

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 808/2006**

(51) Int. Cl.⁸: **C08B 37/14** (2006.01),
C07H 3/06 (2006.01)

(22) Anmeldetag: **10.05.2006**

(43) Veröffentlicht am: **15.11.2007**

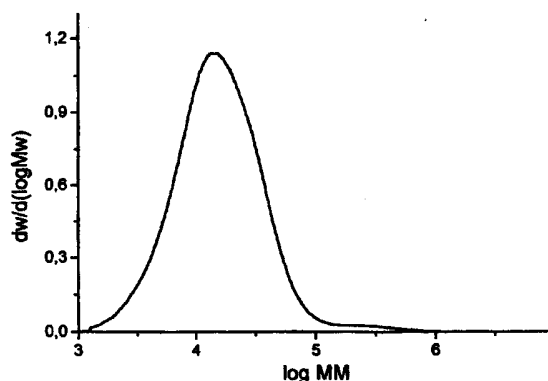
(73) Patentanmelder:

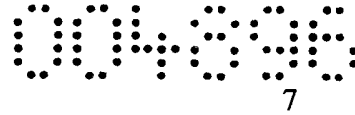
LENZING AKTIENGESELLSCHAFT
A-4860 LENZING (AT)

(54) **VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON XYLOOLIGOSACCHARIDEN**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Xylooligosacchariden, umfassend die Schritte

- Kalt-Alkali-Extraktion (CCE) eines durch ein Kochverfahren gewonnenen Zellstoffes
- Reinigen zumindest eines Teiles der in der Kalt-Alkali-Extraktionsstufe entstehenden Presslauge mittels eines Membrantrennverfahrens, vorzugsweise einer Nano- oder einer Ultrafiltration Gewinnen der Xylane aus zumindest einem Teil des Retentates des Membrantrennverfahrens
- Weiterverarbeitung von zumindest einem Teil der gewonnenen Xylane zu Xylo-Oligosacchariden



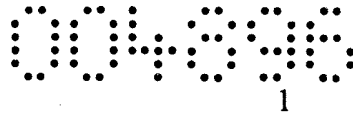


Zusammenfassung:

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Xylooligosacchariden, umfassend die Schritte

- Kalt-Alkali-Extraktion (CCE) eines durch ein Kochverfahren gewonnenen Zellstoffes
- Reinigen zumindest eines Teiles der in der Kalt-Alkali-Extraktionsstufe entstehenden Presslauge mittels eines Membrantrennverfahrens, vorzugsweise einer Nano- oder einer Ultrafiltration
- Gewinnen der Xylane aus zumindest einem Teil des Retentates des Membrantrennverfahrens
- Weiterverarbeitung von zumindest einem Teil der gewonnenen Xylane zu Xylo-Oligosacchariden

(Fig. 1)



Verfahren zur Herstellung von Xylooligosacchariden

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Xylooligosacchariden.

Es ist bekannt, dass bei der Erzeugung von Zellstoffen anfallende Stoffströme einen mitunter beträchtlichen Anteil an Hemicellulosen enthalten.

Aus der WO 2005/118923^{PA} ist beispielsweise die Reinigung der Presslauge eines Kaltextraktionsverfahrens (CCE-Verfahren) mittels eines Membrantrennverfahrens beschrieben. Das dabei anfallende Retentat enthält die gesamte Menge der in der Presslauge befindlichen Beta-Cellulose und mehr als die Hälfte der Gamma-Cellulose. Im Fall von Laubholzzellstoffen besteht die Beta-Cellulose aus fast reinem Xylan.

Es ist an sich bekannt, Hemicellulosen, z.B. Xylane, aus Stoffströmen des Zellstoffherstellungsverfahrens zu gewinnen. Die so gewonnenen Hemicellulosen werden zumeist als solche verwendet bzw. weiterverkauft.

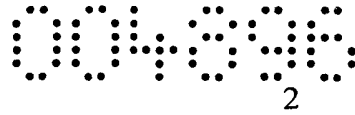
Demgegenüber betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Gewinnung von Xylooligosacchariden, d.h. auf einen niedrigen Polymerisationsgrad von typischerweise 2-10 abgebaute Xylanketten.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Xylooligosacchariden umfasst die Schritte

- Kalt-Alkali-Extraktion (CCE) eines durch ein Kochverfahren gewonnenen Zellstoffes
- Reinigen zumindest eines Teiles der in der Kalt-Alkali-Extraktionsstufe entstehenden Presslauge mittels eines Membrantrennverfahrens, vorzugsweise einer Nano- oder einer Ultrafiltration
- Gewinnen der Xylane aus zumindest einem Teil des Retentates des Membrantrennverfahrens
- Weiterverarbeitung von zumindest einem Teil der gewonnenen Xylane zu Xylo-Oligosacchariden

Das erfindungsgemäße Verfahren benutzt somit die aus der Presslauge eines CCE-Verfahrens gewonnenen Xylane, um daraus Xylooligosaccharide herzustellen.

Xylooligosaccharide haben verschiedene Anwendungsmöglichkeiten, z.B als präbiotisch wirksames Nahrungsmitteladditiv.



Zur Herstellung der Xylo-Oligosaccharide aus den gewonnenen Xylanen kann bevorzugt ein Verfahren ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydrothermolyse und Enzymatischer Hydrolyse durchgeführt werden.

Das Membrantrennverfahren zur Aufkonzentrierung der Xylane in der Presslauge des CCE-Verfahrens kann zweistufig durchgeführt werden, wobei zwischen den beiden Trennstufen eine Verdünnung des Retentates der ersten Stufe mit Wasser durchgeführt wird.

Dabei kann in der zweiten Stufe eine Nanofiltration des verdünnten Retentates oder auch eine Dialyse des Retentates der ersten Stufe durchgeführt werden. In beiden Fällen wird durch diesen Schritt die NaOH-Rückgewinnung erhöht, bei gleichzeitiger Konzentrierung der Hemicellulosenphase.

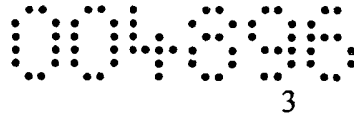
In der US 2005/0203291^{A1} wird ein Verfahren zur Gewinnung von Xylanen aus einer an Xylanen reichen Phase beschrieben.

Im Unterschied zu diesem bekannten Verfahren, werden in einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens die Xylane aus dem Retentat des Membrantrennverfahrens mittels einer umgekehrten Fällung gewonnen.

Zur umgekehrten Fällung wird bevorzugt ein Agens aus der Gruppe bestehend aus Mineralsäuren, CO₂ und ein- oder mehrwertigen Alkoholen eingesetzt. Der Sedimentationsrückstand kann anschließend durch geeignete Anlagen (z.B. eine Waschpresse) gewaschen und mechanisch entwässert werden.

Die vorliegende Erfindung wird nachstehend durch die Figur und das Ausführungsbeispiel näher erläutert.

Figur 1 zeigt die Molmassenverteilung eines aus einem CCE-Filtrat durch umgekehrte Fällung in Mineralsäure isolierten Xylans.



Beispiel

1. Isolierung von Xylan aus dem CCE-Filtrat

Mit Hilfe einer Pilot-Nanofiltrationsanlage (NF), ausgestattet mit einer Polyethersulfonmembran, Nadir N30 F, cut-off 300, wurde ein Filtrat einer CCE-Stufe mit Hilfe eines Kerzenfilters (Profile Star AB1A4007J) vorfiltriert, um restliche Fasern und ungelösten Partikel abzufiltrieren.

Die NF-Anlage wurde bei einer Temperatur von 40 °C, einem Druck von 25 bar und einer spezifischen Flussrate von 5 l/m².h betrieben. Die Beta-Cellulose (Xylan-)konzentration im Feed betrug ca. 15 g/l, die NaOH-Konzentration 90 g/l. Im Gleichgewicht verhielten sich die Mengenströme und damit auch die Laugenfrachten im Permeat- zu Retentat wie 0.82:0.18.

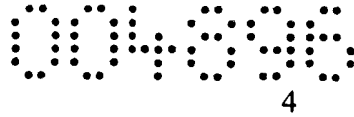
Aufgrund des niedrigen cut-offs der Membran befand sich die gesamte Beta-Cellulosemenge im Retentat in einer Konzentration von ca. 85 g/l. Das Retentat wurde in einem Verhältnis von 1:1.5 mit Wasser verdünnt und abermals der NF zugeführt.

Die NF-Bedingungen der zweiten Stufe waren vergleichbar mit der der ersten Stufe, lediglich die Permeatmenge sank auf ca. 70% der Feedmenge. Im Retentat der zweiten NF-Stufe lag nun die Beta-Cellulose in einer Konzentration von ca. 115 g/l und einer NaOH-Konzentration von ca. 32 g/l vor (Hemilauge).

Dieses Substrat diente zur Isolierung der Beta-Cellulose (Xylan) durch umgekehrte Fällung mit Mineralsäure. Dazu wurden ca. 0.1 Teile einer 1:3 mit Wasser verdünnten Schwefelsäure mit 1 Teil Hemilauge versetzt, wobei sich am Ende ein pH zwischen 4 und 5 einstellt.

Nach ca. 6-8 h bildet sich ein schmutzig-weißer Niederschlag in einer Konsistenz von ca. 10-15 Gew%. Dieser Niederschlag wurde dann zentrifugiert, gewaschen und getrocknet. In diesem Feststoff wurde ein Xylangehalt von 74 Gew% nachgewiesen. Bezogen auf den gesamten Kohlenhydratgehalt betrug der Xylangehalt 97.5%. Die mittels GPC ermittelte Molmassenverteilung dieses Xylanpulvers zeigt eine massengemittelte Molmasse von 24.4 kg/mol und eine zahlengemittelte Molmasse von 10.6 kg/mol (siehe Figur 1).

2. Weiterverarbeitung des Xylanpulvers zu Xylo-Oligosacchariden (XOS)



XOS wurde auf zwei Arten aus dem Xylan hergestellt, (A) hydrothermolytisch, (B) enzymatisch:

(A) Hydrothermolytische XOS-Herstellung:

318 g trockenes Xylan wurden in 9.08 L Wasser verdünnt (Xylankonzentration 35 g/L) und in einem 11 L-Druckreaktor bei 120°C 5 h lang unter ständiger Umwälzung behandelt. Die Umwälzrate betrug 75 L/h. Der pH Wert des Hydrolysates betrug nach Abschluss der Reaktion 3.13.

Die Lösung wurde anschließend mit 0.3 N NaOH auf pH 6.5-7.0 neutralisiert. Die wasserlöslichen Produkte wurden bei 4000 U/min für 60 min abzentrifugiert. Die isolierte Menge an XOS betrug 189.7 g gefriergetrocknetes Pulver, entsprechend einer Ausbeute von 59.6% bezogen auf das eingesetzte Xylan. Die hydrothermolytisch hergestellte XOS-Mischung zeigt eine relativ gleichmäßige Zusammensetzung über den untersuchten DP-Bereich (siehe unten Tabelle 1).

(B) Enzymatische Hydrolyse:

XOS₂₋₁₀

90 g feuchtes Xylan (entspricht 40 g trockenem Xylan) wurden in 900 mL Wasser suspendiert (44.4 g/L) und 50 mg Pentopan Mono BG (1.25 mg/g Xylan) zudosiert. Die Mischung wurde im Fermenter bei 50°C für 2 h gerührt. Danach wurde das Enzym durch 10-minütiges Erhitzen auf 99 °C deaktiviert. Die verbliebenen unlöslichen Anteile wurden abzentrifugiert, die wässrige Lösung gefriergetrocknet. Die XOS-Ausbeute bezogen auf das eingesetzte Xylan betrug 75%.

XOS₂

Die Reaktion wurde in einem 7L-Fermentor mit 6 L Füllung durchgeführt, die Xylan-Konzentration betrug 20 g/L (120 g Xylan). Die Herstellung erfolgte gleichfalls mit dem Enzym Pentopan Mono BG, aber mit erhöhter Konzentration von 1 g/L (50 mg/g Xylan). Die Fermentation wurde bei 40 °C für 96 h durchgeführt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Die XOS-Ausbeute betrug 78% bezogen auf die eingesetzte Xylanmenge (93.66 g XOS). Das Produkt besteht überwiegend aus Xylobiose (Tabelle 1).

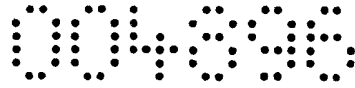
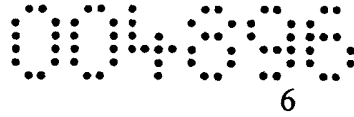


Tabelle 1: Relative Massenanteile der einzelnen, neutralen XOS

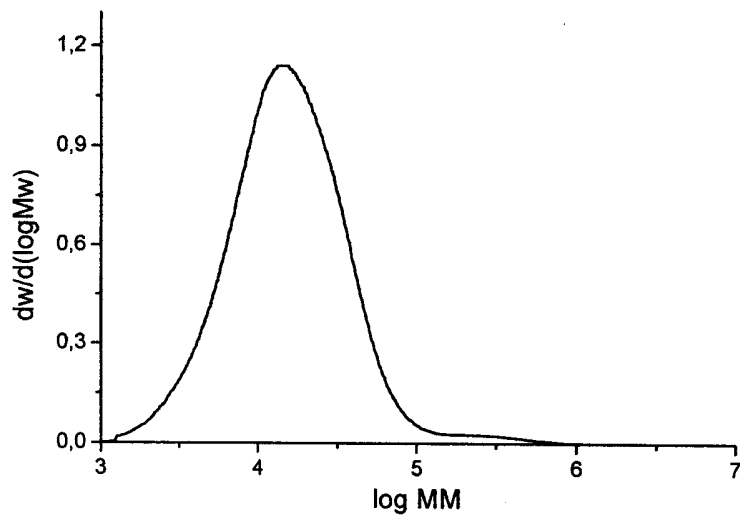
Produkt- verteilung	Hydro- thermal	Enzymatisch	
		XOS ₂₋₁₀	XOS ₂
Gew%			
X1	11,2	0,1	4,7
X2	9,7	13,0	83,1
X3	10,6	21,0	12,2
X4	12,2	16,0	
X5	12,5	11,0	
X6	12,0	7,9	
X7	12,6	7,2	
X8	10,3	7,2	
X9	9,0	6,9	
X10		9,7	
XOS	100,0	100,1	100,0



Ansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von Xylooligosacchariden, umfassend die Schritte
 - Kalt-Alkali-Extraktion (CCE) eines durch ein Kochverfahren gewonnenen Zellstoffes
 - Reinigen zumindest eines Teiles der in der Kalt-Alkali-Extraktionsstufe entstehenden Presslauge mittels eines Membrantrennverfahrens, vorzugsweise einer Nano- oder einer Ultrafiltration
 - Gewinnen der Xylane aus zumindest einem Teil des Retentates des Membrantrennverfahrens
 - Weiterverarbeitung von zumindest einem Teil der gewonnenen Xylane zu Xylo-Oligosacchariden
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zur Herstellung der Xylo-Oligosaccharide ein Verfahren ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydrothermolyse und Enzymatischer Hydrolyse durchgeführt wird.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Membrantrennverfahren zur Reinigung der Presslauge zweistufig durchgeführt wird, wobei zwischen den beiden Trennstufen eine Verdünnung des Retentates der ersten Stufe mit Wasser durchgeführt wird.
4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Xylane aus dem Retentat des Membrantrennverfahrens mittels einer umgekehrten Fällung gewonnen werden.
5. Verfahren gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass zur umgekehrten Fällung ein Agens ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Mineralsäuren, CO₂ und ein- oder mehrwertigen Alkoholen eingesetzt wird.

FIG. 1





Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß IPC ⁸ : C08B 37/14 (2006.01); C07H 3/06 (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß ECLA: C 08 B 37/14 B, C 07 H 3/06.		
Recherchierter Prüfstoﬀ (Klassifikation): C 08 B, C 07 H.		
Konsultierte Online-Datenbank: WPI, EPODOC, DEPATISNET.		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 10. Mai 2006 eingereichten Ansprüchen 1-5 erstellt.		
Kategorie ⁷	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreﬀend Anspruch
X	US 2005/0203 291 A1 (SVENSON et al.) 15. September 2005 (15.09.2005) <i>Seite 1, Kapitel [0011]; Seite 2, Kapitel [0012].</i>	1
	--	
Y	WO 2005/000118 923 A1 (LENZING Aktiengesellschaft) 20. Mai 2005 (20.05.2005) <i>Seite 5, Zeile 14 - Seite 6, Zeile 19.</i>	1,2
	--	
Y	EP 1 325 961 A1 (DANISCO SWEETENERS OY) 9. Juli 2003 (09.07.2003) <i>Zusammenfassung; Seite 6, Zeilen 10-30.</i>	1,2

Datum der Beendigung der Recherche: 23. Jänner 2007		<input type="checkbox"/> Fortsetzung siehe Folgeblatt
		Prüfer(in): Dr. HAUSWIRTH
⁷ Kategorien der angeführten Dokumente: X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung : der Anmeldegegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. Y Veröffentlichung von Bedeutung : der Anmeldegegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist.		
A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert. P Dokument, das von Bedeutung ist (Kategorien X oder Y), jedoch nach dem Prioritätstag der Anmeldung veröffentlicht wurde. E Dokument, das von besonderer Bedeutung ist (Kategorie X), aus dem ein älteres Recht hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). & Veröffentlichung, die Mitglied der selben Patentfamilie ist.		