



F1000105690B



SUOMI – FINLAND  
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU  
PATENTSKRIFT

(10) FI 105690 B

(45) Patenti myönnetty - Patent beviljats

29.09.2000

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C08B 31/18, C12P 19/04

(21) Patentihakemus - Patentansökning

974138

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

04.11.1997

(24) Alkupaiva - Löpdag

04.11.1997

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig

05.05.1999

(73) Haltija - Innehavare

1 •Valtion teknillinen tutkimuskeskus, Vuorimiehentie 5, 02044 VTT, SUOMI - FINLAND, (FI)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Viikari, Liisa, Lökkikuja 5 F, 00200 Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)  
2 •Niku-Paavola, Marja-Leena, Leenankuja 2 C 22, 02230 Espoo, SUOMI - FINLAND, (FI)  
3 •Buchert, Johanna, Alalinnake 5 A 9, 02160 Espoo, SUOMI - FINLAND, (FI)  
4 •Forssell, Pirkko, Hakolahdentie 19 A, 00200 Helsinki, SUOMI - FINLAND, (FI)  
5 •Teleman, Anita, Lahntie 7 B 7, 02170 Espoo, SUOMI - FINLAND, (FI)  
6 •Kruus, Kristiina, Kaitalahdenranta 7, 02260 Espoo, SUOMI - FINLAND, (FI)

(74) Asiamies - Ombud: Seppo Laine Oy  
Itämerenkatu 3 B, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä hapetetun tärkkelyksen valmistamiseksi  
Förfarande för framställning av oxiderad stärkelse

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

Chemical Abstracts vol. 117 (1992) 587174, Chemical Abstracts vol. 125 (1996) 279042

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee menetelmää hapetetun tärkkelyksen valmistamiseksi. Menetelmässä tärkkelyspitoinen lähtöaine saatetaan kosketuksiin okso-ammonium-ioniä tuottavan reaktantin, etenkin 2,2,6,6-tetrametyylipiperidin-1-oksyylin kanssa hapetusaineen läsnäollessa. Keksinnön mukaan hapetusaineena käytetään oksidatiivista entsyymiä, kuten lakkaasia. Käyttämällä lakkaasia hapettimena saadaan aikaan varsin selektiivinen hapetus samalla kun päästään eroon ympäristön kannalta ongelmalliseksi katsotuista halidi-pitoisista aineista.

Uppfinningen avser ett förfarande för framställning av oxiderad stärkelse. Förfarandet innefattar omsättning av ett stärkelsehaltigt utgångsmaterial med en reaktant som alstrar en oxo-ammonium-jon, i synnerhet 2,2,6,6-tetrametylpiperidin-1-oxyl, i närvaro av ett oxidationsmedel. Enligt uppfinningen används såsom oxidationsmedel ett oxidativt enzym, såsom lackas. Genom användningen av lackas såsom oxidationsmedel ernäs en synnerligen selektiv oxidation samtidigt som det är möjligt att undvika halidhaltiga ämnen vilka anses vara problematiska för miljön.

**Menetelmä hapetetun tärkkelyksen valmistamiseksi**

5 Esillä oleva keksintö koskee patenttivaatimuksen 1 johdannon mukaista menetelmää hapetetun tärkkelyksen valmistamiseksi.

Tällaisen menetelmän mukaan tärkkelyspitoinen substraatti saatetaan kosketuksiin oksoammonium-iona tuottavan reagenssin kanssa hapetusaineen läsnäollessa. Reaktio suoritetaan sopivimmin nestemäisessä väliaineessa ja reaktiotuote erotetaan väliaineesta reaktion  
10 jälkeen, pestään ja kuivatetaan.

Tärkkelys on luonnonpolymeeri, jonka johdannaisia käytetään paperi- ja kartonkiteollisuudessa täyteaineina, liimaukseen ja päällystykseen. Hapetettuja tärkkelysjohdannaisia kuten myös tärkkelyseettereitä ja kationoituja tärkkelyksiä käytetään pinta-liimaukseen paperin  
15 lujuuden ja painatusominaisuuksien parantamiseen sekä päällystykseen sideaineina sitomaan pigmenttihiukkaset toisiinsa ja pohjapaperiin.

20 Tärkkelys hapetetaan teollisesti pääasiallisesti epäorgaanisten hapettimien, kuten natriumhypokloriitin avulla, jolloin tärkkelysdispersion viskositeetti alenee sopivalle tasolle ja osa tärkkelyksen hydroksyyli-ryhmistä hapettuu karbonyyli- ja karboksyyli-ryhmiksi. Primäärisistä hydroksyyli-ryhmistä saadaan hapettamalla uronihapporyhmiä. Karboksyyli-ryhmät lisäävät dispersion viskositeettistabiilisuutta. Hypokloriittihapetukselle on esitetty vaihtoehtoisina menetelminä vetyperoksidin, bromin, perjodaatin, otsonin ja hapen käyttöä, joista vetyperoksidihapetus on lupaavin vaihtoehto (1 - 2).

25 Perinteisiin hapetusmenetelmiin liittyy se ongelma, ettei hapetus ole tarpeeksi spesifinen primäärisille OH-ryhmille. Kemiallisissa hapetuksissa primääristen OH-ryhmien lisäksi hapettuvat aina myös sekundääriset OH-ryhmät jossain määrin. Sekundääristen OH-ryhmien hapettuminen johtaa polymeeriketjun katkeamiseen, depolymeroitumiseen. Tämän  
30 vuoksi tärkkelyksen ja muiden luonnon polysakkaridien hapetukseen on jo kauan etsitty spesifisempiä menetelmiä.

Erittäin selektiivinen TEMPO-johdannainen edustaa kiinnostavaa hapetusvaihtoehtoa.

TEMPO-radikaali voidaan kirjallisuuden mukaan hapettaa hypohaliittien, kuten hypokloriitin ja -bromiitin avulla. Hapetettu TEMPO hapettaa puolestaan erilaisia primäärisiä alkoholiryhmiä karboksyyleiksi.

5

TEMPO-radikaalin (2,2,6,6-tetrametyyli-piperidiini-1-oksyyl) on todettu hapettavan erittäin selektiivisesti hiilihydraattipolymeerien primäärisiä OH-ryhmiä. Varsinaisena hapettimena toimii oksoammonium-ioni (nitrosonium-ioni), joka saadaan hapettamalla TEMPO:a ensin hypohaliittien, kuten hypokloriitin tai -bromiitin avulla. Oksoammonium-ioni hapettaa hiilihydraattien primäärisiä OH-ryhmiä karbonyyleiksi, jotka voidaan edelleen hapettaa karboksyyleiksi.

10

TEMPO:a ja sen johdannaisia on käytetty aikaisemmin hapettaessa alkoholien ja diolien primäärisiä hydroksyyli-ryhmiä aldehydeiksi sekä karboksyyleiksi samoin kuin hapettaessa alifaattisia ja aromaattisia aldehydejä karboksyyleiksi. Tällöin mukana on ollut lisäkatalyyttejä ja reaktio on tapahtunut alkaalisessa kaksifaasisysteemissä (3-5). TEMPO:a on käytetty myös erilaisten polysakkaridien, kuten tärkkelyksen hapettamiseen vesifaasissa (6-9). Tällöin primäärihapettimina on ollut edellä mainittu hypokloriitti ja katalyyttinen määrä natriumbromidia, joiden reagoidessa muodostuu vahvempi hapetin hypobromiitti.

15

20

Menetelmän on todettu olevan erittäin selektiivinen ja tehokas. Välituotteena syntyy hydratoituneita aldehydeja vesiliuoksessa; aldehydit hapettuvat edelleen karboksyyleiksi (7-9).

25

Tunnetun tekniikan epäkohtana on, että hypokloriitti on paitsi kallis myös ympäristölle haitallinen. Tämä aiheuttaa ongelmia teollisuusmittakaavassa toimittaessa.

30

Esillä olevan keksinnön tarkoituksena on poistaa tunnettuun tekniikkaan liittyvät epäkohdat ja saada aikaan aivan uudenlainen menetelmä tärkkelyksen selektiiviseksi hapettamiseksi. Etenkin keksinnön tarkoituksena on saada aikaan uudenlainen ratkaisu tärkkelyspitoisen lähtöaineen hapettamiseksi oksoammonium-ionia tuottavan reaktantin kanssa, kuten TEMPO:n avulla, jolloin reaktantin regeneroivana hapettimena käytetään haliditonta hapetinta.

Keksintö perustuu siihen ajatukseen, että TEMPO hapetetaan hapettavan entsyymin avulla. Sopivia hapettavia entsyymejä ovat fenoloksidaasit, etenkin lakkaasi ja peroksidaasit.

5 Täsmällisemmin sanottuna keksinnön mukaiselle ratkaisulle on pääasiallisesti tunnusomaista se, mikä on esitetty patenttivaatimuksen 1 tunnusmerkkiosassa.

Esillä olevalla keksinnöllä saavutetaan huomattavia etuja. Niinpä ratkaisulla saadaan aikaan varsin selektiivinen hapetus, jolloin hapetettuun tärkkelykseen saadaan syntymään sopivassa suhteessa sekä karboksyyli- että karbonyyliryhmiä. Käyttämällä fenoloksidaasia regeneroivana hapettimena päästään edelleen eroon ympäristön kannalta ongelmalliseksi katsotuista halidi-pitoisista aineista. Lopullisena elektroniakseptorina toimii happi, jolloin samalla vältetään hankalien sivutuotteiden muodostuminen reaktiojärjestelmään, mikä helpottaa tuotteen erotusta ja puhdistusta. Niin ikään käytettäessä hapettavaa entsyymiä, kuten fenoloksidaasia, regeneroivana hapettimena voidaan käyttää mietoja reaktio-olosuh-  
15 teita, kuten neutraalia tai lähes neutraalia pH:ta ja alhaista lämpötilaa.

Keksintöä ryhdytään seuraavassa lähemmin tarkastelemaan yksityiskohtaisen selityksen ja muutaman sovellutusesimerkin avulla. Selityksessä on viitattu oheiseen piirustukseen, jossa on kaaviomaisesti esitetty TEMPO:n reaktiot hapetusjärjestelmässä. Kuviossa 1A on esitetty TEMPO:n hapettuminen kemiallisten hapettimien vaikutuksesta ja kuviossa 1B on annettu vastaava esitys keksinnön mukaisesta ratkaisusta, jossa hapetus saadaan aikaan entsyymillä.  
20

Kuten kuvioista 1A ja 1B käy ilmi, stabiili nitroksyyli-radikaali (kohta 1) hapettuu oksoammoniumioniksi (kohta 2), joka hapettaa alkoholiryhmän ( $RCH_2OH$ ) esim. aldehydiksi ( $RCHO$ ), jolloin oksoammoniumioni samalla pelkistyy hydroksyyliamiiniksi (kohta 3).  
25

Regeneroituvana hapetusaineena käytetään kuvion 1A mukaisesti hypokloriittia ja kuviossa 1B happea. Ensimmäisessä tapauksessa reaktioon tuodaan myös katalyyttinen määrä bromidia, joka hapettuu hypobromiitiksi, joka on voimakkaampi hapetin kuin hypokloriitti.  
30

Peroksidaaseja käytettäessä hapen tilalla voidaan käyttää vetyperoksidia elektroniakseptorina.

Kuten edellä mainittiin, keksinnössä käytetään hapettavia (oksidatiivisia) entsyymejä.

5 Edullisia ovat fenolisten ryhmien hapettumista katalysoivat hapettavat entsyymit. Nämä entsyymit ovat oksidoreduktaaseja, kuten oksidaasit ja peroksidaasit. "Oksidaasit" ovat entsyymejä, jotka katalysoivat hapetusreaktiota käyttämällä molekulaarista happea substraattinaan, kun taas "peroksidaasit" ovat entsyymejä, jotka katalysoivat hapetusreaktioita käyttämällä vetyperoksidia substraattinaan. Fenoloksidaasit (EC 1.10.3.2 bentseenidioli-

10 happi oksidoreduktaasi) katalysoivat o- ja p-substituoitujen fenolisten hydroksyyli-ryhmien ja amino/amiiniryhmien hapettumista monomeerisissä ja polymeerisissä aromaattisissa yhdisteissä.

Spesifisinä esimerkkeinä oksidaaseista voidaan mainita: lakkaasit (EC 1.10.3.2), katekolioksidaasit (EC 1.10.3.1), tyrosinaasit (EC 1.14.18.1) ja bilirubiinioksidaasit (EC 1.3.3.5).

15 Erityisen edullisesti keksinnössä käytetään fenoloksidaaseja, etenkin lakkaaseja. Lakkaaseja voidaan tuottaa valkolahottajasienillä, etenkin *Trametes* (aikaisemmin *Coriolus*-) *versicolor* tai *hirsuta* tai *villosa* -kannoilla. Muita tunnettuja lakkaasia tuottavia mikro-

20 organismeja ovat seuraavien sienien eri kannat: *Agaricus*, *Armillaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Lentinus*, *Monocillium*, *Neurospora*, *Phlebia*, *Polyporus*, *Podospora*, *Pycnoporus* ja *Schizophyllum*.

Keksintö ei kuitenkaan rajoitu näihin entsyymien lähteisiin eikä johonkin tiettyyn eristysmenetelmään, vaan entsyymit voidaan saada muillakin keinoin.

25 Niinpä on mahdollista tuottaa oksidatiiviset entsyymit mikro-organismeilla, jotka on mutatoitu ja geneettisesti rakennettu tuottamaan haluttua entsyymiä, tai niitä tuotetaan muilla isäntäkannoilla, joihin entsyymiä koodaavat geenit on siirretty.

30 Hapettava tärkkelys voi olla mikä tahansa luonnon tärkkelys, jonka amyloosi/amylopektiini-suhde voi olla 1:0...0:1. Esimerkkeinä tyypillisistä tärkkelyslähteistä mainitta-

koon mukula- ja viljakasvit, kuten peruna, vehnä, ohra, kaura, herne, maissi, riisi, sago ja tapioka.

Lakkaasin määrä tärkkelyksen hapetuksessa voi olla noin 1...1000 nkat/g tärkkelystä.

5 Tärkkelyksen pitoisuus voi vaihdella laajalla välillä, se voi esim. olla 5...35 % (v/w).

Hapetus tehdään nestefaasissa, koska TEMPO on veteen liukeneva sopivimmin vedessä, lämpötila-alueella 10...70 °C, mieluummin 20...40 °C sekä pH-alueella 4...9. TEMPO:n määrä on 0,01 - 50 paino-%, edullisesti noin 0,1 - 20 paino-%, tärkkelyksen määrästä.

10 Käytännössä reaktio suoritetaan siten, että valittu määrä TEMPOa (stabiilin nitroksyyli-

radikaalin muodossa) liuotetaan veteen, johon suspendoidaan tärkkelystä. Suspension kuiva-ainepitoisuudeksi asetetaan yleensä noin 0,1 - 20 paino-%. Veteen voidaan lisätä puskuria reaktioväliaineen pH:n asettamiseksi haluttuun, lakkaasikäsittelyn kannalta sopivaan arvoon (yli 4). Lakkaasin lisäyksen jälkeen reaktioseokseen tuodaan happea joko

15 kaasuna tai ilmaa samalla, kun seosta sekoitetaan. Hapentuonti kestää hapetettavan aineksen määrän mukaan yleensä noin 10 min - 24 tuntia. Reaktion jälkeen hapetettu tärkkelys erotetaan suodattamalla nesteestä, pestään ja kuivatetaan.

Peroksidaaseja käytettäessä TEMPO hapetetaan vetyperoksidilla, kuten edellä todettiin.

20

Keksinnön mukaisen hapetuksen seurauksena saadaan tärkkelys, jonka primäärisistä OH-ryhmistä osa on muuttunut karbonyyli- ja karboksyyli-ryhmiksi. Tyypillisesti esillä olevan menetelmän mukaan hapetetussa tärkkelyksessä karbonyyli/karboksyyli-ryhmien suhde on 1...5. Tärkkelyksen moolimassa alenee mahdollisesti hapetuksen seurauksena, mutta on yleensä vielä yli 300.000 g/mol, esim. ainakin 400.000 g/mol.

25

Hapetettua tärkkelystä voidaan sellaisenaan käyttää mm. paperinvalmistuksen lisäaineena, paperikoneen märässä päässä tai päällystysaineena. Koska karbonyyli-ryhmien ansiosta tärkkelyksestä saadaan reaktiivinen (karbonyyli-ryhmien ansiosta), tuotetta voidaan myös jatkohapettaa, ja karbonyyli-ryhmiä voidaan edelleen modifioida.

30

Seuraavat ei-rajoittavat esimerkit valaisevat keksintöä.

**Esimerkki 1 (vertailuesimerkki)****Kemiallinen hapetus**

5 TEMPO:n katalysoima hapetus tehtiin seuraavasti:

TEMPO 0.3 g liuotettiin 3000 ml vettä, suspendoitiin liuokseen 30 g tärkkelystä, lisättiin 12 g NaBr. Reaktioseosta termostoititiin 0 °C:seen. Valmistettiin toinen liuos , jossa oli 345 ml 8 %:sta hypokloriittia; pH säädettiin 3 M suolahapolla arvoon 10,8 ja liuos termostoi-  
10 tiin 0 °C:seen. Liuos lisättiin kerralla tärkkelystä sisältävään liuokseen ja inkuboitiin 2 h. Inkuboinnin aikana tarkistettiin liuoksen pH ja säädettiin tarpeen mukaan takaisin arvoon 10 -11 käyttämällä 0.5 M NaOH:a . Reaktio pysäytettiin lisäämällä 60 ml 96 %:sta etanolia ja säätämällä tämän jälkeen suspension pH 7:ksi. Tärkkelys erotettiin ja pestiin 1000 ml vettä ja kuivattiin huoneenlämmössä.

15

**Esimerkki 2****Tärkkelyksen lakkaasi-TEMPO-hapetus**

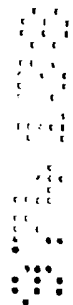
Natiivia perunatärkkelystä hapetettiin käyttämällä TEMPO:a välittäjäaineena ja lakkaasi-  
20 entsyymiä hapettajana.

Entsyymi : *Trametes hirsuta* D 443 -sieni lakkaasi, kasvuliuoskonsentraatti. Aktiivisuus määritettiin käyttämällä ABTS-substraattia (10).

35 g natiivista perunatärkkelyksestä tehtiin 5 %:n suspensio 0,1 M NaAc puskuriin, jonka pH-arvo oli 5,0. TEMPO (3,5 g) liuotettiin puskuriin, lisättiin tärkkelys ja suspendoitiin tämä nestefaasiin, minkä jälkeen lisättiin lakkaasi (annos 200 nkat/g tärkkelystä). Reaktiota hapetettiin happivirtauksella 3 h huoneenlämmössä ja sekoitettiin samanaikaisesti magneettisekoittajalla. Tärkkelys poistettiin suodattamalla ja pestiin 1000 ml vettä. Pesun  
30 jälkeen tärkkelys kuivattiin huoneenlämmössä.

**Esimerkki 3****Hapetettujen tärkkelysten ominaisuudet**

- 5 Karboksyyli- ja karbonyyliryhmiä muodostui tärkkelykseen sekä kemiallisella hapetuksella että lakkaasi-TEMPO-hapetuksella (määrittäminen ref. 11:n mukaan). Tulokset on ilmoitettu alla esitettävässä taulukossa:



Faint table content, likely containing experimental results or data points related to the oxidation of starch.



**Taulukko. Hapetettujen tärkkelysten ominaisuudet**

Tärkkelys	COOH/100 glukoosi -yksikköä	CHO/100 glukoosi -yksikköä
natiivi perunatärkkelys	0,47-0,52	0
5 kemiallinen TEMPO hapetus	1,07-10,3	2,86-11,0
Lakkaasi-TEMPO hapetus	1,02	2,99

10 Hapetetun (sekä kemiallisesti että lakkaasi-TEMPOlla hapetetun) tärkkelyksen molekyyli-  
painot olivat hieman alhaisemmat kuin natiivin perunatärkkelyksen.

15 Hapetettujen tärkkelysten **geelitysominaisuudet mitattiin** Bohlin VOR reometrilla  
(oskillointimenetelmä). Näytteitä jäähdytettiin 90 °C:sta 20 °C:seen nopeudella 1 °C/min.  
Mittaukset tehtiin 15 % tärkkelysliuoksista. Lakkaasi-TEMPO ja kaupallinen hapetettu  
tärkkelys (hypokloriitti-hapetettu) eivät geelityneet mittausolosuhteissa.

**Esimerkki 4**

20 Tärkkelystä hapetettiin eri lakkaasi- ja TEMPO-annoksilla. Hapetettujen tärkkelysten  
ominaisuudet (molekyylipainojakauma, geelitysominaisuudet ja rakenne) mitattiin  
esimerkin 3 mukaisesti. Havaittiin, että vaihtelemalla TEMPO- ja lakkaasiannosta, voidaan  
tärkkelyksen modifiointiastetta muuttaa ja siten myös geelitymis- ja molekyyli-  
ominaisuudet muuttuvat.

**Kirjallisuus**

1. Forssell, P., Hamunen, A., Autio, K., Suortti, T. & Poutanen, K. *Starch* 47, 371-377 (1995).

5

2. Parovuori, P., Hamunen, A., Forssell, P., Autio, K. & Poutanen, K. *Starch* 47, 19-23 (1995).

3. Anelli, P.L., Biffi, C., Montanari, F. & Quici, S. *J. Org. Chem.* 52, 2559 (1987)

10

4. Anelli, P.L., Banfi, S., Montanari, F. & Quici, S. *J. Org. Chem.*, 54, 2970 (1989)

5. Kabalka, G.W., Chatla, N., Wadgaonkar, P.P. & Deshpande, S.M. *Synth. Comm.*, 20.1617 (1990).

15

6. deNooy, A.E.J., Besemer, A.C. & van Bekkum, H. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 113, 165-166 (1994).

7. de Nooy, A.E.J., Besemer, A.C. & van Bekkum, H. *Carbohydrate Res.* 269, 89-98 (1995).

20

8. Besemer, A.C. & de Nooy, A.E.J. PCT WO 95/07303.

9. Chang, P.S. & Robyt, J.F. *J. Carboh. Chem.*, 15, 819-830 (1996).

25

10. Niku-Paavola, M.-L., E. Karhunen, P. Salola, and V. Raunio. *Biochem. J.* 254, 877-884 (1988).

11. Smith, R. J. in *Starch: Chemistry and Technology*, Eds. R.L. Whistler & E.F. Paschall, Vol II, Academic Press, Inc., New York 1967, pp.620-625.

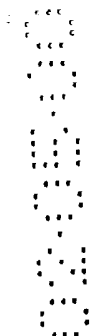
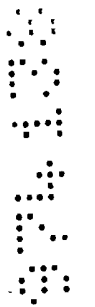
**Patenttivaatimukset:**

1. Menetelmä hapetetun tärkkelyksen valmistamiseksi, jonka menetelmän mukaan tärkkelyspitoinen lähtöaine saatetaan kosketuksiin okso-ammonium-ionia tuottavan reaktantin kanssa tätä reaktanttia hapettavan hapetusaineen läsnäollessa, t u n n e t t u  
5 siitä, että hapetusaineena käytetään oksidatiivista entsyymiä.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että oksidatiivisena entsyyminä käytetään fenoloksidaasia.
- 10 3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että reaktio suoritetaan nestemäisessä väliaineessa ja reaktiotuote erotetaan väliaineesta reaktion jälkeen ja saatetaan jatkokäsittelyyn sen puhdistamiseksi.
- 15 4. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että oksoammonium-ionia tuottavana reaktanttina käytetään 2,2,6,6-tetrametyylipiperidiini-1-oksyyliä (TEMPO:a) ja tämän kanssa reagoivana hapettimena lakkaasia.
- 20 5. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että fenoloksidaasina käytetään *Trametes*-, *Agaricus*-, *Armillaria*-, *Aspergillus*-, *Botrytis*-, *Fusarium*-, *Lentinus*-, *Monocillium*-, *Neurospora*-, *Phlebia*-, *Polyporus*-, *Podospora*-, *Pycnoporus*- tai *Schizophyllum*-suvun lakkaasia.
- 25 6. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että oksoammonium-ionia tuottavana reaktanttina käytetään 2,2,6,6-tetrametyylipiperidiini-1-oksyyliä (TEMPO:a) ja tämän kanssa reagoivan regeneroivana hapettimena peroksidaasia.
- 30 7. Jonkin patenttivaatimuksen 1 - 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että tärkkelystä hapetetaan aldehydi- ja karboksyyli-ryhmien muodostamiseksi erityisesti primääriseen OH-ryhmään.
8. Tärkkelyksen modifiointi entsyymaattisesti hapetetulla TEMPO:lla.

9. Patenttivaatimuksen 8 mukainen modifiointi, t u n n e t t u siitä, että TEMPO on hapetettu lakkaasin avulla.

5 10. Patenttivaatimuksen 8 mukainen modifiointi, t u n n e t t u siitä, että TEMPO on hapetettu peroksidaasin avulla.

11. Sellaisten modifioitujen tärkkelysten käyttö paperinvalmistuksen lisäaineena, paperikoneen märässä päässä tai päällystysaineena, jotka on käsitelty entsyymaattisesti hapetetulla TEMPO:lla.



**Patentkrav:**

1. Förfarande för framställning av oxiderad stärkelse, enligt vilket förfarande ett stärkelsehaltigt utgångsmaterial bringas i kontakt med en reaktant som producerar en oxoammonium-jon i närvaro av ett oxidationsmedel som oxiderar sagda reaktant, k ä n n e t e c k n a t av att såsom oxidationsmedel används ett oxidativt enzym.  
5
2. Förfarande enligt krav 1, k ä n n e t e c k n a t av att såsom oxidativt enzym används fenoloxidas.  
10
3. Förfarande enligt krav 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t av att reaktionen utförs i ett vätskeformigt medium och reaktionsprodukten avskiljs från mediet efter reaktionen och utsätts därefter för fortsatt behandling för rening därav.
- 15 4. Förfarande enligt något av föregående krav 1 - 3, k ä n n e t e c k n a t av att såsom den reaktant som producerar en oxoammonium-jon används 2,2,6,6-tetrametylpiperidin-1-oxyl (TEMPO) och såsom det oxidationsmedel som reagerar med denna används lackas.
- 20 5. Förfarande enligt något av kraven 1 - 4, k ä n n e t e c k n a t av att såsom fenoloxidas används lackas av släktet *Trametes*, *Agaricus*, *Armillaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Lentinus*, *Monocillium*, *Neurospora*, *Phlebia*, *Polyporus*, *Podospora*, *Pycnoporus* eller *Schizophyllum*.
- 25 6. Förfarande enligt krav 1 - 3, k ä n n e t e c k n a t av att såsom den reaktant som producerar en oxoammonium-jon används 2,2,6,6-tetrametylpiperidin-1-oxyl (TEMPO) och såsom det oxidationsmedel som reagerar med denna används en peroxidas.
- 30 7. Förfarande enligt något av kraven 1 - 6, k ä n n e t e c k n a t av att stärkelsen oxideras för bildning av aldehyd- och karboxylgrupper i synnerhet i den primära OH-gruppen.
8. Modifiering av stärkelse med enzymatiskt oxiderad TEMPO.

9. Modifiering enligt krav 8, k ä n n e t e c k n a d av att TEMPO är oxiderad med lackas.

10. Modifiering enligt krav 8, k ä n n e t e c k n a d av att TEMPO är oxiderad med peroxidas.

5

11. Användningen av stärkelse som är behandlad med enzymatiskt modifierad TEMPO såsom tillsatsmedel vid pappersframställning, i våtpartiet av en pappersmaskin eller såsom bestrykningsämne.

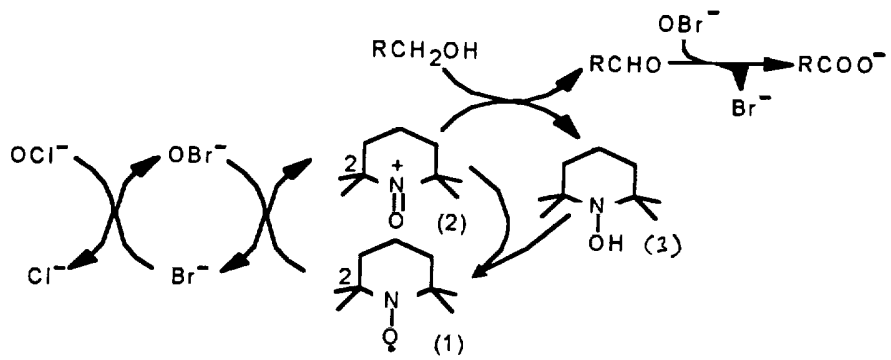


Fig. 1A

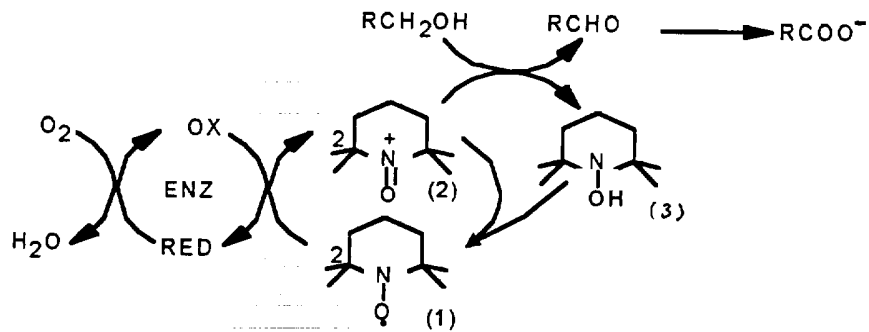


Fig. 1B