



SUOMI – FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN



FI000125039B

(12) PATENTTIJULKAISU
PATENTSKRIFT

(10) FI 125039 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

30.04.2015

(51) Kv.lk. - Int.kl.

C13K 13/00 (2006.01)

C07H 3/04 (2006.01)

(21) Patenttihakemus - Patentansökning

20070770

(22) Saapumispäivä - Ankomstdag

12.10.2007

(24) Tekemispäivä - Ingivningsdag

12.04.2006

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

12.10.2007

(86) Kv. hakemus - Int. ansökan

PCT/JP2006/307726

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

13.04.2005 JP 17-116054 P

(73) Haltija - Innehavare

1 • Matsutani Chemical Industry Co., Ltd., 3, Kitaitami, 5-chome, Itami-shi, 6648508 Hyogo, JAPAN, (JP)

2 • Japan Chemical Engineering & Machinery Co., Ltd., 6-23, Kashima 4-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka 5320031, JAPAN, (JP)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 • Shimada, Kensaku, Osaka 5560021, JAPAN, (JP)

2 • Ichihara, Takashi, Hyogo 6580022, JAPAN, (JP)

3 • Tsumiya, Takahiko, Kyoto 6170823, JAPAN, (JP)

4 • Takami, Yasuhiro, Hyogo 6740067, JAPAN, (JP)

5 • Fukushima, Miki, Osaka 5670891, JAPAN, (JP)

(74) Asiamies - Ombud

Kolster Oy Ab, Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Sellobioosin puhdistusmenetelmä ja valmistusmenetelmä

Reningsförfarande och framställningsförfarande för cellobios

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

JP H05317073 A, JP H07184678 A, JP 2005068140 A, JP H0331294 A, WO 03085139 A1

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Esillä oleva keksintö antaa käyttöön menetelmän sellobioosin puhdistamiseksi, joka menetelmä käsittää vaiheet, joissa (A) valmistetaan sellobioosia sisältävä sokeriliuos; (B) nostetaan sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrää suhteessa siinä läsnä olevien sakkariidien kokonaismäärään vähintään 50 massaprosenttiin; ja (C) kiteytetään sellobioosi; ja menetelmän sellobioosin valmistamiseksi, jolla on sen α -anomeerin korkea pitoisuus, joka menetelmä käsittää vaiheen, jossa kuivataan sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosin määrä on vähintään 90 massa-% suhteessa siinä läsnä olevien sakkariidien kokonaismäärään, pitäen samalla sokeriliuos lämpötilassa, joka vaihtelee välillä 80 - 95 °C. Nämä esillä olevan keksinnön mukaiset menetelmät mahdollistavat sellobioosin taloudellisen valmistuksen, jolla on huomattavasti parannettu puhtaus ja talteenottomäärä, käyttämättä mitään monimutkaista prosessia. Sitä paitsi esillä oleva keksintö mahdollistaa myös sellobioosin valmistuksen, joka on erittäin liukoinen veteen.

Föreliggande uppfinning tillhandahåller ett förfarande för rening av cellobios, vilket förfarande omfattar steg, där (A) man framställer en cellobioshaltig sockerlösning; (B) man ökar den i sockerlösningen närvarande mängden cellobios i förhållande till den totala mängden sackarider närvarande däri så att den uppgår till minst 50 massaprocent; och (C) man kristalliserar cellobios; samt ett förfarande för framställning av cellobios med en hög halt av α -anomerer därav, vilket förfarande omfattar ett steg, där man torkar en cellobioshaltig sockerlösning, vars cellobiosmängd uppgår till minst 90 massaprocent i förhållande till den totala mängden sackarider som är närvarande däri, varvid man samtidigt håller sockerlösningen vid en temperatur som varierar från 80 till 95 °C. Dessa förfaranden enligt föreliggande uppfinning möjliggör ekonomisk framställning av cellobios med en avsevärt förbättrad renhet och tillvaratagningsgrad utan att använda någon komplicerad process. Dessutom möjliggör föreliggande uppfinning även framställning av cellobios som är ytterst löslig i vatten.

Sellobioosin puhdistusmenetelmä ja valmistusmenetelmä

Tekniikan ala

Esillä oleva keksintö koskee menetelmää erittäin puhtaan sellobioosin talteenottamiseksi sellobioosia sisältävästä sokeriliuoksesta suurella saannolla ja alhaisin kustannuksin ja menetelmää sellobioosin valmistamiseksi, jolla on suuri liukoisuus veteen.

Tekniikan tausta

Sellobioosi on disakkaridi, joka on tuotettu selluloosan hydrolysointiprosessilla, jota selluloosaa esiintyy laajasti esimerkiksi kasveissa ja jolla on sellainen rakenne, että kaksi glukoosimolekyyliä on liittynyt yhteen β -1,4-sidoksen välityksellä. Sellobioosi on luonnossa esiintyvä materiaali, jota on läsnä esimerkiksi maissin varsissa ja männyn neulasissa ja sillä on makea maku, mutta ihminen ei ole sitä hydrolysoinut. Näin ollen, jos sellobioosia voidaan tehokkaasti ja taloudellisesti valmistaa, sitä pidettäisiin käyttökelpoisena makeutusaineena käytettäväksi terveyselintarvikkeissa ja sokeritaudista kärsivien potilaiden elintarvikkeissa tai raaka-aineena kosmeettisten tuotteiden ja lääkkeiden valmistamiseksi.

Perinteisesti tunnettuna menetelmänä sellobioosin valmistamiseksi on ehdotettu niitä, joissa selluloosaa hydrolysoidaan kemiallisesti tai entsymaattisesti.

Näiden joukossa esimerkit tällaisista entsymaattisista hydrolysointimenetelmistä pitävät sisällään ne, jotka käsittävät selluloosan saattamisen reagoimaan kaupallisesti saatavien sellulaasiformulaatioiden kanssa, jotka sisältävät sellulaasia, joka on peräisin esimerkiksi mikro-organismeista, kuten niistä, jotka kuuluvat sukuihin *Trichoderma* ja *Aspergillus*, jolloin saadaan sellobioosia, samoin kuin menetelmän, jossa sellobioosia valmistetaan käyttäen entsyymiformulaatioita, joista β -glukosidaasi on poistettu samalla, kun käytetään hyväksi sellulaasin ja selluloosan adsorbointitehojen välistä eroa (patenttihakemusta 1), ja menetelmän, jossa selluloosan hydrolyysireaktio suoritetaan ligniinin läsnä ollessa (patenttihakemusta 2). Lisäksi on tunnettu myös menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi edellä mainittujen menetelmien parannettuna tekniikkana, joka käsittää lignoselluloosan hydrolysoinnin sellulaasin ja ligniiniä hydrolysoivan bakteerin tai ligniiniä hydrolysoivan entsyymin läsnä ollessa (patenttihakemusta 3). Kuitenkin sokeriliuokset, jotka on valmistettu hydrolyysillä näiden menetelmien mukaisesti, sisältävät itsessään suuren määrän monosakkarideja, kuten glukoo-

sia ja sello-oligosakkarideja, eikä niiden näin ollen voida katsoa olevan erittäin puhdasta sellobioosia, ja menetelmät ovat niinkään epätyydyttäviä sellobioosin saantojen suhteen. Lisäksi, jos sokeriliuokseen sekoittuneen glukoosin pitoisuus kasvaa, on odotettavissa, että sellobioosi tuskin kiteytyy.

5 Toisaalta edellä mainittuna kemiallisena hydrolysointiteknikkana on tunnettu esimerkiksi menetelmä, jossa sellobioosi fraktioidaan ja eristetään käyttäen esimerkiksi hiilikolonnin (ei-patenttihakemusta 1), mutta tämä menetelmä vaatii melko monimutkaisten operaatioiden käyttöä mukaan lukien hiilikolonnin käyttö, jolla on suuri tilavuus, ja suurta määrää etanolia sellobioosin eluomiseksi 10 kolonnista. Sitäpaitsi menetelmä ei aikaansaa sellobioosia tyydyttävän suurella saannolla, se johtaa näin ollen sellobioosin valmistuskustannusten huomattavaan kasvuun eikä saatua tuotetta voida näin ollen käyttää elintarvikealalla. Lisäksi sellobioosia ei ole vielä massatuotettu teollisesti ja näin ollen sitä on yksinkertaisesti valmistettu hyvin pienessä mittakaavassa ainoastaan reagenssiksi. Äskettäin on kehitetty menetelmä sellobioosin valmistamiseksi (patenttihakemusta 15 4), joka käsittää vaiheet, joissa keitetään ja hajotetaan raaka-ainetta, joka sisältää luonnossa esiintyvää lignoselluloosaa, ja hydrolysoidaan sitten osittain näin saatu märkä kuitumassa sellulaasin vaikutuksesta käyttämättä mitään kuivausvaihetta. Tämä menetelmä käsittää vaiheet, joissa annetaan sellulaasin vaikuttaa kuivaamattomaan märkään kuitumassaan, joka on alustana melko herkkä sellulaasin vaikutukselle, hydrolysisysteemissä, joka on varustettu ultrasuodatusmembralla, ja poistetaan jatkuvasti hydrolysointituotteita reaktiosysteemistä suodattamalla, ja menetelmä on näin ollut menestyksenkäs sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen valmistuksessa suurella saannolla. Lisäksi on niinkään ehdotettu 25 menetelmää sellobioosin puhdistamiseksi saman periaatteen mukaisesti kuin edellä olevassa menetelmässä käytettiin käyttämällä raaka-aineena valkaistua sulppumassaa (patenttihakemusta 5).

Kuitenkin näiden menetelmien mukaisesti valmistetuissa sokeriliuoksissa on suuret glukoosin, oligosakkaridien ja muiden epäpuhtauksien pitoisuudet 30 ja sen vuoksi niitä ei voida käyttää erittäin puhtaan sellobioosin valmistukseen käyttämättä jotakin lisäkäsittelyä.

Patenttihakemusta 1: JP-A-63-226 294;

Patenttihakemusta 2: JP-A-05-317 073;

Patenttihakemusta 3: JP-A-08-89 274;

35 Patenttihakemusta 4: JP-A-07-184 678;

Patenttihakemusta 5: JP-A-09-107 987;

Ei-patenttidokumentti 1: Miller, G.L., Methods in Carbohydrate Chemistry III, 1963, sivu 134 (Academic Press).

Keksinnön selostus

Keksinnön avulla ratkaistavia ongelmia

5 Näin ollen esillä olevan keksinnön tavoitteena on, ottaen huomioon edellä mainitun tekniikan nykytilanne, saada aikaan menetelmä sellobioosin taloudelliseksi puhdistamiseksi, joka menetelmä mahdollistaa huomattavasti parannetun puhtauden ja talteenottomäärän saavuttamisen, lähtien syntetisoidusta sellobioosista tai sellobioosia sisältävästä sokeriliuoksesta, joka on saatu selluloosan hydrolysoinnilla, käyttämättä mitään monimutkaisia prosesseja.

10 Esillä olevan keksinnön toisena tavoitteena on saada aikaan menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, jolla on suuri liukoisuus veteen.

Keinoja ongelmien ratkaisemiseksi

Tämän keksinnön tekijät ovat suorittaneet erilaisia tutkimuksia menetelmistä sellobioosin puhdistamiseksi ja ovat sen tuloksena havainneet, että sellobioosia voidaan helposti erottaa sen kiteiden muodossa saattamalla sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosin määrää suhteessa sokeriliuoksessa läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään on nostettu ainakin ennalta määrätylle tasolle, suolanpoisto- ja värinpoistokäsittelyihin, ja että erittäin puhdasta sellobioosia voidaan saada keräämällä talteen sen tuloksena olevat kiteet. Sitäpaitsi keksinnön tekijät ovat lisäksi havainneet, että erittäin puhdasta sellobioosia voidaan saada edelleen parannettu talteenottomäärä fraktioimalla edellä mainittu sellobioosia sisältävä sokeriliuos käyttäen vahvasti hapanta kationinvaihtohartsia liuoksen sellobioosipitoisuuden nostamiseksi täten ja kiteyttämällä sitten liuoksessa läsnä oleva sellobioosi. Lisäksi keksinnön tekijät ovat 25 niinikään havainneet, että sellobioosijauhetta, jonka liukoisuutta veteen on edelleen parannettu verrattuna sellobioosin alkuperäisten kiteiden liukoisuuteen, voidaan saada, kun lämmitetään sokeriliuosta, joka on näin saatu ja joka sisältää sellobioosia suuremman pitoisuuden, määrätyssä lämpötilassa ja konvertoidaan sitten se jauheeksi käyttämättä mitään lisäkäsittelyä. Esillä oleva keksintö 30 on näin ollen kehitetty edellä esitettyjen havaintojen perusteella.

Esillä oleva keksintö antaa käyttöön seuraavan menetelmän sellobioosin puhdistamiseksi ja menetelmän sellobioosin valmistamiseksi:

1. Menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, joka käsittää vaiheet, joissa (A) valmistetaan sellobioosia sisältävä sokeriliuos; (B) nostetaan sokeriliuok-

sessä läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään vähintään 50 massaprosenttiin; ja (C) kiteytetään liuoksessa läsnä oleva sellobioosi.

2. Edellä olevassa kohdassa 1 esitetty menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään nostetaan vähintään 60 massaprosenttiin.

3. Edellä olevassa kohdassa 1 tai 2 esitetty menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (B) käsittää ultrasuodatusvaiheen.

4. Edellä kohdassa 3 esitetty menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (B) käsittää lisäksi vaiheen, jossa sokeriliuos väkevöidään käyttämällä käänteisosmoosimembraania ultrasuodatusvaiheen jälkeen.

5. Edellä kohdassa 3 esitetty menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (B) käsittää lisäksi vaiheen, jossa sokeriliuos fraktioidaan käyttäen vahvasti hapanta kationinvaihtohartsia ultrasuodatusvaiheen jälkeen.

6. Jossakin edellä olevassa kohdassa 1 - 5 esitetty menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (A) käsittää vaiheet, joissa keitetään ja hajotetaan raaka-aine, joka sisältää luonnossa esiintyvää lignoselluloosaa, ja sen jälkeen hydrolysoidaan osittain näin saatu kuivaamaton märkä kuitumassa sellulaasin vaikutuksella.

7. Menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, jolla on korkea sen α -anomeerin pitoisuus, joka menetelmä käsittää vaiheen, jossa kuivataan sokeriliuos, jonka sellobioosin määrä on vähintään 90 massa-% suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään samalla, kun liuosta pidetään lämpötilassa, joka vaihtelee välillä 80 - 95 °C.

8. Edellä kohdassa 7 esitetty menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, jossa sellobioosia sisältävä sokeriliuos on liuos, joka on saatu liuottamalla uudelleen sellobioosikiteitä.

9. Edellä kohdassa 7 esitetty menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, jossa kuivausvaihe on mikä tahansa ruiskukuivauksesta, rumpukuivauksesta tai ekstruderiprosessoinnista.

10. Jossakin edellä olevassa kohdassa 7 - 9 esitetty menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, jossa sellobioosia sisältävä sokeriliuos on sellainen, joka on saatu keittämällä ja hajottamalla raaka-ainetta, joka sisältää luonnossa esiintyvää lignoselluloosaa, ja sen jälkeen hydrolysoimalla osittain näin saatua kuivaamatonta märkää kuitumassaa sellulaasin vaikutuksella.

Keksinnön vaikutukset

Esillä olevan keksinnön mukainen puhdistusmenetelmä mahdollistaa erittäin puhdistetun sellobioosin taloudellisen valmistuksen suurella saannolla. Lisäksi esillä olevan keksinnön mukainen valmistusmenetelmä mahdollistaa erittäin puhdistetun sellobioosin taloudellisen valmistuksen suurella saannolla, jolla sellobioosilla on sen α -anomeerin korkea pitoisuus ja korkea liukoisuus veteen. Näin ollen esillä olevan keksinnön mukaisesti valmistetusta sellobioosista voidaan odottaa luonnollista, ruoansulatuksessa hajoamatonta makeutusainetta, jota voidaan käyttää eri elintarvikealoilla, kuten terveyselintarvikkeissa ja sokeritaudista kärsivien potilaiden elintarvikkeissa. Lisäksi sitä voidaan niinkään käyttää raaka-aineena kosmeettisiin formulaatioihin samoin kuin lääkkeisiin.

Paras tapa keksinnön toteuttamiseksi

Esillä oleva keksintö koskee menetelmää sellobioosin puhdistamiseksi, joka menetelmä käsittää vaiheet, joissa (A) valmistetaan sellobioosia sisältävä sokeriliuos; (B) nostetaan sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään vähintään 50 massaprosenttiin; ja (C) kiteytetään siinä läsnä oleva sellobioosi.

Esillä olevassa keksinnössä käytetty sellobioosia sisältävä sokeriliuos voidaan valmistaa millä tahansa tunnetulla menetelmällä, kuten sillä, jota on selostettu edellä mainitussa patenttidokumentissa 4. Tarkemmin sanoen etikahappopuskuria, jonka pH-arvo on 5,5, lisätään kuivamattomaan märkään, valkaisemattomaan sulfiittimassaan, joka on saatu keittämällä ja hajottamalla luonnossa esiintyvää, lignoselluloosaa sisältävää raaka-ainetta 2 massa-% sisältävän lietteen valmistamiseksi. Tämän jälkeen näin valmistettu liete syötetään bioreaktoriin, joka on varustettu ultrasuodatusmembralla, liete lämmitetään 45 °C:n lämpötilaan kierrättäen sitä samalla pumpun avulla, *Trichoderma viride* -lajiin kuuluvasta mikro-organismista peräisin olevaa sellulaasia lisätään lietteeseen 0,1 massaprosentin pitoisuus laskettuna lietteen kokonaismassasta samalla, kun lietettä pidetään tässä lämpötilassa selluloosan hydrolysoimiseksi entsyymireaktiolla, jota suoritetaan 4 tunnin ajan, ja näin sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen saamiseksi.

Vaihtoehtoisesti on mahdollista käyttää menetelmää, jota on seostettu edellä mainitussa patenttidokumentissa 5, lisämenetelmänä tällaisen sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen valmistamiseksi.

Tämän jälkeen sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismassaan säädetään tasolle, joka on vähintään 50 massa-%.

Esimerkiksi hydrolyysireaktioliuos, jota on käsitelty johtamalla se edellä mainitun ultrasuodatusmembraanin läpi, voidaan väkevöidä ilman mitään lisäkäsittelyä tai se voidaan niinkään väkevöidä käyttäen käänteisosmoosimembraania, jolla on hidas tukkeutumisnopeus, sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrän säätämiseksi suhteessa sakkaridien kokonaismassaan tasolle, joka on vähintään 50 massa-%. Tässä käytetystä "käänteisosmoosimembraanista, jolla on alhainen tukkeutumisnopeus" käytetään myös nimitystä "irralinen RO-membraani" eikä sitä ole rajoitettu mihinkään määrättyyn sikäli kuin käänteisosmoosimembraanilla on sellainen toiminta, että suurin osa glukoosimolekyyleistä kykenee läpäisemään membraanin, mutta suurin osa sellobioosista ei kykene läpäisemään sitä. Esimerkkinä voidaan mainita NTR-7250, joka on saatavana yhtiöltä Nitto Denko Corporation.

Näin valmistetussa sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismassaan on vähintään 50 massa-% ja edullisesti vähintään 60 massa-%. Tämä johtuu siitä, että sellaisen sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen käyttö, jonka sellobioosin määrä on alle 50 massa-%, johtaisi kiteiden talteenottomäärän laskuun seuraavassa kiteytysvaiheessa. Toisin sanoen sokeriliuoksessa läsnä oleva glukoosi ehkäisisi sellobioosin kiteytymistä ja näin ollen sokeriliuoksessa läsnä olevan glukoosin pitoisuus on edullisesti pienempi kuin sellobioosin pitoisuus.

On edullista, että sellobioosia sisältävä sokeriliuos saatetaan värinpoistokäsittelyyn millä tahansa sopivalla tavalla, kuten sellaisella, jossa käytetään aktiivihiihtä, ja suolanpoistokäsittelyyn millä tahansa sopivalla tavalla, kuten selliasella, jossa käytetään ioninvaihtohartsia. Nämä vaiheet voivat helpottaa seuraavaa kiteytysvaihetta. Tässä suhteessa on edullista, että sellobioosia sisältävää sokeriliuosta, joka on näin saatettu edellä esitettyihin värinpoisto- ja suolanpoistokäsittelyihin, väkevöidään, kunnes sellobioosipitoisuus ylittää 14 % (paino/tilavuus). Sellaisen sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen käyttö, jonka sellobioosipitoisuus on pienempi kuin 14 % (paino/tilavuus), johtaisi kiteiden talteenottomäärän laskuun seuraavassa vaiheessa.

Glukoosi, oligosakkaridit ja muut epäpuhtaudet, jotka saattavat ehkäistä sellobioosin kiteytymistä, voidaan tarvittaessa poistaa sokeriliuoksesta käsittelemällä sokeriliuosta esimerkiksi ioninvaihtohartsilla. Esimerkiksi sellobioosia

sisältävä sokeriliuos johdetaan kolonnin läpi, joka on täytetty vahvasti happamalla kationinvaihtohartsilla (Na-tyyppinen tai Ca-tyyppinen), mitä seuraa sen eluointi vedellä glukoosin, oligosakkaridien ja muiden epäpuhtauksien erottamiseksi sokeriliuoksesta. Jos tällaisen menetelmän mukaisesti valmistetaan sellobioosia

5 sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosin pitoisuutta ja puhtautta on edelleen parannettu, voidaan saada erittäin puhdistettuja sellobioosikiteitä suurella saannolla.

Näin ollen jos väkevöidään sellobioosia sisältävää sokeriliuosta, jonka sellobioosin määrä on vähintään 50 massa-% suhteessa liuoksessa läsnä olevien sakkaridien kokonaismassaan, sellobioosia valmistetaan liuoksesta sen kiteyt-

10 tyksellä ja näin sellobioosikiteitä sisältävää lietettä voidaan valmistaa helposti. Sokeriliuoksesta näin erotetut sellobioosin kiteet voidaan ottaa tai kerätä talteen millä tahansa tunnetulla keinolla, kuten suodatus- tai sentrifugointikäsitte-

lyllä. On myös mahdollista valinnaisesti kiteyttää edellä saadut sellobioosikiteet uudelleen. Näin talteen saadut kiteet pestään pienellä määrällä kylmää vettä ja/tai

15 vettä sisältävää etanolia ja sen jälkeen kuivataan.

Tuloksena olevien sellobioosikiteiden puhtaus ja talteenottomäärä voivat vaihdella riippuen käytetyn sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen ominaisuuksista, mutta on yleistä, että ne ovat vastaavasti vähintään 93 massa-% ja vähintään 40 massa-%. Tässä yhteydessä sellobioosipitoisuus voidaan määrit-

20 tää korkean suorituskyvyn nestekromatografiatekniikalla (HPLC-tekniikka).

Esillä olevan keksinnön toisen kohdan mukaisesti aikaansaadaan menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, jolla on sen α -anomeerin korkea pitoisuus, joka menetelmä käsittää vaiheen, jossa kuivataan sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosipitoisuus on vähintään 90 massa-% suhteessa siinä

25 läsnä olevien sakkaridien kokonaismassaan samalla, kun sokeriliuos pidetään lämpötilassa, joka vaihtelee välillä 80 - 95 °C.

Kiteisen sellobioosin liukoisuus (liukenemismäärä) veteen voi vaihdella riippuen stereoisomeerien määristä (α - ja β -anomeerien määristä). Esimerkiksi kun sellobioosikiteitä liuotetaan veteen, saatua liuosta pidetään korkeassa lämpötilassa, joka osuu alueelle, jolla liuos ei kiehu, edullisesti välille 80 - 95 °C, aika, joka vaihtelee välillä 0,5 - 2,0 tuntia ja sen jälkeen liuos kuivataan pitäen se samalla tässä lämpötilassa, α -anomeerin määrä kasvaa tuottaen täten sellobioosijauhetta, jonka liukoisuutta veteen on parannettu. Tässä käytetty "liukoisuus" voidaan esimerkiksi arvioida sen ajan perusteella, joka vaaditaan näytteen täydelliseen liuottamiseen veteen todettuna silloin, kun 10 g näytettä lisätään

35 100 ml:aan vettä, jota pidetään 25 °C:ssa samalla sekoittaen.

Sellobioosiliuoksen kuivausmenetelmää ei ole rajoitettu mihinkään määrättyyn, mutta spesifisiä esimerkkejä siitä ovat ruiskukuivausmenetelmä, rum-pukuivausmenetelmä ja ekstruderiprosessointitekniikka.

Sellobioosituote, jonka liukoisuutta on parannettu, voidaan niinkään
5 valmistaa käyttämättä mitään kiteytysvaihetta. Tarkemmin sanoen sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosipitoisuus on nostettu vähintään 90 mas-saprocentin tasolle fraktiointioperaatiolla käyttäen vahvasti hapanta kationinvaihtoartsia, saatetaan kuivausvaiheeseen samojen menettelyjen mukaisesti kuin edellä sellobioosituotteen valmistuksen mahdollistamiseksi, jolla on suurempi
10 liukoisuus veteen kuin kiteiden tuotteella, joka on valmistettu kiteytyskäsittelyllä.

Esillä olevaa keksintöä kuvataan seuraavassa yksityiskohtaisemmin viitaten seuraaviin koe-esimerkkeihin ja käyttöesimerkkeihin, mutta esillä olevaa keksintöä ei ole millään lailla rajoitettu ollenkaan näihin spesifisiin esimerkkeihin.

Koe-esimerkki 1: Sellobioosin liukoisuuden määrittäminen

15 Valmistettiin kaupallisesti saatavan sellobioosin (valmistaja Wako Pure Chemical Co. Ltd.) 20-prosenttinen (paino/tilavuus) liuos, saatu liuos syötettiin termostaattikammioon, jota pidettiin lämpötilassa, joka vaihteli välillä 10 - 60 °C, sellobioosin kiteiden muodostamiseksi, minkä jälkeen yläpuolisessa nesteessä olevan veden pitoisuus määritettiin Karl Fisher-kosteusmittarilla ja sen
20 jälkeen liukoisuus laskettiin vähentämällä kosteuspitoisuus 100 %:sta.

Taulukko 1

Lämpötila (°C)	Sellobioosin liukoisuus (%)
10	13,5
20	14,0
30	14,7
40	18,4
50	22,9
60	26,3

Edellä olevassa taulukossa 1 luetellut tulokset antavat olettaa, että kun sellobioosikiteet erotetaan sellobioosia sisältävästä sokeriliuoksesta, sokeriliuosta pitäisi väkevöidä, kunnes sokeriliuoksen sellobioosipitoisuus ylittää esimerkiksi
25 vähintään 14 % (paino/tilavuus) 20 °C:n lämpötilassa.

Koe-esimerkki 2: Glukoosin vaikutus sellobioosin kiteytykseen

Sellobioosia (saatavana yhtiöltä Wako Pure Chemical Co., Ltd.) sekoitettiin glukoosin (saatavana yhtiöltä kishida Chemical Co., Ltd.) kanssa Brix-liuosten 40 ja 50 saamiseksi, kuten niiden, jotka esitetään seuraavassa taulukossa 2, kummankin näistä liuoksista annettiin seistä 20 °C:ssa 90 tuntia ja kiteiden läsnäolo arvioitiin paljain silmin. Lisäksi näytteet, joiden kiteet voitiin ottaa talteen, tarkastettiin sellobioosin puhtauden suhteen korkean suorituskyvyn nestekromatografian mukaisesti.

Taulukko 2

Sellobioosin määrä valmistetussa sokeriliuoksessa, g (%)	Glukoosin määrä valmistetussa sokeriliuoksessa, g (%)	Valmistetun sokeriliuoksen määrä, g (Brix)	Kiteiden läsnäolo 90 tunnin kuluttua*	Sellobioosikiteiden puhtaus (%)
24 (80)	6 (20)	75 (40)	A	96,5
24 (60)	16 (40)	80 (50)	A	88,1
24 (60)	16 (40)	100 (40)	B	92,7
24 (50)	24 (50)	96 (50)	A	86,0
24 (50)	24 (50)	120 (40)	C	--
24 (40)	36 (60)	120 (50)	B	--
24 (40)	36 (60)	150 (40)	C	--

10 *:

A: Havaittiin kiteisen sellobioosin suuren määrän läsnäolo;

B: Havaittiin kiteisen sellobioosin pienen määrän läsnäolo;

C: Ei havaittu lainkaan kiteisen sellobioosin läsnäoloa.

15 Kuten taulukossa 2 luetelluista tuloksista nähdään, vahvistettiin, että kun glukoosipitoisuus, joka on läsnä sekaliuoksessa, ylittää 50 %, sellobioosia ei voitu helposti kiteyttää. Lisäksi näytteiden kyseessä ollen, jotka kiteytettiin sen jälkeen, kun niiden Brix-pitoisuuksia nostettiin, havaittiin, että tuloksena olevan kiteisen tuotteen sellobioosin puhtaus huononi. Lisäksi saatuja kiteitä tarkasteltiin niiden pintarakenteen osalta pyyhkäisyelektronimikroskoopilla ja sen tuloksena
20 havaittiin sellainen taipumus, että mitä suurempi kiteiden koko oli, sitä parempi oli niiden sellobioosin puhtaus.

Edellä esitetyt tulokset osoittavat selvästi, että erittäin puhdasta sellobioosia voidaan saada suurella talteenottomäärällä, kun valmistetaan sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosipitoisuus on vähintään 50 %, glukosipitoisuus on korkeintaan 50 % ja Brix-pitoisuus osuu alueelle, 40 - 50, ja käytetään sitä lähtöaineena.
25

Esimerkki 1

Valmistettiin sellobioosia sisältävä sokeriliuos märästä kuitumassasta sen menetelmän mukaisesti, jota selostetaan patenttidokumentin 4 (JP-A-7-184 678) esimerkissä. Tarkemmin sanoen etikkahappopuskuria, jonka pH-arvo oli 5,5, lisättiin märkään, valkaisemattomaan sulfiittimassaan, joka valmistettiin keittämällä ja hajottamalla luonnossa esiintyvää, lignoselluloosaa sisältävää raaka-ainetta, mutta kuivaamatta sitä sen jälkeen, 2-massaprosenttisen lietteen valmistamiseksi. Tämän jälkeen näin valmistettu liete syötettiin bioreaktoriin, joka oli varustettu polysulfonimembraanilla, jonka fraktioiva moolimassa asetettiin arvoon 10 000, liete lämmitettiin 45 °C:n lämpötilaan kierrättaen sitä samalla pumpun avulla ja sellulaasia, joka oli peräisin *Trichoderma viride* -lajiin kuuluvasta mikro-organismista, lisättiin sitten lietteeseen 0,1 massaprosentin pitoisuus laskettuna lietteen kokonaismassasta pitäen samalla liete tässä lämpötilassa selluloosan hydrolysoimiseksi entsyymireaktion avulla, jota suoritettiin 4 tunnin ajan.

Hydrolyysin reaktioliuos, joka läpäisi ultrasuodatusmembranin, väkevöitiin sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen saamiseksi, joka sisälsi sellobioosia 68 %:n määrän suhteessa liuoksessa läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään.

Tuloksena oleva sellobioosia sisältävä sokeriliuos saatettiin värinpoistokäsittelyyn käyttäen aktiivihiltaa ja sen jälkeen ioninpoistokäsittelyyn johtamalla liuos kolonnin läpi, joka oli täytetty amfoteerisella ioninvaihtohartsilla (saatavana yhtiöltä Organo Corporation). Tässä vaiheessa sokeriliuoksen sellobioosipitoisuuden havaittiin olevan 70 % laskettuna kiintoaineen kokonaispitoisuudesta ja sen glukoosipitoisuuden havaittiin olevan 24 %. Tämän jälkeen sellobioosia sisältävää sokeriliuosta väkevöitiin edelleen, liuoksen saamiseksi, jonka kiintoainepitoisuus oli 55 % ja kiteistä sellobioosia sisältävän lietteen muodostamiseksi. Kiteistä sellobioosia sisältävä liete sentrifugoitiin kiteiden keräämiseksi talteen, mitä seurasi kiteiden pesu pienellä määrällä vettä ja sen jälkeen kiteiden kuivaus kiteisen sellobioosin saamiseksi, jonka puhtaus oli 95 % ja saanto 63 % suhteessa sellobioosin kokonaismäärään, joka sisältyi alkuperäiseen sellobioosia sisältävään sokeriliuokseen.

Esimerkki 2

Sellobioosia sisältävään liuokseen tai sokeriliuokseen, joka oli valmistettu samalla menetelmällä kuin esimerkissä 1 käytettiin ja jonka sellobioosin määrä oli 68 % suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään, lisättiin glukoosia liuoksen valmistamiseksi, jolla oli seuraava sakkaridikoostumus:

sellobioosipitoisuus 61 % ja glukoosipitoisuus 35 %. Sen jälkeen, kun liuos oli saatettu käsittelyihin aktiivihieillä ja ioninvaihtohartsilla, se väkevöitiin 55 %:n kiintoainepitoisuuteen, jolloin saatiin kiteistä sellobioosia sisältävä liete. Kiteistä sellobioosia sisältävä liete sentrifugoitiin kiteiden keräämiseksi talteen, mitä
 5 seurasi kiteiden pesu pienellä määrällä vettä ja sen jälkeen kiteiden kuivaus, jolloin saatiin sellobioosikiteitä, joiden puhtaus oli 93 % ja saanto 40 % suhteessa sellobioosin kokonaismäärään, joka sisältyi alkuperäiseen sellobioosia sisältävään sokeriliuokseen.

Esimerkki 3

10 Sellobioosia sisältävä sokeriliuos, joka oli valmistettu samalla menetelmällä, jota esimerkissä 1 käytettiin ja jossa käytettiin hyväksi bioreaktoria ja jonka liuoksen sellobioosipitoisuus oli 63 % suhteessa siinä läsnä olevien sakkariidien kokonaismäärään, saatettiin jatkuvaan väkevöintikäsittelyyn käyttäen membraaniväkevöintisyhteimiä, joka oli varustettu irrallisella RO-membraanilla (NTR
 15 7250, saatavana yhtiöltä Nitto Denko Corporation). Tarkemmin sanoen bioreaktorin ultrasuodatusmembraanin läpi johdettua sokeriliuosta syötettiin jatkuvasti tähän systeemiin, väkevöityä liuosta kierrätettiin täten tässä systeemissä ja systeemin läpi johdettua liuosta poistettiin sitten jatkuvasti systeemistä. Tuloksena olevan väkevöidyn liuoksen havaittiin tulleen väkevöidyksi noin 12 kertaa. Tarkemmin sanoen sellobioosipitoisuus nostettiin 80 %:iin samalla, kun glukoosin
 20 33 %:n alkupitoisuus laskettiin 16 %:iin. Väkevöity liuos saatettiin sitten värinpoistokäsittelyyn aktiivihieillä ja suolanpoistokäsittelyyn ioninvaihtohartsilla, mitä seurasi sen väkevöinti 50 %:n kiintoainepitoisuuteen lietteen saamiseksi, joka sisälsi sellobioosikiteitä. Tuloksena olevat kiteet kerättiin talteen ja ne kuivattiin
 25 samalla menetelmällä kuin esimerkissä 1 käytettiin, jolloin saatiin kiteistä sellobioosia, jonka puhtaus oli 96 % 70 %:n saannolla suhteessa sellobioosin kokonaismäärään, joka sisältyi alkuperäiseen sellobioosia sisältävään sokeriliuokseen.

Esimerkki 4

30 Sellobioosia sisältävä sokeriliuos (60 ml, jonka kiintoainepitoisuus oli 50 %), joka oli valmistettu samalla menetelmällä, jota käytettiin esimerkissä 1 ja jonka sellobioosipitoisuus oli 65 % suhteessa siinä olevien sakkariidien kokonaismäärään, panostettiin tilavuudeltaan 10 litran kolonniin, joka oli täytetty Na-tyyppisellä vahvasti happamalla ioninvaihtohartsilla (saatavana yhtiöltä Organo Corporation) ja sen jälkeen sokeriliuosta kehitettiin kolonnin yli vettä käyttäen
 35 kolonnin lämpötilan ollessa 70 °C ja SV-arvon 1,0, sokeriliuoksen erottamiseksi

glukoosia sisältävään jakeeseen ja sellobioosia sisältävään jakeeseen. Tämä fraktiointi johti sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen muodostumiseen, jonka sellobioosipitoisuus oli 91 % laskettuna kiintoaineiden kokonaispitoisuudesta ja glukoosipitoisuus oli 5 % ja havaittiin, että epäpuhtaudet, kuten suolat ja proteiinit oli niinkään myös poistettu sokeriliuoksesta. Näin valmistettu sellobioosia sisältävä sokeriliuos saatettiin käsittelyihin aktiivihieillä ja ioninvaihtohartsilla samoilla menetelmillä, joita käytettiin esimerkissä 2, mitä seurasi sen väkevöinti 45 %:n kiintoainepitoisuuteen, jolloin saatiin kiteistä sellobioosia sisältävä liete. Kiteistä sellobioosia sisältävä liete sentrifugoitiin kiteiden keräämiseksi talteen, mitä seurasi kiteiden pesu pienellä määrällä vettä ja sen jälkeen kiteiden kuivaus, jolloin saatiin talteen sellobioosikiteitä, joiden puhtaus oli 98 %, 80 %:n saannolla.

Taulukko 3 esittää esimerkeissä 1 - 4 valmistettujen, sellobioosia sisältävien sokeriliuosten sellobioosipitoisuuksia ja glukoosipitoisuuksia samoin kuin jokaisen kiteisen tuotteen puhtauden ja talteenottomäärän välistä suhdetta.

15 Taulukko 3

Sellobioosia sisältävä sokeriliuos		Kiteet	
Sellobioosin pitoisuus (%)	Glukoosin pitoisuus (%)	Sellobioosin puhtaus (%)	Talteenottomäärä (%)
61	35	93	40
70	24	95	63
80	16	96	70
91	5	98	80

Talteenottomäärä ilmoitetaan talteen saatujen kiteisten materiaalien määränä suhteessa sellobioosin massaan, joka sisältyi sokeriliuokseen ennen sen väkevöintiä.

Taulukossa 3 luetellut tulokset osoittavat selvästi, että glukoosipitoisuuden pienentäminen sokeriliuoksessa mahdollistaa sellobioosin puhtauden ja talteen kerättyjen kiteisten aineiden talteenottomäärän huomattavan parantamisen ja että on tehokasta kiteisten aineiden suuren puhtauden ja suuren talteenottomäärän saavuttamiseksi nostaa etukäteen sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen sellobioosin pitoisuus tasolle, joka on vähintään 60 %. Lisäksi edellä olevat tulokset osoittavat myös, että sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen sellobioosin pitoisuutta voidaan oleellisesti nostaa, kun poistetaan sellobioosia sisältävässä sokeriliuoksessa läsnä olevaa glukoosia sen sokeriliuoksen väkevöinnillä, joka on saatu sen jälkeen, kun se on johdettu ultrasuodatusmembraa-

nin läpi käyttäen irrallista RO-membraania, tai sen väkevöidyn sokeriliuoksen fraktioinnilla, joka on saatu sen jälkeen, kun se on johdettu ultrasuodatusmembraanin läpi käyttäen vahvasti hapanta ioninvaihtohartsia. Näin tapahtuisi, koska edellä esitetyt operaatiot ja fraktiointi sallivat sokeriliuoksessa läsnä olevan

5 glukoosin poiston samanaikaisesti siinä mahdollisesti läsnä olevien epäpuhtauksien, kuten suolojen ja proteiinien poiston kanssa.

Esimerkki 5

Esimerkissä 4 valmistettu sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jolla oli korkea sellobioosipitoisuus, väkevöitiin 20 %:n kiintoainepitoisuuteen, sokeri-

10 liuosta pidettiin sitten 20 °C:n, 60 °C:n tai 80 °C:n lämpötilassa tunnin ajan ja välittömästi tämän jälkeen liuos kuivattiin ruiskukuivurissa, jolloin saatiin sellobioosijauhetta. Nämä jauhemaiset sellobioosituotteet tarkistettiin vesiliukoisuuden ja anomeerien jakautumamäärän suhteen. Näin saadut tulokset on koottu seuraavaan taulukkoon 4. Tältä osin anomeerien jakautumamäärä määritettiin käyttä-

15 en kaasukromatografia GC14, saatavana yhtiöltä Shimadzu Corporation, joka oli varustettu kolonnilla: DB1701 (sisähalkaisija: 0,25 mm; pituus 30 m), saatavana yhtiöltä J & W Company. Tarkemmin jokaista näytettä (1,0 mg) liuotettiin 0,769 ml:aan pyridiiniä, 0,077 ml TMS:a ja 0,154 ml HMDS:a lisättiin saatuun liuokseen, seosta pidettiin huoneenlämpötilassa yksi tunti ja sitä käytettiin sitten

20 kaasukromatografia-analyysissä. Lisäksi jokaisen näytteen liukoisuus veteen ilmoitettiin aikana, joka vaadittiin näytteen täydelliseen liuottamiseen (liukenemisaika) lisättäessä 10 g näytettä 100 ml:aan ionivaihdettua vettä, jota pidettiin 25 °C:ssa sekoittaen (katso taulukko 4). Tässä yhteydessä α -anomeerin ja β -anomeerin todettujen määrien esimerkissä 1 valmistettujen kiteiden osalta havaittiin

25 olevan vastaavasti 7,5 % ja 92,5 % ja ajan, joka vaadittiin niiden liuottamiseen havaittiin olevan 12,5 minuuttia.

Taulukko 4

Sokeriliuoksen lämpötila (°C)	α -anomeerin määrä (%)	β -anomeerin määrä (%)	Liukenemisaika (min)
20	12,4	87,6	8,0
60	23,9	76,1	4,0
80	44,6	55,4	2,5

Taulukossa 4 luetelluista tuloksista on vahvistettu, että sellobioosia sisältävän sokeriliuoksen kuivaus kontrolloimalla samalla sen lämpötilaa, saa aikaan sellobioosijauhetta, jonka liukoisuusominaisuudet ovat parantuneet.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, joka käsittää vaiheet, joissa
 - (A) valmistetaan sellobioosia sisältävä sokeriliuos;
 - (B) säädetään sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään vähintään 50 massaprosenttiin ja sokeriliuoksen Brix-pitoisuus vähintään 50:een, tai säädetään sokeriliuoksessa läsnä olevan sellobioosin määrä suhteessa siinä läsnä olevien sakkaridien kokonaismäärään vähintään 60 massaprosenttiin ja sokeriliuoksen Brix-pitoisuus vähintään 40:een; ja
 - (C) kiteytetään sokeriliuoksessa läsnä oleva sellobioosi.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (B) käsittää ultrasuodatusvaiheen.
3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (B) käsittää lisäksi vaiheen, jossa sokeriliuos väkevöidään käyttäen käänteisosmoosimembraania ultrasuodatusvaiheen jälkeen.
4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (B) käsittää lisäksi vaiheen, jossa sokeriliuos fraktioidaan käyttäen vahvasti hapanta kationinvaihtohartsia ultrasuodatusvaiheen jälkeen.
5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä sellobioosin puhdistamiseksi, jossa vaihe (A) käsittää vaiheet, joissa keitetään ja hajotetaan raaka-ainetta, joka sisältää luonnossa esiintyvää lignoselluloosaa ja sen jälkeen hydrolysoidaan näin saatu kuivaamaton märkä kuitumassa sellulaasin vaikutuksella.
6. Menetelmä sellobioosin valmistamiseksi, joka menetelmä käsittää vaiheen, jossa sellobioosia sisältävä sokeriliuos, jonka sellobioosin määrä on vähintään 90 massa-% suhteessa siinä olevien sakkaridien kokonaismäärään, pidetään lämpötilassa, joka vaihtelee välillä 80 - 95 °C, ja sitten kuivataan sokeriliuos.
7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, sellobioosin valmistamiseksi, jossa sellobioosia sisältävä sokeriliuos on liuos, joka on saatu liuottamalla uudelleen sellobioosikiteitä.

8. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, sellobioosin valmistamiseksi, jossa kuivausvaihe on mikä tahansa ruiskukuivauksesta, rumpukuivauksesta ja ekstruderiprosessoinnista.

- 5 9. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, sellobioosin valmistamiseksi, jossa sellobioosia sisältävä sokeriliuos on sellainen, joka on saatu keittämällä ja hajottamalla raaka-ainetta, joka sisältää luonnossa esiintyvää lignoselluloosaa, ja hydrolysoimalla sitten osittain näin saatu kuivaamaton märkä kuitumassa sellulaasin vaikutuksella.

Patentkrav

1. Förfarande för rening av cellobios, vilket omfattar steg, i vilka
 - (A) framställs en sockerlösning innehållande cellobios;
 - 5 (B) regleras mängden cellobios närvarande i sockerlösningen i förhållande till den totala mängden sackarider närvarande däri till minst 50 massaprocent och sockerlösningens Brix-halt till minst 50, eller
 - regleras mängden cellobios närvarande i sockerlösningen i förhållande till den totala mängden sackarider närvarande däri till minst 60 massaprocent och sockerlösningens Brix-halt till minst 40; och
 - 10 (C) kristalliseras cellobios närvarande i sockerlösningen.
2. Förfarande för rening av cellobios enligt patentkrav 1, vari steg (B) omfattar ett ultrafiltreringssteg.
3. Förfarande för rening av cellobios enligt patentkrav 2, vari steg (B)
 - 15 dessutom omfattar ett steg, där sockerlösningen koncentreras genom användning av en membran för omvänd osmos efter ultrafiltreringssteget.
4. Förfarande för rening av cellobios enligt patentkrav 2, vari steg (B) dessutom omfattar ett steg, där sockerlösningen fraktioneras genom användning av ett surt katjonbytesharts efter ultrafiltreringssteget.
- 20 5. Förfarande för rening av cellobios enligt patentkrav 1, vari steg (A) omfattar steg, i vilka kokas och sönderdelas ett råämne, som innehåller i naturen förekommande lignocellulosa och därefter hydrolyseras den sålunda erhållna icke-torkade våta fibermassan genom inverkan av cellulas.
6. Förfarande för framställning av cellobios, vilket förfarande omfattar
 - 25 ett steg, vari en sockerlösning innehållande cellobios, där mängden cellobios är minst 90 massa-% i förhållande till den totala mängden sackarider däri, hålls i en temperatur, som varierar mellan 80-95 °C, och sedan torkas sockerlösningen.
7. Förfarande enligt patentkrav 6 för framställning av cellobios, vari sockerlösningen innehållande cellobios är en lösning som erhållits genom upp-
 - 30 lösning av cellobioskristaller på nytt.
8. Förfarande enligt patentkrav 6 för framställning av cellobios, vari torkningssteget är vilket som helst av spruttorkning, trumtorkning och extruderprocessering.

9. Förfarande enligt patentkrav 6, för framställning av cellobios, vari sockerlösningen innehållande cellobios är sådan som erhållits genom kokning och sönderdelning av ett råämne, som innehåller i naturen förekommande lignocellulosa, och genom hydrolysering sedan delvis av den sålunda erhållna
- 5 icke-torkade våta fibermassan genom inverkan av cellulas.