

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

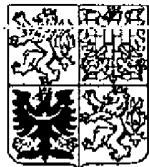
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1009-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLového
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **03. 04. 97**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 10. 98**
(Věstník č. 10/98)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 C 45/78
B 01 D 61/42

(71) Přihlášovatel:

LACHEMA, A. S., Brno, CZ;

(72) Původce:

Smrž Miloslav RNDr. CSc., Brno, CZ;

Kabát Jaroslav ing., Brno, CZ;

Suchánková Simona RNDr., Brno, CZ;

Gross Igor ing., Brno, CZ;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob přípravy a výroby dihydroxyacetonu

(57) Anotace:

Po skončené blokonverzi glycerinu na dihydroxyaceton se oddělí buňky mikroorganismu a získaný roztok obsahující dihydroaceton se odsolí pomocí elektrodialýzy. odsolení lze provádět jak samotnou elektrodialýzou nebo lze s výhodou elektrodialýzu kombinovat s použitím měničů iontů, zejména silně kyselého katexu v H⁺ cyklu.

CZ 1009-97 A3

Způsob přípravy a výroby dihydroxyacetonu

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu výroby dihydroxyacetonu.

Dosavadní stav

Dihydroxyaceton se nejčastěji vyrábí biotransformací (biologickou oxidací) glycerinu pomocí mikrobiálních buněk *Gluconobacter oxydans*. Přitom se postupuje tak, že se v médiu obsahujícím glycerin a další látky potřebné pro růst mikroorganismů napěstuje dostatečné množství buněk mikroorganismu, které obsahují enzymy katalyzující selektivní biologickou oxidaci glycerinu. Po skončení biotransformace se získá vodný roztok dihydroxyacetonu, který vedle žádané látky obsahuje zbytky dalších složek média, jako jsou soli, aminokyseliny, bílkoviny apod. Tyto látky brání krystalizaci a znečišťují produkt. Je proto třeba je z média odstranit. Nejstarší postupy jejich odstranění byly založeny na opakované extrakci nebo srážení dihydroxyacetonu organickými rozpouštědly.

První použitelný způsob izolace dihydroxyacetonu byl vypracován Neubergem a Hofmannem [Biochem. Z. 279, 318, (1935)]. Filtrát po separaci mikrobiálních buněk byl odpařen za sníženého tlaku na sirup. Ten byl extrahován ethanolem, zfiltrovaný extrakt byl znovu odpařen, sirupovitý zbytek extrahován acetonem a extrakt odpařen na sirup, který při stání v exikátoru ztuhl na krystalický produkt. S určitými modifikacemi byl postup využíván ještě v 50. letech. Zlepšení přineslo použití acetonu k extrakci již v prvním stupni resp. krystalizace surového dihydroxyacetonu z ethanolu při sníženém pH a poměrně nízké teplotě [E.D. Jermolajev, Pat. SSSR 694533, (1979)]. V poslední době byl k izolaci dihydroxyacetonu úspěšně použit izopropanol [M.Kawabe, jap. pat. (Japan Kokai Tokkyo Koho) 01, 203, 349 (89, 203, 349), (1989)].

Všechny zmíněné postupy byly velmi pracné a výsledek krystalizace byl nejistý, protože produkt mohl stále ještě obsahovat nečistoty bránící krystalizaci dihydroxyacetonu. Proto bylo se střídavými úspěchy zkoušeno jejich odstranění sorpcí na aktivním uhlí, bentonitu, popř. jejich vysrážení polyakrylamidem [V.A. Janson, Masložirnaja promyšlenost', 1978, (3), 41; Chem. Abstr., 88, 30578, (1978)]. Jako vhodné sorbenty pro odstranění nežádoucích příměsí se ukázaly měniče iontů, na nichž bylo možné roztok surového dihydroxyacetonu současně odsolit i zbavit aminokyselin a dalších ionizovatelných látek bránících krystalizaci nebo zbarvujících produkt. Postup deionizace fermentačního média obsahujícího surový dihydroxyaceton na měničích iontů byl poprvé popsán českými autory [J.Liebster a kol., Chem. listy, 50, 395, (1956)]. Po průchodu média kolonami se silně kyselým katexem a slabě bazickým anexem byl získán roztok, který byl zahuštěn na sirup, z něhož po přidání methanolu vykrystaloval dihydroxyaceton. Podle podobného postupu se místo středně bazického anexu používá silně bazický anex v citrátovém cyklu [N.V. Pomorceva

kol., pat.SSSR 427050,(1974)]. Deionizaci v tomto případě předchází snížení kyselosti směsi rozmícháním s uhličitanem barnatým. Využití ionexů přineslo zjednodušení postupu izolace dihydroxyacetonu. Vzhledem k limitované kapacitě ionexů je však v průmyslovém měřítku třeba pracovat s velkými kolonami naplněnými desítkami a stovkami kg ionexů, což přináší vysoké náklady výroby. Odsolení je poměrně zdlouhavé a ionexy je třeba pracně regenerovat poměrně koncentrovanými a tedy i silně žravými roztoky kyselin a zásad, což má nepříznivé dopady na bezpečnost práce a životní prostředí.

Podstata vynálezu

Tyto a některé další nevýhody použití ionexů v kolonách k odsolení dihydroxyacetonu odstraňuje postup podle vynálezu, který je založen na využití principu elektrodialýzy. Zařízení pro elektrodialýzu je tvořeno vanou s elektrodami. Prostor mezi elektrodami je oddělen několika membránami z iontoměničových vlastností - střídavě anexovou a katexovou membránou, přičemž blíže k anodě je vždy anexová a ke katodě katexová membrána. Do prostorů mezi katexovou a anexovou membránou je zaveden zasolený roztok dihydroxyacetonu. Po zapnutí proudu putují kationty přes katexovou membránu směrem ke katodě, anionty směrem k anodě. Pokud se jim postaví do cesty membrána se stejným nábojem (kationtům anexová a aniontům katexová membrána), jejich pohyb se tím zastaví. Při vhodné konstrukci zařízení se tak v určitém prostoru hromadí soli, zatímco v ostatních prostorách odsolený roztok. Princip elektrodialýzy a procesu elektrodialýzy je schématicky znázorněn na obrázku 1.

Využití elektrodialýzy umožňuje rychlé, jednoduché a spolehlivé odsolení fermentačních médií obsahujících surový dihydroxyaceton. Efekt je podobný jako při použití iontoměničů v kolonách, odpadá však spotřeba velkého množství regeneračních roztoků a proces odsolení se významně zrychluje. Při elektrodialýze probíhá odsolení až do rovnovážného stavu. Chceme-li dosáhnout dokonalého odsolení je třeba tuto rovnováhu porušovat, což může být spojeno s určitými ztrátami. Zrychlení a zlepšení výsledku odsolení lze proto dosáhnout při kombinaci elektrodialýzy s použitím ionexů v kolonách. V tomto případě se výchozí roztok rychle částečně odsolí na určitou předem experimentálně určenou hodnotu solnosti a pak aplikuje na soustavu malých kolon s katexem a anexem. Ze soustavy kolon pak vytéká dokonale odsolený roztok dihydroxyacetonu. K regeneraci malých kolon je třeba relativně malé množství regeneračních roztoků.

Zkoušky kombinovaného postupu přitom ukázaly, že k tomu, aby byl částečně odsolený roztok zbaven všech látek narušujících krystalizaci a/nebo ovlivňujících čistotu finálního produktu, není třeba použít kombinace katexu a anexu, ale stačí, aby byl roztok rezultující po neúplné elektrodialýze prolit pouze přes kolonu se silně kyselým katexem, která odstraní všechny zbytkové kationoidní látky.

Příklady provedení vynálezu

Příklad č.1

Po ukončení laboratorní fermentace, kde proběhla biokonverze 10% glycerinu na dihydroxyaceton pomocí buněk mikroorganismu *Gluconobacter oxidans*, byla z roztoku o objemu 10l odstředěna biomasa na laboratorní kyvetové odstředivce. Do supernatantu obsahujícího dihydroxyacetonu bylo přidáno 6,2g aktivního uhlí, roztok byl míchán po dobu 2hodin a zfiltrován pomocí vakua přes filtrační papír. Následovala ultrafiltrace přes membránu s limitní propustností ("cut off") 10 000 daltonů. Ultrafiltrovaný roztok byl postupně rozdělen na dvě části a každá odsolena pomocí laboratorního elektrodialyzéru ED-0 Mega Stráž pod Ralskem. Konečná vodivost roztoku po odsolení činila 0,01mS/cm. Doba odsolení každého podílu byla asi 3,5 hodiny. Roztok byl dále zahuštěn na laboratorní vakuové odparce. Po krystalizaci v prostředí ethanolu byly vzniklé krystaly dihydroxyacetonu odseparovány a vysušeny. Byl získán čistý bílý dihydroxyaceton s obsahem účinné látky 99,2%. Výtěžek krystalizace činil 66,7% vztaženo na obsah dihydroxyacetonu v zahušťovaném roztoku.

Příklad č.2

Roztok dihydroxyacetonu získaný po biokonverzi glycerinu byl zpracován stejně jako v příkladu 1, s tím rozdílem, že odsolení bylo prováděno tak, aby konečná vodivost činila 0,1mS/cm (2 hodiny pro každý podíl po 5l). Oba podíly byly spojeny a odsoleny na iontoměničové koloně naplněné 400g katexu Ostion KS v H^+ cyklu. Vodivost roztoku po průchodu kolonou byla 0,012 mS/cm. Roztok byl dále zahuštěn na laboratorní vakuové odparce. Po krystalizaci v prostředí ethanolu byly vzniklé krystaly dihydroxyacetonu odseparovány a vysušeny.

Byl získán čistý bílý dihydroxyaceton s obsahem účinné látky 99,3%. Výtěžek krystalizace činil 66,4% vztaženo na obsah dihydroxyacetonu v zahušťovaném roztoku.

Příklad č.3

Po ukončení provozní fermentace, kde proběhla biokonverze glycerinu na dihydroxyaceton, byla z roztoku o objemu 6220l odstředěna biomasa. Roztok byl míchán s aktivním uhlím (poměr aktivního uhlí k celkovému objemu roztoku dihydroxyacetonu byl shodný s příklady č.1 a č.2), zfiltrován a následně ultrafiltrován. Roztok byl odsolen v dávkách 4 x 1555l pomocí provozního elektrodialyzéru ED-II Mega Stráž pod Ralskem na vodivost 0,09mS/cm. Doba odsolení každého podílu vodného roztoku dihydroxyacetonu činila 9 hodin. Pak byly odsolené roztoky postupně prolity iontoměničovou kolonou s 270kg katexu Ostion KS v H^+ cyklu. Vodivost roztoku po průchodu kolonou byla 0,03mS/cm. Následovalo zahuštění na vakuové odparce na sirup. Po krystalizaci v prostředí ethanolu byly vzniklé krystaly dihydroxyacetonu odseparovány na rotační bubnové odstředivce a vysušeny ve vakuové sušárně.

Získaný čistý bílý dihydroxyaceton obsahoval 99,2% účinné látky. Výtěžek krystalizace činil 65,8% vztaženo na obsah dihydroxyacetonu v zahušťovaném roztoku.

Průmyslová využitelnost

Dihydroxyaceton se široce používá v kosmetickém průmyslu k přípravě samoopalovacích krémů. Mechanismus účinku spočívá v reakci monomerního dihydroxyacetonu s aminokyselinami a volnými aminoskupinami bílkovin v pokožce za vzniku hnědě zbarvených produktů. Při použití kosmetických formulací obsahujících 2-5% dihydroxyacetonu dochází ke stálému zhnědnutí pokožky po cca 2hodinách. Vzniklé zbarvení je stejně stálé jako opálení na slunci.

Další využití má dihydroxyacetonu např. jako antioxidační přísada v kosmetickém a potravinářském průmyslu. Díky své vysoké reaktivitě je dihydroxyaceton důležitým meziproduktem pro řadu chemických syntéz zejména při výrobě léčiv (kardiovaskulární léky, cytostatika, rtg kontrastní látky).

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob výroby dihydroxyacetonu biologickou oxidací glycerinu buňkami *Gluconobacter oxydans* vyznačený tím, že při izolaci produktu z média po oddělení buněk se roztok obsahující dihydroxyaceton odsolí pomocí elektrodialýzy.

2. Způsob podle ^{odrobu} bodu 1 vyznačený tím, že se při odsolení roztoku obsahujícího dihydroxyaceton kombinuje elektrodialýza s použitím měničů iontů.

3. Způsob podle ^{roztoku} bodu 1 a 2 vyznačený tím, že se jako měnič iontů použije silně kyselý katex v H^+ cyklu.