

432,091

Int. No.	C13K
----------	------

CONCEDIDA
11 MAYO 1976

NUMERO 432.091

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un...

PRIMER CERTIFICADO DE ADICCIÓN

SOLICITANTE: STANDARD BRANDS INCORPORATED

RESIDENCIA: 625 Madison Avenue, NEW YORK, New York,
Estados Unidos.

ENUNCIADO: MEJORAS INTRODUCIDAS EN EL OBJETO DE
LA PATENTE PRINCIPAL Nº 415.711 POR:
UN PROCEDIMIENTO PARA CONVERTIR ENZI
MATICAMENTE GLUCOSA EN FRUCTOSA.

Prioridad: Patente estadounidense n.º 417.027 del 19-11-73
l. a.

1 Esta invención se refiere a un procedimiento para
convertir enzimáticamente una porción de la glucosa en una
solución que contiene glucosa en fructosa y es una modifica-
ción de la invención descrita y reivindicada en nuestra so-
5 licitud de patente copendiente nº 415.711.

Existen muchos procedimientos conocidos en la técni-
ca para producir soluciones que contienen fructosa. Estos
procedimientos pueden ser agrupados en tres amplias cate-
gorías, todas las cuales están descritas en nuestra solicitud
10 de patente copendiente nº 415.711.

Debido a la economía implicada en la producción de
glucosa-isomerasa, es de la máxima importancia utilizar la
isomerasa bajo condiciones en las que se produzcan rendimien-
tos máximos de fructosa utilizando cantidades mínimas de glu-
15 cosa-isomerasa. Además, las condiciones para la isomeriza-
ción deben ser tales que se produzcan cantidades mínimas de
subproductos objetables.

Fundamentalmente la glucosa-isomerasa es producida
intracelularmente por varios microorganismos. Así, la por-
20 ción principal de la glucosa-isomerasa se encuentra dentro
de las paredes de las células de los microorganismos y/o so-
bre dichas paredes. Normalmente, cuando se utilizan estas cé-
lulas para isomerizar la glucosa a fructosa, durante la iso-
merización es liberada o extraída de las células la isomera-
25 sa. Cuando la isomerasa es liberada o extraída de las células,
está esencialmente solubilizada. Constituiría un procedimien-
to bastante costoso y complicado recuperar la isomerasa solu-
bilizada de manera que pudiera ser utilizada en otra reacción
de isomerización.

30 En un artículo titulado "A Continuous Glucose Iso-

1 merization Method by an Adsorbed Enzyme Column" by Tsumura
y colaboradores, publicado en Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi
14, (12) 1967, la glucosa-isomerasa derivada del Streptomyces
2 phaeochromogenes estaba combinada a DEAE-~~Septadex~~. Este
5 enzima combinado se coloca en una columna y se pasa continua-
mente a través de la misma una solución de glucosa. Cuando
la glucosa se pone en contacto con el enzima combinado, se
produce continuamente fructosa. Aunque el procedimiento des-
crito en este artículo aparentemente constituye una solución
10 parcial al problema de reutilizar la glucosa-isomerasa, se
llevó a cabo a una escala tan pequeña que los parámetros del
proceso no son aplicables a la práctica comercial. Por lo tan-
to sería difícil, si no prácticamente imposible, reducir es-
te proceso a escala comercial y producir una solución conte-
15 niendo glucosa-fructosa de calidad aceptable.

En la patente estadounidense nº 3.708.397 de Sipos
se indica que la glucosa-isomerasa derivada del Streptomyces
20 phaeochromogenes puede ser inmovilizada sobre resinas básicas
cambiadoras de anión tales como las celulosas DEAE, TEAE y
ECTEOLA. Existe la necesidad de un proceso continuo para
isomerizar enzimáticamente la glucosa a fructosa.

En nuestra solicitud de patente nº 415.711 se descri-
be y reivindica un procedimiento para la conversión enzimá-
tica de glucosa en fructosa, procedimiento que consiste en
25 formar una solución de glucosa, con una viscosidad compendi-
da entre 0,5 y 100 centipoises, un pH comprendido entre 6 y
9 y conteniendo de 5 a 80 % en peso de glucosa, mantener di-
cha solución a una temperatura comprendida entre 20 y 80°C
30 mientras se hace pasar la solución a través de un lecho de
glucosa-isomerasa combinada con una actividad de glucosa-

1 isomerasa de 3 IGIU como mínimo por centímetro cúbico de le-
cho y un valor de la estabilidad de 50 horas como mínimo, a
un caudal tal que alrededor del 54 % de glucosa se convierte
5 en fructosa, el color de la solución convertida aumenta en
menos de dos unidades de color y no hay producción sustan-
cial de psicosa.

Esta invención es una modificación de la de la soli-
citud de patente nº 415.711, en la que las partículas de glu-
cosa-isomerasa combinada están combinadas a una celulosa sin-
10 tética cambiadora de anión y mantenidas en suspensión.

De acuerdo con este invento, se proporciona un proce-
dimiento para convertir enzimáticamente la glucosa en fructo-
sa que consiste en introducir continuamente una solución de
glucosa, con una viscosidad de 0,5 a 100 centipoises aproxi-
15 madamente, un pH comprendido aproximadamente entre 6 y 9,
una temperatura de 20 a 80°C aproximadamente y conteniendo
alrededor de 5 a 80 % en peso de glucosa, en una zona que con-
tiene partículas de glucosa isomerasa combinada, selecciona-
da entre el grupo formado por glucosa-isomerasa combinada a
20 una celulosa cambiadora de anión y glucosa-isomerasa combina-
da a una resina sintética cambiadora de anión, con lo que las
partículas de la glucosa-isomerasa combinada se mantienen en
suspensión y hasta el 54 % de la glucosa se convierte en fruc-
tosa, el color de la solución convertida aumenta en menos de
25 dos unidades de color y no hay producción sustancial de psico-
sa y retirar dicha solución convertida de la citada zona a
una velocidad prácticamente equivalente a la velocidad de in-
troducción de la solución de glucosa en dicha zona, caracte-
rizándose las partículas de glucosa combinada por tener una
30 actividad de glucosa-isomerasa de 3 IGIU como mínimo por

1 centímetro cúbico cuando se rellenan en un lecho y un valor
de la estabilidad de 50 horas como mínimo.

5 Varios términos y expresiones utilizados en lo que
antecede y en la siguiente discusión y en los ejemplos están
definidos en nuestra solicitud de patente copendiente número
415.711.

10 El mantenimiento de las partículas de glucosa-isome-
rasa combinada en suspensión puede realizarse por cualquier
forma conveniente. Por ejemplo, las partículas de glucosa-
isomerasa combinada pueden introducirse en una vasija ade-
cuada con una salida superior y una entrada inferior. En la
salida y en la entrada puede colocarse una rejilla u otro me-
15 dio poroso adecuado. La solución de glucosa es introducida
continuamente en la vasija a través de la entrada inferior
a un caudal y bajo unas condiciones tales que las partículas
de glucosa-isomerasa combinada son fluidificadas y manteni-
das en suspensión en la solución de glucosa. Una porción de
la glucosa en la solución es convertida así en fructosa y la
solución de fructosa se saca a través de la salida superior.

20 Otro método para mantener la glucosa-isomerasa en
suspensión o fluidificada en una solución de glucosa consis-
te en un dispositivo agitador mecánico. Por ejemplo, una va-
sija adecuada puede proveerse de una salida y una entrada y
de un dispositivo agitador. Las partículas de glucosa-isome-
25 rassa combinadas se encuentran en la vasija y la solución de
glucosa es introducida en la vasija mediante un medio de
bombeo adecuado a través de la entrada. El dispositivo agita-
dor mecánico agita la solución de manera que las partículas
de glucosa-isomerasa combinada se mantienen en suspensión.
30 Una parte de la glucosa se convierte en fructosa y esta solu-

1 ción convertida sale por la salida.

El grado de conversión de la glucosa en fructosa depende de muchos factores, tales como el periodo durante el cual la glucosa se mantiene en contacto con la glucosa-isomerasa combinada, la temperatura a la cual se efectúa la reacción, la actividad específica de la glucosa-isomerasa combinada y otros factores.

El procedimiento de esta invención proporciona varias ventajas evidentes. Por ejemplo, proporciona un procedimiento que puede ser puesto en práctica fácil y económicamente en una operación comercial. Además, es extraordinariamente eficiente en cuanto a la utilización de la glucosa-isomerasa y la producción de una solución de fructosa conteniendo color, cenizas y psicosa mínimos. Además, la isomerización puede realizarse continuamente lo que, naturalmente, constituye una evidente ventaja en cualquier operación de manufactura.

Existen muchos métodos conocidos en este campo para la producción de soluciones de glucosa. Por ejemplo, los métodos que actualmente se están practicando a escala comercial implican principalmente la sacarificación del almidón de maíz en glucosa. Estos métodos pueden ser agrupados en tres categorías. La primera es un proceso ácido en el que se emplea una solución ácida diluída para hidrolizar el almidón a glucosa. La segunda es un proceso ácido-enzimático en el que el almidón es licuado por un tratamiento ácido suave y después se emplea un enzima para convertir el almidón licuado en glucosa. La tercera es un proceso enzimático-enzimático en el que se emplean dos tratamientos con enzimas, el primero para licuar el almidón y el segundo para convertir el almidón licuado en glucosa. En el procedimiento de esta invención, se prefiere

1 utilizar una solución de glucosa producida por uno cualquiera
de los dos últimos procedimientos ya que estas soluciones,
en general, contienen mayores cantidades de dextrosa, sobre la
base del peso de la sustancia seca, menores cantidades de áci-
5 dos, menos color y cantidades más pequeñas de oligosacáridos.
La solución de glucosa puede ser refinada, si se desea, por
medios convencionales antes de ser sometida al procedimiento
de esta invención.

La viscosidad de la solución de glucosa debe estar
10 comprendida aproximadamente entre 0,5 y 100 centipoises y pre-
feriblemente debe ser alrededor de 2 a 20 centipoises. Si la
viscosidad de la solución es demasiado alta, será difícil, si
no imposible, mantener las partículas de glucosa-isomerasa
combinada en suspensión.

15 El valor de la estabilidad de la glucosa-isomerasa
combinada debe ser como mínimo de 50 horas, preferiblemente
como mínimo de unas 300 horas y todavía mejor de unas 400 ho-
ras como mínimo.

20 La formación de la glucosa-isomerasa combinada puede
realizarse por cualquier método conveniente siempre que la glu-
cosa-isomerasa combinada tenga las características antes in-
dicadas. Se considera que la glucosa-isomerasa puede ser combi-
nada a una multitud de vehículos inertes. Por ejemplo, la
glucosa-isomerasa puede ser combinada a la DEAE-celulosa (dietil-
25 aminoetilcelulosa) o un material similar, obteniéndose exce-
lentes resultados. Naturalmente, para combinarla, la glucosa-isome-
rasa debe ser separada de las células y no debe haber sus-
tancias interferentes durante la combinación. La combinación puede
realizarse en un medio acuoso o en una solución azucarada,
30 v.g. jarabe de maíz. También la glucosa-isomerasa puede ser

combinada sobre vehículos inertes ya sea junto con material celular o en estado relativamente puro. Pueden ser adecuados para este fin diversos materiales poliméricos pero, naturalmente, la porosidad de estos materiales debe ser tal que permita que la glucosa entre en contacto con la glucosa-isomerasa.

La concentración de glucosa en la solución de glucosa debe estar comprendida aproximadamente entre 5 y 80 % en peso y preferiblemente debe estar comprendida entre 40 y 60 % aproximadamente, sobre la misma base en peso.

El pH de la solución de glucosa debe estar comprendido entre 6 y 9 aproximadamente, de preferencia entre 6,5 y 8 aproximadamente y todavía mejor entre 7 y 7,5 aproximadamente. Es importante mantener el pH de la solución de glucosa dentro de este intervalo durante la reacción de isomerización ya que, si la solución está fuera de estos límites, la isomerasa será rápidamente inactivada y/o se producirán grandes cantidades de subproductos indeseables tales como color y psicosa. En la solución de glucosa puede haber varios iones metálicos activadores y/o estabilizantes de la isomerasa, tales como sales solubles de cobalto, magnesio, etc.

En la Tabla I dada a continuación se reúnen las características esenciales de la solución de fructosa isomerizada producida por el método de esta invención.

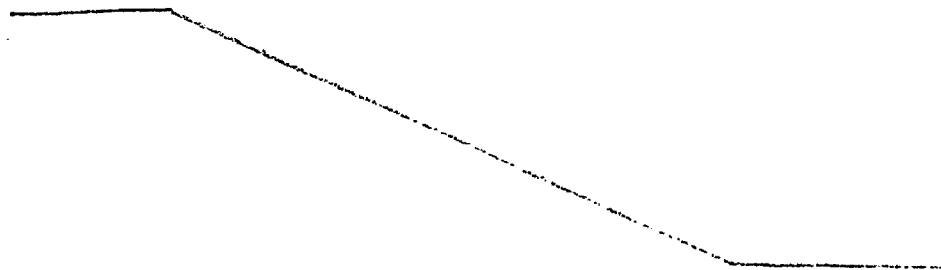


TABLA I

Características de las soluciones que contienen fructosa sin refinar - porcentaje en peso seco

	Glucosa*	Fructosa*	Polisacárido*	Psicosa	Cenizas**	Unidades de color
Intervalo típico	30 a 60	10 a 54	0 a 50	0 a 1	0,1 a 0,5	0 a 0,2
Intervalo preferido	30 a 60	10 a 54	0 a 30	0 a 0,5	0,1 a 0,2	0 a 0,05
Intervalo más preferido	30 a 60	10 a 54	0 a 30	0 a 0,1	0,05 a 0,1	0 a 0,03

* Cantidad de sacárido que depende principalmente del producto deseado.

** Constituidas principalmente por sales metálicas que están presentes durante la isomerización para estabilizar y/o activar la glucosa-isomerasa.

1

5

10

15

20

25

30

1

TABLA I

Características de las soluciones que contienen fructos

	<u>Glucosa</u> [*]	<u>Fructosa</u> [*]	<u>Polisacárido</u> [*]
Intervalo típico	30 a 60	10 a 54	0 a 50
Intervalo preferido	30 a 60	10 a 54	0 a 30
Intervalo más preferido	30 a 60	10 a 54	0 a 30

5

10

^{*} Cantidad de sacárido que depende principalmente del produ
^{**} Constituídas principalmente por sales metálicas que están
lizar y/o activar la glucosa-isomerasa.

15

20

25

30

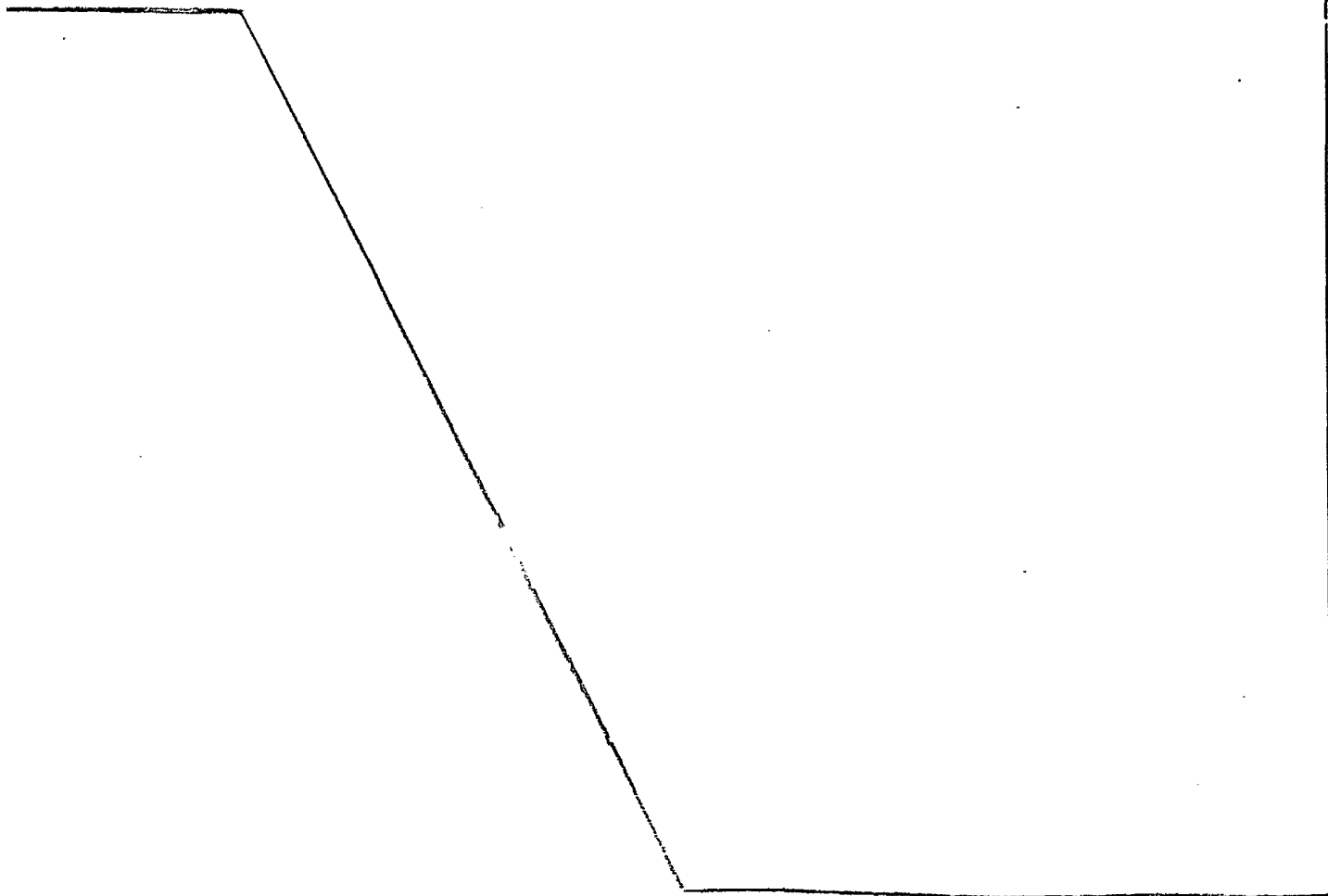
TABLA I

soluciones que contienen fructosa sin refinar - porcentaje en peso seco

<u>*</u>	<u>Fructosa*</u>	<u>Polisacárido*</u>	<u>Psicosa</u>	<u>Cenizas**</u>	<u>Unidades de color</u>
	10 a 54	0 a 50	0 a 1	0,1 a 0,5	0 a 0,2
	10 a 54	0 a 30	0 a 0,5	0,1 a 0,2	0 a 0,05
	10 a 54	0 a 30	0 a 0,1	0,05 a 0,1	0 a 0,03

depende principalmente del producto deseado.

nte por sales metálicas que están presentes durante la isomerización para estabi-
cosa-isomerasa.



1 Con objeto de describir más claramente la naturaleza
de esta invención, describiremos a continuación varios ejem-
plos específicos. Sin embargo, debe entenderse que esto se ha-
ce exclusivamente a título de ejemplo y no se intenta deli-
5 near el alcance de la invención ni limitar el ámbito de las
reivindicaciones del apéndice.

EJEMPLO 1

10 Este ejemplo ilustra el uso de glucosa-isomerasa combi-
nada a una resina sintética porosa, cambiadora de anión, en
un lecho fluidificado para convertir continuamente la glucosa
en fructosa.

15 Se cultiva Streptomyces sp. ATCC 21175 en condiciones
sumergidas aeróbicas y se añade $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y un agente tenso-
activo catiónico (Variquat 50 MC - Varney Chemical Division
of Northern Petrochemical Company) en cantidad suficiente pa-
ra obtener en el caldo resultante 240 ppm y 1600 ppm, respec-
tivamente.

20 El caldo se agita continuamente durante 5 horas mien-
tras se mantiene a 40°C y a un pH de 6,5. Después se enfría
el caldo a unos 15°C y se filtra. El filtrado presenta una ac-
tividad de glucosa-isomerasa de 11,4 IGIU/ml. A 4 litros del
filtrado se añaden 12 g de celulosa catiónica (Whatman DE-23)
para adsorber los materiales proteínicos distintos de la iso-
merasa. La celulosa catiónica se separa por filtración. El
25 filtrado tiene una actividad de glucosa-isomerasa de 11,2
IGIU/ml.

30 Se añaden 830 g de la resina cambiadora de anión Am-
berlite IRA-938 húmeda (Rohm & Haas) a 3 litros de NaOH 1,5 N.
La resina se agita a 60°C durante 15 minutos, se filtra, se
enjuaga con agua desmineralizada, se vuelve a agitar en 4 li-

1 tros de HCl 2 N a 60°C durante 15 minutos, se filtra, se en-
juaga con agua desmineralizada, se agita en agua desminerali-
zada a pH 7 y se filtra. Esta resina se agrega a 4 litros del
filtrado de glucosa-isomerasa anteriormente descrito, con una
5 actividad de glucosa-isomerasa de 11,2 IGIU/ml y se mantiene
allí durante 1 hora a 60°C, se filtra y se lava. Se recogen
el filtrado y las aguas de lavado y se determina la actividad
de glucosa-isomerasa de los mismos.

Basándose en la diferencia entre la actividad de glu-
cosa-isomerasa de este filtrado y estas aguas de lavado y la
10 actividad de glucosa-isomerasa del filtrado al que se ha aña-
dido la resina, se calcula que la resina adsorbe 46,5 IGIU/g.
Basándose en este valor calculado, la resina tiene una acti-
vidad de glucosa-isomerasa de 29,9 IGIU/cm³ cuando se rellena
15 en un lecho y un valor estimado de la estabilidad de 600 ho-
ras.

Una solución de glucosa refinada que contiene 90,5 %
de glucosa, 2,0 % de fructosa y 52,1 % de sustancia seca se
diluye con agua para obtener soluciones que contienen alre-
20 dedor de 10, 20, 30 y 40 % de sustancia seca. A cada solución
se añaden 0,005 moles de MgSO₃ por litro y el pH de las solu-
ciones se ajusta a 7,4.

Se agitan 90 g de la resina que contiene la glucosa-
isomerasa adsorbida en 500 ml de la solución que contiene
25 10 % de sustancia seca, se calienta a 40°C y se agita a vacío
para eliminar el aire atrapado. Esta suspensión se vierte en
una columna de doble pared, con un diámetro de 1 pulgada
(25,4 mm) y una altura de 24 pulgadas (61 cm), donde se man-
tiene una temperatura constante de 65°C. Los extremos supe-
30 rior e inferior de la columna se equipan con rejillas para

1 mantener allí la resina.

Las soluciones anteriormente preparadas se bombean a través de un serpentín caliente para ajustar su temperatura a 65°C y después se bombean al fondo de la columna donde la glucosa-isomerasa combinada es fluidificada. En la Tabla II se encuentran los caudales de las soluciones bombeadas a través de las columnas, el porcentaje de glucosa convertida en fructosa y el contenido en psicosa de las soluciones convertidas.

10

TABLA II

Isomerización en lecho fluidificado

<u>Porcentaje de sustancia seca</u>	<u>Caudal de la solución (ml/minuto)</u>	<u>Porcentaje de glucosa convertida en fructosa</u>	<u>Porcentaje de psicosa</u>
10,0	47,4	14,1	<1
20,2	28,5	12,6	<1
30,2	13,0	17,3	<1
40,4	7,4	16,8	<1

15

EJEMPLO 2

20

Este ejemplo ilustra el uso de la glucosa-isomerasa ligada a una resina cambiadora de anión sintética porosa en un sistema reactor agitado, donde la glucosa es continuamente convertida en fructosa. La glucosa-isomerasa es combinada a Amberlite IRA-938 (Rohm & Haas) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. En tres matraces de vacío de 1 litro se introducen 100 g de la resina que contiene la isomerasa y 900 ml de una solución de glucosa refinada. La solución de glucosa refinada contiene 90,5 % sobre la base de sustancia seca de glucosa, 2,0 % de fructosa sobre la base de sustancia seca, un contenido en sustancia seca del 52,1 %, un pH de 7,4 y un contenido de MgSO₃ de 0,005 moles por litro. Se

25

30

1 aplica vacío a cada matraz durante 10 minutos para eliminar
el aire atrapado. Los matraces se conectan en serie por los
brazos laterales de los matraces que sirven como entradas.
Unos tubos de vidrio provistos de filtros de vidrio frito
5 se colocan en los matraces a través de tapones insertados
en los cuellos de los matraces y sirven como salidas, Tam-
bién a través de los tapones se hacen pasar unos agitadores
mecánicos de paletas anchas. Los matraces se mantienen a una
temperatura de 65°C. Los agitadores mantienen la resina en
10 suspensión. Los matraces se colocan en serie con la salida
de un matraz conectada a la entrada del matraz sucesivo. La
solución de glucosa se bombea a través de la salida del pri-
mer matraz colocado en la serie y desplaza una porción igual
de la solución a través de los tubos de vidrio. La solución
15 de glucosa se bombea a través de los matraces a los caudales
y durante los periodos indicados en la Tabla III. Los resul-
tados de este ejemplo se encuentran también en la Tabla III.

TABLA III

Isomerización continua en un reactor agitado

Caudal de la solución (ml/ minuto)	Porcentaje de fructosa pro- ducida	Porcentaje de psicosa	Unidades de color
5,33	39,6	<1	0,013
5,40	40,4	<1	"
5,30	39,0	<1	"
25 4,80	38,2	<1	"
8,00	30,0	<1	0,007
7,00	29,2	<1	"
6,80	25,4	<1	"

30 En resumen, la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1
5
10
15
20
25

1. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: "Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa" caracterizadas por introducir continuamente una solución que contiene glucosa, con una viscosidad de 0,5 a 100 centipoises aproximadamente, un pH comprendido aproximadamente entre 6 y 9, a una temperatura comprendida entre 20° y 80°C aproximadamente y conteniendo alrededor de 5 a 80 % en peso de glucosa, en una zona que contiene partículas de glucosa-isomerasa combinada seleccionadas entre el grupo formado por glucosa-isomerasa combinada a una celulosa cambiadora de anión y glucosa-isomerasa combinada a una resina sintética cambiadora de anión, con lo que las partículas de la glucosa-isomerasa combinada se mantienen en suspensión y hasta el 54 % de la glucosa se convierte en fructosa, el color de la solución convertida es aumentado en menos de dos unidades de color y no hay producción sustancial de psicosa, y retirar dicha solución convertida de la citada zona a una velocidad prácticamente equivalente a la velocidad a que se introduce la citada solución que contiene glucosa en dicha zona, caracterizándose las partículas de la glucosa combinada por presentar una actividad de glucosa-isomerasa por lo menos igual a tres IGIU por centímetro cúbico cuando se rellenan en un lecho y un valor de la estabilidad de 50 horas como mínimo.

30

2. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación 1, caracterizadas porque la viscosidad de la solución que contiene glucosa está comprendida aproximadamente entre 2 y 20

1 centipoises y el pH de la solución es de 6,5 a 8 aproximadamente.

5 3. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa, según las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa contiene alrededor de 40 a 60% en peso de glucosa y el pH de la solución es de 7 a 8 aproximadamente.

10 4. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa, según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizadas porque el valor de la estabilidad de la glucosa-isomerasa combinada es de unas 300 horas como mínimo.

15 5. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación 4, caracterizadas porque el valor de la estabilidad de la glucosa-isomerasa combinada es de unas 400 horas como mínimo.

20 6. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizadas porque la glucosa-isomerasa está combinada a DEAE-celulosa.

25 7. Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación 4, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa introducida en la zona es producida por tratamiento del

30

1 almidón con un ácido para licuar el almidón y después tra-
tamiento del almidón licuado con un enzima formador de glu-
cosa para obtener la solución que contiene glucosa.

5 8. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación
4, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa
introducida en la zona es producida tratando el almidón
con un enzima para licuar el almidón y después tratando el
10 almidón licuado con un enzima formador de glucosa para ob-
tener la solución que contiene glucosa.

15 9. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación
4, caracterizadas porque la glucosa-isomerasa procede del
Streptomyces ATCC 21.175.

20 10. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación ;
1, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa se
pone en contacto con la glucosa-isomerasa combinada en con-
diciones en las cuales se produce menos de alrededor del 1%
de psicosa.

25 11. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación
10, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa
se pone en contacto con la glucosa-isomerasa combinada en
condiciones en las que produce menos de alrededor del 0,5%
30 de psicosa.

1 12. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindica_
ción 11, caracterizadas porque la solución que contiene
5 glucosa se pone en contacto con la glucosa-isomerasa combi-
nada en condiciones en las que se produce menos de alrede-
dor del 0,1% de psicosa.

10 13. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación
11, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa
se pone en contacto con la glucosa-isomerasa combinada en
condiciones en las que el color de la solución convertida
aumenta en menos de 0,05 unidades de color.

15 14. Mejoras introducidas en el objeto de la patente
principal nº 415.711 por: Un procedimiento para convertir
enzimáticamente glucosa en fructosa, según la reivindicación
12, caracterizadas porque la solución que contiene glucosa
se pone en contacto con la glucosa-isomerasa combinada en
20 condiciones en las que el color de la solución convertida
aumenta en menos de 0,03 unidades de color.

25 15. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer el Primer Certificado de Adicción que se
solicita por: MEJORAS INTRODUCIDAS EN EL OBJETO DE LA PATEN
TE PRINCIPAL Nº 415.711 POR: "UN PROCEDIMIENTO PARA CONVERTIR
ENZIMATICAMENTE GLUCOSA EN FRUCTOSA".

30

1 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente memoria descriptiva que consta de dieciocho pági-
nas mecanografiadas.

Madrid, 19 de noviembre de 1.974

5 BERNARDO UNGRIA

p.p. *ML*

10

15

20

25

30