

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 832900 A7**

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

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 832900

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

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 11.08.1983

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 11.08.1983

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

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

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

14.08.1982 DE P_3230302.5

(71) Hakija - Sökande - Applicant

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

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

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

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

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

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

Mikrobipolysakkaridien eristäminen amiiniaddukteistaan.

Isolering av mikrobiella polysackarider ur deras aminaddukter.

Mikrobipolysakkaridien eristäminen amiiniaddukteistaan

Keksintö koskee menetelmää mikrobipolysakkaridien eristämiseksi amiinien kanssa muodostuvista addukteistaan.

5 Fermentoimalla valmistetuilla solunulkopuolisilla mikrobipolysakkarideilla on erinomaisten ominaisuuksiensa ansiosta teollista käyttöä sakeuttamisaineina, hyytelöimis- tai suspendoimisaineina, suojakolloideina tai vettä sitovina aineina. Valmistusmenetelmästä johtuen
10 nämä tuotteet ovat melko kalliita ja tähän saakka tunnettujen eristämismenetelmien osuus niiden korkeasta hinnasta on huomattava.

US-patenttijulkaisun 3 928 316 mukaan voidaan anioninen heteropolysakkaridi, joka saadaan fermentoimalla bakteerin *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 avulla,
15 eristää hapotetuista, laimeista fermentointiliuoksista primaarisen, pitkäketjuisen amiinin veteen liukenemattomana suolana. Haluttaessa pilkkoa tämä suola voidaan pilkkominen suorittaa kaliumhydroksidin alkoholiliuoksella, jolloin saadaan kaliumsuola, joka tosin vielä sisältää amiinia.
20

Julkistetussa brittiläisessä hakemusjulkaisussa 2 053 945 on kuvattu saman tapainen menetelmä, jossa polysakkaridi saostetaan polyamiinilla. Haluttaessa eristää amiini amiinisuolasta mainitaan tämän tapahtuvan siten, että kuivaa suolaa käsitellään vahvan emäksen liuoksella nesteessä, johon vapaa hapan, polysakkaridi ei liukene, esim. metanolissa.
25

Samana päivänä jätetty hakemusjulkaisu
30 (saksalainen hakemusjulkaisu P 32 30 303 3) koskee menetelmää mikrobipolysakkaridien eristämistä vesiliuoksistaan saostamalla ne happamassa väliaineessa pitkäketjuisen alkyyliamiinin kanssa muodostuvana adduktina, tunnettu siitä, että käytetään amiinia, joka on kaavaa

35
$$\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3$$

jossa R^1 on 10-20 hiiliatomia sisältävä alkyyli ja R^2 ja R^3 ovat samoina tai erilaisina metyyli tai etyyli.

Tunnetut menetelmät amiiniadduktien pilkkomiseksi toimivat osittain melko epätäydellisesti ja niillä saadaan
5 suolapitoisia polymeerejä. Niinpä lisäpuhdistusoperaatiot ovat tarpeen, jotka jo jäteveden puhdistuksen vuoksi ovat työläitä. Adduktien käsittely vahvoilla emäksillä saattaa myös vahingoittaa polymeeriä.

Nyt on keksitty menetelmä mikrobipolysakkaridien
10 eristämiseksi amiiniaddukteistaan käsittelemällä emäksillä aineilla 1-3 hiiliatomia sisältävien yksiarvoisten alkanolien läsnäollessa, tunnettu siitä, että emäksisenä aineena käytetään ammoniakkaa tai helposti haihtuvaa amiinia.

15 Seuraavassa selvennetään keksinnön suositeltavia toteuttamismuotoja:

Lähtöaineina suositeltavia ovat adduktit, jotka saadaan ksantaanista mikrobipolysakkaridina ja primaarista tai tertiäarisestä rasva-alkyyliamiinista (jossa
20 kaksi lyhytketjuista alkyyliähdettä). Näitä addukteja käytetään edullisesti kosteina, esim. puristuskakkuina, jollaisina ne saadaan eristettäessä mikrobipolysakkaridit fermentointiliuoksista. Näin ollen addukteja ei tarvitse kuivata. Kuivaaminen vaatii huomattavia energiamääriä ja
25 lisäksi se saattaa myös huonontaa adduktien liukenemista ja turpoamiskykyä. Vähäiset vesimäärät, jotka kosteiden adduktien käyttö tuo mukana, eivät haittaa keksinnön mukaista menetelmää.

Alkanoleja käytetään edullisesti kaupallisina,
30 teknisinä laatuina. Näiden tuotteiden sisältämät pienet vesimäärät eivät myöskään rajoita keksinnön mukaista menetelmää. Suuremmista vesimääristä on kuitenkin haittaa, koska vapaat mikrobipolysakkaridit ja erityisesti ksantaani liukenevat veteen, mutta eivät liukene alempi-
35 alkanoleihin. Suurehko vesimäärä, yleensä yli 30 % alkanolin painosta laskettuna, voi siis haitata työstöä. Jos

siis systeemiin tulee kostean adduktin tai amiinin mukana liikaa vettä, jonka sallittava yläraja riippuu polysakkaridista, alkoholista ja amiinista, on lisättävä vastaavasti enemmän alkoholia.

5 Käytettäessä emäksisenä aineena ammoniakkia, on eduksi käyttää liuosta, erityisesti kyllästettyä liuosta, alempi-alkanolissa. Koska ammoniakki samoin kuin primaariset ja sekundaariset amiinitkin, joissa on reaktiivisia ryhmiä, erityisesti esteriryhmiä, saattaa reagoida
10 mikrobipolysakkaridien kanssa, on toimittava matalassa tai kohtalaisen korkeassa lämpötilassa. Tällöin välttään myös paineen käytöltä.

Mutta käytettäessä tertiaarisia amiineja ja tertiaarisista amiineista saatuja addukteja voidaan tuotetta
15 vahingoittamatta toimia korkeassakin lämpötilassa. Toisaalta korkeammat lämpötilat lyhentävät prosessin kestoa mutta toisaalta amiinin tai alkoholin kiehumispisteen lähellä olevat lämpötilat edellyttävät monimutkaista laitteistoa. Siksi toimitaan käytännössä siten, että käytettävissä olevan laitteiston lämpötila säädetään sopivaksi. Tämä lämpötila voidaan helposti määrittää yksinkertaisten esikokeiden avulla.

Helposti haihtuvilla amiineilla tarkoitetaan ensisijaisesti amiineja, joiden kiehumispiste normaalipaineessa on alle 150°C . Korkeamman kiehumispisteen omaavat amiinit ovat vähemmän sopivia, koska niiden regenerointi tislamalla on hankalaa. Addukteista vapautuneiden amiinien erottaminen saattaa myös vaikeutua. Niinpä suositeltavia ovat primaariset alkyyliamiinit, joiden alkyylitähteessä
25 on kuuteen saakka hiiliatomeja, sekundaariset amiinit, joiden samanlaisissa tai erilaisissa alkyylitähteissä on neljään saakka hiiliatomeja, sekä tertiaariset amiinit, joiden samanlaisissa tai erilaisissa alkyylitähteissä on kolmeen saakka hiiliatomeja. Erityisen suositeltavia
30 ovat trimetyyliamiini, trietyyliamiini, dimetyylietyyli-

35

amiini ja dietyylimetyyliamiini. Myös näitä amiineja käytetään edullisesti liuoksena valitussa alkoholissa.

Emäksisen aineen valinta vaikuttaa myös tuotteen kemialliseen luonteeseen. Vapautettua polysakkaridia kuivattaessa voidaan ammoniakkin ylimäärä hyvän haihtuvuutensa ansiosta poistaa helposti ja nopeasti. Haluttaessa amiinia sisältämätön tuote, on ammoniakilla etusija. Korkeammalla kiehuvat amiinit ovat siinä tapauksessa suositeltavia, että keksinnön mukainen menetelmä toimii lämpöuuttoprosessina tai tislausprosessina ja ennen kaikkea siinä tapauksessa, että nämä prosessit ovat jakuvatoimisia.

Alkoholin ja amiinin tai ammoniakkin painosuhte voi vaihdella laajoissa rajoissa, mutta on edullisesti alueella n. 1:10 - n. 100:1. Koska jotkut adduktit solvatoituvat voimakkaasti alkoholeissa ja muodostavat geelejä, on sopivaa jo alussa käyttää ammoniakkin tai amiinin riittävän väkeviä alkoholiliuoksia, mikä estää solvatoitumisen. Pilkkoutunut polysakkaridikaan ei solvatoitu tällaisissa liuoksissa ja saostuu helposti erotettavissa olevana sakkana.

Koska toimitaan heterogeenissä systeemissä on sopivaa käyttää laitteistoa, jossa kiintoaineeseen voidaan kohdistaa sekoittava, katkaiseva, vatkaava, leikkaava tai jauhava vaikutus.

Mikrobipolysakkaridit saostuvat helposti eristettävässä muodossa ja kuivaamisen jälkeen ne ovat suureksi osaksi vapaan hapon muodossa. Tuotteille on ominaista edulliset viskositeettiominaisuudet.

Alkoholista, käytetystä amiinista ja pilkotusta amiinista muodostuva nestefaasi on helposti työstettävissä tislamalla. Adduktista pilkottu amiini voidaan välittömästi käyttää uudelleen mikrobipolysakkaridien erottamiseksi fermentointiliuoksistaan. Alkoholin ja helposti haihtuvan amiinin ylitislautuva seos voidaan pa-

lauttaa prosessiin. Sopivan kiehumispisteen omaavan amiinin valinnalla voidaan prosessi tehdä täysin jatkuvatoimiseksi.

Seuraavissa esimerkeissä osat ja prosenttiarvot ovat painon mukaan, jollei muuta ilmoiteta. Tilavuusosat ja paino-osat ovat suhteessa 1:1.

Ensiksi kuvataan ksantaanin ja tertiaarisen rasvaalkyyliamiinin muodostaman adduktin valmistusta, joka ei ole kirjallisuudesta tunnettu (saksalainen hakemusjulkaisu P 32 30 303.3).

Tuotantokantana käytettiin *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459:ää. Esiviljelmän saamiseksi inokuloitiin glukooosi-peptonielatusalustassa oleva agarviljelmä ja fermentoitiin elatusalustassa ravistelukolveissa 30°C:ssa. Tämä viljelmä toimi 10 litran fermenttorin inokulaattina (3 %). Fermenttorin ravintoliuoksessa oli 3-5 % glukosia tai sakkaroosia, 0,15-0,25 % maissin liotusvettä (Cornsteep), 0,1-0,2 % natriumnitraattia, 0,1 % dikaliumfosfaattia ja 0,05 % magnesiumsulfaattihydraattia. Inokuloitua fermenttoria pidettiin 28°C:ssa sekoittaen (400 kierr/min) ja ilmastaen määrällä 10 l/min ilmaa. Noin 36 tunnin kuluttua fermentointiväliaine sisälsi 18-20 g/l ksantaania.

100 g:aan ksantaaniliuosta, jonka polysakkaridipitoisuus oli 1,8 %, sekoitettiin 0,85 g talirasvaalkyyliidimetyyliamiinia (hiiliketjujakauma talirasvaalkyyliitähteessä: n. 5 % C₁₄, 30 % C₁₆, 65 % C₁₈). Kun oli lisätty 2,5 g 2-n etikkahappoa muodostunut dispersio juoksettui ja aluksi muodostui voimakkaasti turvonneita kokkareita, jotka kuitenkin sekoitusta jatkettaessa desolvatoituivat nopeasti. Addukti eristettiin suodattamalla, pestiin deionisoidulla vedellä ja vesi poistettiin puristamalla. Saatiin 6,2 g kosteata puristuskakkaa, joka sisälsi 1,8 g ksantaania ja 0,43 g amiinia.

Esimerkki 1

Veitsipotkurilla varustetussa sekoittimessa hajotettiin 100 osaa kosteata puristuskakkua, joka muodostui talirasva-alkyyliamiinin ja ksantaanin adduktista, jossa
 5 oli 32 % ksantaania, 6000 osan kera metanolia, jossa oli 1,5 % ammoniakkaa. Tällöin lyhyiden kuitujen muodossa vapautunut ksantaani eristettiin suodattamalla ja pestiin metanolilla niin kauan, että poistuva metanoli reagoi neutraalisti. Suodatuskakku kuivattiin ja hienonnettiin.
 10 Ksantaanin saanto oli lähes kvantitatiivinen (31,8 osaa). Tuote oli täysin liukenematon deionisoituun veteen. Metanolipitoisia emäliuoksia voitiin ilman välityöstä käyttää useisiin panoksiin.

Esimerkki 2

15 Toimittiin kuten esimerkissä 1, mutta nyt käytettiin kosteata puristuskakkua, joka muodostui talirasva-alkyylidimetyyliamiinin ja ksantaanin adduktista. Käytännöllisesti katsoen kvantitatiivisesti saatu ksantaani liukeni täysin deionisoituun veteen.

Esimerkki 3

20 10 osaa kosteata puristuskakkua, joka muodostui lauryylidimetyyliamiinin ja ksantaanin adduktista, jossa oli 36 % ksantaania, hajotettiin sekoittimessa 150 osan kera seosta, jossa oli 2 tilavuus-osaa isopropanolia
 25 ja 1 tilavuusosa trietyyliamiinia. Muodostunut suspensio uutettiin jatkuvatoimisesti kuumauuttolaitteessa samalla isopropanolin ja amiinin seoksella. Pilkkominen päättyi noin kolmen tunnin kuluttua. Uutetusta tuotteesta otettu näyte liukeni täysin deionisoituun veteen ja kuivaamisen
 30 jälkeen sillä oli vapaalle ksantaanille tyypillisiä ominaisuuksia.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä mikrobipolysakkaridien eristämiseksi
amiiniaddukteistaan käsittelemällä emäksisillä aineilla
5 yksiarvoisten, 1-3 hiiliatomia sisältävien alkanolien
läsnäollessa, t u n n e t t u siitä, että emäksisenä
aineena käytetään ammoniakkia tai helposti haihtuvaa
amiinia.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,
10 t u n n e t t u siitä, että ammoniakkia tai amiinia käytetään alkanoliliuoksena.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä,
t u n n e t t u siitä, että käytetään amiinia, jonka
kiehumispiste normaalipaineessa on alle 150°C.

15 4. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-3
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että helposti
haihtuvana amiinina käytetään tertiaarista amiinia.

5. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-4
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että alkoholin
20 ja amiinin tai ammoniakin painosuhde on 1:1-100:1.

6. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-5
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että amiini-
adduktia käytetään kostean puristuskakun muodossa.

7. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-6
25 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että mikrobipolysakkaridi on ksantaani.

8. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-7
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että amiini
muodostaa adduktin primaarisen rasva-alkyyliamiinin
30 kanssa.

9. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-7
mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että amiini
muodostaa adduktin tertiaarisen rasva-alkyyliamiinin
kanssa, jossa on kaksi lyhytketjuista alkyyliähdettä.

35 10. Jonkun tai useamman patenttivaatimuksen 1-9

mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että toimitaan ilman painetta lämpötilassa, joka alittaa reaktioseoksen kiehumispisteen.

Patentkrav:

1. Förfarande för isolering av mikrobiella polysackarider ur deras amin-addukter genom behandling med
5 alkaliska medel i närvaro av envärda alkanoler med 1-3 kolatomer, k ä n n e t e c k n a t därav, att som alkaliskt medel insätts ammoniak eller en lättflyktig amin.
2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
10 t e c k n a t därav, att ammoniaken respektive aminen insätts som lösning i alkanolen.
3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att en amin, vilken har en kokpunkt under 150°C vid normaltryck, insätts.
- 15 4. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-3, k ä n n e t e c k n a t därav, att som lättflyktig amin insätts en tertiär amin.
5. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-4, k ä n n e t e c k n a t därav, att vikt-
20 förhållandet alkohol till amin respektive ammoniak uppgår till 1:10 - 1:100.
6. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-5, k ä n n e t e c k n a t därav, att aminaddukten insätts i form av en fuktig presskaka.
- 25 7. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-6, k ä n n e t e c k n a t därav, att den mikrobiella polysackariden är xantan.
8. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-7, k ä n n e t e c k n a t därav, att aminen
30 i addukten är en primär fettalkylamin.
9. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-7, k ä n n e t e c k n a t därav, att aminen i addukten är en tertiär fettalkylamin med två kortkedjade alkylrester.
- 35 10. Förfarande enligt ett eller flera av patentkraven 1-9, k ä n n e t e c k n a t därav, att man arbetar utan tryck vid en temperatur under kokpunkten hos reaktionsblandningen.