvalitet af den til fremstillingen af glucoseopløsningen anvendte glucose må katalysatoren drives med rumhastigheder, der muliggør opnåelse af en isomeriseringsgrad

på ca. 44-47% for at opnå den nævnte værdi på 42 vægt-% fructose i tørstoffet for den fraførte glucose-fructose-opløsning.

Såfremt der ved fremstillingen af bærerkatalysatoren med glucoseisomeraseaktivitet anvendes en Streptomyces albus glucoseisomerase, har indstillingen af glucoseopløsningen på et pH på ca. 7,0 til 8,5 og en opvarmning af glucose-opløsningen til en temperatur på ca. 55-65 °C vist sig særlig gunstig.

Desuden har tilsætningen af Co(II)- og Mg(II)-ioner til glucoseopløsningen i mængder på ca. 0,1 til 2 ppm Co(II) og ca. 10-200 ppm Mg(II) ved en Streptomyces albus glucoseisomerase, hensigtsmæssigt i form af vandopløselige salte deraf, som f.eks. chlorider eller sulfater, vist sig isomeriseringsfremmende.

Endelig er det også fordelagtigt at tilsætte glucose-opløsningen en stabiliseringsmængde af en antioxidant, fortrinsvis SO_2 i en mængde på ca. 100-600 ppm i form af alkalimetalsulfit eller -bisulfit.

Før den opnåede glucose-fructose-opløsning anvendes, er det tilrådeligt at fjerne de uønskede ioniske komponenter fra glucose-fructose-opløsningen ved hjælp af kation- og anionbyttere, fordi de f.eks. påvirker smagen. Opløsningen kan eventuelt yderligere inddampes til sirup. På markedet findes en sådan sirup under betegnelser som isomerose eller isoglucose.

Opfindelsen forklares nærmere ved hjælp af de efterfølgende eksempler.

EKSEMPEL 1

Alment eksempel

For alle eksempler blev som "på basis af en SiO_2-bærer fremstillet katalysator med glucoseisomeraseaktivitet" anvendt en ifølge DE patentskrift nr. 2726188 fremstillet katalysator. I hvert tilfælde blev 5 g af denne katalysator fyldt i en reaktor. Gennem reaktoren strømmede en til 60 °C opvarmet glucoseopløsning. Indstillingen af rumhastigheden skete således, at isomeriseringsgraden over den samlede driftstid konstant androg 46,5%. Isomeriseringsgraden af den fragående substratopløsning blev målt polarimetrisk. I enkeltheder er katalysator og fremgangsmåde karakteriseret ved følgende væsentlige parametre:

Katalysator:

Bærer	SiO_2
Aktivitetsoptagelse	9000 E/g
Kornstørrelse	0,1-0,2 mm
Massefylde efter udhældning (tør)	0,45 kg/liter

Fremgangsmåde:

Substrat	45 vægt-% glucose i vandig opløsning
Cofaktorer	120 ppm Mg(II) 1 ppm Co(II) 200 ppm SO_2 (i form af Na_2SO_3)
pH-værdi	7,5
Substrattæthed	1,2 kg/liter
Substratindgangs-temperatur	60 °C
Isomeriseringsgrad	46,5%
Begyndelsesrumhastighed	13,0 $time^{-1}$

Aktivitetsbestemmelse for glucoseisomeraseopløsning:

Aktiviteten af den til fremstilling af katalysatoren anvendte glucoseisomeraseopløsning blev bestemt efter Takasaki-metoden (jvf. Y. Takasaki: Agr. Biol. Chem. bind 30 nr. 12, 1247-1253, 1966 og Z. Dische og E. Borenfreund: J. Biol. Chem. 192, 583, 1951). En aktivitetsenhed (E) er defineret som den enzymmængde, der under inkuberingsbetingelser danner 1 mg fructose.

Inkuberingsbetingelser:

Temperatur	65 °C
Reaktionstid	1 time
Substrat	0,1 M glucose x H_2O (Merck 8342) i 0,05 M phosphatpuffer, pH 8,0 med 0,0004 M $MgSO_4$.

Afgørende kriterier for kvaliteten af katalysatoren eller fremgangsmåden, under hvilken katalysatoren anvendes, er

foruden halveringstiden for aktivitetsaftagelsen, driftstiden til reaktivitet på 20% af udgangsaktiviteten (20% restaktivitet baseret på udgangsaktivitet = 100% har vist sig som nedre grænse for endnu økonomisk anvendelig katalysatoraktivitet) og frem for alt produktiviteten. Produktiviteten er derved defineret som den substratmængde, beregnet som tørstof i kg, der kan forarbejdes til en restaktivitet på 20% af udgangsaktiviteten ved en forud given isomeriseringsgrad pr. kg katalysator.

EKSEMPEL 1.1

Eksempel ifølge opfindelsen

Det almene eksempel 1 blev udført således, at glucoseopløsningen i overensstemmelse med opfindelsen indeholdt 50 ppm SiO_2 i form af natronvandglasopløsning. Resultaterne var følgende:

Halveringstid	1300 timer
Driftstid til restaktivitet 20%	3800 timer
Produktivitet efter 3800 timer	26000 kg TS med 46,5 vægt-% fructose/kg katalysator.

EKSEMPEL 1.2

Sammenligningseksempel ifølge DE patentskrift nr. 3148603

Det almene eksempel 1 blev udført således, at glucoseopløsningen ikke indeholdt den omhandlede tilsætning af SiO_2, at opløsningen dog ifølge DE patentskrift nr. 3148603 før indføringen i reaktoren blev pumpet gennem en forsøjle til reaktoren. Forsøjlen var fyldt med 5 g af et i handelen tilgængeligt kugleformet, vandfast, porøst aluminium-silikat (sammensætning ca. 97 vægt-% SiO_2 og 3

vægt-% Al_2O_3; kornstørrelse 1-2 mm; massefylde efter udhældning, tør 0,7 kg/liter; type "KCT-WS" fra Kali-Chemie AG).

De opnåede resultater (halveringstid, driftstid, produktivitet) var identiske med de i eksempel 1.1 opnåede.

EKSEMPEL 1.3

Sammenligningseksempel

Dette eksempel svarer til det almene eksempel 1, men glucoseopløsningen indeholdt ikke den i foreliggende opfindelse omhandlede tilsætning af SiO_2, og glucoseopløsningen blev heller ikke ledt gennem en med formlegemer af SiO_2 eller aluminiumsilikat fyldt forsøjle. Resultaterne var som følger:

Halveringstid	670 timer
Driftstid til restaktivitet 20%	1700 timer
Produktivitet efter 1700 timer	12500 kg TS med 46,5 vægt-% fructose/ kg katalysator.

EKSEMPEL 2

Til simulering af en driftstilstand blev eksemplerne 1.1, 1.2 og 1.3 gentaget således, at efter 300 driftstimer med gennemstrømning af glucoseopløsning blev driften afbrudt i 3 timer uden ændring af reaktionstemperaturen. Dette gav følgende udslag:

EKSEMPEL 2.1

I forhold til eksempel 1.1 udvistes ingen ændringer.

EKSEMPEL 2.2

Efter genoptagelse af gennemstrømningen var aktiviteten af katalysatoren faldet fra 81% til 64% af begyndelsesaktiviteten, hvilket svarede til et relativt aktivitetstab på 21%. I øvrigt opnåedes følgende slutresultater:

Halveringstid	800 timer
Driftstid til restaktivitet 20%	2900 timer
Produktivitet efter 2900 timer	19200 kg TS med 46,5 vægt-% fructose/ kg katalysator.

EKSEMPEL 2.3

I dette eksempel var katalysatoraktiviteten efter genoptagelse af gennemstrømningen faldet fra 75% til 59% af begyndelsesaktiviteten, hvilket svarede til et relativt aktivitetstab på ligeledes 21%. Slutresultaterne udviste følgende værdier:

Halveringstid	480 timer
Driftstid til restaktivitet 20%	1300 timer
Produktivitet efter 1300 timer	9600 kg TS med 46,5 vægt-% fructose/ kg katalysator.

Eksemplerne viser, at ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan opnås en lige så god produktivitetsforøgelse som ved fremgangsmåden ifølge DE patentskrift nr. 3148603, idet man dog ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen i for-

bindelse med driftsafbrydelser selv ved konstant reaktortemperatur ikke kan iagttage nogen beskadigelse eller nedsættelse af katalysatoraktiviteten, mens dette ikke er tilfældet ved fremgangsmåden ifølge DE patentskrift nr. 3148603.

Til at anskueliggøre eksemplerne der blev optegnet diagrammer over aktivitetsfaldet (fig. 1) samt afviklingen af produktiviteten (fig. 2), hele tiden i afhængighed af driftstiden. I alle diagrammer er driftstiden afsat på abscissen i timer. På ordinaten i fig. 1 er aktiviteten anført i procent og på ordinaten i fig. 2 og 3 produktiviteten i t (ton) tørstof (TS) pr. kg katalysator. Måleværdierne for de enkelte kurver er vist som følger:

•——•	Eksempel 1.1, 1.2, 2.1
•—•—•	Eksempel 2.2
×——×	Eksempel 1.3
×—×—×	Eksempel 2.3

P a t e n t k r a v :

1. Fremgangsmåde til fremstilling af en opløsning indeholdende glucose og fructose ved omsætning af en glucoseholdig opløsning på en på basis af en SiO_2-bærer fremstillet katalysator med glucoseisomeraseaktivitet, k e n d e t e g n e t ved, at man sætter mindst 30 ppm SiO_2 til glucoseopløsningen i form af et vandopløseligt alkalimetalsilikat.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at man sætter SiO_2 til glucoseopløsningen i en mængde på 30-80 ppm.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at man tilsætter glucoseopløsningen SiO_2 i form af vandglas.

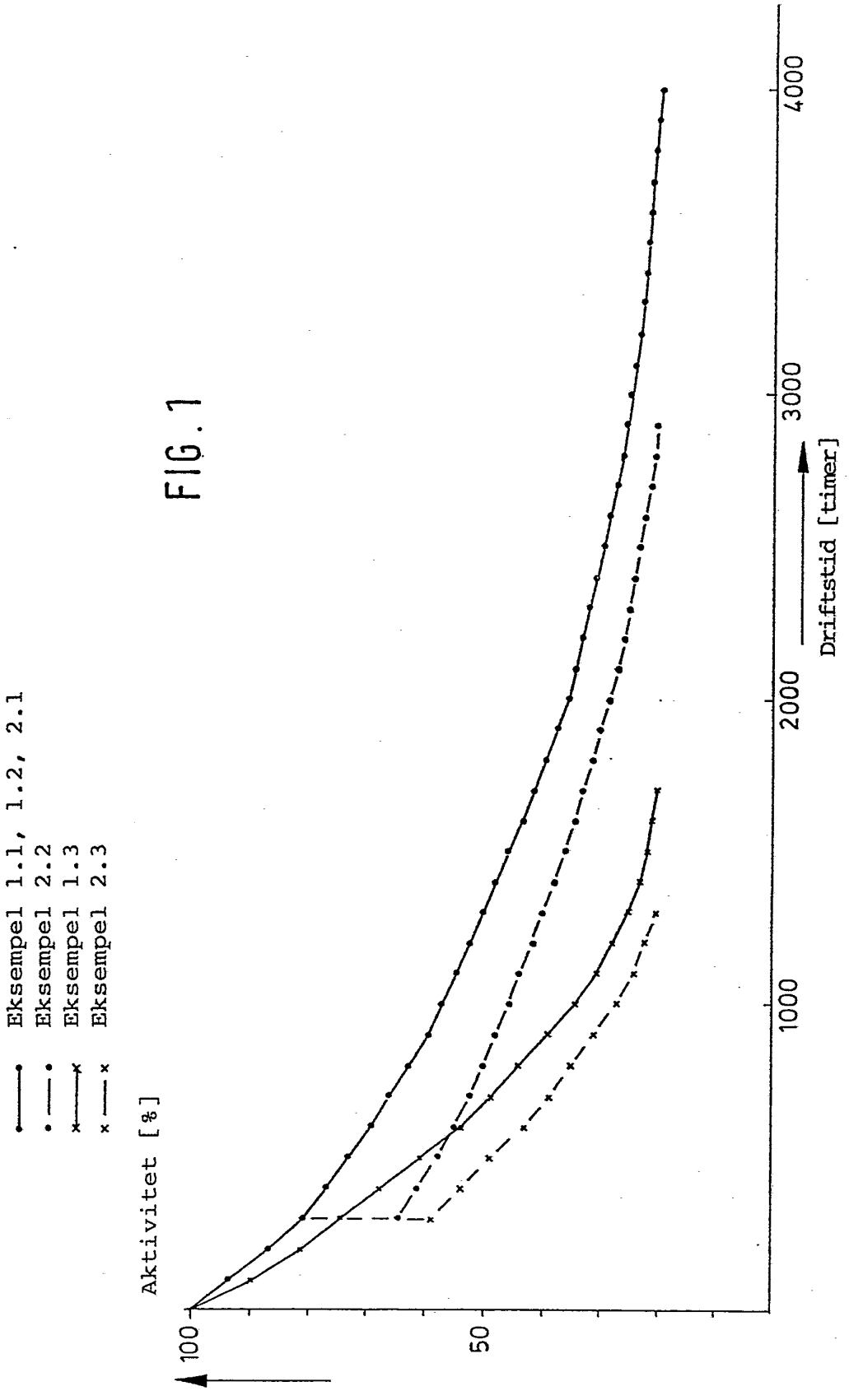

Eksempel 1.1, 1.2, 2.1
Eksempel 2.2
Eksempel 1.3
Eksempel 2.3
Aktivitet [%]
100
50
1000
2000
3000
4000
Driftstid [timer]

FIG. 1

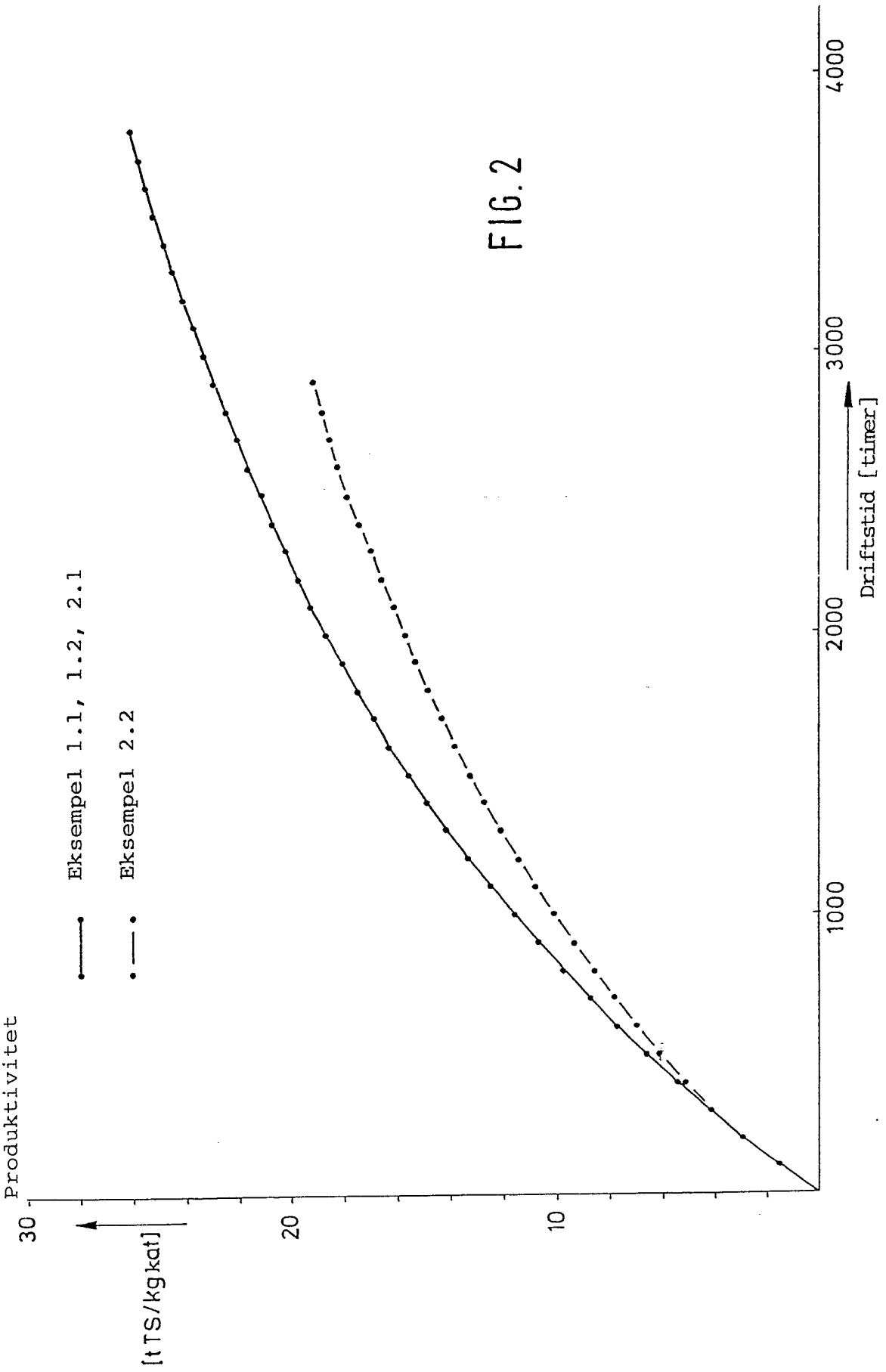

Produktivitet
[t TS/kg kat]
30
20
10
1000
2000
3000
4000
Driftstid [timer]
Eksempel 1.1, 1.2, 2.1
Eksempel 2.2

FIG. 2

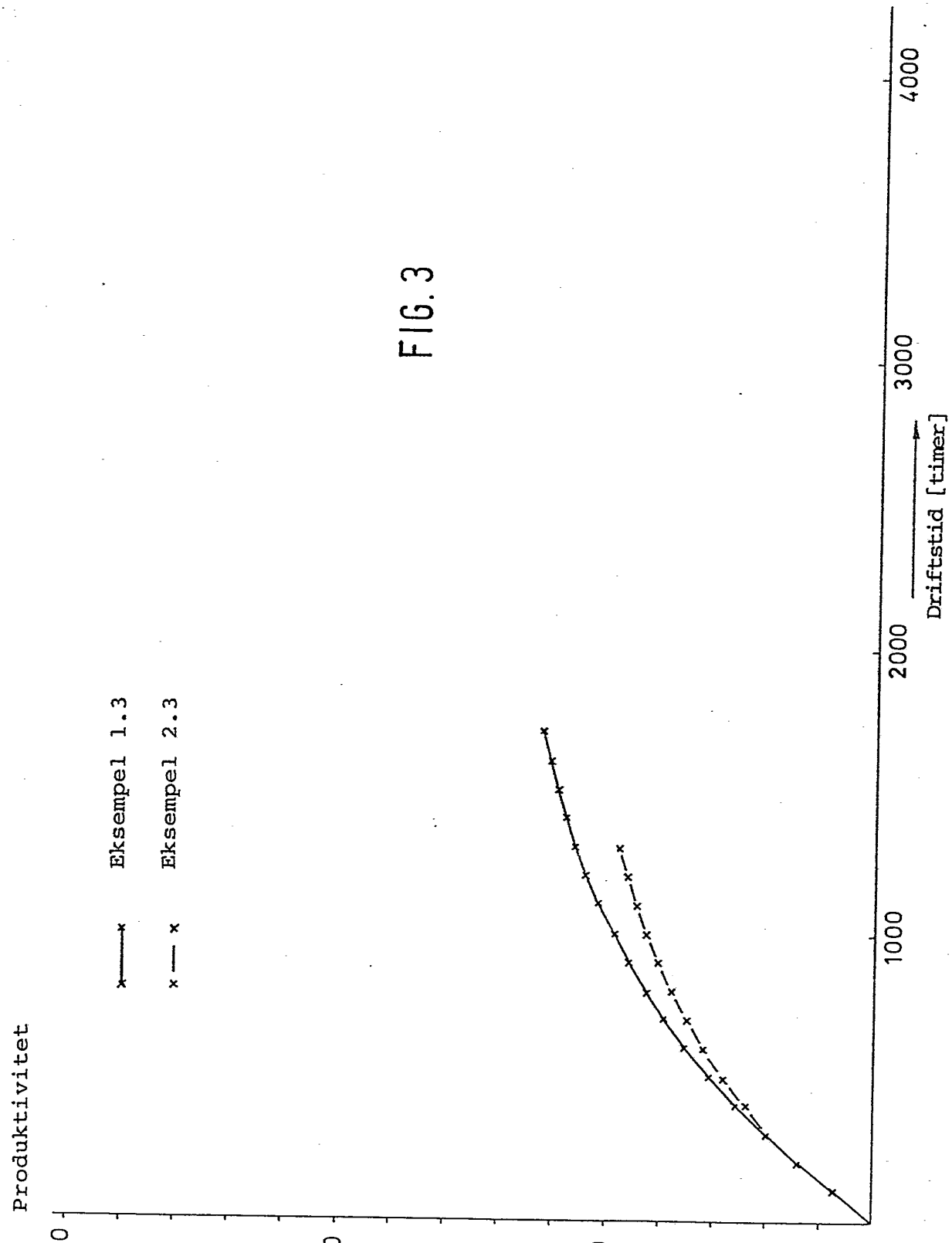

Produktivitet
[tTS/kgkat]
30
20
10
1000
2000
3000
4000
Driftstid [timer]
Eksempel 1.3
Eksempel 2.3

FIG. 3