



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

216 646

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 30 04 81
(21) PV 3233-81

(51) Int. Cl.³

C 13 K 13/00

(40) Zveřejněno 31 12 81
(45) Vydáno 01 09 84

(75)

Autor vynálezu

BÁRTA MIROSLAV dr.,
KUCERA JIRÍ ing. CSc.,
VOJTÍŠEK VLADIMÍR dr. CSc.,
ČULÍK KAREL dr., PRAHA

(54) Způsob výroby glukózy, případně dalších produktů její enzymové přeměny

Reakční směs, tvořená vodným roztokem nebo suspenzí látky obsahující glukozové jednotky vázané navzájem alfa-1,4-a /nebo alfa - 1,6 - glukozidickou vazbou, zejména škrobu, o hmotnostní koncentraci 10 až 40 % se uvádí při teplotě 30 až 60 °C a pH 4,0 až 6,5 ve styk s nerozpustným enzymovým preparátem obsahujícím v hmotnostní koncentraci 10 až 25 % amyloglukozidázy, 15 až 30 % glutardialdehydu, 15 až 30 % flokulátoru a 25 až 50 % buněk mikroorganismů, které jsou enzymově inaktivní nebo nesou další enzymovou aktivitu.

Vynález se týká způsobu výroby glukózy, případně dalších produktů její enzymové přeměny.

Je známo, že se výroba glukózy provádí ze škrobu jako výchozí suroviny, který se hydrolyzuje za pomoci tekutého enzymu amyloglukozidázy. Amyloglukozidáza katalyzuje hydrolyzu škrobu, tj. amylózy a amylopektinu, glykogenu, dextrinu a glukoligosacharidů tak, že jsou od neredukujícího konce odštěpovány glukózové jednotky a substrát je tak téměř kvantitativně převeden na glukózu. Enzym hydrolyzuje alfa -1,4-, alfa- 1,6- i alfa -1,3- glukozidickou vazbu rychlostí klesající v uvedeném pořadí. Rychlost hydrolyzy rovněž klesá s klesající molekulovou hmotností substrátu. V praxi se postupuje tak, že se škrob před vlastní hydrolyzou pomocí amyloglukozidázy obvykle částečně ztekutí kyselinou nebo alfa-amylázou, aby se snížila jeho viskozita, zvětšila stabilita a zvýšil se počet neredukujících konců. Hydrolyzát, který se získá následným působením tekuté amyloglukozidázy na substrát, obsahuje nejméně 95 % teoretického množství glukózy. Používá se buď přímo jako zdroj glukózy nebo se působením dalšího enzymu-glukózoimerázy- převádí na fruktózový sirup s vyšší sladivostí, obsahující směs glukózy a fruktózy. Rovněž se může převést pomocí glukózooxidázy a katalázy na kyselinu glukonovou nebo další enzymy na jiné produkty.

Výroba glukózy pomocí rozpustné amyloglukozidázy se obvykle uskutečňuje šaržovitě v míchaném reaktoru při koncentraci škrobu okolo 30 % o teplotě 60 °C. I když dosud známá technologie umožňuje dosažení vysoké konverze škrobu na glukózu, nelze při diskontinuálním postupu rozpustný enzym opakovaně použít. Způsob rovněž nedovoluje takovou kontinuálizaci procesu, která by znamenala jeho výraznou racionalizaci. Je znám způsob, při němž se pro výrobu glukózy ze škrobu používá amyloglukozidázy vázané inkluzí do polyakrylátového gelu, který se provádí kontinuálně. Ani tento způsob však pro nízkou aktivitu a stabilitu imobilizovaného enzymu neumožňuje hospodárné provedení.

Uvedené nedostatky odstraňuje způsob výroby glukózy, případně dalších produktů její enzymové přeměny, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se reakční směs, tvořená vodným roztokem nebo suspenzí látky obsahující glukózové jednotky vázané navzájem alfa -1,4- a/nebo alfa -1,6- glukozidickou vazbou, zejména škrobu, o hmotnostní koncentraci 10 až 40 % uvádí při teplotě 30 až 60 °C a pH 4,0 až 6,5 ve styk s nerozpustným enzymovým preparátem obsahujícím v hmotnostní koncentraci 10 až 25 % amyloglukozidázy, 15 až 30 % glutardialdehydu, 15 až 30 % flokulátoru, např. polyetyléniminu a 25 až 50 % buněk mikroorganismů. Buňky mikroorganismů mohou být enzymově inaktivní, avšak mohou též nést další enzymovou aktivitu. Styk reakční směsi s nerozpustným enzymovým preparátem může být s výhodou prováděn kontinuálně buď za míchání, nebo ve fluidním uspořádání systému, nebo průtokem reakční směsi přes pevné lože tvořené směsí nerozpustného enzymového preparátu s pomocnou filtrační látkou v hmotnostním poměru 1 ku 5 až 10. Výhodné je rovněž provedení způsobu, při němž nerozpustný enzymový preparát obsahuje buňky mikroorganismů nesoucí glukózooxidázovou a katalázovou aktivitu a reakční systém je provzduš-

ňován.

Způsob umožňuje hospodárnou kontinuální výrobu glukózy, a to v libovolném typu reaktoru, tj. míchaném vsádkovém i průtokovém s pevným ložem, Vzhledem k vysoké aktivitě a stabilitě amyloglukozidázy vázané v nerozpustném enzymovém preparátu dochází k účinné konverzi škrobu o běžné koncentraci používané při dosud známém způsobu za dobu podstatně kratší. Při tom se neprojevuje pokles výtěžnosti v důsledku transglykosylačních reakcí. Další výhodou je, že v jednom reakčním stupni lze podle požadavku vyrobit buď pouze glukózu, použije-li se nerozpustný enzymový preparát obsahující inaktivní buňky mikroorganismů, nebo směs glukózy a fruktózy, použije-li se preparát obsahující buňky nesoucí glukózoisomerázovou aktivitu, nebo i kyselinu glukónovou, nesou-li buňky glukózooxidázovou a katalázovou aktivitu, případně i další produkty enzymové přeměny glukózy.

Jestliže se způsob podle vynálezu uskutečňuje průtokem reakční směsi kolonou naplněnou částicemi nerozpustného enzymového preparátu, nedovoluje tvar částic tohoto preparátu dostatečně rychlý průtok substrátu, který by byl přiměřený k vysoké aktivitě vázaného enzymu. Je proto nutné částice nerozpustného enzymového preparátu smísit s pomocnou filtrační látkou, jako je např. křemelina, která průtok usnadňuje a zároveň snižuje množství enzymu v objemové jednotce kolony.

Příklad 1

97 mg nerozpustného enzymového preparátu v hmotnostním složení 15 % amyloglukozidázy, 25 % glutardialdehydu, 25 % Polyetyléniminu SEDIPUR CL-903 a 35 % mycelia *Penicillium chrysogenum*, který se získal ve formě částic sesítěním amyloglukozidázy spolu s ostatními složkami glutardialdehydem, se ponechá 24 hod. bobtnat ve vodě. Aktivita amyloglukozidázy v tomto preparátu je 420 EU/g. Po nabobtnání se preparát smíchá s 1000 mg křemeliny a vzniklá směs se naplní do sloupce kolony o průměru 1,5 sm. Poté se sloupcem nechá protékat při teplotě 50 °C a pH 4,5 roztok škrobu o hmotnostní koncentraci 30 %. Na výtoku kolony se odebírá roztok obsahující 92 % glukózy v sušině. Během 10 dnů nepřetržitého provozu nebyl pozorován pokles konverze.

Příklad 2

2 g nerozpustného enzymového preparátu podle příkladu 1, který místo mycelia *Penicillium chrysogenum* obsahuje stejné množství negativního mycelia *Aspergillus niger*, nesoucího glukóзовou aktivitu v hodnotě 300 EU/g a katalázovou aktivitu v hodnotě 30 EU/g, se smíchá při teplotě 45 °C ve 100 ml vodného roztoku obsahujícího 10 g ztekuceného škrobu. Současně se reakční směs probublává vzduchem. V průběhu reakce se upravuje hodnota pH na 5,5 dávkováním 5 N NaOH. Po 12 hodinách, kdy ustane pokles pH, odpovídá spotřeba hydroxidu sodného přeměně 95 % škrobu na kyselinu glukónovou.

Příklad 3

16,8 g nerozpustného enzymového preparátu podle příkladu 1, který místo mycelia *Penicillium chrysogenum* obsahuje nativní mycelium *Streptomyces olivochromogenus* s glukózoizomerázovou aktivitou o hodnotě 64 EU/g, se umístí do kolony a spodním průtokem se vede vodný roztok obsahující 30 % ztekuceného škrobu rychlostí 13 ml/min., pH 6,5 a teplotě 55 °C. Roztok odebraný z kolony obsahuje 45 % fruktózy a 50 % glukózy. Po 10 dnech nepřetržitého provozu nebyla pozorována změna konverze.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Způsob výroby glukózy, případně dalších produktů její enzymové přeměny, vyznačující se tím, že se reakční směs, tvořená vodným roztokem nebo suspenzí látky obsahující glukózové jednotky vázané navzájem alfa -1,4- a/nebo alfa -1,6- glukozidickou vazbou, zejména škrobu, o hmotnostní koncentraci 10 až 40 %, uvádí při teplotě 30 až 60 °C a pH 4,0 až 6,5 ve styk s nerozpustným enzymovým preparátem obsahujícím v hmotnostní koncentraci 10 až 25 % amyloglukozidázy, 15 až 30 % glutardialdehydu, 15 až 30 % flokulátoru, např. polyetyléniminu a 25 až 50 % buněk mikroorganismů.
2. Způsob výroby podle bodu 1, vyznačující se tím, že buňky mikroorganismů obsažené v nerozpustném enzymovém preparátu jsou enzymově inaktivní.
3. Způsob výroby podle bodu 1, vyznačující se tím, že buňky mikroorganismů obsažené v nerozpustném enzymovém preparátu nesou další enzymovou aktivitu.
4. Způsob výroby podle bodu 1 až 3, vyznačující se tím, že styk reakční směsi s nerozpustným enzymovým preparátem se provádí kontinuálně za míchání.
5. Způsob výroby podle bodu 1 až 3, vyznačující se tím, že styk reakční směsi s nerozpustným enzymovým preparátem se provádí kontinuálně ve fluidním uspořádání systému.
6. Způsob výroby podle bodu 1 až 3, vyznačující se tím, že styk reakční směsi s nerozpustným enzymovým preparátem se provádí kontinuálně průtokem reakční směsi přes pevné lože tvořené směsí nerozpustného enzymového preparátu s pomocnou filtrační látkou v hmotnostním poměru 1 ku 5 až 15.
7. Způsob výroby podle bodu 1, 3 a 5, vyznačující se tím, že buňky mikroorganismů nesou glukózooxidázovou a katalázovou aktivitu, přičemž styk reakční směsi s nerozpustným enzymovým preparátem se uskutečňuje za současného provzdušňování systému.