

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2000-2307**
(22) Přihlášeno: **18.12.1998**
(30) Právo přednosti: **20.12.1997 US 08/995457**
27.10.1998 US 60/105874
(40) Zveřejněno: **13.12.2000**
(Věstník č. 12/2000)
(47) Uděleno: **02.02.2011**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **16.03.2011**
(Věstník č. 11/2011)
(86) PCT číslo: **PCT/US1998/027119**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 1999/032613**

(11) Číslo dokumentu:

302 332

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:
C12N 9/98 (2006.01)
C11D 3/386 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

WO 97/12958; WO 94/04665; EP 0272923; WO 97/23606; EP 1037968.

(73) Majitel patentu:

GENENCOR INTERNATIONAL, INC., Palo Alto, CA,
US

(72) Původce:

Becker Nathaniel T., Burlingame, CA, US
Christensen Robert I. Jr., Pinole, CA, US
Green Thomas S., Montara, CA, US

(74) Zástupce:

JUDr. Zdeňka Korejzová, Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

Vrstvená granule s jedinou základní částicí

(57) Anotace:

Podstatu řešení tvoří vrstvená granule s jedinou základní částicí, v níž vrstvy granule obsahují a) proteinovou matici, uloženou na základní částici, kde matrice je tvořena směsí proteinu a kombinace cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, s polysacharidovým strukturním činidlem a b) bariérovou vrstvu na proteinové matici nebo vrstvu povlaku. Proteinem je výhodně enzym.

CZ 302332 B6

Vrstvená granule s jedinou základní částicí

Oblast techniky

5

Vynález se týká granulí s jedinou základní částicí s proteinovou maticí a bariérovou vrstvou.

Dosavadní stav techniky

10

Bílkoviny, např. důležité z farmaceutického hlediska, jako hormony nebo důležité z průmyslového hlediska, jako enzymy jsou stále častěji využívány. Enzymy jsou používány v řadě průmyslových odvětví, např. při výrobě škrobu, v mlékárenském průmyslu a při výrobě pracích prostředků a smácedel. Je dobře známo, že při výrobě pracích prostředků dochází v poslední době k širokému použití enzymů, zvláště proteolytických enzymů, čímž vznikají vážné hygienické problémy pro pracovníky v uvedených oborech, zejména vzniká zdravotní riziko, spojené s prachem s obsahem používaných enzymů.

20

Vzhledem k zařazení enzymů do pracích prostředků došlo také k vývoji granulátů a povlakových materiálů pro tyto enzymy.

US 4 106 991 popisuje zlepšený granulát s obsahem enzymů, obsahující jemně rozptýlená celulózová vlákna v množství 2 až 40 % hmotnostních, vztaženo na celkovou hmotnost prostředku. Mimo to se v tomto patentovém spisu popisují voskovité látky pro povlékání částic granulátu.

25

V US 4 689 297 se popisují částice s obsahem enzymů, které jsou tvořeny ve vodě dispergovatelným jádrem s nejdelším rozměrem 150 až 2000 mikrometrů a s vrstvou enzymu kolem tohoto jádra.

30

Vrstva enzymu tvoří 10 až 35 % hmotnostních hmotností jádra. Mimo to obsahuje částice makromolekulární ve vodě rozpustný nebo dispergovatelný povlak, tvořící film a rovnoměrně obklopující vrstvu enzymu, přičemž kombinace enzymu a materiálu povlaku tvoří 25 až 55 % hmotnostních jádra. Materiál jádra obsahuje hlinku, krystalky cukru ve vrstvě kukuřičného škrobu, který je opatřen vrstvou dextrinu, bramborového škrobu, částicové soli, citrátu sodného, krystalizovaných vloček chloridu sodného, bentonitu apod., kromě bentonitu může granulát obsahovat kaolin a infusoriovou hlinku. Materiálem pro tvorbu filmu může být ester mastné kyseliny, alkoxylovaný alkohol, polyvinylalkohol nebo ethoxylovaný alkyfenol.

35

US 4 740 469 popisuje granulární prostředek s obsahem enzymu, obsahující 1 až 35 % hmotnostních enzymu a 0,5 až 30 % hmotnostních syntetického vláknitého materiálu se střední délkou vláken 100 až 500 mikrometrů a jemností v rozmezí 0,05 až 0,7 denier, zbytek tvoří plnivo. Granulární prostředek může dále obsahovat roztavený voskovitý materiál, např. polyethylenglykol a popř. barvivo, jako oxid titaničitý.

40

45

V US 5 324 649 se popisuje granulát s obsahem enzymu s jádrem, vrstvou enzymu a vnější povlakovou vrstvou. Enzymatická vrstva a popř. jádro a vnější povlaková vrstva obsahují vinylový polymer.

50

V mezinárodní patentové přihlášce WO 91/09 941 se popisuje prostředek s obsahem enzymu, v němž alespoň 50 % účinného enzymu je přítomno ve formě krystalků. Výhodnou formou tohoto prostředku je granulát.

55

V další mezinárodní patentové přihlášce WO 97/12 958 se popisuje mikrogranulární enzymatický prostředek. Granulát se vytváří shlukováním ve vířivé vrstvě a je tvořen granulemi, opatřenými povlakem enzymu a spojenými pomocí pojiva.

Dva známé postupy pro výrobu granulovaných enzymů ve vířivé vrstvě zahrnují shlukování ve vířivé vrstvě a povlékání postřikováním ve vířivé vrstvě. Při shlukování se postupuje tak, že se na jemně práškový nosič postříkuje jeden nebo větší počet enzymů a pojivo, čímž dochází ke zvětšení částic shlukováním jemných částic nosiče. V těchto aglomerátech spojuje pojivo a enzym částice nosiče na granulát nepravidelného rozměru i tvaru. Při povlékání ve vířivé vrstvě je možno nanášet jako vrstvu na stejnoměrné částice jádra, popř. spolu s pojivem.

Bylo by žádoucí získat granuláty s obsahem enzymu se zlepšenou stálostí, zejména v případě pracích prostředků s bělicím účinkem, používaných při vysoké vlhkosti a vyšší teplotě. Běžné granuláty, připravené povlékáním ve vířivé vrstvě obsahují enzym v poměrně tenké vrstvě v blízkosti povrchu částic. Tato geometrie částic způsobuje, že enzym může být z granulátu uvolněn v průběhu přepravy a zacházení v koncentrované vrstvě, čímž se zvyšuje pravděpodobnost vzniku aerosolu s obsahem enzymu v pracovním prostředí. Při tomto uspořádání je také enzym přístupnější pro vodu nebo inaktivující látky.

Bylo by však stále zapotřebí získat granuláty s obsahem enzymu s nízkou prašností a s dalšími příznivými vlastnostmi. Dalšími příznivými vlastnostmi v případě granulátu s obsahem enzymů by byly malý zbytek při použití granulátu, zejména malé zbytky na tkaninách a jiných materiálech a dále zlepšená stálost v průběhu skladování, např. v případě prostředků s obsahem peroxysloučenin, např. perboritanu sodného nebo peruhličitanu sodného. Dosažení těchto vlastností současně je zvláště obtížné zejména proto, že prostředky s řízeným uvolněním účinných látek a s nízkou prašností obsahují často vláknitou celulózu nebo kaolin, takže nezbytně po sobě zanechávají nerozpustné zbytky.

Bylo by např. zapotřebí mít k dispozici prací prostředky ve formě granulátu, který by současně byl neprašný, stálý při skladování a jeho výroba by měla být snadná při řízené velikosti částic. Granuláty s řízenou velikostí částic jsou žádoucí z toho důvodu, že jsou dobře sypné, snadno se s nimi zachází a snadno se přidávají do pracích prostředků, přičemž po smísení nemají sklon k vylučování. Řízený průměr částic, jejich rovnoměrný tvar a úzká distribuce velikosti částic jsou důležitými faktory pro dosažení nízké prašnosti.

Vynález si klade za úkol navrhnout vysoce rozpustný enzymatický granulát se zvýšenou stálostí, zvláště v pracích prostředcích s obsahem bělicích látek. Granulát by měl mít nízkou prašnost.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří vrstvená granule s jedinou základní částicí, v níž vrstvy granule obsahují

a) proteinovou matici, uloženou na základní částici, kde matrice je tvořena směsí proteinu a kombinace cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a polysacharidového strukturačního činidla a

b) bariérovou vrstvu na proteinové matici nebo vrstvu povlaku.

Vynález se dále týká granulátu, jehož částice obsahují proteinové jádro s proteinovou maticí, tvořící vrstvu na základu částice. Proteinová matrice obsahuje protein, smísený se směsí cukru nebo alkoholu cukru a strukturačního činidla. Proteinové jádro může být uzavřeno do bariérové vrstvy nebo může bariérový materiál tvořit součást proteinového jádra. Na základ částice, proteinovou matici a/nebo bariérovou vrstvu je také možno nanášet povlak. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

Vynález se rovněž týká granulí, obsahujících enzymatické jádro, zahrnující enzymatickou matici. Enzymatická matrice je tvořena enzymem, smíseným se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Enzymatické jádro může být opatřeno bariérovou vrst-

vou nebo může bariérový materiál tvořit součást enzymatického jádra. Je také možno na základ částice, enzymatickou matici a/nebo bariérovou vrstvu uložit povlak. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

5 Vynález se rovněž týká granulátu, obsahujícího enzymatické matici, uloženou jako vrstva na základu částice. Enzymatická matrice je tvořena enzymem, smíseným se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru a strukturačního činidla. Enzymatické jádro může být opatřeno bariérovou vrstvou nebo může být bariérový materiál částí enzymatického jádra. Je také možno uložit na základ částice, enzymatickou matici a/nebo bariérovou vrstvu povlak. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

Vynález se rovněž týká způsobu výroby svrchu uvedených typů granulátů, který spočívá v tom, že se vytvoří základ částice a tento základ se opatří povlakem proteinové matrice, tvořené proteinem, smíseným se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Bílkovinné jádro může být opatřeno bariérovou vrstvou nebo mohou být popř. základ částice, bílkovinná matrice a/nebo bariérová vrstva opatřeny povlakem.

Vynález se rovněž týká způsobu výroby svrchu uvedených granulátů, při němž se vytvoří homogenní jádro proteinové matrice, obsahující protein, smísený se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Na proteinové jádro může být uložena bariérová vrstva nebo může bariérový materiál tvořit součást proteinového jádra. Základ částice, proteinová matrice a/nebo bariérová vrstva mohou rovněž být opatřeny povlakem.

Vynález bude dále popsán v souvislosti s některými výhodnými provedeními vynálezu.

25 V jednom z provedení vynálezu se vynález týká granule, tvořené proteinovým jádrem s obsahem proteinové matrice. Proteinová matrice zahrnuje protein, smísený se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Enzymatické jádro může být opatřeno bariérovou vrstvou nebo může být bariérový materiál obsažen v enzymatickém jádru. Základ částice může rovněž být opatřen povlakem, stejně jako enzymatická matrice a/nebo bariérová vrstva. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

35 Podle dalšího provedení se vynález týká granulátu, tvořeného proteinovým jádrem, obsahujícím proteinovou matici, uloženou na základu částice. Tato proteinová matrice je tvořena proteinem, smíseným se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Základ částice, enzymatická matrice a/nebo bariérová vrstva může být opatřen povlakem. Bariérová vrstva může být uložena na enzymatické jádro nebo může bariérový materiál tvořit součást enzymatického jádra. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

40 Podle dalšího provedení se vynález týká granulátu, jehož částice jsou tvořeny enzymatickým jádrem, obsahujícím enzymatickou matici. Enzymatická matrice je tvořena enzymem, smíseným se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Enzymatické jádro může být opatřeno bariérovou vrstvou nebo může bariérový materiál tvořit součást enzymatického jádra. Základ částice, enzymatická matrice a/nebo bariérová vrstva mohou být opatřeny povlakem. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

45 Podle dalšího provedení vynálezu je granulát tvořen enzymatickým jádrem, obsahujícím enzymatickou matici, nanesenou jako vrstvu na základ částice. Enzymatická matrice je tvořena enzymem, smíseným se směsí cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a strukturačního činidla. Enzymatické jádro může být opatřeno bariérovou vrstvou nebo může bariérový materiál tvořit součást enzymatického jádra. Základ částice, enzymatická matrice a/nebo bariérová vrstva mohou být opatřeny povlakem. Strukturačním činidlem je s výhodou polysacharid nebo polypeptid.

Pod pojmem „proteinové jádro“ nebo „enzymatické jádro“ se rozumí proteinová matrice, např. enzymatická matrice. Tato matrice může být homogenní v celém jádru nebo může být uložena na základ částice. Mezi základem částice a maticí nebo mezi maticí a bariérovou vrstvou může být uložena jedna nebo větší počet dalších vrstev, může např. jít o povlak, tvořený např. polyvinyl-alkoholem PVA.

Základ částice je tvořen inertními částicemi, na něž je možno ukládat jako vrstvu enzymatickou maticí. Základ částice může být tvořen anorganickými solemi, cukry, alkoholy, odvozenými od cukrů, malými organickými molekulami, jako organickými kyselinami nebo jejich solemi, minerálními látkami, jako hlinkami nebo křemičitany nebo kombinací dvou nebo většího počtu uvedených složek. Vhodnými rozpustnými složkami pro tyto částice mohou být chlorid sodný, chlorid draselný, síran amonný, síran sodný, uhličitan sodný, močovina, kyselina citronová, citráty, sorbitol, mannitol, oleáty, sacharóza, laktóza a podobně. Rozpustné složky je možno mísit s dispergovatelnými složkami, jako jsou mastek, kaolin nebo bentonit. Základ částic může být připraven řadou granulacních postupů, např. krystalizací, srážením, povlékáním na pánvi nebo ve vířivé vrstvě, shlukováním ve vířivé vrstvě, vytlačováním, sferonizací, granulací v bubnu nebo shlukováním za vysokého stříhového namáhání. V případě granulátu podle vynálezu je poměr základů částic k celému granulátu obvykle 1:1.

Proteinová matrice nebo enzymatická matrice jsou tvořeny směsí jednoho nebo většího počtu proteinu. Směs obsahuje např. enzym, cukr nebo alkohol, odvozený od cukru a strukturní činidlo. Bílkovina, cukr nebo alkohol, odvozený od cukru a strukturní činidlo je možno mísit např. v roztoku nebo v suspenzi. Protein může být použit ve formě roztoku nebo suspenze, může jít např. o suspenzi krystalků nebo vysrážení proteinu. Uvedená matrice tvoří přibližně 20 až 80 % hmotnostních celého granulátu.

Při uložení proteinu v maticí je možno protein lépe chránit před ztrátami účinnosti a před otěrem. Dříve však nebylo možné zpracovat enzymy na maticí spolu s cukrem nebo alkoholem, odvozeným od cukru, vzhledem k tomu, že cukry a alkoholy se obvykle chovají jako pojiva, tzn. že mají tendenci spojovat jednotlivé částice.

K dosažení nízké prašnosti granulovaných výrobků s obsahem proteinu je zapotřebí řídit tvar i distribuci velikosti částic granulátu. Reprodukovatelné rozměry a tvary částic granulátu také přispívají ke stálosti granulátu vzhledem k tomu, že při rozdrčení částic a opětovnému shlukování těchto částic by mohlo docházet k vynesení proteinu do blízkosti povrchu částic.

Bylo neočekávaně zjištěno, že při použití strukturního činidla typu polysacharidu nebo polypeptidu při výrobě matrice s obsahem cukru je možno protein rovnoměrně nanášet na základ částic s vysokou rychlostí, aniž by došlo ke shlukování nebo naopak k otěru částic. Přitom je možno přesně řídit distribuci velikosti vznikajících částic na základě velikosti základů částic a množství ukládaných pevných materiálů. Je tak možno připravit částice s přibližně kulovitým tvarem, velkou soudržností a odolností proti otěru a proti průniku látek, vyvolávajících inaktivaci proteinu.

Vhodnými cukry jsou například sacharóza, glukóza, fruktóza, rafinóza, trehalóza, laktóza nebo maltóza. Vhodnými alkoholy, odvozenými od cukrů jsou například sorbitol, mannitol a inositol. Množství cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru v maticí je s výhodou 0,1 až 90 % hmotnostních, vztaženo na proteinovou maticí. Cukr nebo alkohol, odvozený od cukru, v maticí je možno k proteinu přidat nebo může procházet z fermentačního prostředí, v němž se protein nachází.

Strukturním činidlem může být polysacharid nebo polypeptid. Tato skupina sloučenin má žádoucí vlastnosti, pokud jde o vysokou molekulovou hmotnost a vysokou rozpustnost ve vodě. Aniž by bylo zapotřebí se vázat na jakékoliv teoretické vysvětlení, je pravděpodobné, že vysoká

molekulová hmotnost strukturačního činidla přispívá ke dvěma důležitým vlastnostem, které by jinak matrice s obsahem cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru neměla:

(1) zvyšuje se soudržnost částice a současně se snižuje prašnost a

(2) vytváří se polymerní síť ve struktuře matrice, čímž vzniká bariéra pro průnik vody a malých molekul. Oběma způsoby dochází ke zlepšení stálosti granulátu.

Zvolená strukturační činidla, polysacharidy a polypeptidy mají také vlastnosti, které brání slepování částic a dovolují tvorbu vrstev matrice, např. ve vířivé vrstvě vysokou rychlostí, aniž by současně docházelo k aglomeraci částic.

Cukry, alkoholy, odvozené od cukrů, a strukturační činidlo mají vysokou rozpustnost ve vodě nebo jsou ve vodě dispergovatelné. Je možno snadno připravit matrici, obsahující cukry nebo alkoholy, odvozené od cukrů, strukturační činidla a enzymy ve formě roztoku nebo suspenze s vysokou celkovou koncentrací pevného podílu, je např. možno dosáhnout koncentrace pevného podílu 20 až 50 % hmotnostních nebo ještě vyšší. Tyto koncentrované směsi jsou vysoce žádoucí vzhledem k tomu, že mohou být zpracovány na granuláty s minimálním odpařováním vody, což je výhodou při jakékoliv granulaci s následným sušením.

Výhodná strukturační činidla zahrnují škrob, modifikovaný škrob, karagenan, celulózu, modifikovanou celulózu, arabskou, guarovou, akaciovou nebo xanthanovou gumu, gumu ze svatojánské chleba, chitosan, želatinu, kolagen, kasein, kyselinu polyasparagovou a polyglutamovou. Strukturační látkou je s výhodou látka, která nevyvolává alergie. V granulích podle vynálezu je také možno použít kombinaci dvou nebo většího počtu strukturačních činidel.

Proteiny, které je možno využít pro účely vynálezu, zahrnují farmaceuticky využitelné proteiny, např. hormony nebo jiné proteiny, využitelné k léčebným účelům, z průmyslově důležitých proteinů jde zejména o enzymy.

Pro účely vynálezu je možno využít jakýkoliv enzym nebo kombinaci enzymů. Výhodnými enzymy jsou zejména ty enzymy, které mohou hydrolyzovat různé substráty, vytvářející skvrny. Tyto enzymy jsou označovány jako hydrolázy a zahrnují např. proteázy, bakteriálního nebo houbového původu, které mohou být kyselé, neutrální nebo alkalické, amylázy, alfa nebo beta, lipázy, celulózy a směsi těchto enzymů. Zvláště výhodnými enzymy jsou subtilisiny a celulózy. Velmi výhodné jsou subtilisiny, popsané např. v US 4 760 025, EP 130 756 a v mezinárodní patentové přihlášce WO 91/06 637, a také celulózy, jako běžně dodávané enzymy Multifet L250[®] a Puradax[®] (Genencor International). Dalšími enzymy, které je možno pro účely vynálezu použít, jsou např. oxidázy, transferázy, dehydratázy, reduktázy, hemicelulózy a isomerázy.

Matrice granulátu podle vynálezu může být dále tvořena jedním nebo větším počtem syntetických polymerů nebo dalších známých pomocných látek. Vhodnými syntetickými polymery mohou být polyethylenoxid, polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, polyethylenglykol a směs polyethylenoxidu a polypropylenoxidu.

Matrice může dále obsahovat změkčovadla a antiaglomerační činidla. Vhodnými změkčovadly jsou např. polyoly jako glycerol, propylenglykol, polyethylenglykol PEG, močovina nebo další známá změkčovadla, jako triethylcitrát, dibutyl- nebo dimethylftalát nebo také voda. Vhodnými látkami pro zábranu shlukování jsou jemně práškové nerozpustné nebo nesnadno rozpustné materiály, jako mastek, oxid titaničitý, hlinky, amorfni oxid křemičitý, stearan hořečnatý, kyselina stearová a uhličitán vápenatý.

Granule podle vynálezu mohou dále obsahovat bariérovou vrstvu. Tato bariérová vrstva se užívá ke zpomalení nebo zábraně difuze látek, které by mohly nepříznivě ovlivnit protein nebo enzym v matrici. Bariérová vrstva je vyrobena z bariérového materiálu, a může být nanášena jako povlak proteinového jádra nebo může být bariérový materiál obsažen přímo v proteinovém jádru. Vhod-

nými bariérovými materiály jsou např. anorganické soli nebo organické kyseliny nebo jejich soli. Takové matrice bez proteinu může být použita jako bariérová vrstva.

Granule podle vynálezu mohou obsahovat jednu nebo větší počet vrstev povlaku. Takovou povlakovou vrstvou může např. být jedna nebo větší počet mezivrstev typu povlaku nebo může jít o vnější povlak nebo o kombinaci těchto povlaků. Vrstvy povlaku mohou mít celou řadu funkcí v závislosti na konečném použití granulátu s obsahem enzymu. Povlak může např. zajistit odolnost enzymu proti oxidaci bělicími prostředky, může zajistit žádoucí rychlost rozpouštění po smísení granulátu s vodným prostředím, nebo může vytvářet bariéru proti vlhkosti okolního prostředí a tak zvyšovat skladovatelnost enzymů a snižovat možnost růstu mikroorganismů v granulátu.

Vhodnými povlaky jsou také ve vodě rozpustné nebo ve vodě dispergovatelné polymery, vytvářející povlaky, jako polyvinylalkohol PVA, polyvinylpyrrolidon PVP, deriváty celulózy, jako methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, hydroxycelulóza, ethylcelulóza, karboxymethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, polyethylenglykol, polyethylenoxid, arabská nebo xanthanová guma, karagenan, chitosan, polymery typu latexu a enterosolventní povlaky. Mimo to je možno činidla pro výrobu povlaků použít v souvislosti s jinými účinnými látkami těže nebo odlišné kategorie.

Vhodné polyvinylalkoholy pro zařazení do povlakové vrstvy granulátu zahrnují částečně hydrolyzované, plně hydrolyzované a jen v některých částech hydrolyzované PVA s nízkými nebo vysokými hodnotami viskozity. S výhodou je zevní vrstva povlaku tvořena částečně hydrolyzovaným PVA s nízkou viskozitou. Dalšími použitelnými vinylovými polymery mohou být polyvinylacetát a polyvinylpyrrolidon. Použitelnými kopolymery jsou např. kopolymer PVA a methylmethakrylátu a kopolymer PVP a PVA.

Povlaková vrstva podle vynálezu může dále obsahovat jednu nebo větší počet následujících pomocných látek: změkčovadla, látky, zvětšující objem, kluzné látky, pigmenty a popř. další enzymy. Vhodnými změkčovadly mohou být polyoly, jako cukry, alkoholy, odvozené od cukrů, nebo polyethylenglykoly PEG, močovina, glykol, propylenglykol nebo jiná známá změkčovadla, jako triethylcitrát, dibutyl- nebo dimethylftalát nebo voda. Vhodnými pigmenty mohou být např. jemné práškové bílé pigmenty, jako oxid titaničitý nebo uhličitán vápenatý, nebo může jít o barevné pigmenty a barviva nebo o kombinaci těchto látek. S výhodou zanechávají takové pigmenty po rozpuštění co nejmenší zbytky. Vhodnými látkami pro zvětšení objemu jsou cukry, jako sacharóza nebo hydrolyzáty škrobu, jako maltodextrin nebo pevný podíl kukuřičného sirupu, dále hlinky, jako kaolin a bentonin nebo mastek. Vhodnými kluznými látkami mohou být neiontová smáčedla, jako Neodol, alkoholy z loje, mastné kyseliny a také soli mastných kyselin, jako stearan hořečnatý nebo estery mastných kyselin.

Ke granulátu podle vynálezu mohou být přidány ještě přídatné složky, jako kovové soli, pomocná rozpouštědla, aktivátory, antioxidační činidla, barviva, inhibitory, pojiva, vonné látky, sloučeniny pro ochranu enzymu, jako síran amonný, citrát amonný, močovina, guanidin hydrochlorid, guanidin karbonát, guanidin sulfamát, dioxid thiomočoviny, monoethanolamin, diethanolamin, triethanolamin, aminokyseliny, jako glycin, glutamát sodný a podobně, bílkoviny, jako hovězí sérový albumin, kasein a podobně, smáčedla včetně aniontových smáčedel, amfolytických smáčedel, neiontových smáčedel, kationtových smáčedel a solí mastných kyselin s dlouhým řetězcem, dále buildery, jako alkalické látky nebo anorganické elektrolyty, bělicí činidla, fluorescentní barviva a inhibitory spékání.

Popsané granuláty je možno připravit známými postupy pro granulaci enzymů, včetně povlékání na pávní nebo ve vířivé vrstvě, sušení rozprašováním, vytlačováním, vytlačováním pomocí odstředivky, sferonizací, granulací v bubnu, shlukováním za vysokého stříhového namáhání nebo kombinací uvedených postupů.

Vynález bude dále osvětlen následujícími příklady, které však nejsou určeny k omezení rozsahu vynálezu. Je zřejmé, že by bylo možno použít jiné enzymy, matrice, základy částic, postupy nebo činidla pro tvorbu povlaku při zachování smyslu vynálezu.

5

Příklady provedení vynálezu

Příklad I

10

Povlékání alkalické proteázy ve vířivé vrstvě za laboratorních podmínek

15

1119 g částic, připravených stříkáním koloidní směsi sacharózy a kukuřičného škrobu na krystalky sacharózy s následným zanesením konečného povlaku PVA a kukuřičného škrobu a protlačení sítím 20 až 50 mesh, se uloží do zařízení Vector FL1 s vířivou vrstvou. 159 g vodného roztoku s obsahem 15 % hmotnostních prostředku Elvanol 51-05 (PVA, dodávaný Dow Chemical) se přidá ke 1128 g vodného roztoku proteázy, který obsahuje 19,7 % pevného podílu a 8,4 % hmotnostních aktivní proteázy. Roztok proteázy a PVA se postříkem nanáší na částice za následujících podmínek:

20

Rychlost přívodu tekutiny	18 g/min
Tlak při rozprašování	54 psi (372 317 Pa)
Teplota vzduchu na vstupu	100 °C
Výstupní teplota vzduchu	55 až 58 °C
Rychlost přívodu vzduchu	81 stop ³ /min (2,294 m ³ /min)

25

Povlečené částice pak byly opatřeny povlakem vodného roztoku, obsahujícího 444 g, 40 % hmotnostních heptahydrátu síranu hořečnatého. Tento povlak byl nanášen za následujících podmínek:

30

Rychlost přívodu tekutiny	23 g/min
Tlak při rozprašování	54 psi (372 317 Pa)
Teplota vzduchu na vstupu	100 °C
Výstupní teplota vzduchu	55 až 58 °C
Rychlost přívodu vzduchu	80 stop ³ /min (2,265 m ³ /min)

35

Částice, opatřené povlakem síranu hořečnatého pak byly opatřeny dalším povlakem 2356g vodného roztoku, obsahujícího 148 g, 6,2 % hmotnostních oxidu titaničitého, 118 g, 5 % hmotnostních methylcelulózy (Methocel A15-LV, Dow Chemical), 24 g, 1 % hmotnostní prostředku Neodol 23/6,5 (Shell Chemical Co.) a 39 g, 1,67 % hmotnostních polyethylenglykolu s molekulovou hmotností MW 600. Tento povlak pro lepší vzhled granulátu byl nanášen za následujících podmínek:

40

Rychlost přívodu tekutiny	24 g/min
Tlak při rozprašování	54 psi (372 317 Pa)
Teplota vzduchu na vstupu	100 °C
Výstupní teplota vzduchu	51 až 58 °C
Rychlost přívodu vzduchu	88 stop ³ /min (2,492 m ³ /min)

45

Jako šarže A bylo získáno 1912 g granulátu s obsahem enzymu. Celkový výtěžek v tomto pokusu byl 78 %.

50

Příklad 2

Povlákání matrice s obsahem alkalické proteázy, sacharózy a škrobu v laboratorním zařízení s vířivou vrstvou.

5

404 g krystalků bezvodého síranu sodného bylo protlačeno sítím 50 až 70 mesh, načež byly krystalky vloženy do zařízení Vector FL1 s vířivou vrstvou. 781 g vodného roztoku proteázy, obsahujícího 19,7 % celkového množství suchého podílu a 8,4 % hmotnostních aktivní proteázy bylo přidáno k 1605 g vodného roztoku, obsahujícího 670 g sacharózy, 186 g běžného žlutého škrobu a 74 g prostředku Ethylex 2015 (A. E. Staley, Decatur, Illinois) škrob byl plně hydratován

10

povařením 15 min při 88,3 °C (190 °F). Poměr pevného podílu enzymu k ostatní pevným látkám v roztoku byl udržován na stejné hodnotě jako v příkladu 1, avšak množství bylo sníženo vzhledem k dalšímu stupni, použitému v tomto příkladu. Získaný roztok byl nanášen postřikem na síran sodný za následujících podmínek:

15

Rychlost přívodu tekutiny 27 g/min
 Tlak při rozprašování 54 psi (372 317 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu 100 °C
 Výstupní teplota vzduchu 56 až 61 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 80 stop³/min (2,265 m³/min)

Povlečené částice pak byly opatřeny povlakem z vodného roztoku, obsahujícího 444g, 40 % hmotnostních heptahydrátu síranu hořečnatého. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

25

Rychlost přívodu tekutiny 27 g/min
 Tlak při rozprašování 54 psi (372 317 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu 100 °C
 Výstupní teplota vzduchu 54 až 57 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 79 stop³/min (2,237 m³/min)

30

Částice, opatřené povlakem síranu hořečnatého pak byly pro lepší vzhled opatřeny povlakem z 2356 g vodného roztoku, obsahujícího 146 g, 6,2 % hmotnostních oxidu titaničitého, 118 g, 5 % hmotnostních methylcelulózy (Methocel A15-LV, Dow Chemical), 24 g, 1 % hmotnostní prostředku Neodol 23/6,5 (Shell Chemical Co.) a 39 g, 1,67 % hmotnostních polyethylenglykolu s molekulovou hmotností MW 600. Tento povlak pro lepší vzhled granulátu byl nanášen za následujících podmínek:

35

Rychlost přívodu tekutiny 23 g/min
 Tlak při rozprašování 56 psi (386 107 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu 100 °C
 Výstupní teplota vzduchu 53 až 58 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 83 stop³/min (2,35 m³/min)

40

Jako šarže B bylo izolováno celkem 2050 g enzymatického granulátu. Celkový výtěžek v tomto příkladu byl 88,6 %.

45

Příklad 3

50

Analýza šarží

Granuláty z příkladů 1 a 2 byly analyzovány tak, aby bylo možno stanovit množství vytvořeného prachu a stálost při zkoušce, prováděné po dobu 3 dnů za extrémních podmínek. Dále budou popsány jednotlivé postupy, získané výsledky budou shrnuty v tabulce 1.

55

Zkouška na stálost

Stálost řady enzymatických granulátů, zapracovaných do granulátu spolu s bělidly, je obecně dobrá, obvykle nedochází k vyšším ztrátám než 10 až 20 % účinnosti v průběhu skladování po dobu 6 týdnů při teplotě 30 až 37 °C při relativní vlhkosti 70 až 80 %. Je však výhodné mít k dispozici urychlenou zkoušku pro stanovení relativní stálosti granulátu. Při této zkoušce (AST) se užívá zhoršených podmínek, které ve skutečnosti v průběhu skladování a přepravy nenastávají. Při tomto testu je však možno odhalit některé rozdíly mezi jednotlivými pracími prostředky, které by se jinak neprojevíly v průběhu týdnů nebo měsíců. Při této zkoušce byl připraven vzorek základu pracího prostředku z následujících složek:

72 % základního prostředku WFK-1	WFK, Forschungsinstitut for Reinigunstechnologie e.V., Krefeld, SRN
25 % monohydrátu perboritanu sodného	Degussa Corp. Allendale Park, New Jersey
3 % bělicího aktivátoru TAED (tetraacetythylenediamin)	Warwick International, Mostyn, Velká Británie

Pro každý vzorek enzymu, který měl být podroben zkouškám, byly připraveny tři stejné zkumavky, do nichž bylo uloženo 1 g základu a 30 mg enzymatického granulátu. Zkumavka měla obsah 15 ml a obsah byl promíchán po uzavření zkumavky jejím převrácením 5 až 8krát v roce. Pak byl do uzavěru zkumavky vyvrtán otvor při použití zařízení s hrotem 1/16 palce. Jedna ze tří zkumavek byla okamžitě podrobena analýze, druhé dvě zkumavky byly uloženy do komory s teplotou 50 °C a relativní vlhkostí 70 %. Další ze dvou zkumavek byla analyzována po 1 dni skladování a druhá po třech dnech skladování. Stálost byla stanovena ve dni 1 a ve dni 3 dělením zbývajících účinností původní účinnosti ve dni 0, výsledek byl vyjádřen v procentech.

Účinnost enzymů byla stanovena tak, že do každé zkumavky bylo přidáno 30 ml pufru 0,25M MES o pH 5,5 s obsahem 20 mikrolitrů prostředku Catalase HP L5000 (Genencor International, Rochester, NY) a směs byla inkubována 40 minut k inaktivaci perboritanu. Pak bylo zjištěno množství enzymů přidáním 10 mikrolitrů směsi ze zkumavky a 10 mikrolitrů substrátu proteázy sAAPF k 980 mikrolitrů 0,1M Tris o pH 8,6, směs byla inkubována 3 minuty a pak byla měřena absorpce světla při 410 nm. Sklon křivky pro absorpci v průběhu času byl pak násoben faktorem zředění a známým extinkčním koeficientem pro specifickou použitou proteázu, čímž byla získána účinnost enzymu jako koncentrace v mg/ml.

Zkoušky na prašnost podle Heubacha

Dvě běžně užívané zkoušky na měření prašnosti granulátu jsou zkoušky podle Heubacha na otěr a na elutriaci. Snahou těchto zkoušek je kvantitativně stanovit tendenci ke vzniku aerosolu proteinu, který by mohl vyvolávat alergické reakce mezi pracovníky závodů na výrobu pracích prášků a jiných výrobků na bázi proteinů. Uvedené zkoušky jsou konstruovány tak, aby reprodukovatelně opakovaly některé mechanické vlivy, typické při míchání, skladování a přepravě enzymatických granulátů v průmyslovém měřítku.

Při zkoušce na elutriaci se uloží 60 g enzymatického granulátu na skleněném fritu ve skleněné zkumavce s výškou 175 cm a průměrem 3,54 cm a zkumavkou se nechá procházet proud suchého vzduchu po dobu 40 minut rychlostí 0,8 m/s za vzniku vířivé vrstvy.

Při zkoušce na otěr se 13,5 g granulátu uloží do malé válcové komory, opatřené rotačním míchadlem a 4 ocelovými kuličkami. Míchadlo se uvede do činnosti a komorou se nechá procházet suchý vzduch v množství 20 l/min po dobu 20 min.

V průběhu obou zkoušek se prach, uvolněný z částic a nesený vzduchem zachytí na filtru ze skleněných vláken pro následující vážení a stanovení účinnosti svrchu uvedeným postupem.

Množství prachu se uvádí v ng enzymu na g granulátu. Při elutriaci se tato hodnota převádí z účinnosti na GU/60 g granulátu při použití specifických převáděcích faktorů pro enzymy.

5 Tabulka 1

Šarže	Jádro	Vrstva soli	Složky povlaku	Obsah bělidla *	Prach mg**	Prach enzymu ng/g	Elutriace prachu GU/60 g
A	Vrstvy	MgSO ₄	MC	34 %	1,8	2160	623
B	Matrice	MgSO ₄	MC	69 %	0,63	1058	130

* je uveden obsah bělidla při zachování stálosti po dobu 3 dnů při teplotě 50 °C

** je uvedeno množství celkového prachu ve vzorku (Heubach)

10

Příklad 4

15 Poblékání matrice s obsahem alkalické proteázy, sacharózy a škrobu ve vířivé vrstvě ve velkém měřítku

73,4 kg krystalků sacharózy po průchodu sítím 35 až 50 mesh bylo uloženo do zařízení s vířivou vrstvou Glatt WSC-120. 174,67 kg vodného roztoku proteázy s obsahem 19,98 % pevného podílu a 6,365 % hmotnostních aktivní proteázy bylo přidáno ke 117 kg vodného roztoku, obsahujícího 36,25 kg sacharózy, 29 kg běžného žlutého škrobu a 7,25 kg prostředku Ethylex 2015, předběžně plně hydratovaného povařením 15 minut při teplotě 88,3 °C (190 °F). Takto připravený roztok byl nanášen ve formě postřiku na sacharózu za následujících podmínek:

25 Rychlost přívodu tekutiny 1,0 LPM
 Tlak při rozprašování 75 psi (517 107 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 70 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 70 m³/min

30 Povlečené částice pak byly opatřeny dalším povlakem z vodného roztoku, obsahujícího 75 kg, 4,3 % hmotnostních heptahydrátu síranu hořečnatého. Tento povlak byl nanášen za následujících podmínek:

35 Rychlost přívodu tekutiny 2,3 LPM
 Tlak při rozprašování 50 psi (344 738 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 70 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 70 m³/min

40 Částice, opatřené povlakem síranu hořečnatého pak byly pro zlepšení vzhledu ještě opatřeny povlakem 208,93 kg vodného roztoku, obsahujícího 12,97 kg, 6,2 % hmotnostních oxidu titaničitého, 10,59 kg, 5 % hmotnostních methylcelulózy, 2,12 kg 1,0 % hmotnostních prostředku Neodol 23/6,5 a 3,57 kg, 1,67 % hmotnostních polyethylenglykolu s molekulovou hmotností 600. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

Rychlost přívodu tekutiny 1,1 LPM
 Tlak při rozprašování 75 psi (517 107 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 75 °C
 5 Rychlost přívodu vzduchu 70 m³/min

Celkem bylo jako šarže D získáno 199,35 kg enzymatického granulátu. Celkový výtěžek byl 83,84 %.

10 Příklad 5

Povlékání matrice s obsahem alkalické proteázy, sacharózy a škrobu ve vířivé vrstvě ve velkém měřítku

15 A. 65,75 kg krystalické sacharózy po průchodu sítím 35 a 50 mesh bylo vloženo do zařízení s vířivou vrstvou Glatt WSG-120. 180,42 kg vodného roztoku proteázy s obsahem 20,74 % celkového pevného podílu a 6,71 % hmotnostních aktivní proteázy bylo přidáno ke 145,13 kg vodného roztoku, obsahujícího 37,57 kg sacharózy, 29,94 kg běžného žlutého škrobu a 7,62 kg prostředku Ethylex 2015, předběžně plně hydratovaného povařením 15 minut při teplotě 88,3 °C
 20 (190 °F). Roztok byl pak nanášen postříkem na sacharózu za následujících podmínek:

Rychlost přívodu tekutiny 1,0 LPM
 Tlak při rozprašování 75 psi (517 107 Pa)
 25 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 70 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 58 m³/min

30 B. Povlečené částice pak byly opatřeny dalším povlakem z vodného roztoku, obsahujícího 86,95 kg, 40,3 % hmotnostních heptahydrátu síranu hořečnatého. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

Rychlost přívodu tekutiny 1,7 LPM
 Tlak při rozprašování 50 psi (344 738 Pa)
 35 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 50 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 58 m³/min

40 Částice, opatřené povlakem síranu hořečnatého pak byly pro lepší vzhledu opatřeny ještě dalším povlakem při použití 240,79 kg vodného roztoku, obsahujícího 16,97 kg, 6,2 % hmotnostních oxidu titaničitého, 6,84 kg, 2,5 % hmotnostních methylcelulózy, 6,84 kg 2,5 % hmotnostních maltodextrinu M150 (DE = 15 od Grain Processing Corp., Muscatine, Iowa), 2,74 kg, 1 % hmotnostní prostředku Neodol 23/6,5 a 4,57 kg, 1,67 % hmotnostních polyethylenglykolu s molekulovou hmotností 600. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

45 Rychlost přívodu tekutiny 1,2 LPM
 Tlak při rozprašování 75 psi (517 107 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 60 °C
 50 Rychlost přívodu vzduchu 58 m³/min

Jako šarže E bylo získáno celkem 199,35 kg enzymatického granulátu. Celkový výtěžek byl 97,13 %.

Příklad 6

Povlékání matrice s obsahem alkalické proteázy, sacharózy a škrobu ve vířivé vrstvě ve velkém měřítku

5

Enzymatická jádra byla vyrobena způsobem podle odstavce A příkladu 5.

V následujících třech granulátech byl nanesen heptahydrát síranu hořečnatého jako 50% roztok tak, aby sloučenina tvořila 15 % hmotnostních výsledné hmotnosti granulátu. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

10

Tlak při rozprašování 50 psi (344 738 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 47 až 54 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 58 m³/min

15

Polymery pro tvorbu povlaku byly nanášeny ve formě roztoků s koncentrací 15 % hmotnostních, byly vytvořeny následující prostředky pro povlékání, které jsou uvedeny jako procentuální podíl výsledného granulátu v procentech hmotnostních v následující tabulce 2. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

20

Tlak při rozprašování 50 psi (344 738 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 45 až 55 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 58 m³/min

25

Tabulka 2

Šarže	MC (%)	MD (%)	Sacharóza (%)	PEG (%)	Neodol (%)	TiO ₂ (%)
F	2,5	2,5		1,7	1,0	5,0
G	1,5		3,0	1,7	1,5	5,0
H	2,5	2,5		1,7	1,0	

30

Granuláty byly analyzovány způsobem podle příkladu 3, výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 3.

Tabulka 3

Šarže	Jádro	Vrstva soli	Složky povlaku	Obsah bělidla *	Prach mg**	Prach enzymu ng/g	Elutriace prachu GU/60 g
F	Matrice	MgSO ₄	MC, MD, PEG Neodol, TiO ₂	65 %	0,6	481	23
G	Matrice	4	MC, sacharóza PEG Neodol, TiO ₂	55 %	8,2	437	101
H	Matrice	MgSO ₄ + 5 % TiO ₂	MC, MD, PEG Neodol	73 %	0,5	370	34

5 * je uveden obsah bělidla při zachování stálosti po dobu 3 dnů při teplotě 50 °C

** je uvedeno množství celkového prachu ve vzorku (Heubach)

Příklad 7

10

3 granuláty s obsahem matrice byly ve velkém měřítku připraveny při použití modifikovaného zařízení s vířivou vrstvou. Glatt WSG 120. Při přípravě šarže J bylo do zařízení vloženo 50,5 kg sacharózy po průchodu sítím 35 až 50 mesh. Roztok pro povlékání matrice byl připraven povařením 0,4 kg škrobu Ethylex 2015 jako v předchozích příkladech a přidáním 46,7 kg sacharózy a 23,4 kg suchého žlutého kukuřičného škrobu, voda byla přidána až do končené hmotnosti roztoku 337,4 kg. Roztok byl smísen s 243,2 kg vodného roztoku proteázy s obsahem 51,89 kg/l subtilisinu GG36 při celkovém obsahu pevného podílu 19 %, čímž byl získán roztok pro postřik matrice za účelem nanesení enzymu. Tento roztok byl nanášen postřikem na základ částic ze sacharózy za následujících podmínek:

20

Teplota vířivé vrstvy 60 °C
 Přívod vzduchu 48 scfm
 Rychlost postřiku 0,3 až 1,0 lpm po dobu 240 minut
 Rozprašovací tlak 50 až 75 psig (0,34 až 0,52 MPa) po dobu 240 minut

25

Roztok síranu amonného byl připraven rozpuštěním 58,3 kg síranu amonného ve 135,9 kg vody, roztok byl nanášen postřikem na matici za následujících podmínek:

Teplota vířivé vrstvy 70 °C
 Přívod vzduchu 48 až 57 scfm
 Rychlost postřiku 1,5 lpm
 Rozprašovací tlak 75 psig (0,52 MPa)

5

Na konec byl připraven roztok povlaku rozpuštěním nebo uvedením do suspenze 17,9 kg polyvinylalkoholu Elvanol 51-05, 22,4 kg oxidu titaničitýho a 4,5 g prostředku Neodol 23,5-6T jako neiontového smáčedla ve vodě, která byla přidávána do celkové hmotnosti roztoku 224,1 kg. Roztok byl nanášen za následujících podmínek:

10

Teplota vířivé vrstvy 72 °C
 Přívod vzduchu 56 scfm
 Rychlost postřiku 0,5 až 1,2 lpm po dobu 300 minut
 Rozprašovací tlak 75 psig (0,52 MPa)

15

Po nanesení povlaku bylo získáno 255,5 kg granulátu, který byl protlačen sítím k získání granulátu v rozmezí 16 až 50 mesh. Granulát byl podroben analytickým zkouškám na účinný subtilisin, na prašnost a na stálost, výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 4.

20

Mimo to byly připraveny ještě 2 další šarže granulátu, KL, k jejich výrobě bylo rovněž použito zařízení Glatt WSG 120, postup byl prováděn stejným způsobem, složení však bylo odlišné, tak, jak je uvedeno v následující tabulce. Vrstvený granulát byl připraven způsobem podle příkladu 1.

25

Tabulka 4

Parametr	Vrstvený granulát	Matrice šarže J	Matrice šarže K	Matrice šarže L
Hmotnost (kg)				
Sacharózový základ	NA	50,5	38,2	58,8
Sacharóza	NA	46,7	17,8	24,1
Suchý škrob	NA	23,4	41,8	53,6
Povařený škrob	NA	0,4	0	0
Kapalný enzym	NA	243	88	133
Účinnost enzymu (g/l)	NA	51,9	49,9	67,1
sůl	NA	58,3	48,4	38,7
TiO ₂	NA	22,4	7,9	12,6

PVA Elvanol 51-05	NA	17,9	10,8	10,8
Neodol 23,5-6T	NA	4,5	2,7	2,5
Poměr % nebo % hmotn.				
Obsah enzymu	2,00	4,54	2,70	3,35
Sušený škrob/sacharóza	NA	0,50	2,34	2,22
Povařený škrob/sacharóza	NA	0,01	0	0
Typ soli	(NH ₄) ₂ SO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄
Sůl % hmotn.	20	22	30	20
PVA	6,8	7,0	6,7	5,4
TiO ₂	5,4	8,8	4,9	6,4
Neodol	1,4	1,7	1,7	1,3
Stálost 3 dny v %	29,8	95,2	67,9	79,9
Prašnost Heubach				
Celková prašnost mg/vzorek		0,4	0,4	0,4
Prašnost enzymu ng/g		56	174	78

Příklad 8

5

Povlékání matrice s obsahem amylázy a škrobu ve vířivé vrstvě ve velkém měřítku

10

26 kg krystalické sacharózy po průchodu sítím 35 a 50 mesh bylo vloženo do zařízení s vířivou vrstvou Deseret 60. 15,3 g vodného roztoku amylázy s obsahem pevného podílu 31 % a obsahem aktivní amylázy 12,5 % hmotnostních bylo přidáno ke 43,5 kg vodného roztoku s obsahem 23,5 kg kukuřičného škrobu. Roztok byl nanášen postříkem na sacharózu za následujících podmínek:

15

Rychlost přívodu tekutiny 0,8 kg/min
 Tlak při rozprašování 75 psi (517 107 Pa)
 Teplota vzduchu na vstupu NA
 Výstupní teplota vzduchu 45 °C
 Rychlost přívodu vzduchu 1300 cfm (36,812 m³/min)

Povlečené částice pak byly opatřeny dalším povlakem z vodného roztoku, obsahujícího 66,7 kg, 40 % hmotnostních heptahydrátu síranu hořečnatého. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

	Rychlost přívodu tekutiny	1,1 kg/min
5	Tlak při rozprašování	60 psi (413 686 Pa)
	Teplota vzduchu na vstupu	NA
	Výstupní teplota vzduchu	47 °C
	Rychlost přívodu vzduchu	1800 cfm (50,97 m ³ /min)

- 10 Takto povlečené částice pak byly ještě pro lepší vzhled opatřeny dalším povlakem při použití 92,6 kg vodného roztoku, obsahujícího 7,1 kg, 6,2 % hmotnostních oxidu titaničitého, 2,9 kg, 2,5 % hmotnostních methylcelulózy, 2,9 kg 2,5 % prostředku Purecote B790, 1,2 kg, 1,5 hmotnostních prostředku Neodol 23/6,5 a 2,0 kg, 1,67 % hmotnostních polyethylenglykolu s molekulovou hmotností 600. Povlak byl nanášen za následujících podmínek:

15	Rychlost přívodu tekutiny	0,5 kg/min
	Tlak při rozprašování	75 psi (517 107 Pa)
	Teplota vzduchu na vstupu	NA
	Výstupní teplota vzduchu	47 °C
20	Rychlost přívodu vzduchu	1800 cfm (50,97 m ³ /min)

Příklad 9

- 25 Povlékání matrice s obsahem amylázy, sacharózy a škrobu ve vířivé vrstvě ve velkém měřítku

26 kg krystalické sacharózy po průchodu sítím 35 a 50 mesh bylo vloženo do zařízení s vířivou vrstvou Deseret 60. 15,3 g vodného roztoku amylázy s obsahem pevného podílu 31 % a obsahem aktivní amylázy 12,5 % hmotnostních bylo přidáno ke 59,3 kg vodného roztoku s obsahem 30 23,5 kg kukuřičného škrobu. Roztok byl nanášen postřikem na sacharózu za následujících podmínek:

	Rychlost přívodu tekutiny	0,8 kg/min
	Tlak při rozprašování	75 psi (517 107 Pa)
35	Teplota vzduchu na vstupu	NA
	Výstupní teplota vzduchu	45 °C
	Rychlost přívodu vzduchu	1300 cfm (36,812 m ³ /min)

Povlak síranu hořečnatého a konečný povlak byly ukládány stejným způsobem jako v příkladu 8.

40

Příklad 10

45 Do modifikovaného zařízení Glatt WSG 120 s vířivou vrstvou bylo vloženo 47,37 kg krystalické celulózy s velikostí částic 30 až 50 mesh a zařízení bylo uvedeno do chodu při teplotě 45 °C a přívodu vzduchu rychlostí 40 až 60 m³/min. Suspenze amylázy byla připravena tak, že bylo uvedeno do suspenze 67,72 kg běžného žlutého kukuřičného škrobu ve 105 kg koncentrátu amylázy UF (LAT) s účinností 30.000 TAU/g nebo 85,7 mg/g amylázy, suspenze obsahovala 24,2 mg/ml cukru z fermentace. Suspenze enzymu byla nanášena jako povlak na základ ze sacharózy za 50 následujících podmínek. V případě, že je uvedeno rozmezí, byly hodnoty lineárně zvyšovány v průběhu nanášení:

	Doba postřiku	90 minut
	Rychlost přívodu tekutiny	0,90 až 1,35 l/min
55	Tlak při rozprašování	45 až 75 psi (310 264 Pa – 517 107 Pa)

Teplota vzduchu na vstupu
upravena tak, aby byla
výstupní teplota vzduchu 45 °C
Rychlost přívodu vzduchu 40 až 60 m³/min

5

Po nanesení suspenze enzymu na krystalky sacharózy, byl nanesen další povlak 80 kg 50% roztoku heptahydrátu síranu hořečnatého na granulát ve vířivé vrstvě za následujících podmínek:

Doba postřiku 30 minut
10 Rychlost přívodu tekutiny 1,12 až 2,15 l/min
Tlak při rozprašování 60 psi (413 686 Pa)
Teplota vzduchu na vstupu
upravena tak, aby byla
výstupní teplota vzduchu 45 °C
15 Rychlost přívodu vzduchu 60 m³/min

Roztok pro tvorbu konečného povlaku byl připraven tak, že bylo přidáno 5,29 kg prostředku Methocel A-15 (Dow Chemical), 12,71 kg oxidu titaničitého (DuPont), 5,29 kg modifikovaného škrobu Pure Cote B-790 (Grain Processing Corp.), 2,12 kg prostředku Neodol 23-6,5T (Shell) a 3,54 kg polyethylenglykolu s molekulovou hmotností 600 (Union Carbide) ke 174,91 kg zahřáté vody za následného zchlazení na teplotu 20 °C k úplnému rozpuštění polymerů. Povlak se pak nanáší za následujících podmínek:

Doba postřiku 60 minut
25 Rychlost přívodu tekutiny 0,75 až 1,3 l/min
Tlak při rozprašování 75 psi (517 107 Pa)
Teplota vzduchu na vstupu
upravena tak, aby byla
výstupní teplota vzduchu 45 °C
30 Rychlost přívodu vzduchu 60 m³/min

Výsledných 180 kg povlečeného granulátu s obsahem amylázy se získá při výtěžku enzymu 85 %.

35 Je zřejmé, že by bylo možno uskutečnit ještě řadu modifikací, které by rovněž spadaly do rozsahu vynálezu. Je zřejmé, že běžné modifikace nebudou znamenat odchylku od smyslu vynálezu, tak, jak je vyjádřena v popisu přihlášky vynálezu a v následujících nárocích.

40

PATENTOVÉ NÁROKY

45 1. Vrstvená granule s jedinou základní částicí, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že vrstvy granule obsahují

a) proteinovou matici, uloženou na základní částici, kde matrice je tvořena směsí proteinu a kombinace cukru nebo alkoholu, odvozeného od cukru, a polysacharidového strukturačního činidla a

50 b) bariérovou vrstvu na proteinové matici nebo vrstvu povlaku.

2. Granule podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že matrice je směsí proteinu a kombinace cukru a polysacharidového strukturačního činidla.

3. Granule podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že se cukr volí ze skupiny, zahrnující glukózu, fruktózu, rafinózu, maltózu, laktózu, trehalózu a sacharózu.
4. Granule podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že cukrem je sacharóza.
- 5 5. Granule podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že polysacharidové strukturační činidlo se volí za skupiny, zahrnující škrob, modifikovaný škrob, celulózu, modifikovanou celulózu, karagenan, arabskou gumu, xanthanovou gumu, karubin a guarovou gumu.
- 10 6. Granule podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že polysacharidovým strukturačním činidlem je škrob nebo modifikovaný škrob.
7. Granule podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že proteinem je enzym.
- 15 8. Granule podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že enzym se volí ze skupiny, zahrnující proteázy, amylázy, lipázy a celulázy.
9. Granule podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že enzym je smísen s cukrem a polysacharidovým strukturačním činidlem.
- 20 10. Granule podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že na proteinové matrici je uložena povlaková vrstva.
11. Granule podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že povlaková vrstva se volí ze skupiny, zahrnující polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, deriváty celulózy, polyethylenglykol, polyethylenoxid, chitosan, arabskou gumu, xanthan a karagenan.
- 25 12. Granule podle nároku 11, **vyznačující se tím**, že povlaková vrstva obsahuje derivát celulózy.
- 30 13. Granule podle nároku 12, **vyznačující se tím**, že se derivát celulózy volí ze skupiny, zahrnující methylcelulózu, hydroxypropylmethylcelulózu, hydroxycelulózu, ethylcelulózu, karboxymethylcelulózu a hydroxypropylcelulózu.
- 35 14. Granule podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že proteinová matrice dále obsahuje syntetický polymer, vybraný ze skupiny, zahrnující polyethylenoxid, polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon, polyethylenglykol a polyethylenoxid/polypropylenoxid.
- 40 15. Granule podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že obsahuje
- a) enzymatickou matrici, uloženou na základní částici, kde tato matrice tvoří 20 až 80 % hmotnostních vrstvené granule a je tvořena enzymem, smíseným s cukrem a polysacharidovým strukturačním činidlem, přičemž enzym se volí ze skupiny, zahrnující proteázy, amylázy, lipázy a celulázy a polysacharidové strukturační činidlo se volí za skupiny, zahrnující škrob, modifikovaný škrob, celulózu, modifikovanou celulózu, karagenan, arabskou gumu, xanthanovou gumu, karubin a guarovou gumu, a
- 45 b) bariérovou vrstvu, uloženou na enzymatické matrici nebo vrstvu povlaku.
16. Granule podle nároku 15, **vyznačující se tím**, že na enzymatické matrici dále obsahuje povlakovou vrstvu.
- 50 17. Granule podle nároku 15, **vyznačující se tím**, že cukr se volí ze skupiny, zahrnující glukózu, fruktózu, rafinózu, maltózu, laktózu, trehalózu a sacharózu.

18. Granule podle nároku 17, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že cukrem je sacharóza a polysacharidem je škrob nebo modifikovaný škrob.

19. Granule podle nároku 15, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že enzymem je proteáza.

20. Granule podle nároku 15, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že enzymem je celulóza.

21. Granule podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bariérová vrstva se volí ze skupiny, zahrnující anorganické soli a organické soli.

22. Granule podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bariérovou vrstvou je anorganická sůl.

23. Granule podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bariérovou vrstvou je síran hořečnatý.

24. Granule podle nároku 15, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bariérová vrstva se volí ze skupiny, zahrnující anorganické soli a organické soli.

Konec dokumentu
