



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

209 974

(11)

(B1)

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 03 03 80
(21) PV 1424-80

(51) Int. Cl.³ C 07 H 7/02

(40) Zverejnené 31 03 81
(45) Vydané 31 08 82

(75)

Autor vynálezu HEINRICHOVÁ KVETA ing. CSc., BRATISLAVA

(54) Spôsob výroby kyseliny digalakturónovej enzýmovou hydrolýzou

Vynález sa týka spôsobu prípravy kyseliny digalakturónovej enzýmovou hydrolýzou.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa na zmes oligogalakturónových kyselín pôsobí enzýmom endo-D-galakturonázou pri teplote 30 až 40 °C, pH 4,2 až 5, pričom kyseliny galakturónové sa oddelí chromatograficky a efluent sa odparí alebo vysuší mrazovou sublimáciou.

Význam vynálezu spočíva v tom, že kyselina digalakturónová je dôležitá látka z hľadiska teoretického štúdia enzýmov a pektínových látok a pre charakterizáciu v priemysle používaných pektolytických enzýmov.

Vynález sa týka spôsobu prípravy kyseliny digalakturónovej enzýmovou hydrolýzou.

Kyselina digalakturónová sa doteraz priemyselne nevyrába. Bola pripravená v niekoľkých laboratóriách cestou chemickej hydrolýzy (Hatanaka C., Ozawa J. J. Agr. Chem. Soc. Japan Vol. 40 str. 98 (1966); Rexová-Benková L., Chem. Zvesti 24 (1970) str. 59; van Honden-hoven F., Wittp D., Visser J. Carbohydr. Res. 34 str. 233 (1974)). Všetky popísané postupy sú viacstupňové a značne sa odlišujú heterogenitou získaného produktu. Spoločným rysom týchto postupov je, že vedú k malým výťažkom kyseliny digalakturónovej popri vysokom výťažku vyšších oligogalakturónových kyselín. Získanie kyseliny digalakturónovej v čistom stave zo zmesi oligogalakturónových kyselín má mnohé nevýhody ako je pracnosť, časová náročnosť a viacstupňové izolácie.

Tieto nedostatky odstraňuje spôsob výroby kyseliny digalakturónovej enzýmovou hydrolýzou, ktorého podstata spočíva v tom, že sa na zmes oligogalakturónových kyselín pôsobí enzýmom endo-D-galakturonanázou pri teplote 30 až 40 °C a pH 4,2 až 5, pričom kyselina digalakturónová sa oddelí chromatograficky na kolóne a efluent sa odparí alebo vysuší mrazovou sublimáciou.

Výhodou tohto postupu je, že endo-D-galakturonáza sa nemusí izolovať v čistom stave. Na enzýmovú hydrolýzu sa môže použiť endo-D-galakturonáza z komerčných preparátov pektolytických enzýmov (Pectinase, Rohament, Pectinex, Ultra, Pekticín, Leozym a i.) bežne používaných v konzervárskom priemysle. Jedinou požiadavkou na použitý enzýmový preparát je nízky obsah exo-D-galakturonázy. Ďalšou veľkou prednosťou uvedeného spôsobu je, že hydrolýza prebieha formou jednostupňovej reakcie a pre priebeh reakcie nie je potrebný ďalší substrát alebo koenzým.

Kyselina digalakturónová je látka dôležitá z hľadiska teoretického štúdia enzýmov a pektínových látok a pre charakterizáciu v priemysle používaných pektolytických enzýmov.

Príklad 1

500 mg oligogalakturónových kyselín sa za miešania rozpustí v 70 ml octanového tlmivého roztoku (pH = 4,6) a 20 mg enzýmového preparátu (Leozym, endo-D-galakturonáza) sa rozpustí v 30 ml octanového tlmivého roztoku. Po prefiltrovaní roztoku enzýmu sa obidva roztoky spoja. Enzýmová hydrolýza prebieha pri 40 °C za miešania alebo trepania 10 až 12 hodín. Enzýmom katalyzovaná reakcia po kontrole chromatografiou sa ukončí 20 minútovým varom. Po ochladení sa roztok prefiltruje a zahusťí vákuovým odparovaním pri 40 °C. 2,5 ml zahusteného hydrolyzátu sa naniesie na stípec molekulového sita (Sephadex G-10) a efluent s kyselinou digalakturónovou sa odparí, alebo vysuší mrazovou sublimáciou.

Výťažok kyseliny digalakturónovej je až 80 %.

Príklad 2

Postupovalo sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že enzýmový preparát (8 mg Rohament) rozpustil v octanovom tlmivom roztoku o pH 4,8 a enzýmová hydrolýza prebiehala pri teplote 30 °C počas 4 až 6 hodín. Výťažok kyseliny digalakturónovej bol až 70 %.

Význam vynálezu spočíva v použití kyseliny digalakturónovej na testovanie rôznych

209 974

enzymatických preparátov používaných v konzervárskom, kožiarskom a textilnom priemysle.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob výroby kyseliny digalakturónovej enzýmovou hydrolýzou vyznačujúci sa tým, že sa na zmes oligogalakturónových kyselín pôsobí enzýmom endo-D-galakturonázou pri teplote 30 až 40 °C a pH 4,2 až 5, pričom kyselina digalakturónová sa oddelí chromatograficky na kolóne a efluent sa odparí alebo vysuší mrazovou sublimáciou.