

441495

31 OCT. 1975

P.- 61.477

Case D-3125  
HL-41591

Memoria descriptiva

C13D

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de CPC INTERNATIONAL INC.

entidad norteamericana

con domicilio en International Plaza, Englewood Cliffs,  
Nueva Jersey, Estados Unidos de América

por: "UN METODO PARA ELIMINAR IONES DE METAL PESADO DE  
UNA SOLUCION QUE CONTIENE DEXTROSA"

14.10.75.

La presente invención se refiere a la producción de levulosa a partir de dextrosa, y más en particular se refiere a la producción de una cantidad mayor de levulosa a partir de una solución que contiene dextrosa. La solución que contiene dextrosa, tal como las preparadas disolviendo dextrosa cristalina en agua, se puede usar como material de alimentación para la isomerización. Sin embargo, es económicamente ventajoso utilizar como material de alimentación un jarabe de hidrolizado de almidón, también denominado sacarizado de almidón, que tenga alto contenido de dextrosa.

Los hidrolizados de almidón que tienen alto contenido de dextrosa se producen hoy por lo que se conoce como el procedimiento de enzima - enzima. Una suspensión de almidón se digiere con una preparación de enzima alfa -amilasa, para producir fragmentos de bajo peso molecular. El material resultante se sacarifica luego con una preparación de enzima glucoamilasa, para producir la solución que contiene dextrosa.

La solución producida de esta manera contiene ciertas impurezas tales como ceniza, cuerpos de color, cationes, etc, que generalmente se eliminan. El tratamiento usual de purificación implica pasar el líquido a través de una serie de columnas intercambiadoras de iones. Métodos de purificación típicos incluyen un método en dos columnas, es decir, una resina intercambiadora

de cationes fuertemente ácida seguida por una resina  
intercambiadora de aniones básica. Un método en cua-  
tro columnas implica un tratamiento de repetición usan-  
do las dos resinas anteriores. También se puede seguir  
5 la purificación en dos columnas con una tercera columna  
que contenga una mezcla de una resina intercambiadora  
de cationes fuertemente ácida y una resina intercambia-  
dora de aniones fuertemente básica.

Se ha hallado que la solución de sacarizado de  
almidón también contiene cantidades traza de diversos  
10 iones de metal pesado. Estos iones de metal pesado, y en  
particular el  $Zn^{++}$  y  $Pb^{++}$ , inhiben la eficacia de la prepa-  
ración de enzima usada para isomerizar la dextrosa a levulo-  
sa.

La dextrosa se convierte generalmente en su isó-  
mero, levulosa, por uso de una preparación de enzima llama-  
da glucosa isomerasa. Esta preparación de enzima se produ-  
ce por un cierto número de microorganismos conocidos en  
15 la técnica.

Las preparaciones de enzima glucosa isomerasa  
son muy caras, y es económicamente importante producir  
20 la cantidad máxima de levulosa de cada unidad de enzima.  
Una unidad de glucosa isomerasa (G.I.) se define como  
la cantidad de enzima que producirá una micromol de le-  
vulosa por minuto a 60°C y a un pH de 7,5.

25 La eficacia de la preparación de enzima se pue

de medir en términos de la proporción de isomerización. Esta se expresa generalmente como tanto por ciento, y se calcula como:

$$\frac{\text{levulosa}}{\text{levulosa \& dextrosa}} \times 100$$

Se puede ver que cuanto mayor sea la proporción de isomerización mayor es el contenido de levulosa en el jarabe final.

El método de la presente invención produce un material de alimentación que producirá un producto final que contiene levulosa que tiene una proporción de isomerización mayor por unidad G.I. de enzima.

La producción de un jarabe que lleva levulosa se aumenta rápidamente por el método de la presente invención. La producción industrial de levulosa se efectúa comúnmente de la siguiente manera. Se licúa almidón con un ácido mineral o con una enzima licuadora, y luego se saca rifica con una enzima sacarificadora. Además, el 20 - 50% de la dextrosa contenida en esta solución sacarificada se convierte en levulosa con una preparación de enzima glucosa-isomerasa. Tras ello, el jarabe que lleva levulosa se puede purificar y concentrar.

La reacción de isomerización por una enzima isomerizadora se puede efectuar industrialmente por el método discontinuo de añadir las células microbianas que contienen glucosa-isomerasa. Recientemente se ha  
5 convertido en el método preferido la isomerización con-  
tinua usando una enzima isomerizadora fijada, prepara-  
da inmovilizando glucosa-isomerasa sobre un soporte es-  
pecial, tal como una resina intercambiadora de aniones,  
perlas de vidrio, poroso, u otro material insoluble ca-  
10 paz de adsorber o unirse con la enzima.

Como material de alimentación para la produc-  
ción de levulosa se usa una solución de almidón sacari-  
ficado o una solución acuosa de dextrosa purificada o  
cristalina, pero el material usado industrialmente en  
15 la actualidad es principalmente el sacarizado de almi-  
dón, por razones económicas. Sin embargo, cuando la reac-  
ción de isomerización se efectuó con una cierta cantidad  
de glucosa-isomerasa, la proporción de isomerización,  
cuando se usó como material el sacarizado de almidón,  
20 es mucho menor que cuando se usó como material la solu-  
ción acuosa de dextrosa cristalina. La diferencia es par-  
ticularmente notable en el caso de la reacción de isome-  
rización continua efectuada usando una enzima isomeriza-  
dora inmovilizada.

25 Se ha hallado que la relación de isomerización

está muy influenciada por ciertas impurezas del material de partida. Cuando se isomeriza dextrosa con glucosa-isomerasa, si están presentes ciertos iones de metal pesado tal como cinc, su poder isomerizador está considerablemente inhibido. La relación de isomerización está influenciada también por la pureza de la glucosa-isomerasa usada. En el caso de la glucosa-isomerasa extraída de células microbianas y purificada, está influenciada más fácilmente por los iones de metal pesado que en el caso de la glucosa-isomerasa no extraída y no purificada. Dado que la cantidad de iones de metal pesado contenida en el sacarizado de almidón es, con mucho, mayor que la de iones de metal pesado contenida en la solución acuosa de dextrosa cristalina, la proporción de isomerización cuando se usa el sacarizado de almidón como material de alimentación es menor que cuando se usa como material de alimentación la solución acuosa de dextrosa cristalina.

Generalmente están presentes en la solución sacarificada iones de metal básico tales como Ca, derivado del agua de suspensión del almidón, una enzima licuadora y una enzima sacarificadora, diversos iones de metal pesado, tales como los de Zn, Pb, Fe y Cu. Aunque los iones de metal básico tales como Na, K y Ca son eliminados casi completamente por tratamiento usual con resina intercambiadora de iones, apenas se eliminan los

iones de metal pesado. Por tanto, la reacción de isome-  
rización está inhibida por estos metales pesados, y se  
requiere necesariamente una gran cantidad de glucosa-  
-isomerasa. Estos materiales inhibidores se pueden eli-  
5 minar parcialmente por cristalización de dextrosa pura  
y redisolución en agua destilada. Sin embargo, este mé-  
todo requiere grandes gastos para el procedimiento de  
cristalización, y por tanto tiene una realización prác-  
tica pobre. Además, aunque la dextrosa cristaliza, es  
10 imposible eliminar completamente los iones de metal pe-  
sado antes mencionados, y el coste se hace elevado tan-  
to en el método de isomerizar el sacarizado de almidón  
tal cual, sin cristalizar la dextrosa, como en el de efec-  
tuar su isomerización tras haber cristalizado una vez y  
15 disuelto de nuevo la dextrosa contenida.

En el procedimiento de purificación de la pre-  
sente invención se puede usar cualquier solución que con-  
tenga dextrosa, es decir, sacarizados de almidón refina-  
dos o sin refinar, dextrosa cristalina disuelta de nue-  
20 vo, o las diversas soluciones, conocidas como hidrol,  
que quedan tras cristalización de la dextrosa.

Se ha hallado que los iones de metal pesado  
que interfieren se pueden eliminar de forma sustancial-  
mente completa pasando la solución que contiene dextro-  
25 sa a través de un lecho que contiene una resina formado

ra de quelatos u otro tipo de resina capaz de eliminar  
iones de metal pesado. Estas incluyen las resinas for  
madoras de quelato, resinas intercambiadoras que adsor  
ben complejos, y resinas intercambiadoras de cationes  
5 de adsorción selectiva. Los términos "intercambiador  
de cationes" y "resina intercambiadora de cationes"  
se usarán para describir la presente invención. Sin em  
bargo, se entiende que si el contexto lo permite se han  
de incluir todos los tipos útiles de resinas. Como ejem  
10 plos específicos, por ejemplo, están las Lewatit TP-207  
(Bayer), Lewatit ATP-202 (Bayer), Dowex A-1 (Dow Chemi  
cal) y Diaion CR-10 (Mitsubishi Kasei). También se pue  
de usar en la presente invención un intercambiador de  
quelatos compuestos por un esqueleto de polisacárido,  
15 por ejemplo el quelato Muro (Muromachi Kagaku).

El tratamiento de intercambio de iones usual  
antes mencionado es incapaz de eliminar eficazmente los  
iones de metal pesado, como se ilustra en la tabla 1.

20

25

Tabla 1

Cación, ppm a Bx 50

	Hidrolizado de almidón*	Tras tratamiento usual **	Tras trata miento de la presente in- vención ***	Tras am bos tra tamien- tos	
5	Ca <sup>++</sup>	215	4,3	189	3,8
	Na <sup>+</sup>	108	5,1	96	4,9
	Fe <sup>++</sup>	1,48	0,42	0,26	0,21
	Cu <sup>++</sup>	0,16	0,05	0,02	0,01
	Pb <sup>++</sup>	0,79	0,03	0,03	0,03
10	Zn <sup>++</sup>	0,68	0,36	0,04	0,03

\* D.D. 96,8, dextrosa 93,8%

\*\* Purificación en cuatro columnas según se ha descrito antes

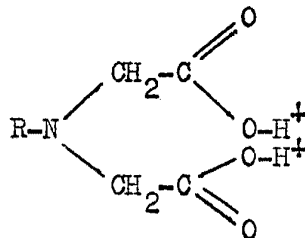
\*\*\* Lewatit TP-207 -forma de hidrógeno (Bayer Co.)

El efecto inhibitor de los iones de metal pesa-  
do se puede observar con tan poco como 0,1 ppm de Zn o Pb.  
Se puede ver que el tratamiento usual no reducirá al ión  
Zn por debajo de este nivel.

En general, las resinas útiles de la presente  
invención son diferentes de aquellas resinas útiles para  
tratamientos usuales, en términos de método de producción,  
grupos funcionales y afinidad para iones que se pueden ad-  
sorber. Por ejemplo, la Dowex A-1 se produce por adición

de imino-diacetato a polímero de estireno-divinilbenceno, y su estructura parcial es:

5



10

Sin embargo, para la producción de resinas generales intercambiadoras de iones se usan como monómeros estireno, fenol y ácido metacrílico. Los grupos funcionales son radicales ácidos tales como  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$  y  $-\text{PO}_2\text{H}_2$ .

15

El intercambiador de cationes sobre el que los metales pesados son adsorbidos eficazmente se puede usar en cualquier forma, por ejemplo en las formas de hidrógeno o sal. Es preferible utilizar la forma de hidrógeno. Se puede llevar a la resina a la forma de hidrógeno pasando un ácido mineral, tal como  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o  $\text{HCl}$ , a través de una torre rellena de la resina. Se prefiere pasar una cantidad apropiada de  $\text{HCl}$  de una concentración apropiada. Por ejemplo, se puede pasar el doble del volumen del intercambiador de iones de  $\text{HCl}$  al 5%, para producir la forma de hidrógeno. Además, como condiciones en

20

25

ese momento, una VE (velocidad espacial) de 2-10, o favorablemente 3 - 5, y temperatura ambiente -70°C, o favorablemente 20 - 50°C.

5 Seguidamente, cuando se pasa la solución que contiene dextrosa por una torre rellena con la resina intercambiadora de cationes antes mencionada, los metales pesados de la solución se adsorben sobre la resina intercambiadora de iones.

10 Al pasar la solución que contiene dextrosa a través de una torre rellena con el intercambiador de cationes antes mencionado, es ventajoso pasar una solución de pH 1 - 8, o preferiblemente 3 - 6, de una concentración de 10 - 60% (% en peso), o preferiblemente 30 - 50%, y a temperatura ambiente -70°C, a VE 1 - 8.

15 La solución que contiene dextrosa a usar como material contiene diversos iones de metal pesado. Por ejemplo, el sacarizado de almidón purificado de la manera usual contiene iones Zn, Pb, Fe y Ca, y su contenido es generalmente de 1 ppm (expresado como Pb). Si la solución de dextrosa que contiene estos iones de metal pesado se pasa a través de una torre rellena con la resina intercambiadora de cationes, aquellos iones de metal pesado se adsorben sobre el intercambiador de cationes. En este caso, los iones de metal pesado concretos adsorbidos están determinados por el pH de la solución de dex-

20

25

trosa. Cuando la solución de dextrosa tiene un pH de aproximadamente 3 - 6, son principalmente iones Zn y Pb. Por tanto, para eliminar los iones de metal pesado que inhiben la reacción de isomerización, es ventajoso ajustar el pH de la solución de dextrosa de manera que aquellos metales pesados se puedan eliminar eficazmente.

Cuando la solución que contiene dextrosa se pasa a través de una torre rellena con la resina intercambiadora de cationes antes mencionada, el poder de adsorción de metal pesado del intercambiador de cationes disminuye gradualmente, y finalmente queda totalmente extinguido. El tratamiento de regeneración del intercambiador de cationes se efectúa pasando una solución regeneradora adecuada tras interrumpir el paso de la solución que contiene dextrosa, en el momento en que el poder de adsorción del intercambiador de cationes ha empezado a disminuir. Por ejemplo, se pasa una solución de ácido mineral cuando el intercambiador de cationes se usa en forma de hidrógeno. Por este tratamiento de regeneración, el intercambiador de cationes antes mencionado, sobre el que se han adsorbido metales pesados, se devuelve a la forma de antes de pasar la solución que contiene dextrosa. También es ventajoso pasar una cantidad apropiada (por ejemplo 2 volúmenes del lecho) de una

solución de ácido mineral de concentración apropiada (por ejemplo HCl al 5%) en el caso del intercambiador de cationes en forma de hidrógeno. En este momento, las condiciones apropiadas son VE 2 - 10 o preferiblemente 3 - 5, y temperatura ambiente -70°C, o preferiblemente 20 - 50°C.

La solución que contiene dextrosa, que se trató con la resina intercambiadora de cationes antes mencionada, se puede usar para la reacción de isomerización sin más tratamiento de refinación, o se puede descolorar, concentrar, etc. La reacción de isomerización se puede efectuar por los métodos usuales discontinuos o continuos.

Cuando la solución que contiene dextrosa se trata por este método, los iones de metal pesado contenidos en la solución, y que son perjudiciales para la reacción de isomerización, tales como cinc y plomo, se eliminan de forma sustancialmente completa. Por tanto, en la reacción de isomerización se puede obtener una proporción de isomerización mucho mayor que en el método usual. Es decir, se puede obtener una cierta proporción de isomerización con mucha menos enzima glucosa-isomerasa que la que es necesaria cuando no se usa el tratamiento de la presente invención. El método de la invención presenta especialmente un gran efecto cuando en la

reacción de isomerización se usa glucosa-isomerasa extraída de células microbianas y luego purificada. Cuando la reacción de isomerización se efectúa por el método discontinuo con glucosa-isomerasa extraída de células microbianas y purificada, la proporción de isomerización de la levulosa producida a partir de la solución que contiene dextrosa, tratada por el método de la invención, es aproximadamente 3 veces mayor que la de la levulosa producida a partir de la solución que contiene dextrosa tratada por el método usual.

Además, dado que el contenido de iones de metal pesado que inhiben la reacción de isomerización, en la solución que contiene dextrosa, es extremadamente pequeño, una característica del método de la invención es que se puede tratar gran cantidad de la solución que contiene dextrosa antes de que empiece a disminuir el poder de adsorción de iones de metal pesado de la resina intercambiadora de cationes antes mencionada.

Además, tratando la solución que contiene dextrosa por el método de la invención, se puede disminuir la cantidad de glucosa-isomerasa usada por debajo de las cantidades usadas actualmente para la producción industrial de levulosa.

Como se ha indicado antes, según el método de la invención, se puede preparar por un tratamiento sim-

ple pero barato la solución que contiene dextrosa que se puede isomerizar para producir levulosa que tiene una proporción de isomerización grande.

5 Para proporcionar mejor entendimiento de la invención, se proporcionan los siguientes ejemplos a título de ejemplo y no limitativos.

#### Ejemplo 1

10 Se licuó almidón de maíz con una encima licuadora de alfa-amilasa, "Kleistase L-1" (producida por Daiwa Kasei Co., Japón), y se sacarificó con una enzima sacarificadora de glucoamilasa, "Sumizyme 800" (producida por Shinnihon Kagaku Co., Japón), por un método usual. Los sacarizados obtenidos se filtraron en un  
15 papel de filtro, usando tierra de diatomeas como coadyuvante de filtración, bajo presión reducida.

El sacarizado filtrado se purificó de la manera usual: el líquido se pasó sucesivamente a través de  
20 (1) una columna de lecho único de resina, rellena con 1000 ml de una resina intercambiadora de cationes fuertemente ácida, IR-120B (manufacturada por Tokyo Yukikagaku Kogyo Co., Japón), que había sido regenerada con ácido clorhídrico, (2) una columna de lecho único de resina, rellena de 1200 ml de una resina intercambiadora de anio  
25 nes débilmente básica, IRA-93 (manufacturada por Tokyo

Yukikagaku Kogyo Co., Japón), que había sido regenerada con hidróxido sódico, y (3) una columna de lecho mixto de resina, rellena con 150 ml de una resina fuertemente ácida, Amberlite-200 (manufacturada por Tokyo Yukikagaku Kogyo Co., Japón), que había sido regenerada con ácido clorhídrico, y 300 ml de una resina intercambiadora de aniones fuertemente básica, IRA-411 (manufacturada por Tokyo Yukikagaku Kogyo Co., Japón), que había sido regenerada con hidróxido sódico.

5  
10 Luego se concentró el sacarizado purificado. La calidad del sacarizado purificado así obtenido fue como sigue:

	Concentración de azúcar:	51,2 (Bx)
	DE:	95,7
15	Dextrosa:	93,2 (%)
	Índice de color (OD a 427 mμ):	0,018 (1 cm trayectoria de luz)
	Sales totales:	60,3 ppm (como $\text{CaCO}_3$ )
20	pH:	5,4

Los iones de metal pesado de este líquido se determinaron por el método de titulación de quelato, y se halló que había 1,6 ppm, como ión cinc.

25 Luego se siguieron tratando 10 litros del sacarizado purificado, con una resina formadora de quelatos,

Lewatit TP-207 (manufacturada por Bayer Co., Alemania Occidental). Se relleno con 50 ml de la resina una columna de vidrio (altura: 25 cm, diámetro: 2,1 cm), y se regenero la resina pasando 200 ml de ácido clorhídrico al 10% a través de la columna, a 30°C, con un caudal de 5 volúmenes del lecho por hora, seguido por el lavado con 1000 ml de agua desionizada. Luego se paso el sacarizado purificado a través de esta columna, por el método descendente, a 30°C y con un caudal de 5 volúmenes del lecho por hora.

La calidad de este líquido tratado con resina formadora de quelato fue la siguiente:

	Concentración de azúcar:	51,2 (Bx)
	DE:	95,7
15	Dextrosa:	93,2 (%)
	Indice de color (OD a 420 mμ):	0,016 (1 cm trayectoria de luz)
	Sales totales:	59,9 ppm (como CaCO <sub>3</sub> )
20	pH:	3,1

Los metales pesados contenidos en este líquido tratado con resina formadora de quelato se determinaron como se ha mencionado antes, y no se detectaron iones de metal pesado, Después se isomerizo por el método discontinuo este líquido tratado con resina formadora de quela

to. Es decir, a 5 litros de este líquido de dextrosa  
tratada con resina formadora de quelato se añadieron  
5 g de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , y se agitó, ajustando el pH de la  
mezcla a 6,5 con hidróxido sódico. A esta mezcla se  
5 añadió una solución de glucosa-isomerasa, a una dosis  
de 2 unidades por gramo de dextrosa contenido en la  
mezcla. La glucosa-isomerasa se extrajo de Streptomyces  
olivochromogenes, un microorganismo que produce glucosa-  
-isomerasa, de la siguiente manera: se cultivó St. olivo-  
10 chromogenes en un medio líquido durante aproximadamente  
50 horas, y las células cultivadas se separaron del me-  
dio de cultivo por centrifugación. Las células obteni-  
das se digirieron con lisozima. La centrifugación del  
producto de digestión de las células dió un líquido que  
15 sobrenadaba, que contenía glucosa-isomerasa. Se añadió  
isopropanol al líquido que sobrenadaba, para precipitar  
la enzima. Los precipitados obtenidos por centrifugación  
de la solución se volvieron a disolver en agua que conte-  
nía  $MgCl_2$ , y se usaron como preparación de enzima de iso-  
20 merización. La reacción de isomerización se continuó du-  
rante 48 horas en un reactor de 15 litros provisto de ca-  
lentador y agitador, mientras la solución sacarificada  
se agitaba lentamente. Durante la reacción se ajustó el  
pH con una solución de  $NaHCO_3$  al 5%, de manera que perma-  
25 neciese entre 6,3 y 6,7. Tras 48 horas de isomerización

se halló que la magnitud de isomerización era 43,2%.

Para comparación, el sacarizado purificado concentrado no tratado con la resina de quelación antes mencionada se isomerizó bajo las mismas condiciones que antes. Se halló que la magnitud de isomerización era 19,2% tras 48 horas.

### Ejemplo 2

Se prepararon 50 litros de sacarizados purificados concentrados, por el mismo método descrito en el Ejemplo 1. Este líquido se pasó a un caudal de 5 volúmenes del lecho por hora, a 30°C, por el método descendente, a través de una columna de vidrio con camisa (altura: 50 cm, diámetro: 3 cm) rellena con 250 ml de una resina adsorbente selectivamente, Lewatit ATP-202 (manufacturada por Bayer Co., Alemania Occidental), que había sido regenerada con 1 litro de ácido clorhídrico al 10%, pasándole por la columna de vidrio a un caudal de 5 volúmenes del lecho por hora, a 30°C, seguido por lavado con 5 litros de agua desionizada. No se detectaron iones de metal pesado en este líquido tratado con resina adsorbente selectivamente, cuando se determinaron por el método de titulación de quelato.

La isomerización continua se efectuó usando como alimentación el líquido tratado con resina ATP-202,

al que se había añadido 1 gramo de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  por cada litro del líquido, antes de la isomerización. Es decir, la alimentación antes mencionada, cuyo pH se había ajustado después a 8,5 con hidróxido sódico, se pasó por el método descendente, a un caudal de suministro de alimentación de 2 volúmenes del lecho por hora, a través de un tubo de vidrio con camisa (altura: 12 cm, diámetro: 2,1 cm). El tubo había sido rellenado con 15 ml de una resina intercambiadora de aniones fuertemente básica, Amberlite IRA-904 (manufacturada por Tokyo Yukiagaku Kogyo Co., Japón), sobre la que se habían adsorbido 200 unidades de glucosa-isomerasa, preparada por el método descrito en el Ejemplo 1, por cada ml de resina. La columna de vidrio que contenía la resina se mantuvo a 60°C por circulación de agua caliente a través de la camisa. Los cambios de la magnitud de isomerización del líquido isomerizado, durante la isomerización continua, fueron como sigue:

20

Tabla 2

Tiempo de funcionamiento (días)	1	5	10	15	20	25	30
Proporción de isomerización (%)	49,1	48,5	45,2	40,6	34,3	29,3	23,6

5 Para comparación, la isomerización continua se efectuó usando como alimentación los sacarizados pu-  
rificados sin tratar con resina Lewatit ATP-202. Se aña-  
dió un gramo de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  por litro de líquido antes  
de la isomerización. El pH de esta alimentación se ajus-  
tó a 8,5 con hidróxido sódico. La isomerización conti-  
nua se efectuó bajo las mismas condiciones antes descri-  
tas. En este caso la magnitud de isomerización cambió  
de la manera siguiente:

10

Tabla 3

Tiempo de funcionamiento (días)	1	5	10	15
15 Proporción de isomeriza- ción (%)	42,7	28,9	19,3	14,6

Ejemplo 3

20 Se disolvieron 30 kg de dextrosa cristalina anhidra en 30 litros de agua desionizada, para preparar 50 litros de solución de dextrosa. La calidad de este líquido fué como sigue:

25 Concentración de azúcar:	51,2 (Bx)
Dextrosa:	99,8 (%)
pH:	4,5

Metales pesados: no detectados

Este líquido de dextrosa se trató con una resina formadora de quelato, Lewatit TP-207 (manufacturada por Bayer Co., Alemania Occidental). El líquido se pasó a un caudal de 5 volúmenes del lecho por hora, a 30°C, por el método descendente, a través de una columna de vidrio con camisa (altura: 50 cm, diámetro: 3 cm), rellena de 250 ml de resina Lewatit TP-207 que había sido regenerada pasando 1 litro de ácido clorhídrico al 10% a través de la columna de vidrio, a un caudal de 5 volúmenes del lecho por hora a 30°C, seguido por lavado con 5 litros de agua desionizada. La calidad de este líquido de dextrosa tratado con resina formadora de quelato fue como sigue:

15	Concentración de azúcar:	51,2 (Bx)
	Dextrosa:	99,8 (%)
	pH:	3,7
	Metales pesados:	no detectados

La isomerización continua se efectuó usando como material de alimentación este líquido con resina TP-207, al que se había añadido 1 gramo de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  por litro del líquido, antes de la isomerización. Es decir, el material de alimentación, después de haber ajustado el pH a 8,5 con hidróxido sódico, se pasó por el método descendente, a caudal de suministro de alimento

tación constante de 2 volúmenes del lecho por hora, a  
 través de una columna de vidrio (altura: 12 cm, diáme-  
 tro: 2,1 cm). La columna se rellenó con 15 ml de una  
 resina intercambiadora de aniones fuertemente básica,  
 5 Amberlite IRA-904 (manufacturada por Tokyo Yukiagaku  
 Kogyo Co., Japón), sobre la que se habían adsorbido  
 230 unidades de glucosa-isomerasa, preparada por el  
 método descrito en el Ejemplo 1, por cada ml de resi-  
 na IRA-904. Las columnas de vidrio que contenían IRA-904  
 10 se mantuvieron a 60°C mediante agua caliente en circula-  
 ción por la camisa del tubo de vidrio. Durante esta iso-  
 merización continua, los cambios de la proporción de iso-  
 merización fueron como sigue:

15

Tabla 4

Tiempo de funciona- miento (días)	1	10	20	30	40	50
20 Proorción de iso- merización (%)	51,1	50,3	45,8	38,4	30,7	22,4

20

Para comparación, un líquido de dextrosa cris-  
 talina no tratado con resina Lewatit TP-207 se usó como  
 material de alimentación para isomerización continua,  
 tras haber ajustado el líquido al mismo nivel de ión  
 25 magnesio y pH. Las otras condiciones para esta isomeri-

ción continua fueron las mismas que las antes descritas. Los cambios de la proporción de isomerización fueron como sigue:

5

Tabla 5

Tiempo de funcionamiento (días)	1	10	20	30	40	50
Proporción de isomerización (%)	51,1	47,4	42,0	34,1	23,9	12,6

10

Ejemplo 4

Se obtuvo un sacarizado de almidón por un método usual con enzima. El almidón de maíz se hidrolizó con una enzima licuadora de alfa-amilasa del comercio, Kleig tase L-1 (marca registrada de Daiwa Kasei Co., Japón), y los hidrolizados se sacarificaron con una enzima sacarificadora de glucoamilasa del comercio, Sumizyme 800 (marca registrada de Shinnihon Kagaku Co., Japón). Este sacarizado obtenido se filtró y luego se concentró. La nueva filtración del sacarizado concentrado dió 50 litros de un líquido sacarizado concentrado. La calidad de este líquido fué como sigue:

15

20

25

Concentración de azúcar:	49,8 (Bx)
DE:	95,6
Contenido de dextrosa:	93,1 (%)

Indice de color (OD a 420 mμ): 0,13 (a 1 cm de trayectoria de luz)  
Sales totales: 946 ppm (como CaCO<sub>3</sub>)  
pH: 4,8  
5 Metales pesados: 1,8 ppm (como Zn)

Este líquido fué tratado con una resina formada de quelato, Lewatit TP-207, como se describe en el Ejemplo 3. La calidad del líquido tratado con resina TP-207 fué como sigue:

Concentración de azúcar: 59,8 (Bx)  
DE: 95,6  
Dextrosa: 93,1 (%)  
Indice de color (OD a 420 mμ): 0,09 (1 cm trayectoria de luz)  
15 Sales totales: 950 ppm (como CaCO<sub>3</sub>)  
pH: 3,6  
Metales pesados: no detectados

A este líquido tratado con TP-207 se añadió 1 gramo de MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O por litro de líquido, y se ajustó el pH a 8,5 con hidróxido sódico. Luego se usó como alimentación en isomerización continua. La isomerización continua se efectuó de la manera descrita en el Ejemplo 3. Los cambios de la proporción de isomerización durante esta isomerización continua fueron como sigue:

Tabla 6

<u>Tiempo de funciona-</u> <u>miento (días)</u>	<u>1</u>	<u>5</u>	<u>10</u>	<u>15</u>	<u>20</u>	<u>25</u>	<u>30</u>
Proporción de iso- merización (%)	49,0	47,6	44,2	37,7	31,4	23,0	15,1

5

Para comparación, el líquido de sacarizado con-  
centrado no tratado con la resina TP-207 se usó como ali-  
mentación al mismo nivel de Mg y pH, y la isomerización  
se efectuó bajo las mismas condiciones. Los cambios de  
la proporción de isomerización fueron como sigue:

10

Tabla 7

<u>Tiempo de funciona-</u> <u>miento (días)</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Proporción de iso- merización (%)	41,3	32,2	25,3	18,0	12,3

15

Aunque la invención se ha descrito en relación  
con realizaciones específicas de la misma, se entenderá  
que es capaz de más modificaciones, y la presente solici-  
tud de patente está destinada a cubrir cualesquiera va-  
riaciones, usos o adaptaciones de la invención que sigan,  
en general, los principios de la invención, incluyendo  
aquellas desviaciones de la presente exposición que cai-  
gan dentro de la práctica conocida y habitual en la téc

25

nica a la que pertenece la invención, y que se puedan aplicar a las características esenciales antes expuestas, y que caigan dentro del ámbito de la invención.

5 La presente solicitud, que corresponde a la presentada en Japón, el 4 de Octubre de 1974, bajo el N<sup>o</sup> Sho 49-113998, se acoge a los beneficios del Artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

10

- REIVINDICACIONES -  
=====

15 Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

20 1<sup>a</sup>.- Un método para eliminar iones de metal pesado de una solución que contiene dextrosa, que comprende hacer pasar dicha solución a través de un lecho de una resina formadora de quelato, una resina intercambiadora adsorbente de complejo, o una resina intercambiadora de cationes adsorbente selectivamente, capaz de unirse a dichos iones de metal pesado.

25 2<sup>a</sup>.- Un método según la reivindicación 1<sup>a</sup>, donde de la solución que contiene dextrosa es un sacarizado de

almidón.

3ª.- Un método para eliminar iones de metal pesado de una solución que contiene dextrosa.

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

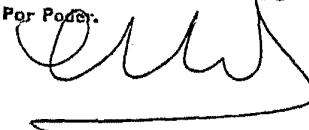
Esta Memoria consta de veintiocho hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 20. MAY 1976

P.A.

10

Fernando de Itzaburu  
Por Poder.



12-5-76  
VGd.