

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

269 547

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴
C 08 B 37/06

(21) PV 2780-88.A

(22) Prihlášené 25 04 88

(40) Zverejnené 12 09 89

(45) Vydané 31 08 90

(75)
Autor vynálezu

ZEMEK JIŘÍ ing. CSc., LEHNICE
ZELENAYOVÁ EVA ing., PIEŠŤANY

(54) Spôsob prípravy sieťovanej kyseliny
pektovej

(57) Riešenie sa týka prípravy sieťovanej kyseliny pektovej z pektínu. Podstata riešenia spočíva v tom, že pektín sa sieťuje homo- alebo heterobifunkčným činidlom, vybraným zo skupiny zahrňujúcej 2,2-bis (oxiranylmetyl) éter alebo 2-chlórmetoxyloxirán v pomere na 1 mól substituovanej anhydrogalaktúronovej jednotky pektínu 0,5 až 1,5 mólu 2,2-bis (oxiranylmetyl) éteru alebo 2-chlórmetoxyloxiránu, v prítomnosti 1 až 4 mólov metanolu, etanolu alebo n-propanolu, 1 až 4 mólov vody a 1 až 2,5 mólu hydroxidu sodného alebo draselného pri teplote 20 až 50 °C po dobu 1 až 3 hodín, za súčasnej deesterifikácie pektínu. Riešenie má uplatnenie v analytickej a klinickej biochémii, v bioorganickej chémii, v enzýmovom inžinierstve a v technológiách využívajúcich rekombinantnú dezoxyríbonukleovú kyselinu.

Vynález sa týka spôsobu prípravy sieťovanej kyseliny pektovej.

Prípravou pektínového katexu sa zaoberá čl. patent 140 713, ktorý využíva k sieťovaniu deesterifikovaný pektín, to je kyselinu pektovú. Približne ekvimolárne zastúpenie jednotlivých zložiek v reakčnej zmesi (pektín, hydroxid sodný a 2-chlórmetyloxirán) neumožňuje prípravu sieťovaného gélu o vhodných hydrodynamických vlastnostiach. Pri príprave sieťovaného gélu kyseliny pektovej podľa A.O. 218 702 sa síce vychádza priamo z citrusového pektínu a deesterifikačná reakcia spolu s reakciou sieťovania prebiehajú v jedinom reakčnom stupni, pripravený gél, vhodný po ďalšej aktivácii k imobilizácii enzýmov, nevyhovuje však k použitiu ako katex, a to pre nízky stupeň sieťovania a vysoký napúšťací objem.

Uvedené nedostatky odstraňuje spôsob podľa vynálezu, podstata ktorého spočíva v tom, že pektín sa sieťuje homo- alebo heterobifunkčným činidlom vybraným zo skupiny zahrňujúcej 2,2-bis (oxiranylmetyl) éter alebo 2-chlórmetyloxirán, v prítomnosti 1 až 4 mólov metanolu, etanolu alebo n-propanolu, 1 až 4 mólov vody a 1 až 2,5 mólu hydroxidu sodného alebo draselného, pri teplote 15 až 50 °C po dobu 1 až 3 hodín, za súčasnej deesterifikácie pektínu.

Nakoľko uvedená reakcia prebieha v suspenzii, je vhodné reakčnú zmes občas premiešať. Po zosietení sa reakčná zmes suspenduje v zriedenej kyseline octovej alebo chlórhydroxidovej, pripravený gél sa odstráni filtráciou alebo centrifugáciou, premyje destilovanou vodou do neutrálnej reakcie filtrátu, prípadne vybieli účinkom zriedeného chlórnanu sodného, odvodní postupným účinkom nadbytku 50 % a potom 95-100 % etanolu alebo acetónu a vysuší vo vákuovej sušiarňi. Vysušený gél sa vytriedi na sitách na frakcie o potrebnom zrní a upraví na vhodnú hodnotu pH pre ďalšie použitie.

Výhodou uvedeného postupu je skutočnosť, že základný materiál, pektín, je poväčšine ľahko dostupný a lacný, stupeň substitúcie karboxylovými skupinami je okolo 1. Pri sieťovaní esterifikovaného pektínu dochádza v jedinom reakčnom stupni aj k súčasnej deesterifikácii. Zostavou reakčnej zmesi možno regulovať stupeň sieťovania gélu a jeho napúšťací objem v rozsahu od 3,5 až po 12 ml.g⁻¹.

Príklad 1

Jablčný pektín (50 g, odpovedajúci 0,25 mólu substituovanej anhydrogalakturónovej jednotky pektínu) sa pridal k roztoku 0,125 mólu 2,2-bis (oxiranylmetyl) éteru v 1 móle metanolu a 0,5 mólu destilovanej vody a po dôkladnom premiešaní (10 min) sa k uvedenej suspenzii pridal roztok 0,25 mólu hydroxidu sodného v 0,25 móle vody. Reakcia sieťovania prebiehala po dobu 1 hodiny pri teplote 50 °C. Po uvedenej dobe sa sieťovaný gél kyseliny pektovej premyl 300 ml 10 % kyseliny octovej na frite, potom sa vybielil účinkom 200 ml 0,5 % chlórnanu sodného, znova sa vymyl 500 ml destilovanej vody a adjustoval sa do H⁺ cyklu účinkom 5 % roztoku kyseliny fosforečnej. Nadbytok kyseliny fosforečnej sa vymyl opakovane 500 ml destilovanej vody a vysušil postupným odvodnením pomocou 50 % etanolu alebo acetónu (1000 ml) a 95 % až 100 % etanolu alebo acetónu a dosušil vo vákuovej sušiarňi. Získaný gél sieťovanej kyseliny pektovej (55 g) mal výmennú kapacitu 5,3 mól.g⁻¹ a napúšťací objem 3,5 ml.g⁻¹.

Príklad 2.

Postupuje sa tak ako v príklade 1 s tým rozdielom, že sa vychádza z citrusového pektínu (50 g), k siefovaniu sa použije 0,375 mólu 2-chlórmetyloxiránu, v 0,25 mólu etanolu a po dôkladnom premiešaní (10 min) sa k uvedenej suspenzii pridal roztok 0,625 mólu hydroxidu draselného v 1 móli vody. Reakcia siefovania prebiehala pri 20 °C po dobu 3 hodín. Získaný gél kyseliny pektovej (51) mal výmennú kapacitu 5,5 mól. g⁻¹ a napučací objem 4,2 ml.g⁻¹.

Príklad 3

Postupuje sa tak ako je uvedené v príklade 1, s tým rozdielom, že jablčný pektín (50 g) sa pridá k roztoku 0,425 mólu 2-chlórmetyloxiránu v 1 móli n-propanolu a po dôkladnom premiešaní sa k uvedenej suspenzii pridal roztok 0,625 mólu hydroxidu sodného v 1 móli vody. Reakcia siefovania prebiehala pri 25 °C po dobu 3 hodín. Získaný gél kyseliny pektovej (54 g) mal výmennú kapacitu 5,3 mól.g⁻¹.

Vynález má široké uplatnenie predovšetkým v analytickej a klinickej biochémií, v bioorganickej chémii, v enzýmovom inžinierstve a v technológiách využívajúcich rekombinantnú dezoxiribonukleovú kyselinu.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy siefovanej kyseliny pektovej vyznačujúci sa tým, že pektín sa siefuje homo- alebo heterobifunkčným činidlom, vybraným zo skupiny zahrňujúcej 2,2-bis(oxiranylmetyl)éter alebo 2-chlórmetyloxirán v pomere na 1 mól substituovanej anhydrogalakturónovej jednotky pektínu 0,5 až 1,5 mólu 2,2-bis(oxiranylmetyl)éru alebo 2-chlórmetyloxiránu, v prítomnosti 1 až 4 mólov metanolu, etanolu alebo n-propanolu, 1 až 4 mólov vody a 1 až 2,5 mólu hydroxidu sodného alebo draselného pri teplote 20 až 50 °C po dobu 1 až 3 hodín, za súčasnej deesterifikácie pektínu.