



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0038543

(51)⁷ C07H 3/02; B01D 15/36; C07H 1/06

(13) B

(21) 1-2018-02320

(22) 12/04/2016

(86) PCT/KR2016/003843 12/04/2016

(87) WO 2017/150766 A1 08/09/2017

(30) 10-2016-0024193 29/02/2016 KR

(45) 25/01/2024 430

(43) 26/11/2018 368A

(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)

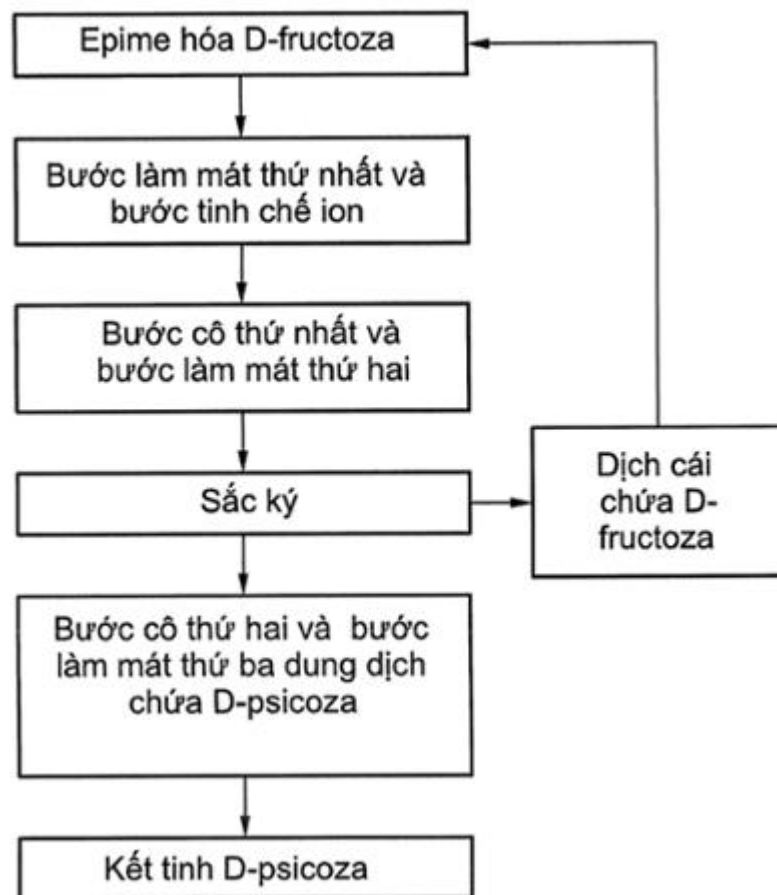
CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Korea

(72) LEE, Joo Hang (KR); KIM, Min Hoe (KR); KIM, Seong Bo (KR); PARK, Seung Won (KR).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT D-PSICOZA CÓ ĐỘ TINH KHIẾT CAO

(57) Sáng chế bộc lộ phương pháp sản xuất D-psicoza. Phương pháp sản xuất D-psicoza này bao gồm việc đưa D-fructoza vào bước epime hóa D-psicoza để tạo ra dung dịch chứa D-psicoza, đưa dung dịch chứa D-psicoza vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, đưa dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, đưa dung dịch chứa D-psicoza, là dung dịch đã được đưa vào vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, vào bước sắc ký để thu được dịch cái chứa D-fructoza và dịch tách chứa D-psicoza, và đưa dịch tách chứa D-psicoza vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để thu được tinh thể D-psicoza, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất D-psicoza, và cụ thể hơn, đề cập đến phương pháp sản xuất D-psicoza độ tinh khiết cao với hiệu suất cao mà không gây biến dạng nhiệt trong quá trình sản xuất.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đã có báo cáo rằng D-psicoza là một chất làm ngọt ít bị chuyển hóa trong cơ thể giống như fructoza hoặc sucroza, gần như không chứa calo, và ít có ảnh hưởng đến sự tăng trọng lượng cơ thể do nó ức chế sự hình thành mỡ trong cơ thể (Matsuo, T. *et. Al.* *Asia Pac. J. Clin. Untr.*, 10, 233-237, 2001; Matsuo, T. và K. Izumori, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 13, S127, 2004).

Gần đây, các tác giả sáng chế đã báo cáo về phương pháp để sản xuất kinh tế D-psicoza bằng cách đồng phân hóa D-glucosa thành D-fructoza, sau đó bằng cách cho D-fructoza thu được phản ứng với các tế bào bất động có khả năng sinh D-psicoza epimeraza (Đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2009-0118465).

Do dung dịch phản ứng chứa D-psicoza tạo ra bởi phản ứng enzym có sản phẩm có độ tinh khiết thấp chứa D-psicoza với hàm lượng chất rắn nằm trong khoảng từ 20% (trọng lượng/trọng lượng) đến khoảng 30% (trọng lượng/trọng lượng), cần phải tinh chế D-psicoza qua bước sắc ký liên tục để tạo ra tinh thể D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 98% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Do hệ số chuyển hóa của phản ứng enzym của D-psicoza tạo ra từ D-fructoza bởi phương pháp nêu trên là nằm trong khoảng từ 20% (trọng lượng/trọng lượng) đến 30% (trọng lượng/trọng lượng), phản ứng này thể hiện quy trình sản xuất trong đó lượng dịch cái tạo ra trong quy trình này, cụ thể là lượng dịch cái D-fructoza được tách từ bước sắc ký liên tục và dịch cái tách được từ bước kết tinh là cao hơn lượng D-psicoza tạo ra. Kết quả là, sự giảm lượng sản xuất D-psicoza dẫn đến việc tăng chi phí sản xuất điều này làm tăng chi phí sản xuất, là vấn đề trong sản xuất công nghiệp không kinh tế.

Do đó, để ngăn việc tăng chi phí sản xuất dẫn đến hiệu quả thấp, tồn tại nhu cầu về một phương pháp có thể sản xuất D-psicoza độ tinh khiết cao với hiệu suất cao.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các phương án của sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất D-psicoza độ tinh khiết cao với hiệu suất cao.

Phù hợp với một phương án của sáng chế, phương pháp sản xuất D-psicoza bao gồm các bước: đưa D-fructoza vào bước epime hóa D-psicoza để tạo ra dung dịch chứa D-psicoza; đưa dung dịch chứa D-psicoza vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion; đưa dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai; đưa dung dịch chứa D-psicoza, là dung dịch đã được đưa vào vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, vào bước sắc ký để thu được dịch cái chứa D-fructoza và dịch tách chứa D-psicoza; và đưa dịch tách chứa D-psicoza vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để thu được tinh thể D-psicoza, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza.

Phù hợp với phương án khác của sáng chế, phương pháp sản xuất D-psicoza bao gồm các bước: đưa D-fructoza vào bước epime hóa D-psicoza để tạo ra dung dịch chứa D-psicoza; đưa dung dịch chứa D-psicoza vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion; đưa dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai; đưa dung dịch chứa D-psicoza, là dung dịch đã được đưa vào vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, vào bước sắc ký để thu được dịch cái chứa D-fructoza và dịch tách chứa D-psicoza; và đưa dịch tách chứa D-psicoza vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để thu được tinh thể D-psicoza, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza, và trong đó dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza được tái sử dụng trong bước bất kỳ trong số các bước bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, và bước sắc ký.

Theo một phương án hoặc phương án khác, phương pháp này còn có thể bao gồm bước làm mát dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký hoặc dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza đến nhiệt độ từ 25°C đến 45°C, cụ thể là 30°C đến 40°C trước khi dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký hoặc dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza được tái sử dụng. Bước sắc ký có thể là, ví dụ, sắc ký liên tục.

Theo một phương án hoặc phương án khác, bước làm mát thứ nhất và bước làm mát thứ ba có thể để chỉ một quy trình làm giảm nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung

quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C, cụ thể là từ 30°C đến 40°C, và bước làm mát thứ hai có thể để chỉ quy trình làm giảm nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45°C đến 65°C, cụ thể là từ 50°C đến 60°C.

Theo một phương án hoặc phương án khác, bước cô thứ nhất để chỉ quy trình cô đặc dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế để có nồng độ D-psicoza nằm trong khoảng từ 50 brix đến 70 brix. Bước cô thứ hai để chỉ quy trình cô đặc D-psicoza trong dịch tách được để có nồng độ là 75 brix hoặc cao hơn, ví dụ, 80 brix hoặc cao hơn.

Theo một phương án hoặc phương án khác, đối với dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký, có thể sử dụng phân đoạn chứa D-fructoza có độ tinh khiết là 70% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn. Đối với dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza, có thể sử dụng phân đoạn chứa D-psicoza có độ tinh khiết là 90% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Theo một phương án hoặc phương án khác, bước epime hóa D-psicoza có thể bao gồm bước epime hóa ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 70°C, cụ thể, từ 40°C đến 60°C, cụ thể hơn là từ 40°C đến 50°C trong sự có mặt của D-psicoza epimeraza, biến thể của nó, các chủng có khả năng tạo ra enzym này hoặc chủng nuôi cấy của nó.

Theo một phương án hoặc phương án khác, bước tinh chế ion có thể được thực hiện bằng cách sử dụng nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh và/hoặc nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu.

Theo một phương án hoặc phương án khác, dịch tách chứa D-psicoza có thể chứa D-psicoza với lượng nằm trong khoảng từ 93% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, cụ thể 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Theo một phương án hoặc phương án khác, bước làm mát thứ nhất đến thứ ba có thể là làm mát bằng trao đổi nhiệt. Thuận lợi, phương pháp làm mát bằng trao đổi nhiệt có diện tích truyền nhiệt rộng và sự trao đổi nhiệt nhanh do xuất hiện dòng chảy xoáy chất lỏng, ngăn cản sự đóng cặn làm giảm nhẹ tính năng, do đó mang lại tính khả thi về kinh tế cao.

Theo một phương án hoặc phương án khác, tinh thể D-psicoza thu được có thể có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, cụ thể hơn là 99% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Theo một phương án hoặc phương án khác, tinh thể D-psicoza điều chế được bởi phương pháp như nêu trên có thể có hiệu suất là 75% hoặc cao hơn, cụ thể là 85% hoặc cao hơn.

Theo phương án khác, phương pháp sản xuất D-psicoza tạo ra D-psicoza có độ tinh khiết là 99% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Phương pháp sản xuất D-psicoza theo các phương án của sáng chế có thể ngăn cản sự biến dạng nhiệt của D-psicoza và cho phép sản xuất D-psicoza với hiệu suất cao thông qua một quy trình ổn định hóa.

Hơn nữa, phương pháp sản xuất D-psicoza theo các phương án của sáng chế thu được dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký và/hoặc dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza, lần lượt được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza, bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, hoặc bước sắc ký, bằng cách đó tạo điều kiện tách ổn định D-psicoza bằng sắc ký sau một khoảng đoạn dài quay vòng, và đảm bảo việc sản xuất D-psicoza với hiệu suất cao.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Các khía cạnh, đặc điểm và thuận lợi trên và các khía cạnh, đặc điểm và thuận lợi khác của sáng chế sẽ được làm rõ bởi phần mô tả chi tiết các phương án sau kết hợp với các hình vẽ kèm theo, trong đó:

Fig.1 là hình vẽ sơ đồ mô tả phương pháp sản xuất D-psicoza theo một phương án của sáng chế;

Fig.2 là hình vẽ sơ đồ mô tả phương pháp sản xuất D-psicoza theo phương án khác của sáng chế;

Fig.3 là hình vẽ sơ đồ mô tả phương pháp sản xuất D-psicoza theo Ví dụ so sánh 2; và

Fig.4 đến 8 thể hiện các biểu đồ mô tả sự thay đổi về độ tinh khiết % (trọng lượng/trọng lượng) của D-psicoza phụ thuộc vào nhiệt độ và nồng độ D-psicoza.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, các phương án của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết. Các mô tả chi tiết đã rõ ràng với người có trình độ hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc lĩnh vực

liên quan sẽ được bỏ qua.

Theo một phương án của sáng chế, phương pháp sản xuất D-psicoza bao gồm: đưa D-fructoza vào bước epime hóa D-psicoza để tạo ra dung dịch chứa D-psicoza; đưa dung dịch chứa D-psicoza vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion; đưa dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai; đưa dung dịch chứa D-psicoza, là dung dịch đã được đưa vào vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, vào bước sắc ký để thu được dịch cái chứa D-fructoza và dịch tách chứa D-psicoza; và đưa dịch tách chứa D-psicoza vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để thu được tinh thể D-psicoza, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza.

Theo phương án khác của sáng chế, phương pháp sản xuất D-psicoza bao gồm: đưa D-fructoza vào bước epime hóa D-psicoza để tạo ra dung dịch chứa D-psicoza; đưa dung dịch chứa D-psicoza vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion; đưa dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai; đưa dung dịch chứa D-psicoza, là dung dịch đã được đưa vào vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, vào bước sắc ký để thu được dịch cái chứa D-fructoza và dịch tách chứa D-psicoza; đưa dịch tách chứa D-psicoza vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để thu được tinh thể D-psicoza, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza, và trong đó dịch cái tạo ra qua bước kết tinh D-psicoza được tái sử dụng trong bước bất kỳ trong số các bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, và bước sắc ký.

Theo phương pháp của sáng chế, dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký hoặc dịch cái tạo ra qua bước kết tinh D-psicoza được tái sử dụng trong bước bất kỳ trong số các bước epime hóa D-psicoza, bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, và bước sắc ký, và do đó có thể tạo ra D-psicoza với hiệu suất cao, do đó tăng hiệu quả sản xuất trong khi vẫn làm giảm chi phí sản xuất.

Đầu tiên, D-fructoza sử dụng là cơ chất để epime hóa có thể được sử dụng với nồng độ nằm trong khoảng từ 30 brix (%) đến 50 brix (%) và có thể được hòa tan trong nước ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 40°C khi sử dụng. Cách khác, D-fructoza có thể được phối hợp với dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký

và sử dụng với nồng độ nằm trong khoảng từ 30 brix (%) đến 50 brix (%) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 40°C. Trong đó, là dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký, phân đoạn chứa D-fructoza có độ tinh khiết 70% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, cụ thể là 75% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn có thể được sử dụng.

Bước epime hóa D-psicoza để chỉ quy trình tạo ra D-psicoza thông qua quá trình epime hóa D-fructoza trong sự có mặt của D-psicoza epimeraza, biến thể của nó, các chủng có khả năng tạo ra enzym này hoặc chủng nuôi cấy của nó. D-psicoza epimeraza theo sáng chế có thể bao gồm enzym hoặc biến thể của nó có nguồn gốc từ các vi sinh vật cho khác nhau như *Agrobacterium tumefaciens*, *Flavonifractor plauti*, và *Clostridium hylemonae*. Các chủng để biến nạp có thể bao gồm *Escherichia coli* hoặc giống *Corynebacterium*, giống *Bacillus*, và giống *Aspergillus*, mà không hạn chế ở các chủng này. Các chủng biến nạp được bởi *Escherichia coli* có thể bao gồm, ví dụ, BL21(DE3)/pET24-ATPE [Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2011-0035805A], BL21(DE3)/pET24-ATPE-2 [Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1203856]. Các chủng của giống *Corynebacterium* có thể bao gồm *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032/pCJ-1-ATPE [Số lưu trữ KCCM11046 disclosed in Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2011-0035805A], *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032/pFIS-1-ATPE-2 [Số lưu trữ KCCM11204P bộc lộ trong Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1203856], *Corynebacterium glutamicum* CJ KY [Số lưu trữ KCCM11403P bộc lộ trong Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1455759], *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032/pFIS-2-ATPE-2 [Số lưu trữ KCCM11678P bộc lộ trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2015-0047111A], và chủng tương tự.

Theo một phương án, bước epime hóa có thể được thực hiện bằng cách bất động D-psicoza epimeraza, biến thể của nó, các chủng có khả năng tạo ra enzym này hoặc chủng nuôi cấy của nó vào một chất mang, ví dụ, natri alginat, nhồi enzym bất động này vào thiết bị đồng phân hóa, ví dụ, cột, và cung cấp dung dịch chứa D-fructoza đến cột đã nhồi này. Nhiệt độ trong thiết bị này có thể được duy trì nằm trong khoảng từ 40°C đến 70°C, ví dụ, từ 40°C đến 55°C, để epime hóa. Nhiệt độ của dung dịch chứa D-fructoza được cung cấp có thể, ví dụ, được tăng đến khoảng từ 40°C đến 60°C, ví dụ 50°C, với tốc độ gia nhiệt nằm trong khoảng từ 5°C đến 20°C trong mỗi giờ bằng bộ

trao đổi nhiệt sao cho SV [Tốc độ dòng chảy trong không gian: tốc độ dòng (L)/giờ(Hr)/lượng nhựa (L)] đạt giá trị từ 0,5 đến 3. D-psicoza tạo ra được bởi bước epime hóa có thể có độ tinh khiết nằm trong khoảng từ 15% (trọng lượng/trọng lượng) đến 35% (trọng lượng/trọng lượng), ví dụ, từ khoảng 20% đến khoảng 30% (trọng lượng/trọng lượng).

Dung dịch chứa D-psicoza được tạo ra như trên được đưa vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion. Bước làm mát thứ nhất để chỉ quy trình làm giảm nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến khoảng từ 25°C đến 45°C, cụ thể là từ 30°C đến 40°C. Theo một phương án, dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza có thể được tái sử dụng trong bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion. Cụ thể, bước làm mát có thể được thực hiện sao cho nhiệt độ được giảm từ từ với tốc độ 1°C đến 10°C trong mỗi giờ thông qua bộ trao đổi nhiệt. Nếu D-psicoza được tiếp xúc liên tục với một nhiệt độ nhất định, D-psicoza có thể bị phân hủy qua sự biến dạng nhiệt, theo cách đó làm giảm độ tinh khiết của D-psicoza trong quy trình sản xuất. Do đó, khó để đạt quy trình sản xuất hiệu suất cao cho D-psicoza (xem Fig.4 đến 8). Do đó, theo sáng chế, sự biến dạng nhiệt của D-psicoza được ngăn cản bằng cách kiểm soát nhiệt độ trong mỗi quy trình của phương pháp này.

Tiếp theo, bước tinh chế ion để chỉ quy trình tinh chế cho phép dung dịch đã làm mát đi qua cột được nhồi nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh và/hoặc nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu. Nếu sử dụng nhựa anion có tính bazơ mạnh, D-psicoza có thể bị biến dạng ở nhiệt độ thấp nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C, bằng cách đó gây ra giảm độ tinh khiết. Do đó, để tạo ra D-psicoza với hiệu suất cao, nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh hoặc nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu có thể được sử dụng. Cụ thể hơn, sử dụng 100% nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu. Nhựa trao đổi cation và nhựa trao đổi anion có thể được sử dụng cùng thời điểm để loại bỏ có hiệu quả các thành phần ion. Trong trường hợp, tỷ lệ của nhựa trao đổi cation với nhựa trao đổi anion có thể nằm trong khoảng từ 1:0,5 đến 1:3. Trong bước tinh chế ion, nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C, cụ thể là từ 30°C đến 40°C được duy trì để ngăn cản sự biến dạng của D-psicoza. Theo đó, có thể loại bỏ các thành phần ion thu được làm tạp chất trong dung dịch chứa D-psicoza. Sau bước tinh chế ion, hàm lượng của thành phần ion là 20 microximen hoặc thấp hơn, cụ thể là 10 microximen trên mỗi cm hoặc thấp hơn, như đo được bởi máy đo độ dẫn điện. D-psicoza trong dung dịch đã tinh chế ion có độ

ting khiết nằm trong khoảng từ 10% (trọng lượng/trọng lượng) đến khoảng 35% (trọng lượng/trọng lượng).

Sau đó, dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế ion được đưa vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai.

Bước cô thứ nhất để chỉ quy trình cô đặc dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế ion sao cho dung dịch này có nồng độ D-psicoza nằm trong khoảng từ 50 brix đến 70 brix, ví dụ, từ 55 brix đến 65 brix. Cụ thể là, có thể cô dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế ion ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 80°C, ví dụ, từ 65°C đến 75°C trong 1 phút đến 1 giờ, cụ thể từ 1 phút đến 30 phút. Để cô, kỹ thuật bốc hơi ở nhiệt độ thấp có thể được sử dụng để ngăn cản sự biến dạng của D-psicoza. Như sử dụng trong đây, thuật ngữ, brix để chỉ trên phần trăm trọng lượng của D-psicoza hoặc D-fructoza tính trên tổng trọng lượng của dung dịch. Sau bước cô thứ nhất, bước làm mát thứ hai có thể được thực hiện. Khi tiến hành bước làm mát thứ hai, nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh có thể được giảm đến nhiệt độ thấp hơn ít nhất 10°C so với nhiệt độ ở bước cô thứ nhất. Theo một phương án, nhiệt độ của bước làm mát thứ hai có thể nằm trong khoảng từ 50°C đến 60°C. Cụ thể, nhiệt độ có thể giảm nhẹ với tốc độ làm mát là từ 5°C đến 25°C trong mỗi giờ bằng bộ trao đổi nhiệt. Theo một phương án, dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza có thể được tái sử dụng trong bước cô thứ nhất và/hoặc bước làm mát thứ hai.

Sau đó, dung dịch chứa D-psicoza đã cô và làm mát có thể được đưa vào bước sắc ký để thu được dịch cái và dịch tách chứa D-psicoza.

Sắc ký là để chỉ quy trình tách D-psicoza bằng cách lợi dụng lực liên kết yếu giữa D-psicoza và ion kim loại gắn với nhựa ion. Ví dụ, bước sắc ký có thể là sắc ký liên tục. Nhựa ion sử dụng trong phép sắc ký có thể là nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh mà các gốc K, Na, Ca, hoặc Ma được gắn vào. Trên quan điểm tách D-psicoza và D-fructoza, K, Ca, hoặc Na được sử dụng một cách thuận lợi. Bằng cách sắc ký, có thể thu được dung dịch chứa D-fructoza- và dịch tách chứa D-psicoza. Dịch tách chứa D-psicoza có thể là phân đoạn chứa D-psicoza có độ tinh khiết là 90% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, ví dụ, 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn. Cụ thể hơn, D-psicoza có độ tinh khiết nằm trong khoảng từ 90 đến 99% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Dung dịch chứa D-fructoza có thể là phân đoạn chứa D-fructoza có độ tinh

khiet là 70% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn. Dung dịch chứa D-fructoza có thể được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza. Trước khi tái sử dụng, phương pháp này có thể còn bao gồm bước làm mát dung dịch đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C, cụ thể là khoảng từ 30°C đến 40°C.

Sau đó, dịch tách chứa D-psicoza được đưa vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để thu được tinh thể D-psicoza. Dung dịch D-psicoza tách được bằng sắc ký và có độ tinh khiết là 90% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, ví dụ, độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, được đưa vào bước cô thứ hai sao cho dịch tách có nồng độ D-psicoza là 75 brix hoặc cao hơn, ví dụ, 80 brix hoặc cao hơn. Việc cô được tiến hành cụ thể ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 80°C, ví dụ, từ 65°C đến 75°C trong từ 1 phút đến 1 giờ, cụ thể hơn là từ 1 phút đến 30 phút. Để cô, có thể sử dụng quy trình bốc hơi ở nhiệt độ thấp để ngăn cản sự biến dạng của D-psicoza. Sau bước cô thứ hai, bước làm mát thứ ba có thể được thực hiện. Bước làm mát thứ ba sử dụng để kết tinh D-psicoza, và có thể bao gồm bước giảm nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 40°C. Cụ thể hơn, bước làm mát thứ ba có thể được thực hiện từ từ sao cho nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh được giảm với tốc độ từ 5°C đến 20°C trong mỗi giờ đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C, ví dụ, từ 30°C đến 40°C. Trong khoảng nhiệt độ này, việc gia nhiệt và làm mát có thể được tiến hành lặp lại từ 5 lần đến 10 lần trong khoảng từ 40 giờ đến 120 giờ để thực hiện bước kết tinh. Tinh thể D-psicoza thu được có thể còn được khử nước và làm khô. Tinh thể D-psicoza thu được có thể có độ tinh khiết 95% hoặc cao hơn, cụ thể là 99% hoặc cao hơn. Hơn nữa, tinh thể D-psicoza có thể có hiệu suất là 75% hoặc cao hơn, 80% hoặc cao hơn, hoặc 85% hoặc cao hơn, theo tính toán phù hợp với Phương trình 1:

Hiệu suất (%) = (trọng lượng tinh thể D-psicoza đã khử nước và làm khô/trọng lượng D-psicoza chứa trong dung dịch được kết tinh) x 100.

Khi tính toán hiệu suất, trọng lượng (g/L) của D-psicoza có trong dung dịch cần được kết tinh được xác định bằng phân tích HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao). Sau đó, giá trị đo được được thế vào trong Phương trình 1, bằng cách đó tính trọng lượng của D-psicoza có trong dung dịch cụ thể (L).

Dịch cái ngoại trừ tinh thể D-psicoza tạo ra trong bước kết tinh D-psicoza có thể được tái sử dụng trong mỗi quy trình trên. Theo một phương án, dịch cái tạo ra

trong bước kết tinh có thể được tái sử dụng trong một hoặc nhiều quy trình được chọn từ bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, và bước sắc ký. Dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza có thể được làm mát đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C và sau đó tái sử dụng. Dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza có thể là phân đoạn chứa D-psicoza có độ tinh khiết là 90% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, độ tinh khiết là 92% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, hoặc độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn có viện dẫn đến một số ví dụ. Nên hiểu rằng các ví dụ này được cung cấp chỉ nhằm minh họa và không được hiểu theo cách bất kỳ để giới hạn sáng chế.

Mô tả chi tiết đã rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ được bỏ qua trong đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Fructoza tinh thể có độ tinh khiết là 99% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, dịch cái thu được từ bước sắc ký liên tục ở khoảng 30°C, dịch cái thu được từ bước kết tinh ở khoảng 30°C, và nước ở khoảng 30°C được phối hợp trong bình đựng dung dịch để điều chế dung dịch cơ chất 50 brix (%) cho phản ứng enzym.

Như bộc lộ trong Đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2009-0118465, phản ứng enzym được thực hiện bằng cách bất động D-psicoza epimeraza tách được từ *Corynebacterium glutamicum* KCCM 11046 ở natri alginat là chất mang, sau đó nạp enzym bất động vào thiết bị đồng phân hóa (cột đồng phân hóa, sản xuất bởi Hanju Machine Industry Inc.), áp dụng dung dịch cơ chất đã điều chế cho phản ứng enzym lên cột đồng phân hóa, và gia nhiệt dung dịch cơ chất ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 5°C đến 20°C trong mỗi giờ lên đến 50°C bằng bộ trao đổi nhiệt sao cho SV [tốc độ dòng chảy trong không gian: tốc độ dòng (L)/giờ (Hr)/lượng nhựa (L)] đạt giá trị 0,5. Tại đây, D-psicoza thu được có độ tinh khiết khoảng 24% (trọng lượng/trọng lượng).

Dung dịch D-psicoza có độ tinh khiết là 24% (trọng lượng/trọng lượng) được đưa vào bước làm mát thứ nhất với tốc độ từ 5°C đến 10°C trong mỗi giờ xuống đến

nhệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 40°C thông qua bộ trao đổi nhiệt, và sau đó cho đi qua cột đã được nhồi nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh được thể bởi các nhóm hydro (Lewatit S 1668) và cột đã được nhồi nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu được thể bởi các nhóm hydroxyl (Lewatit S 4528) sao cho SV [Tốc độ dòng chảy trong không gian: tốc độ dòng (L)/giờ (Hr)/lượng nhựa (L)] đạt giá trị 3, bằng cách đó loại bỏ thành phần ion còn lại trong dung dịch phản ứng enzym. Việc loại các thành phần ion được đo bằng máy đo độ dẫn điện. Trong đó, độ dẫn điện được điều chỉnh đến không quá 10 microximen/cm, và độ tinh khiết của D-psicoza được duy trì ở mức 24% (trọng lượng/trọng lượng).

Dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế ion được đưa vào quy trình bốc hơi ở nhiệt độ thấp (Forced Thin Film Evaporator, Welcronhantec Co., Ltd.), cô đến 60 brix (%) (dung dịch D-psicoza $\times 100$ /tổng dung dịch) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 65°C đến 75°C trong một khoảng thời gian ngắn từ 10 phút đến 15 phút. Dung dịch thu được được đưa vào bước làm mát thứ hai với tốc độ nằm trong khoảng từ 5°C đến 25°C trong mỗi giờ thông qua bộ trao đổi nhiệt, và sau đó được đưa qua cột đã được nhồi nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh có gắn nhóm hoạt động canxi gắn ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 60°C. Thông qua bước sắc ký liên tục như vậy, phân đoạn chứa D-psicoza có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn và phân đoạn chứa D-fructoza có độ tinh khiết là 75% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn được tách.

Dịch cái được tách qua bước sắc ký liên tục, cụ thể, phân đoạn D-fructoza có độ tinh khiết là 75% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, được thu thập và làm mát với tốc độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 30°C trong mỗi giờ. Khi phân đoạn này đạt 30°C, phân đoạn này được quay vòng trở lại quy trình phản ứng enzym.

Dung dịch D-psicoza có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn tách được qua bước sắc ký liên tục được cô đến 80 brix (%) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 65°C đến 75°C trong khoảng thời gian ngắn nằm trong khoảng từ 10 phút đến 15 phút. Dung dịch D-psicoza cô được có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn được làm mát nhanh đến 40°C với tốc độ từ 5°C đến 20°C trong mỗi giờ thông qua bộ trao đổi nhiệt. Việc gia nhiệt và làm mát được lặp lại từ 5 đến 10 lần trong khoảng nhiệt độ từ 35°C đến 40°C sao cho bước kết tinh được tiến hành trong 80 giờ đến 120 giờ, bằng cách đó thu được D-psicoza (xem Fig.1). Ngoài ra,

dịch cái tách được qua bước kết tinh, cụ thể là, phân đoạn D-psicoza có độ tinh khiết là 90% hoặc cao hơn, được thu thập, làm mát đến 30°C, và cho đi qua cột đã được nhồi nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh được thể bởi các nhóm hydro và cột đã được nhồi nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu được thể bởi nhóm hydroxyl.

Qua quy trình trên, dung dịch D-psicoza được cô trong khoảng thời gian ngắn trong quy trình bốc hơi ở nhiệt độ thấp trong khi nhiệt độ của quy trình được điều chỉnh đến nhiệt độ thấp thông qua bộ trao đổi nhiệt, bằng cách đó thu được D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 99% hoặc cao hơn với hiệu suất nổi bật là 75% hoặc cao hơn.

Ví dụ so sánh 1

D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 99% hoặc cao hơn được tạo ra được bởi phương pháp tương tự như trong Ví dụ 1 trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra trong bước sắc ký liên tục được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza và dịch cái tạo ra qua bước kết tinh D-psicoza được tái sử dụng, ngoại trừ việc bỏ qua các bước làm mát bao gồm bước làm mát thứ nhất và bước làm mát thứ hai. Hiệu suất quy trình sản xuất là 60%.

Độ tinh khiết của D-psicoza bị giảm đi ở một nồng độ nhất định hoặc nồng độ thấp hơn và sau một khoảng thời gian nhất định (xem Fig.4 đến 8). Do đó, nếu dịch cái chứa D-fructoza tách được qua bước sắc ký liên tục và dịch cái tách được qua bước kết tinh được quay vòng liên tục mà không làm mát, độ tinh khiết của D-psicoza được đưa vào sắc ký liên tục sẽ bị giảm đi từ độ tinh khiết ban đầu là 24% (trọng lượng/trọng lượng) tỷ lệ với số lần lặp lại việc quay vòng, và hiệu suất của phân đoạn D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn cần phải kết tinh cũng sẽ bị giảm. Do đó, người ta coi rằng hiệu suất thấp như vậy của phân đoạn D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn là nguyên nhân giảm hiệu suất quy trình sản xuất của D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 99% hoặc cao hơn. Hơn nữa, có sự tích tụ tạp chất biến dạng từ D-psicoza được tách là phân đoạn D-fructoza trong giai đoạn tách bằng sắc ký liên tục, bằng cách đó gây ra các vấn đề trong bước tách bằng sắc ký liên tục trong các lần quay vòng. Để kiểm soát sự tích tụ tạp chất này, xả bỏ phân đoạn D-fructoza với lượng nằm trong khoảng từ 5% (thể tích/thể tích) đến 10% (thể tích/thể tích), do đó làm giảm hiệu suất quy trình sản xuất D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 99% hoặc cao

hơn.

Nếu không xả bỏ dịch cái chứa D-fructoza với lượng nằm trong khoảng từ 5% (thể tích/thể tích) đến 10% (thể tích/thể tích) tách được qua bước sắc ký liên tục, độ tinh khiết của D-psicoza được đưa vào sắc ký liên tục sẽ bị giảm liên tục do tạp chất tích tụ. Do đó, để tách D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, các điều kiện tách của phép sắc ký liên tục phải được liên tục điều chỉnh, do đó gây giảm hiệu quả sản xuất trong công nghiệp. Hơn nữa, để tách D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 95% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn, lượng nước khử ion hóa cũng được tăng lên, do đó gây gánh nặng cho quá trình cô. Kết quả là, hiện tượng tắc nghẽn xảy ra trong quy trình sản xuất, do đó gây giảm lượng sản xuất và tăng chi phí sản xuất.

Ví dụ so sánh 2

D-psicoza độ tinh khiết cao có độ tinh khiết là 99% hoặc cao hơn tạo ra được bởi phương pháp tương tự như trong Ví dụ 1 ngoại trừ việc bỏ qua việc tái sử dụng dịch cái chứa D-fructoza tạo ra qua bước sắc ký liên tục trong bước epime hóa D-psicoza và tái sử dụng dịch cái tạo ra qua bước kết tinh D-psicoza. Hiệu suất quy trình sản xuất là 20% (xem Fig.3).

Mặc dù một số phương án đã được mô tả trong đây, nên hiểu rằng các phương án này chỉ được đưa ra nhằm minh họa, và các biến đổi, điều chỉnh và thay đổi có thể được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này mà không vượt quá phạm vi và tinh thần của sáng chế. Do đó, phạm vi của sáng chế sẽ chỉ giới hạn ở bộ Yêu cầu bảo hộ và các phương án tương đương của nó.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất D-psicoza, phương pháp này bao gồm các bước:

đưa D-fructoza vào bước epime hóa D-psicoza để tạo ra dung dịch chứa D-psicoza,

đưa dung dịch chứa D-psicoza vào bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion,

đưa dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai,

đưa dung dịch chứa D-psicoza, là dung dịch đã được đưa vào vào bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, vào bước sắc ký để thu được dịch cái chứa D-fructoza và dịch tách chứa D-psicoza, và

đưa dịch tách chứa D-psicoza vào bước cô thứ hai và bước làm mát thứ ba để kết tinh D-psicoza, theo đó thu được các tinh thể D-psicoza và dịch cái chứa D-fructoza,

trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký được tái sử dụng trong bước epime hóa D-psicoza, và trong đó dịch cái chứa D-fructoza được tái sử dụng trong bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion, bước cô thứ nhất và bước làm mát thứ hai, hoặc bước sắc ký.

2. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm 1, trong đó dịch cái chứa D-psicoza được tái sử dụng trong bước làm mát thứ nhất và bước tinh chế ion.

3. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm 1, trong đó bước sắc ký là sắc ký liên tục.

4. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký hoặc dịch cái chứa D-psicoza tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza được làm mát đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 45°C trước khi tái sử dụng.

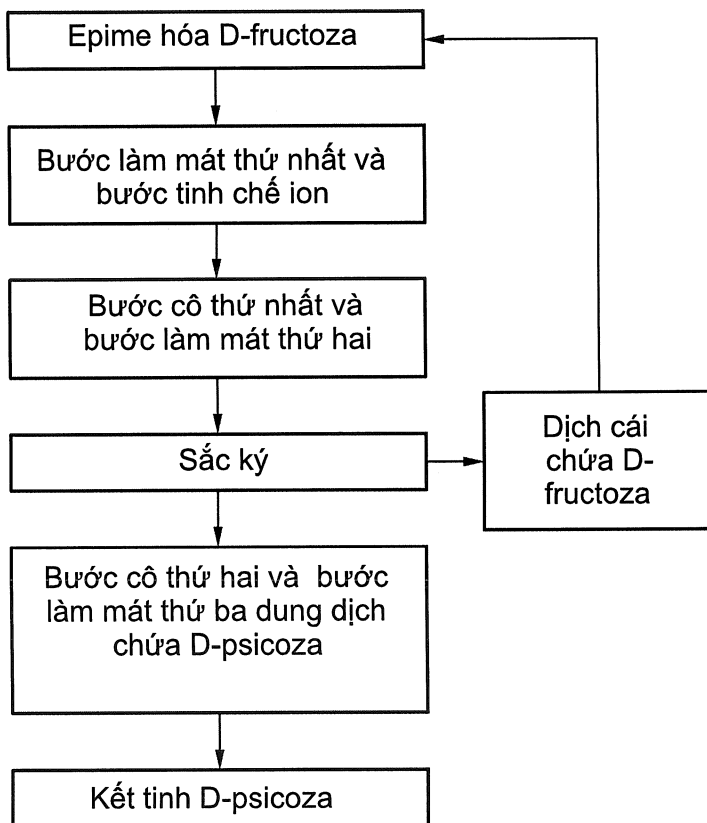
5. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó bước làm mát thứ nhất và bước làm mát thứ ba được tiến hành bằng cách làm mát nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C to 45°C, và bước làm mát thứ hai được tiến hành bằng cách làm giảm nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45°C đến 65°C.

6. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm 5, trong đó bước làm mát thứ nhất và bước làm mát thứ ba được tiến hành bằng cách làm mát nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30°C đến 40°C, và bước làm mát thứ hai được tiến hành bằng cách hạ nhiệt độ dung dịch hoặc nhiệt độ xung quanh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 60°C.
7. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó bước cô thứ nhất được tiến hành sao cho dung dịch chứa D-psicoza đã tinh chế có nồng độ D-psicoza nằm trong khoảng từ 50 brix đến 70 brix, và bước cô thứ hai được tiến hành sao cho dung dịch đã tách được có nồng độ D-psicoza nằm trong khoảng từ 75 brix hoặc cao hơn.
8. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó dịch cái chứa D-fructoza tạo ra được bởi bước sắc ký là phân đoạn chứa D-fructoza có độ tinh khiết là 70% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.
9. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm 1, trong đó dịch cái tạo ra được bởi bước kết tinh D-psicoza là phân đoạn chứa D-psicoza có độ tinh khiết là 90% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.
10. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó bước epime hóa D-psicoza được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 70°C trong sự có mặt của D-psicoza epimeraza, biến thể của nó, các chủng có khả năng tạo ra enzym này hoặc chủng nuôi cấy của nó.
11. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó bước tinh chế ion sử dụng nhựa trao đổi cation có tính axit mạnh hoặc nhựa trao đổi anion có tính bazơ yếu.
12. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó dịch tách chứa D-psicoza bao gồm D-psicoza có độ tinh khiết là 93% (trọng lượng/trọng lượng) hoặc cao hơn.
13. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó bước bất kỳ hoặc nhiều bước hơn trong số các bước làm mát thứ nhất đến bước làm mát thứ ba là làm mát bằng trao đổi nhiệt.
14. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến

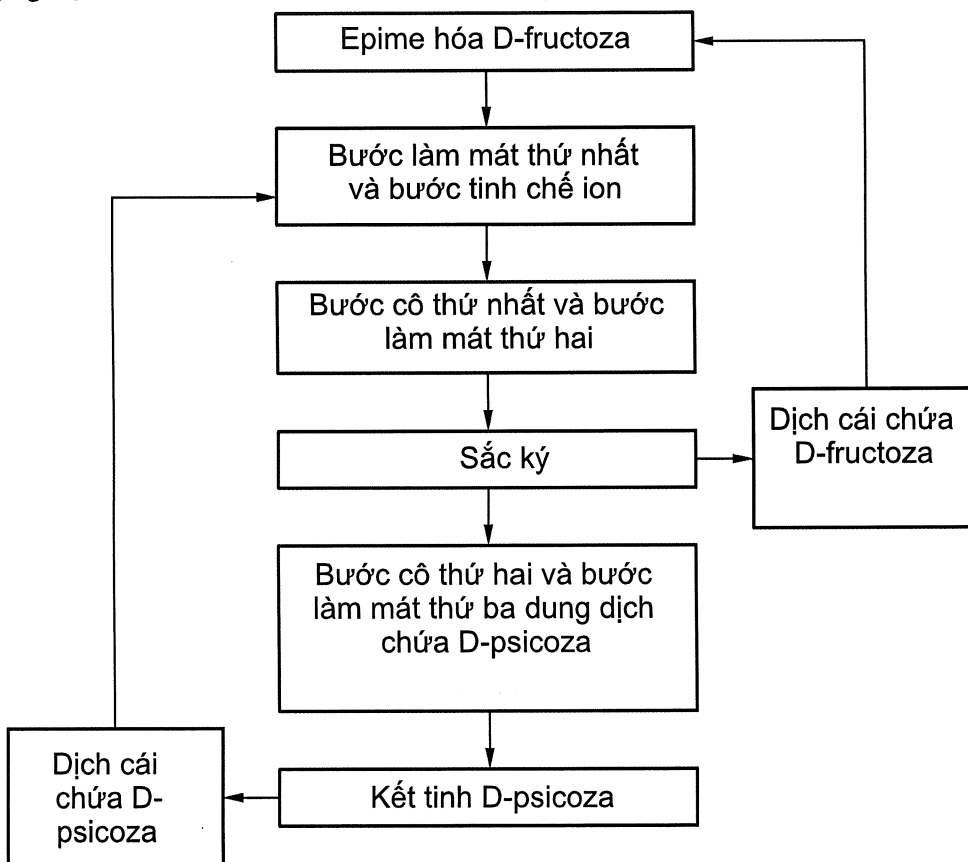
3, trong đó tinh thể D-psicoza thu được có độ tinh khiết là 95% hoặc cao hơn, tốt hơn là 99% hoặc cao hơn.

15. Phương pháp sản xuất D-psicoza theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 1 đến 3, trong đó tinh thể D-psicoza có hiệu suất là 75% hoặc cao hơn.

[Fig. 1]

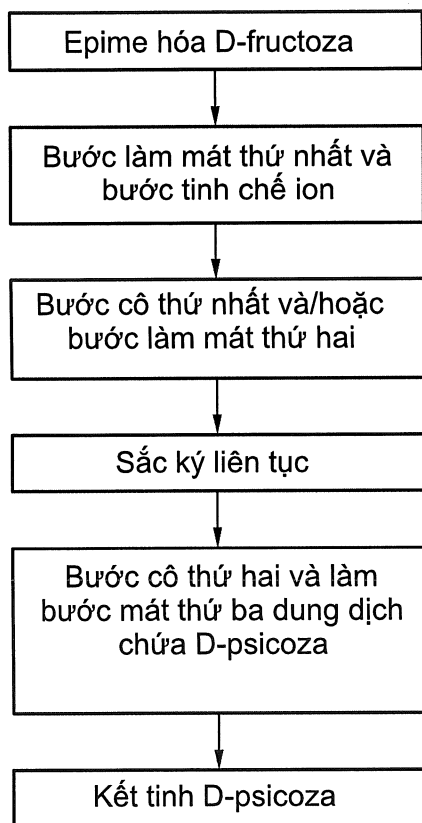


[Fig. 2]

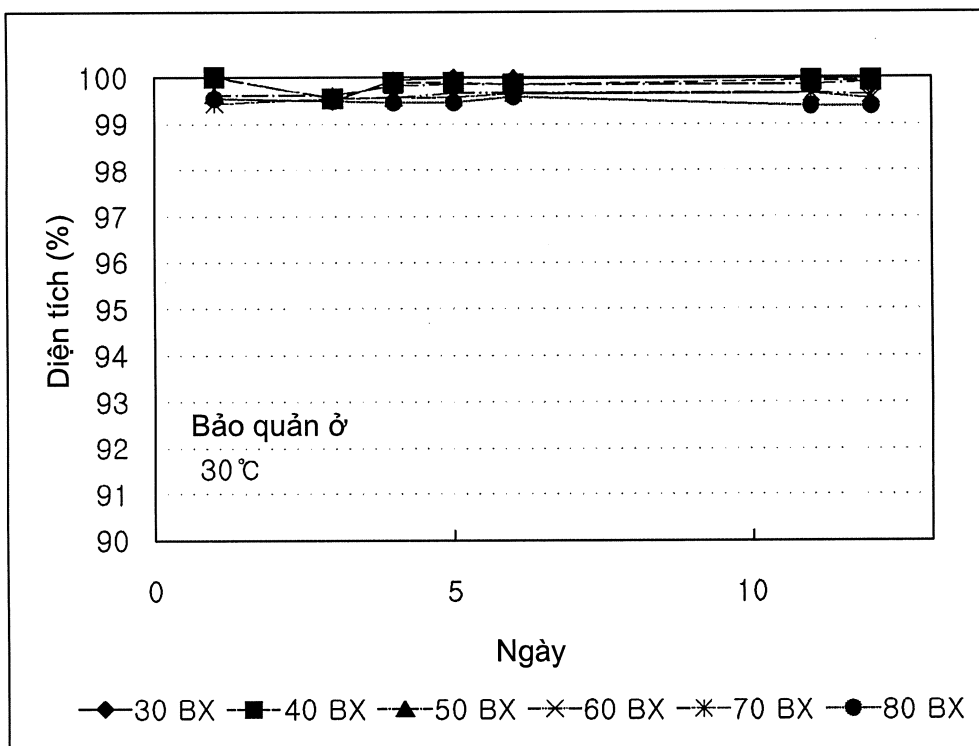


1/4

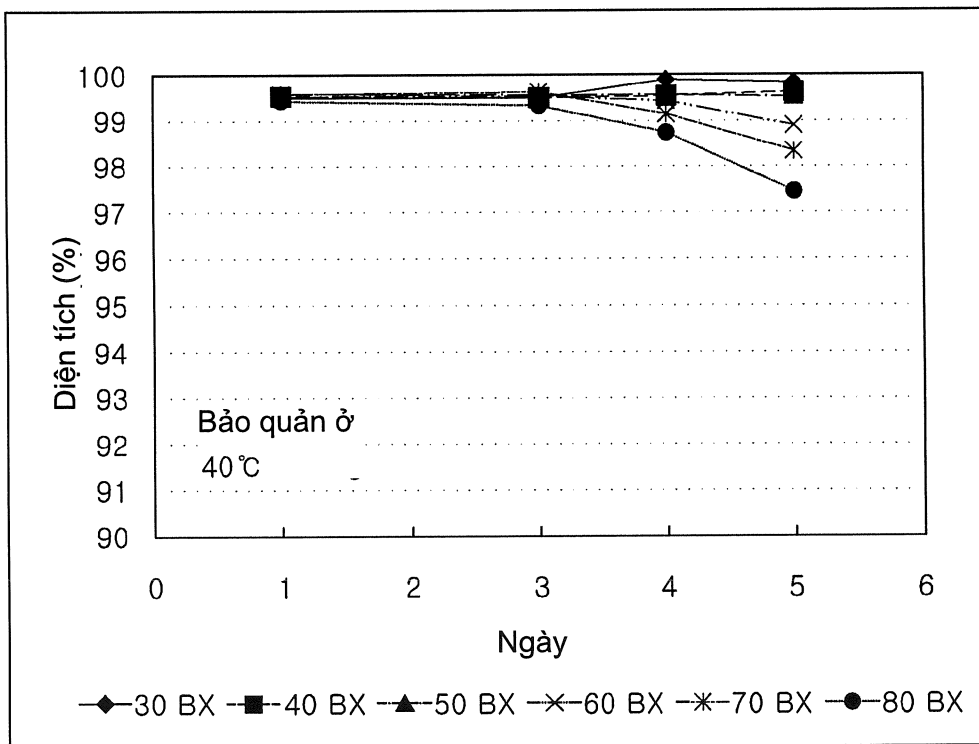
[Fig. 3]



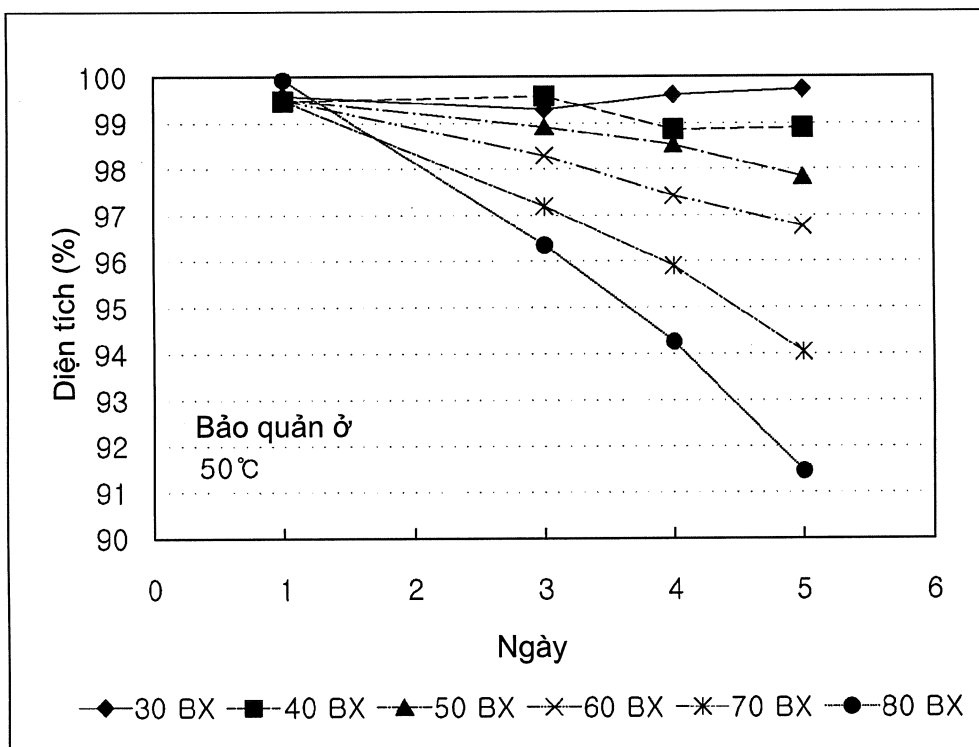
[Fig. 4]



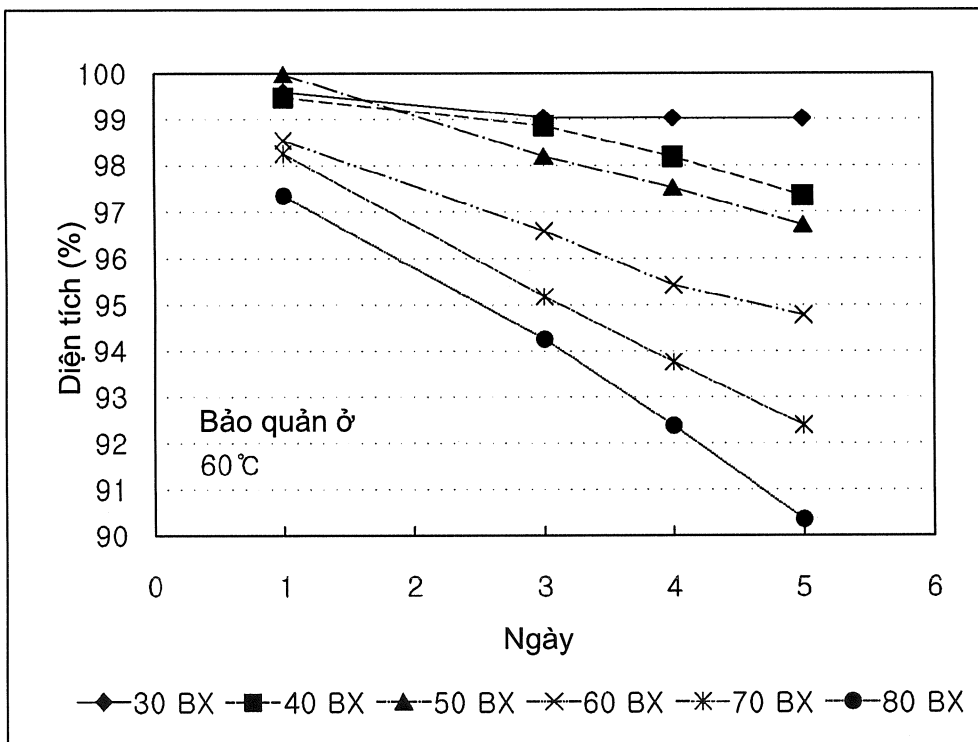
[Fig. 5]



[Fig. 6]



[Fig. 7]



[Fig. 8]

