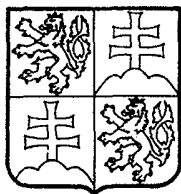


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

271 310

(11)

(13) B2

(51) Int. Cl.⁵
C 12 P 19/24//
C 07 H 3/02

(21) PV 989-85.V

(22) Přihlášeno 12 02 85

(30) Právo přednosti od 13 02 84
DE (P 34 05 035.3)

(40) Zveřejněno 13 12 89

(45) Vydáno 05 08 91

(72) Autor vynálezu WEIDENBACH GÜNTER dr., HANNOVER,
BONSE DIRK dr., LEHRTE/ARPKE,
MEYER BORIS dr., HANNOVER (DE)

(73) Majitel patentu KALI-CHEMIE AKTIENGESELLSCHAFT HANNOVER (DE)

(54) Způsob výroby roztoku obsahujícího glukózu
a fruktózu

(57) Při výrobě roztoku obsahujícího glukózu a fruktózu (isoglukózy) reakcí roztoku obsahujícího glukózu na katalyzátoru s glukózoisomerázovou aktivitou vyrobeném na bázi SiO₂-nosiče lze produktivitu katalyzátoru podstatně zvýšit tím, že se k roztoku glukózy přidá 30 až 80 ppm oxidu křemičitého rozpustného ve vodě.

Vynález se týká způsobu výroby roztoku obsahujícího glukózu a fruktózu, reakcí roztoku obsahujícího glukózu na katalyzátoru a glukózoisomerázovou aktivitou vyrobeném na bázi SiO_2 -nosiče.

Podobný způsob je popsán v německém spisu DE-C-31 48 603. Podle tohoto literárního údaje se může produktivita známých nosičových katalyzátorů s glukózoisomerázovou aktivitou vyrobených na bázi SiO_2 -nosiče výrazně zvýšit, když se před reakcí na nosičovém katalyzátoru roztok obsahující glukózu uvede do styku s výlisky z oxidu křemičitého nebo alumosilikátu.

Okolem tohoto vynálezu je připravit jiné možnosti zvýšení produktivity známých katalyzátorů s glukózoisomerázovou aktivitou na SiO_2 -nosiči.

Pod výrazem "katalyzátor s glukózoisomerázovou aktivitou vyrobený na bázi SiO_2 -nosiče", popřípadě pod výrazem "známé SiO_2 -nosičové katalyzátory s glukózoisomerázovou aktivitou" se rozumějí takové katalyzátory, u kterých je v nosiči nebo na nosiči na bázi oxidu křemičitého, například porézního silikagelu, glukózoisomeráza zapracována (například společným srážením) nebo nanесena (například adsorpční nebo kovalentní vazbou nebo zesíťováním enzymu). Výhodně se pod tímto výrazem mají rozumět takové katalyzátory, u nichž je glukózoisomeráza adsorpčně nebo kovalentně vázána na porézní silikagel nebo je nanесena zesíťováním, přičemž může být popřípadě použito také kombinace takovýchto postupů navázání. Katalyzátory výhodnými v tomto smyslu jsou například katalyzátory známé z německého spisu DE-C-27 26 188.

Jiná možnost jak zvýšit produktivitu katalyzátoru a současně i odstranit nevýhody známých postupů se zakládá na způsobu podle vynálezu. Podstata způsobu výroby roztoku, obsahujícího glukózu a fruktózu, reakcí roztoku obsahujícího glukózu na katalyzátoru s glukózoisomerázovou aktivitou na bázi SiO_2 -nosiče, spočívá podle vynálezu v tom, že se k roztoku glukózy přidá 30 až 80 ppm oxidu křemičitého rozpustného ve vodě.

Oxid křemičitý SiO_2 může být přitom přidáván v libovolné formě, pokud je dostatečně rozpustný ve vodě a pokud cizí ionty vnesené společně s oxidem křemičitým do roztoku glukózy nejsou na újmu aktivitě enzymu. Pokud se získaný roztok glukózy a fruktózy před dalším použitím dále nečistí, například na iontoměniči, má se také dávat pozor na to, aby cizí ionty vnesené s oxidem křemičitým nebyly na závalu pozdějšímu použití roztoku glukózy a fruktózy. Zvláště se osvědčily křemičitany alkalických kovů. Množství přidávaného oxidu křemičitého není příliš rozhodující. Aby se docílilo zvýšení produktivity v rozsahu známého způsobu podle německého spisu DE-C-32 48 603, nemělo by přidávané množství být menší než 30 ppm. S výhodou se přidává mezi 30 a 80 ppm oxidu křemičitého.

Velmi jednoduše a levně se oxid křemičitý přidává jako roztok vodního skla, s výhodou roztok sodného vodního skla.

Při pracovním postupu podle vynálezu se dosáhne zvýšení produktivity jako při způsobu podle německého spisu DE-C-32 48 603. Překvapivě však přidavek oxidu křemičitého, místo předchozího styku s výlisky z oxidu křemičitého nebo alumosilikátu, má výhodný vliv na stabilitu katalyzátoru při zastavení provozu. Ukázalo se totiž, že při práci podle známých způsobů, ať již podle německého spisu DE-C-32 48 603 nebo jiného způsobu, je aktivita katalyzátoru při zastavení provozu kvůli výpadku proudu nebo jiným poruchám, nevratně poškozena, není-li zajištěno co nejrychlejší ochlazení katalyzátoru na teplotu místnosti. Sice jsou například při výpadku proudu mimo provoz nejen čerpadla, ale i topení k ohřívání substrátu. Tepelná kapacita katalyzátoru a substrátového roztoku, který ho obklopuje, však zamezí potřebnému rychlému ochlazení a postačí, aby se katalyzátor poškodil. Aby se zamezilo takovému poškození, musí se například předem zajistit nouzový zdroj proudu, aby se při zastavení provozu mohl do reaktoru načerpat studený roztok substrátu a tak se dosáhlo potřebného rychlého ochlazení citlivého katalyzátoru. Při práci podle vynálezu však mohou

taková předem učiněná opatření zcela odpadnout.

Provedení způsobu podle vynálezu probíhá zvláště při kontinuálním pracovním postupu účelně tak, že se k vodnímu roztoku glukózy s obsahem asi 40 až 50 % hmotnostních sušiny přidá oxid křemičitý způsobem podle vynálezu, roztok se upraví na hodnotu pH vhodnou pro glukózoisomerázu vázanou na nosič a zahřeje na teplotu vhodnou pro glukózoisomerázu vázanou na nosič. Takto připravený roztok glukózy se čerpá reaktorem, který je naplněn katalyzátorem s glukózoisomerázovou aktivitou na SiO_2 -nosiči. Roztok glukózy a fruktózy opouštějící reaktor se nepřetržitě nebo v pravidelných intervalech zkouší na obsah fruktózy, například polarimetrickou analýzou nebo vysokotlakovou kapalinovou chromatografií. Prostorová rychlost (v/v_h = objem roztoku glukózy na objem reaktoru spotřebovaného katalyzátorem za hodinu), při které katalyzátor pracuje, se přitom upraví tak, že odtékající roztok, vztaženo na sušinu, má konstantní obsah fruktózy, například 42 % hmotnostních, při nepatrném rozsahu kolísání, například ± 1 %. Protože v závislosti na provozní době a zvláště na pracovní teplotě ztrácí katalyzátor aktivitu, znamená to, že se prostorová rychlost musí stále ubírat, aby se docílilo konstantního stupně isomerace. Stupeň isomerace vyjádřený v procentech přitom udává počet molekul fruktózy, které jsou obsaženy v odtékajícím roztoku glukózy a fruktózy, na 100 molekul glukózy obsažených ve výchozím roztoku po projití reaktorem a po reakci na katalyzátoru. Podle čistoty, popřípadě jakosti glukózy použité pro výrobu glukózového roztoku, musí katalyzátor pracovat prostorovou rychlostí, která umožňuje dosáhnout stupně isomerace asi 44 až 47 %, pro dosažení uvedené hodnoty 42 % hmotnostních fruktózy, v sušině v odcházejícím roztoku glukózy a fruktózy.

V případě, kdy se při výrobě nosičového katalyzátoru s glukózoisomerázovou aktivitou použila *Streptomyces albus* Glucoseisomerasa, se velmi osvědčila úprava roztoku glukózy pH asi 7,0 až 8,5 a zahřívání na teplotu asi 55 až 65 °C.

Navíc se u *Streptomyces albus* Glucoseisomerasy prokázalo, že isomeraci napomáhá přidavek iontů dvojmocného kobaltu a dvojmocného hořčíku k roztoku glukózy, v množství asi 0,1 až 2 ppm Co (II) a asi 10 až 200 ppm Mg (II), výhodně ve formě své soli rozpustné ve vodě, jako například chloridu nebo síranu.

Konečně je ještě výhodné přidat k roztoku glukózy stabilizující množství antioxidantu, s výhodou oxidu siřičitého, v množství asi 100 až 600 ppm ve formě siřičitanu nebo hydrogensířičitanu alkalického kovu.

Před konečným použitím získaného roztoku glukózy a fruktózy, se ještě doporučuje odstranit nežádoucí iontové komponenty, protože jsou například na újmu chuti, pomocí kationtoměníčů a aniontoměníčů. Popřípadě se roztok může zahustit na sirup. Na trhu se takový sirup prodává pod označením isosirup, isomerosa nebo isoglukóza.

Následující příklady slouží k objasnění vynálezu.

Příklad 1

Obecný příklad

Pro všechny příklady se jako "katalyzátor s glukózoisomerázovou aktivitou vyrobený na bázi SiO_2 -nosiče" používá katalyzátor vyrobený podle německého spisu DE-C-27 26 188. Do reaktoru se vždy naplní 5 g tohoto katalyzátoru. Reaktorem proudí roztok glukózy zahřátý na 60 °C. Nastavení prostorové rychlosti (vztažené na objem reaktoru obsahující katalyzátor) se provede tak, že stupně isomerace během celé výrobní doby konstantně činí 46,5 %. Stupeň isomerace odcházejícího substrátového roztoku se měří polarimetricky. Jednotlivě se katalyzátor a způsob vyznačuje těmito podstatnými parametry:

Katalyzátor:

Nosič	oxid křemičitý SiO_2
Zjištěná aktivita	9000 U/g
Velikost zrna	0,1 až 0,2 mm
Sypná hmotnost (suchá)	0,45 kg/l
Způsob:	
Substrát	45 % hmotnostních glukózy ve vodném roztoku
Kofaktory	120 ppm Mg (II) 1 ppm Co (II) 200 ppm SO_2 ve formě siřičitanu sodného
Hodnota pH	7,5
Hustota substrátu	1,2 kg/l
Vstupní teplota substrátu	60 °C
Stupeň isomerace	46,5 %
Vstupní prostorová rychlost	13,0 h ⁻¹

Stanovení aktivity glukózoisomerázového roztoku:

Aktivita glukózoisomerázového roztoku použitého pro přípravu katalyzátoru se stanoví metodou, kterou popsal Takasaki (srov. Y. Takasaki: Agr. Biol. Chem., sv. 30, č. 12, 1247-1253, 1966 a Z. Dische a E. Borenfreund: J. Biol. Chem., 192, 583, 1951). Jednotka aktivity (U) je definována jako množství enzymu, které vytvoří za inkubačních podmínek 1 mg fruktózy.

Inkubační podmínky:

Teplota	65 °C
Reakční doba	1 h
Substrát	0,1 m glukóza x H_2O (Merck 8342) v 0,05 molárním fosfátovém pufru, pH 8,0 s 0,0004 molárním síranem hořečnatým.

Rozhodujícím kritériem pro jakost katalyzátoru nebo způsobu, za kterého se používá katalyzátoru, jsou vedle poločasu úbytku aktivity doba provozu až ke zbytkové aktivitě činící 20 % z výchozí aktivity (20 % zbytkové aktivity, vztaženo na výchozí aktivitu = 100 %, se osvědčilo jako spodní hranice ještě hospodárné využitelnosti aktivity katalyzátoru) z celkové produktivity. Produktivita je přitom definována jako množství substrátu, počítané jako sušina v kilogramech, která při předpokládaném stupni isomerace se může zpracovat na 1 kg katalyzátoru až do zbytkové aktivity činící 20 % z aktivity výchozí.

Příklad 1.1**Příklad podle vynálezu**

Obecný příklad 1 se provede s tím rozdílem, že roztok glukózy podle vynálezu obsahuje 50 ppm oxidu křemičitého ve formě sodného vodního skla. Dosáhnou se tyto výsledky:

Poločas úbytku aktivity	1300 h
Doba provozu až do zbytkové aktivity 20 %	3800 h
Produktivita po 3800 h	26000 kg sušiny s obsahem 46,5 % hmotnostních fruktózy na 1 kg katalyzátoru.

Příklad 1.2

Srovnávací příklad podle DE-C-31 48 603

Obecný příklad 1 se provede s tím rozdílem, že se získá roztok glukózy, který neobsahuje přídavek oxidu křemičitého podle vynálezu, ale roztok podle německého spisu DE-C-31 48 603, který se před vnesením do reaktoru čerpá sloupcem, jenž je předřazen reaktoru. Sloupec je naplněn 5 g komerčně dostupného, kulovitého, vodotěsného porézního alumosilikátu (složení: asi 97 % hmotnostních oxidu křemičitého a 3 % hmotnostní oxidu hlinitého, velikost zrna: 1 až 2 mm, sypná hmotnost za sucha: 0,7 kg/l, typ KCT-WS, výrobce Kali-Chemie AG.).

Dosažené výsledky (poločas úbytku aktivity, doba provozu a produktivita) jsou identické jako v příkladu 1.1.

Příklad 1.3

Srovnávací příklad

Tento příklad odpovídá obecnému příkladu 1, to znamená, že glukózový roztok neobsahuje podle vynálezu přídavek oxidu křemičitého, ani glukózový roztok se nevedl sloupcem plněným výlisky z oxidu křemičitého nebo alumosilikátu.

Dosáhnou se tyto výsledky:

Poločas úbytku aktivity	670 h
Doba provozu až do zbytkové aktivity 20 %	1700 h
Produktivita po 1700 h	12500 kg sušiny s obsahem 46,5 % hmotnostních fruktózy na 1 kg katalyzátoru.

Příklad 2

Za účelem napodobení zastavení provozu se příklady 1.1, 1.2 a 1.3 opakuji s tím rozdílem, že se po 300 provozních hodinách přeruší průtok roztoku glukózy bez změny reakční teploty na dobu 3 hodin. Dosáhnou se tyto výsledky:

Příklad 2.1.

Proti příkladu 1.1 se neprojeví žádné změny.

Příklad 2.2

Po opětovném zahájení průtoku poklesne aktivita katalyzátoru z 81 na 64 %, vztaženo na počáteční aktivitu, co odpovídá relativní ztrátě aktivity 21 %. U ostatních parametrů se dosáhne těchto konečných výsledků:

Poločas úbytku aktivity	800 h
Doba provozu až do zbytkové aktivity 20 %	2900 h
Produktivita po 2900 h	19200 kg sušiny s obsahem 46,5 % hmotnostních fruktózy na 1 kg katalyzátoru.

Příklad 2.3

V tomto příkladu po opětovném zahájení průtoku poklesne aktivita katalyzátoru ze 75 na 59 %, vztaženo na počáteční aktivitu, co odpovídá relativní ztrátě aktivity 21 %. Konečné výsledky ukazují tyto hodnoty:

Poločas úbytku aktivity	480 h
Doba provozu až do zbytkové aktivity 20 %	1300 h
Produktivita po 1300 h	9600 kg sušiny s obsahem 46,5 % hmotnostních fruktózy na 1 kg katalyzátoru.

Příklady ukazují, že se podle vynálezu může docílit rovněž tak dobrého zvýšení produktivity, jako při pracovním postupu podle německého spisu DE-C-31 48 603, avšak při pracovním postupu podle vynálezu za přerušování provozu ani konstantní udržování teploty v reaktoru nemá za následek poškození aktivity katalyzátoru.

Ke znázornění příkladů jsou zobrazeny následující diagramy poklesu aktivity (obr. 1) stejně jako vývoj produktivity (obr. 2 a 3), vždy v závislosti na provozní době. Na všech diagramech je na ose x vynesena provozní doba v hodinách. Na ose y je vynesena na obr. 1 aktivita v % a na obr. 2 a 3 produktivita v tunách (t) sušiny (TS) na kilogram katalyzátoru. Naměřené hodnoty pro jednotlivé křivky jsou znázorněny takto:

Příklady 1.1, 1.2 a 1.3	označeno:	● ————— ●
Příklad 1.3	označeno:	× ————— ×
Příklad 2.2	označeno:	● ————— ●
Příklad 2.3	označeno:	× ————— ×

P R E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Způsob výroby roztoku obsahujícího glukózu a fruktózu, reakcí roztoku obsahujícího glukózu na katalyzátoru s glukózoisomerázovou aktivitou vyrobeném na bázi SiO_2 -nosiče, vyznačující se tím, že se k roztoku glukózy přidá 30 až 80 ppm oxidu křemičitého rozpustného ve vodě.

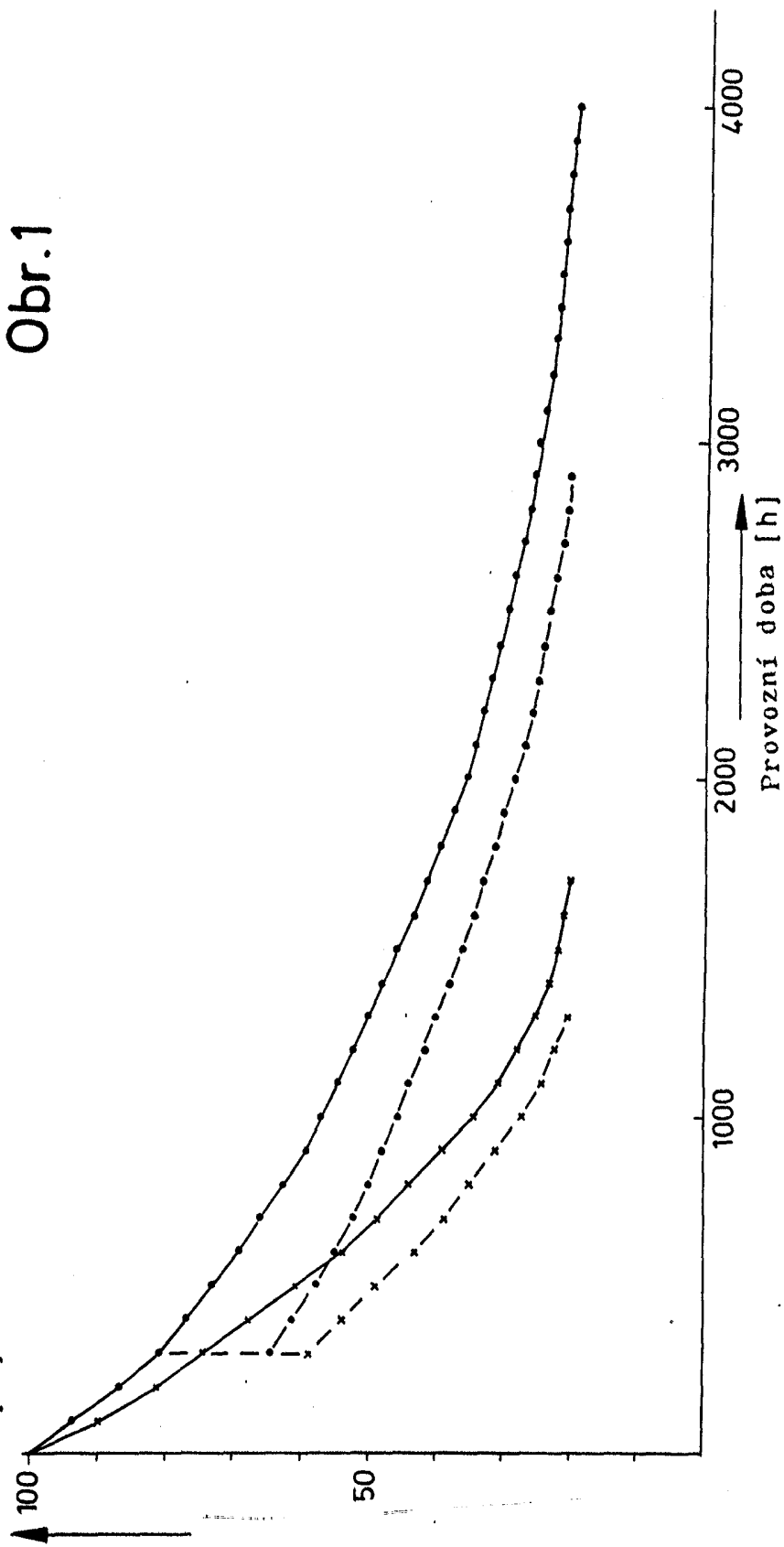
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se k roztoku glukózy přidá oxid křemičitý ve formě vodního skla, výhodně sodného vodního skla.

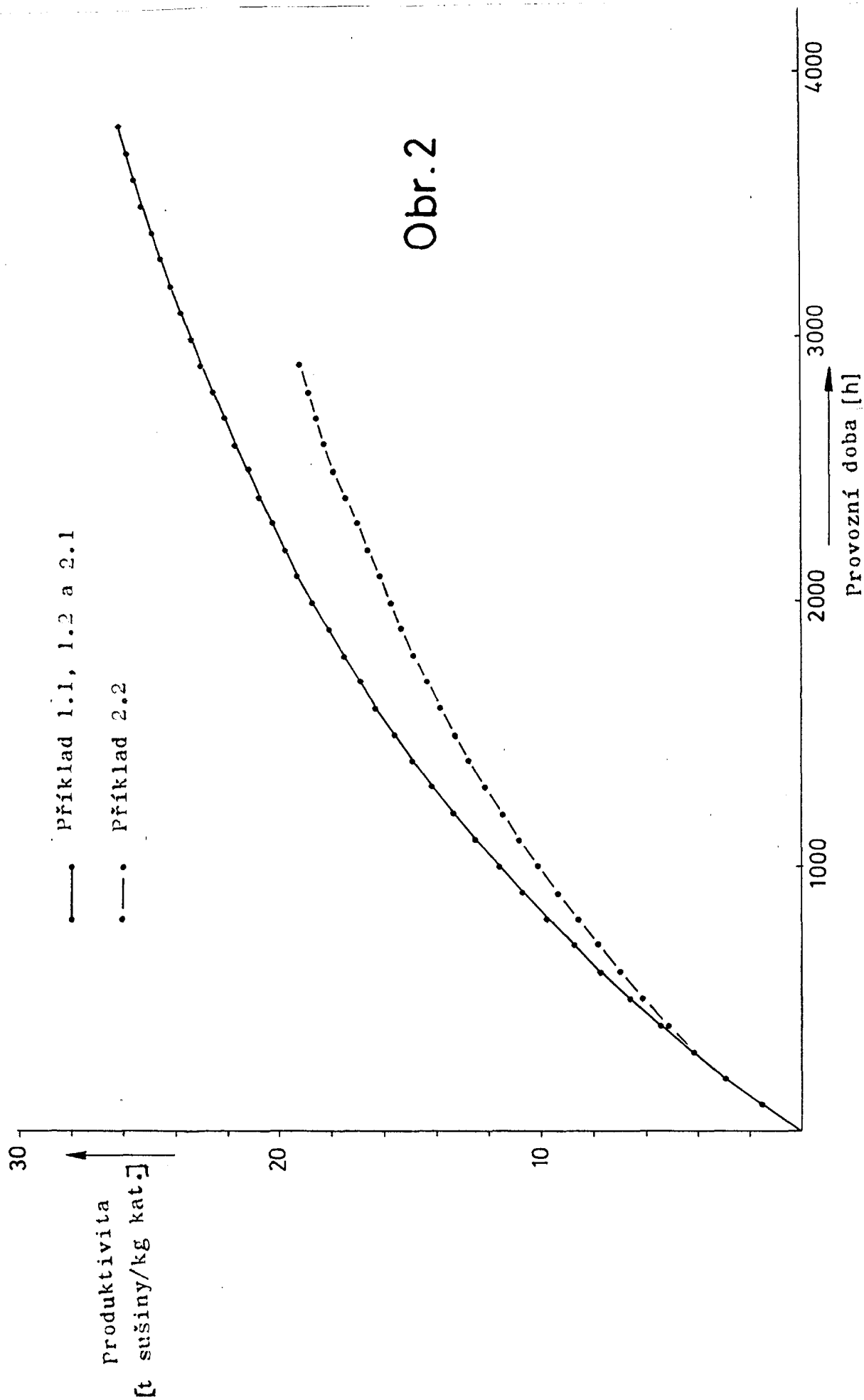
3 výkresy

- Příklad 1.1, 1.2 a 2.1
- Příklad 2.2
- x— Příklad 1.3
- x— Příklad 2.3

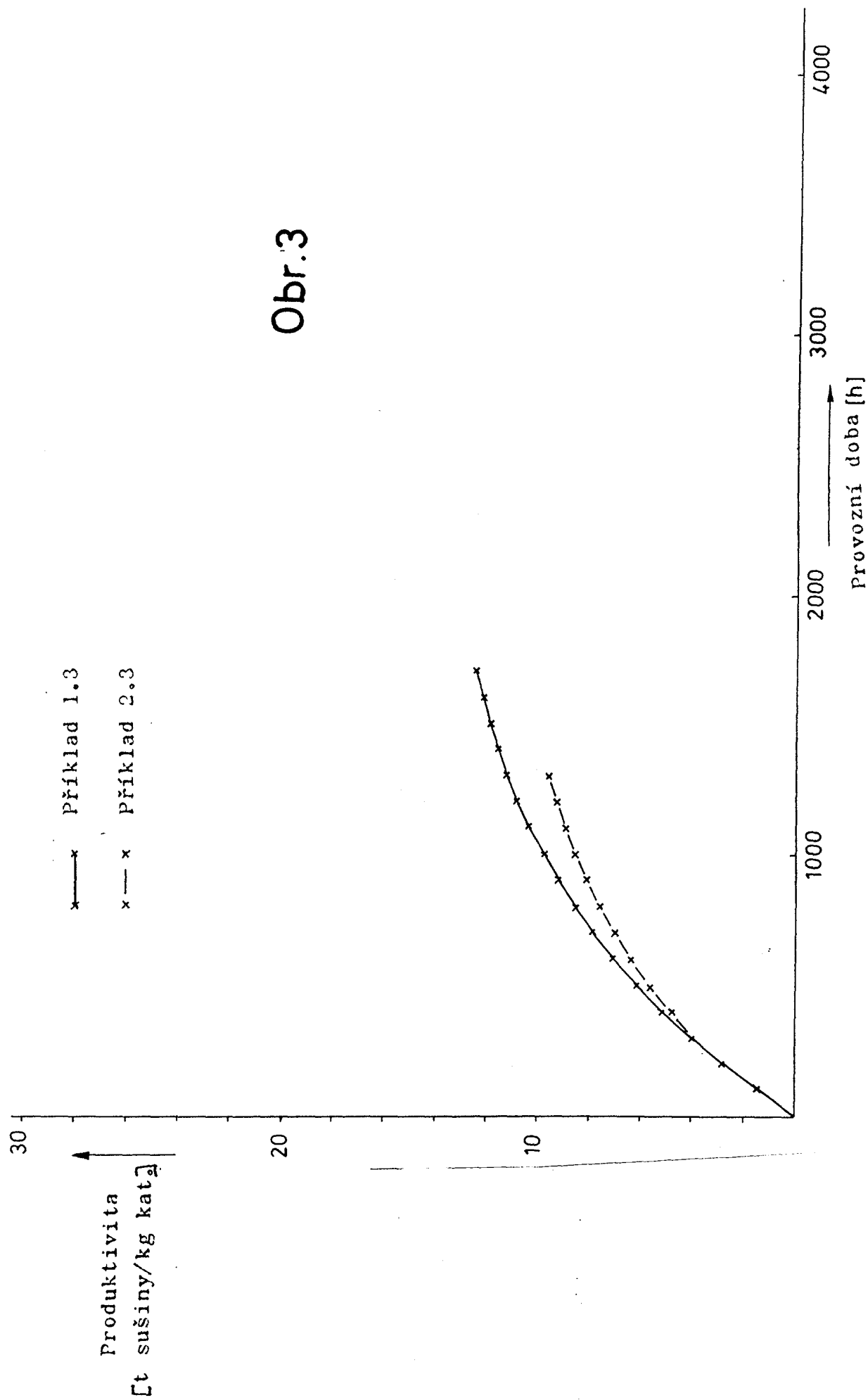
Aktivita [%]

Obr.1





CS 271 310 B2



Obr. 3