

337099

P.- 34.287

R 9360

21 FEB 1967



MEMORIA DESCRIPTIVA
para solicitar
P A T E N T E D E I N V E N C I O N
en
E S P A Ñ A
por VEINTE años

a nombre de LAEVOSAN-GESELLSCHAFT Chem. pharm. Industrie
Franck & Dr. Freudl, sociedad en comandita austriaca, es
tablecida en Franckstrasse 2, Linz, Austria, por:
"PROCEDIMIENTO PARA LA SEPARACION TECNICA DE MEZCLAS DE
AZUCARES"

El invento se refiere a un procedimiento para la se
paración técnica de mezclas de azúcares, especialmente de
glucosa y fructosa (azúcar invertido), de una manera bara
ta y exacta, hasta ahora no lograda.

5

Ya son conocidos diversos procedimientos para la se
paración de mezclas técnicas de azúcares. Estos procedimien
tos pueden ser divididos en principio en dos grandes gru
pos; mientras que, según uno de los grupos, o la mezcla de
azúcares es convertida en distintos derivados de azúcares,
que pueden ser separados después por cristalización fra--

10



ccionada o similar, el otro grupo de procedimientos consiste en la separación directa de los diversos azúcares mediante distintas velocidades de adsorción, o mediante adsorciones de distinta intensidad en materiales sólidos, o también a causa de la diferencia de otras constantes físicas.

Mientras que el trabajo según el primer grupo de procedimientos parece en principio complicado, la separación propiamente dicha se puede realizar cuantitativamente mejor, porque las diversas constantes físicas de los tipos de azúcar, que se han de aprovechar para la separación de las mezclas de azúcares, están aún más distanciadas por la formación de sus derivados, que las constantes físicas de los azúcares propiamente dichos. Por ello, hay que tener en cuenta que la operación de separación propiamente dicha puede ser realizada de manera más sencilla empleando para ello no los azúcares sino sus derivados, mientras que naturalmente la conversión de los azúcares en sus derivados significa una etapa adicional del procedimiento, lo cual hace necesario a su vez, también aparatos adicionales y tiempo adicional de trabajo.

Por lo tanto, no han faltado intentos de mejorar los métodos de separación de las diversas mezclas de azúcares.

En los últimos tiempos, se han hecho conocer ahora diversos procedimientos, según los cuales se podían realizar de manera más favorable los métodos de separación de las diversas mezclas de azúcares. Estos procedimientos se basan generalmente en que los azúcares pueden ser separados por adsorción fraccionada en resinas intercambiadoras de iones, que pueden estar también presentes en su forma

337099



de sal, no teniendo lugar ninguna reacción química entre las resinas intercambiadoras de iones y los azúcares.

5 Aunque estos procedimientos proporcionan indudablemente diversas ventajas, con relación a los procedimientos hasta ahora conocidos, consiste su desventaja sobre todo en que para una acción de separación suficiente son necesarias columnas relativamente largas y grandes cantidades de intercambiador.

10 Ahora, el objeto del presente invento es crear un procedimiento para la separación técnica de mezclas de azúcares, que es de realización sencilla y logra una buena acción de separación con columnas relativamente cortas y pequeño volumen de las columnas; con las restantes condiciones comparables, la acción de separación es aproximadamente 6 veces mayor que en los procedimientos hasta ahora conocidos.

15 En efecto, se ha comprobado sorprendentemente que se pueden separar distintas mezclas de azúcares de una manera sencilla hasta ahora no lograda, aprovechando para la separación la diferente velocidad de formación o la estabilidad hidrolítica de derivados de azúcares, especialmente de las hidrazonas de los diversos azúcares, estando unidos el participante de la reacción y los productos de reacción resultantes a materiales de soporte insolubles.

25 Por lo tanto, el objeto del presente invento es un procedimiento para la separación técnica de mezclas de azúcares, especialmente de glucosa y fructosa (azúcar invertido), que está caracterizado, porque se ponen en contacto las soluciones acuosas o alcohólico-acuosas de los azúcares con materiales de soporte insolubles, preferiblemente

30



porosos, que están cargados con una sustancia reactiva, que contiene, junto con un grupo adherido al soporte homopolarmente o heteropolarmente, también al menos un grupo libre que puede realizar con una molécula de azúcar una reacción química del tipo de la formación de hidrazona de azúcar, y los azúcares son después separados fraccionadamente de los compuestos adheridos al material de soporte así formados.

Resultan evidentemente derivados de azúcares con diferente estabilidad, en los que los grupos libres de la sustancia reactiva reaccionan con los grupos aldehídicos o cetónicos o con el hidroxilo glicosídico del azúcar, igual que las bien conocidas hidrazonas de azúcar. A diferencia de éstas, el compuesto resultante está fijado al soporte insoluble. Similarmente a éstas, está en equilibrio con sus productos de hidrólisis, a saber azúcar e hidrazina, según la estabilidad hidrolítica, diferente para cada uno de los azúcares presentes.

Utilizando columnas rellenas con sustancia activa es posible, aprovechando la diferente estabilidad de los productos de reacción de los diferentes azúcares, separar de manera satisfactoria incluso los que tienen solo pequeñas diferencias de estabilidad, y obtenerlos en fracciones separadas de eluato en forma pura o enriquecida.

Los azúcares resultan en este caso en soluciones prácticamente exentas de impurezas, ya que los materiales reactivos y los compuestos intermedios se presentan en forma insoluble. Las fracciones contienen -

337099



generalmente los azúcares en solución relativamente con
centrada, a partir de la cual se pueden cristalizar de
manera usual después de concentrar sin ulteriores opera
ciones de purificación.

5 Se ha mostrado, que se puede mejorar esencialmen
te la acción separadora de una columna, y se puede dis-
minuir el volumen de elución, cuando la resina además de
con iones hidrazina está cargada también con iones H^+ en
cantidades aproximadamente equimolares.

10 Como materiales de soporte se consideran intercam
biadores de iones y agentes de adsorción, siempre que se
puedan poner en una unión suficientemente fuerte con la
sustancia reactiva y sean suficientemente porosas, para
15 permitir la difusión de las soluciones de azúcar que han
de ser separadas en el interior de los granos. Preferible
mente se emplean intercambiadores de cationes fuertemen-
te ácidos, cargados con hidrazina.

20 Según el tipo de la sustancia reactiva y del azú-
car, la separación cromatográfica puede tener lugar a tem
peratura normal, disminuída o aumentada, o utilizando tem
peraturas crecientes de manera escalonada, o crecientes
de manera continua. La temperatura es de importancia deci
siva en el presente procedimiento, ya que la velocidad de
reacción y la posición del equilibrio hidrolítico dependen
25 de la misma.

30 Las fracciones de los diversos azúcares pueden ser
cristalizadas a partir de un disolvente apropiado después
de concentrar o separar el agua por destilación. Las aguas
madres pueden ser devueltas al procedimiento, con lo cual
se puede lograr un rendimiento prácticamente total.

337099



Los siguientes ejemplos deben explicar aún más el presente invento, sin que éste deba estar limitado sin embargo por los mismos.

5 Ejemplo 1.- Separación de glucosa y fructosa de
azúcar invertido en intercambiadores de cationes satura-
dos con hidrazina.

10 En un tubo de vidrio con un diámetro interior de 33 mm y 2 m de longitud se introducen 1,6 litros de inter-
cambiador de cationes DUOLITE C 27 (resina de poliestire-
no porosa, grupo activo SO_3H), y se convierte primeramen-
te en la forma de H^+ con ácido clorhídrico, después de -
trata con solución de hidrazina 2 M, hasta obtener una -
descarga alcalina, y subsiguientemente se lava con agua
15 hasta quedar neutro, Mediante una envolvente de caldeo, a
través de la cual se bombea el agua de circulación de un
termostato, se mantiene en 65°C la temperatura de la co-
lumna. De la misma manera, se calienta el fluido que en-
tra en la columna. Por medio de la bomba de dosificación
se introducen por la parte superior de la columna 460 ml
20 de solución de azúcar invertido al 50% en peso/volumen,
correspondiendo a 115 g de cada uno de los azúcares glu-
cosa y fructosa, a una velocidad de 15,5 ml/minuto. Sub-
siguientemente, se eluye a la misma velocidad con agua -
destilada. Aparecen primeramente 720 ml de una fracción
25 de cabezas exenta de azúcares, que es desechada. Las si-
guientes fracciones, cada una de 160 ml, (1/10 del volu-
men de la columna) son recogidas separadamente, y en ellas
se determina el contenido de azúcar por rotación y refra-
cción.

30

337099



TABLA DE LAS FRACCIONES

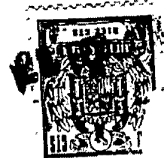
	Fracción	Azúcar total	Fructosa	Glucosa
	nº	%	%	%
5	1	7,9	7,0	0,9
	2	24,1	23,5	0,6
	3	29,0	25,0	4,0
	4	17,7	12,25	5,5
	5	11,2	3,2	8,0
10	6	9,3	0,7	8,5
	7	8,1	0,1	8,0
	8	7,0	0,05	7,0
	9	5,9	--	5,9
	10	5,8	--	5,8
15	11	3,9	--	3,9
	12	3,2	--	3,2
	13	2,8	--	2,8
	14	1,8	--	1,8
	15	1,1	--	1,1

20

Las fracciones 1 a 4, que contienen la cantidad principal de la fructosa, son reunidas, concentradas y cristalizadas a partir de metanol de la manera usual. A partir de las aguas madres de la primera cristalización se puede obtener una nueva tanda o cantidad. Ambos cristalizados, son absolutamente blancos, después de lavar con metanol y consisten en fructosa pura (α / D = -92°, c=10). Rendimiento = 65 g. Las aguas madres remanentes están coloreadas solo débilmente y pueden ser de vueltas sin más el procedimiento.

30

337099



También, a partir de las fracciones 5 a 15, se obtuvieron 53 g de glucosa pura ($\alpha/_{D}^{20} = +52,5^{\circ}$, $c = 10$). También las aguas madres de glucosa pueden ser devueltas al procedimiento.

5 Ejemplo 2.- Separación de glucosa y fructosa de
azúcar invertido en intercambiadores de cationes que con
tienen iones H^{+} además de hidrazina. En la columna del ejem
10 plo 1 se regeneraron primeramente con ácido 1,6 litros de
DUOLITE C 27, seguidamente se vació la resina lavada has-
ta quedar neutra, y se agitó ligeramente durante una media
hora con una solución de 65 g (= 2 moles) de hidrazina en
aproximadamente 3 litros de agua. De esta manera, se satu-
raron con hidrazina aproximadamente la mitad de los grupos
15 ácidos contenidos en la resina. El resto permanece en la
forma H^{+} . Entonces, la columna es llenada de nuevo con la
resina previamente tratada y es acondicionada a $65^{\circ}C$. Igual
que en el Ejemplo 1, se añadieron 460 ml de solución de
azúcar invertido al 50% en peso/volumen a 15,5 ml/minuto,
y subsiguientemente se eluyó con agua a la misma veloci-
20 dad. Primeramente aparecieron 845 ml de una fracción de
cabezas exenta de azúcar. Subsiguientemente se recogieron
fracciones de 160 ml.

TABLA DE LAS FRACCIONES :

25

Fracción	Azúcar total	Fructosa	Glucosa
nº	%	%	%
1	9,2	8,5	0,7
2	25,9	24,5	1,4
30	29,0	25,4	3,6

17.2.67

- 8 - 337099



	4	25,4	11,8	13,6
	5	20,5	1,0	19,5
	6	15,1	--	15,1
	7	9,3	--	9,3
5	8	6,0	--	6,0
	9	3,3	--	3,3
	10	1,6	--	1,6
	11	0,4	--	0,4
	12	0,1	--	0,1

10

A partir de las fracciones 1 a 3, por cristalización a partir de metanol y cristalización ulterior a partir de las aguas madres igual que en el Ejemplo 1, se pudieron obtener 75 g de fructosa pura, y a partir de las fracciones 4 a 12, 79 g de glucosa pura.

15

Ejemplo 3.- Separación de fructosa y galactosa en intercambiador de cationes que contiene iones H⁺ además de hidrazina. La ejecución igual que en el Ejemplo 2, pero se cargaron 460 ml de una solución que contenía 25% en peso/volumen de fructosa y 25% en peso/volumen de galactosa. Después de 870 ml de una fracción de cabezas exenta de azúcar se recogieron fracciones de 160 ml (1/10 del volumen de la columna)

20

25

TABLA DE LAS FRACCIONES

Fracción	Azúcar total	Fructosa	Galactosa
nº	%	%	%
1	16,9	14,7	2,2

30

337099



	2	32,8	26,7	6,1
	3	30,6	22,8	7,8
	4	17,0	7,3	9,7
	5	9,7	0,8	8,9
5	6	7,5	--	7,5
	7	5,8	--	5,8
	8	3,7	--	3,7
	9	2,8	--	2,8
	10	2,6	--	2,6
10	11	2,4	--	2,4
	12	1,6	--	1,6
	13	1,1	--	1,1
	14	0,5	--	0,5
	15	0,3	--	0,3
15				

A partir de las fracciones 1 a 3 por cristalización a partir de metanol y cristalización ulterior a partir de las aguas madres, igual que en el Ejemplo 1, se pudieron obtener 51 g de fructosa pura. Las fracciones 4 a 15 dieron 66,5 g de galactosa cristalizada pura (α/α $\frac{20}{D} = + 79,5^\circ$, $c = 10$).

Ejemplo 4.- Separación de sorbitol y glucosa en intercambiador de cationes, que contiene iones H^+ además de hidrazina.

La ejecución como en el Ejemplo 2, pero se cargaron 460 ml de una solución que contenía 25% en peso/volumen de sorbitol y 25% en peso/volumen de glucosa. Después de 805 ml de una fracción de cabeza exenta de azúcar, se recogieron fracciones de 160 ml.

337099



TABLA DE LAS FRACCIONES

	Fracción	Azúcar total	Sorbitol	Glucosa
	nº	%	%	%
5	1	10,1	10,1	--
	2	24,5	24,5	--
	3	25,1	23,6	1,5
	4	11,4	8,8	2,6
	5	16,8	1,6	15,2
10	6	22,4	--	22,4
	7	16,7	--	16,7
	8	10,8	--	10,8
	9	7,1	--	7,1
	10	4,7	--	4,7
15	11	2,5	--	2,5
	12	1,8	--	1,8
	13	1,0	--	1,0
	14	0,7	--	0,7

20 A partir de las fracciones 1 a 4, por cristalización a partir de metanol y cristalización ulterior a partir de las aguas madres, igual que en el Ejemplo 1, se obtuvieron 87,3 g de sorbitol puro ($n_D^{20} = -2,02$), y a partir de las fracciones 5 a 14 se obtuvieron 85,3 g de glucosa pura.

25 Ejemplo 5.- Separación de glucosa y fructosa a partir de azúcar invertido a 40°C en intercambiadores de cationes cargados la mitad con H⁺ y la mitad con iones hidrazina.

30 Tres litros de intercambiador de cationes DUOLITE C

337099



25 son puestos en la forma H⁺ de la manera usual con ácido clorhídrico (capacidad total : 1,7 milivalentes/ml), y la resina, lavada hasta quedar neutra, fue agitada con una solución de 81,5 g (=2,55 moles) de hidrazina en aproximadamente 5 litros de agua. La resina cargada es colocada en dos tubos de vidrio con 33 mm de diámetro interior y 2 m de longitud, y éstos son conectados en serie, estando unido el fondo del primer tubo con la parte superior - del segundo tubo. Entonces se acondiciona a 40°C mediante la envolvente de caldeo. Similarmente al Ejemplo 1, se añaden 500 ml de solución de azúcar invertido al 50% en peso/peso (=62% en peso/volumen) a 15,5 ml/minuto, y subsiguientemente se eluye con agua a la misma velocidad. En primer lugar aparecen aproximadamente 1800 ml de una fracción de cabezas exenta de azúcar. Subsiguientemente se recogen - fracciones de 150 ml.

TABLA DE LAS FRACCIONES :

Fracción nº	Azúcar total	Fructosa	Glucosa
	%	%	%
1	2,9	2,5	0,4
2	8,7	7,8	0,9
25 3	16,9	15,3	1,6
4	23,8	21,0	2,8
5	26,0	21,7	4,3
6	25,0	18,4	6,6
7	22,6	14,1	8,5
30 8	18,9	9,1	9,8



	9	14,7	4,7	10,0
	10	11,8	2,0	9,8
	11	9,7	0,2	9,5
	12	8,2	--	8,2
5	13	7,5	--	7,5
	14	6,4	--	6,4
	15	5,4	--	5,4
	16	5,0	--	5,0
	17	4,3	--	4,3
10	18	3,9	--	3,9
	19	3,2	--	3,2
	20	2,65	--	2,65
	21	1,9	--	1,9

15 A partir de las fracciones 1 a 7 por cristalización a partir de metanol y cristalización ulterior de las aguas madres, igual que en el Ejemplo 1, se obtienen 90,7 g de fructosa pura, y a partir de las fracciones 8 a 21 se obtienen 111,6 g de glucosa pura.

20 Ejemplo 6.- Obtención de lactulosa pura a partir de concentrados de lactulosa.

a) Obtención del concentrado de lactulosa (modificada de acuerdo con Montgomery: J. Am. Chem. Soc. 52, - 2101/1930/)

25 Se disuelven, a 35°C, 2000 g de lactosa bajo vigorosa agitación en 10 litros de solución acuosa saturada de cal (aproximadamente 0,05 N), y se mantiene a la solución transparente durante 48 horas a esta temperatura. La solución coloreada de pardo es liberada de la cantidad principal de la cal por introducción de dióxido de carbono, es

30

337099



filtrada después de añadir carbón activo, y es liberada completamente de sal mediante el intercambiador de lecho mixto. La solución, ahora transparente o incolora, es concentrada en vacío para obtener un jarabe. Después de reposar durante 24 horas, cristaliza la cantidad principal de la lactosa que no se ha transformado. Esta es filtrada en aparato de succión y es lavada con un poco de agua. El filtrado, que contiene sobre todo lactulosa, es concentrado en vacío hasta 75% en peso/peso. Después de reposar durante varios días, esta solución puede ser separada por filtración con succión de una nueva cantidad de cristalizado de lactosa. El jarabe resultante, incoloro y de sabor dulce, muestra una rotación específica $[\alpha]_D^{20} = -21,02$, y contiene en la sustancia seca aproximadamente 60% de lactulosa, 15% de galactosa y 10% de lactosa. El resto lo constituyen varios otros azúcares no identificados con más detalle ó precisión.

Rendimiento: 580 g de jarabe al 70%, que corresponde a 405 g de sustancia seca. A partir de la mezcla no se puede obtener mediante los métodos usuales ninguna lactulosa cristalizada.

b) Separación y obtención de la lactulosa pura:

3 litros de intercambiador de cationes IMAC C 16 p (poliestireno con grupos SO_3H libres, suministrado por la firma IMACTI, Amsterdam), en la forma de Na, son introducidos, a partes iguales, en dos tubos de vidrio conectados uno detrás de otro, cada uno de 33 mm de diámetro interior y 2 m de longitud, son tratados con una solución de 1,46 kg (=18 moles) de sulfato de hidrazina primario en 10 litros de agua, y después son lavados con agua hasta quedar



exentos de hidrazina. La absorción de hidrazina es de 2,1 moles de hidrazina por litro de lecho de resina. Por concentración del líquido de regeneración, y mezclado con mucha cantidad de ácido sulfúrico, se puede recuperar la hidrazina empleada en exceso en forma de sulfato secundario difícilmente soluble.

Las columnas son entonces acondicionadas a 40°C mediante una envolvente de caldeo. Igual que en el Ejemplo 1, se añaden 360 ml del concentrado de lactulosa diluido hasta 36% en peso/peso (= 42% en peso/volumen) a una velocidad de 15,5 ml/min., y subsiguientemente se eluye con agua a la misma velocidad. En primer lugar aparecen 1500 ml de una fracción de cabezas exenta de azúcar. Subsiguientemente se recogen fracciones de 150 ml. A partir de la fracción 12, el volumen de las fracciones es de 500 ml.

TABLA DE LAS FRACCIONES

Fracción	Milímetros	Azúcares totales	/α/	
nº		% en peso/volumen		
	1	150	7,4	-37,4
	2	150	18,3	-38,5
	3	150	23,8	-39,8
25	4	150	15,2	-40,1
	5	150	7,4	-35,3
	6	150	4,0	-25,0
	7	150	2,4	-19,1
	8	150	1,6	0
30	9	150	1,1	0

337099



	10	150	0,9	0
	11	150	0,9	0
	12	500	0,7	+35,0
	13	500	0,6	+44,0
5	14	500	0,4	+70,0
	15	500	0,3	+76,0

10 Las fracciones 1 a 5 contienen la cantidad principal de la lactulosa empleada. Son concentradas conjuntamente en vacío hasta un jarabe denso y son recogidas en metanol caliente hasta un volumen total de 250 ml. Después de sembrar por inoculación; cristaliza abundantemente, a partir de esta solución, lactulosa en forma de cristalizado incoloro, denso y arenoso. Rendimiento: 15 62,5 g (corresponde a aproximadamente 70% de la lactulosa empleada).

20 Después de recrystalizar a partir de metanol acuoso, se obtienen 54,6 g de lactulosa pura $\alpha/ \frac{D}{20} = -51,2^{\circ}$ (c = 10, en agua). Por ulterior cristalización a partir de las aguas madres de las primera y segunda cristalizaciones, se pueden obtener otros 9,7 g de un producto menos puro. Las fracciones 6 a 15 que, además de pequeñas cantidades de lactulosa, contienen una mezcla separada de manera solo incompleta de otros azúcares, son desechadas o conducidas a otra utilización técnica. 25

La presente solicitud que corresponde a la presentada en Austria el 30 de marzo de 1.966, con el núm. A 3002/66 V., se acoge a los beneficios del artículo 51 del Vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

30

17.2.67

- 16 -

337099



N O T A

5 Los puntos de invención propia y nueva que se presen
tan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de In
vención en España por VEINTE años son los siguientes:

10 1.- Procedimiento para la separación técnica de mez-
clas de azúcares, caracterizado porque las soluciones acuo-
sas o alcoholico-acuosas de los azúcares son puestas en con-
tacto con materiales de soporte insolubles, preferiblemente
porosos, que están cargados con una sustancia reactiva, que,
además de un grupo que se adhiere homopolarmente o heteropo-
larmente al soporte, contiene también al menos un grupo li-
bre, que puede realizar con una molécula de azúcar una rea-
15 cción química del tipo de la formación de hidrazona de azú-
car, y los azúcares son después separados fraccionadamente de
los compuestos así formados, adheridos al material de sopor-
te.

20 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracte-
rizado porque como sustancia reactiva, que está fijada al
soporte, se utiliza hidrazina o un derivado de hidrazina, y
la separación fraccionada se realiza por hidrólisis,

25 3.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2,
caracterizado porque como soporte se utilizan resinas inter-
cambiadoras de cationes.

4.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 3,
caracterizado porque el intercambiador de cationes está car-
gado con iones H^+ además de iones hidrazina.

30 5.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4,
caracterizado porque como soporte se utilizan resinas o agen

337099



tes de adsorción neutros, y como sustancias reactivas se utiliza hidrazina o sus derivados, siempre que puedan ser incorporadas en la matriz de la resina, o puedan ser fijadas por el agente de adsorción con suficiente fuerza.

5

6.- Procedimiento según una o varias de las precedentes reivindicaciones, caracterizado porque la temperatura a la que se realiza la separación, se escoge dependiendo del tipo de la mezcla de azúcares que ha de ser separada.

10

7.- Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque para la separación de azúcar invertido se escogen temperaturas entre 40 y 80°C, preferiblemente de 65°C.

15

8.- Procedimiento según una o varias de las precedentes reivindicaciones, caracterizado porque la separación se lleva a cabo a través de una columna de material cargado.

20

9.- Procedimiento para la separación técnica de mezclas de azúcares.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de dieciocho hojas escritas a máquina por una sola cara.

21 FEB 1967

Madrid.

P.A.

Alberto de Elzaburu
Por Poderes

337099

PBG.

17.2.67