

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 117 837**

⑤① Int. Cl.⁶: C08B 30/18

C12P 19/14

A61M 1/28

⑫

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **95400292.9**

⑧⑥ Fecha de presentación : **13.02.95**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 667 356**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **16.08.95**

⑤④ Título: **Procedimiento de fabricación de un hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad, nuevo hidrolizado de almidón conseguido de este modo y su utilización en la diálisis peritoneal.**

③⑩ Prioridad: **15.02.94 FR 94 01707**

⑦③ Titular/es: **Roquette Frères
62136 Lestrem, FR**

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:
16.08.98

⑦② Inventor/es:
**Fouache née Ducroquet, Catherine y
Dufлот, Pierrick**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:
16.08.98

⑦④ Agente: **Durán Moya, Luis Alfonso**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (artº 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

La presente invención se refiere a un procedimiento para la fabricación de un hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad.

De manera más precisa, se refiere a un procedimiento para la fabricación de un hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad, especialmente adaptado a la técnica de diálisis peritoneal continua y ambulatoria. Se refiere igualmente, a título de producto nuevo, al hidrolizado de almidón obtenido de este modo, así como a la utilización de dicho hidrolizado como agente osmótico en la diálisis peritoneal ambulatoria continua.

Los hidrolizados de almidón normales son producidos por hidrólisis ácida o enzimática de almidón de cereales o de tubérculos. De hecho son una mezcla de glucosa y de polímeros de glucosa con pesos moleculares extremadamente variables.

Una primera forma de clasificarlos es la medición de su poder reductor, expresado de manera clásica por la noción de dextrosa equivalente o D.E. Por definición, se fija a la dextrosa o glucosa pura, monómero constitutivo de estos polímeros, un D.E. de valor 100. El almidón, polímero muy elevado de la glucosa, posee un D.E. próximo a 0. Entre estos dos valores se encuentra toda la gama de hidrolizados de almidón teniendo los más hidrolizados un D.E. próximo a 100 y los menos hidrolizados un D.E. que tiende a 0.

Una medición del D.E. de este tipo es no obstante insuficiente para representar de manera precisa la composición molecular del hidrolizado de almidón. Así, por ejemplo, la maltosa, polímero de glucosa formado por dos moléculas de este azúcar, con grado de polimerización (D.P.) igual a 2 y que no posee un extremo reductor para las moléculas de glucosa, muestra un D.E. teórico próximo a 100 que es el mismo que el facilitado por una mezcla de partes iguales en peso de almidón y de glucosa.

La hidrólisis ácida del almidón, totalmente aleatoria o su hidrólisis enzimática un poco más ordenada, proporcionan mezclas de glucosa y de polímeros de glucosa que la sola medición del D.E. no permite definir con precisión y que comportan moléculas muy cortas, con débil D.P., así como moléculas muy largas con D.P. elevado.

La medición del D.E. no da en realidad una idea aproximada del grado de polimerización medio de estos polímeros y por lo tanto de su masa molecular media en número: Mn

Esta masa molecular media en número Mn está de hecho expresada por la ecuación:

$$M_n = \frac{1}{\sum \frac{\text{fracción en peso de cada molécula}}{\text{masa molecular de esta molécula}}}$$

En el ejemplo de la mezcla a partes iguales en peso del almidón y de la glucosa se obtiene por lo tanto:

$$M_n = \frac{1}{\frac{0,5}{180} + \frac{0,5}{\infty}} \text{ es decir } \frac{180}{0,5} = 360$$

lo que corresponde a dos veces el peso molecular de la glucosa, es decir, aproximadamente el peso molecular de la maltosa.

Igual como el D.E., Mn no permite caracterizar totalmente la dispersión de las masas moleculares de las mezclas de polímeros que son los hidrolizados de almidón, puesto que no permite efectuar la diferencia entre la maltosa y la mezcla a partes iguales de almidón y de glucosa.

Se define entonces, para tomar en consideración esta diferencia, la masa molecular promedio en peso: Mp, que se expresa por la ecuación:

$$M_p = \sum \frac{\text{fracción en peso de cada molécula} \times \text{masa molecular de esta molécula}}{\text{masa molecular de esta molécula}}$$

En el ejemplo considerado, se obtiene por lo tanto:

$M_p = 0,5 \times 180 + 0,5 \times \infty$, resultando que es muy alejado del peso molecular de la maltosa que es igual a 342, pero que refleja satisfactoriamente en este caso la existencia de un polímero elevado en la molécula.

A efectos de simplificación, se ha admitido en lo anterior que el almidón posee una masa molecular infinita. Si bien se trata de un polímero muy elevado de la glucosa, su masa molecular es en realidad finita, y se sitúa en algunos millones de daltons. Igualmente, no se ha tenido en cuenta al agua reactiva necesaria para la hidrólisis total del polímero pero que representa solamente el 10 % del peso de éste incluso solamente el 5 % del peso de la maltosa.

La relación Mp/Mn se designa frecuentemente como "índice de polimolecularidad" y permite caracterizar globalmente el carácter disperso de las masas moleculares de una mezcla de polímeros.

En el caso ideal de la maltosa pura, esta relación es de 1, y tendería a infinito en el caso de una mezcla a partes iguales de almidón y glucosa.

En la práctica, los valores de Mn y de Mp que permiten definir mejor las especies moleculares que componen las mezclas de polímeros, no se calculan, sino que se miden por diferentes técnicas. La osmometría, la ebuliometría, la criometría, la destilación isotérmica, el método termoelectrico y la dosificación química de los agrupamientos terminales de los polímeros, como el D.E. permiten acceso al Mn. La difusión de la luz permite el acceso al Mp y en algunos casos al Mn. Estos dos valores Mp y Mn pueden ser también accesibles por cromatografía de permeación de gel en columnas de cromatografía calibradas con dextranos de masas moleculares conocidas (Alsop y Otros, Process Biochem, 12, 15-22; 1977 o Alsop y Otros, J. Chromatography 246, 227-240; 1982). Este último método de medición está muy adaptado a los polímeros de glucosa y es el que se utiliza en el marco de la presente invención.

La solicitud de Patente inglesa GB 2.247.242 describe gránulos de amilosa que precipitan en solución acuosa, que poseen un Mn de 4000 a 7000 daltons y un índice de polidispersabilidad particularmente bajo, de 1,4 a 1,7, fijando para estos gránulos, un Mp de 5.600 a 11.900 daltons.

La solicitud de patente europea n° 207.676 indica que para una utilización en diálisis peritoneal continua y ambulatoria son preferentes hidrolizados de almidón que forman soluciones límpidas e incoloras al 10% en agua y que tienen un peso molecular medio en peso (Mp) de 5.000 a 100.000

daltons y un peso molecular medio en número (Mn) inferior a 8.000 daltons.

Estos hidrolizados de almidón comprenden también de manera preferente por lo menos 80 % de polímeros de glucosa cuyo peso molecular está comprendido entre 5.000 y 50.000 daltons, poca o ninguna glucosa o polímeros de glucosa con DP inferior o igual a 3 (peso molecular 504) y pocos o ningún polímero de glucosa con peso molecular superior a 100.000 (DP próximo a 600).

En otras palabras, los hidrolizados de almidón preferentes son hidrolizados de almidón de reducido índice de polimolecularidad.

Se concibe en efecto fácilmente para esta aplicación que los monómeros o polímeros de reducido peso molecular atraviesan rápidamente la pared peritoneal y por lo tanto no tienen interés permanente para la creación de un gradiente de presión osmótica y que los polímeros con pesos moleculares muy elevados, carentes de poder osmótico, se deben evitar e incluso prohibir puesto que son potencialmente peligrosos si tuviera lugar su precipitación consecutivamente a su retrogradación.

Los procedimientos que se proponen en esta solicitud de Patente para obtener estos hidrolizados de almidón de reducido índice de polimolecularidad, consisten en:

- efectuar una precipitación fraccionada de una maltodextrina con ayuda de un disolvente miscible en agua.

- efectuar una filtración molecular de esta misma maltodextrina a través de diferentes membranas que poseen un umbral de corte o de extrusión adecuado.

En otros casos, estos procedimientos se refieren a eliminar simultáneamente los polímeros de peso molecular muy elevado y los monómeros u oligómeros de reducido peso molecular.

No obstante, estos procedimientos no son satisfactorios tanto desde el punto de vista de su puesta en práctica como desde el punto de vista de los rendimientos y de la calidad de los productos que permiten conseguir.

En la práctica son muy delicados para su puesta en práctica puesto que necesitan manipular volúmenes de agua muy grandes o incluso peor, disolventes orgánicos costosos y peligrosos. Su rendimiento es reducido, puesto que no permiten obtener más de 25% de hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad con respecto al hidrolizado de almidón normal puesto en práctica. Estos procedimientos no permiten por lo tanto obtener hidrolizados de almidón cuyo índice de polimolecularidad es particularmente reducido, lo que es no obstante deseable por las razones que ya se han expuesto anteriormente. En la solicitud de Patente europea n° 207 676, los índices de polimolecularidad de los productos obtenidos se escalonan efectivamente de 7 a 2,85 en el mejor de los casos.

La solicitante de la presente Patente, con la intención de poner en práctica un procedimiento de fabricación de un hidrolizado de almidón completamente soluble en el agua y de reducido índice de polimolecularidad, inferior a 2,8 y preferentemente inferior a 2,5, que tiene preferentemente un Mn inferior a 8.000 daltons y que posee un Mp comprendido entre 5.000 y 100.000 daltons, pre-

ferentemente comprendido entre 8.000 y 50.000 y más preferentemente todavía comprendido entre 12.000 y 20.000 daltons, procedimiento que debe estar desprovisto de los inconvenientes de las técnicas anteriormente conocidas, habiendo comprobado al final de múltiples ensayos que un hidrolizado de almidón de este tipo podría ser obtenido por la puesta en práctica de un procedimiento consistente en:

- hidrolizar por vía ácida una lechada de almidón "waxy" hasta un D.E. comprendido entre 8 y 15;

- completar eventualmente esta hidrólisis ácida por una hidrólisis enzimática con ayuda de alfa-amilasa bacteriana hasta un D.E. comprendido entre 11 y 18;

- cromatografiar sobre resinas catiónicas fuertes macroporosas en forma alcalina o alcalinotérrica este hidrolizado doble ácido-enzima;

- recoger el hidrolizado de almidón excluido de dicha etapa de cromatografía.

Es preferible recoger el hidrolizado de almidón excluido en esta etapa de cromatografía en un rendimiento ponderal generalmente comprendido entre 10 y 80% del hidrolizado puesto en práctica en la etapa de cromatografía.

Cuanto más se reduce el rendimiento ponderal de la cromatografía, más se reduce el índice de polidispersabilidad. Los rendimientos de 50 % son traducidos ordinariamente por índices de polidispersidad inferiores a 2,5.

El procedimiento según la invención permite obtener hidrolizados de almidón totalmente solubles en agua y de índice de polimolecularidad particularmente reducida. La invención se refiere, por lo tanto, a título de producto industrial nuevo, a un hidrolizado de almidón céreo caracterizado por presentar un índice de polimolecularidad inferior a 2,8 y preferentemente inferior a 2,5, una masa molecular media en peso Mp comprendida entre 8000 y 22.500 daltons, y más preferentemente todavía comprendida entre 12.000 y 20.000 daltons, así como una masa molecular media en número Mn inferior a 8.000 daltons.

Este hidrolizado de almidón en cuestión contiene preferentemente menos de 3% de glucosa y de polímeros de glucosa con DP inferior o igual a 3 y menos de 0,5% de polímeros de glucosa con DP superior a 600.

La sociedad solicitante ha descubierto que solamente los almidones compuestos casi exclusivamente de amilopectina y corrientemente denominados almidones "waxy" o almidones céreos podían servir de materia prima en este procedimiento de invención. Los almidones o féculas que contienen una proporción no despreciable de amilosa no son convenientes.

Preferentemente, el almidón puesto en práctica en el procedimiento de la invención es un almidón de maíz céreo pero los almidones de arroz tipo "waxy" o féculas "waxy" pueden ser igualmente convenientes.

Preferentemente la hidrólisis ácida es efectuada con ayuda de ácido clorhídrico en cantidad suficiente para llevar la lechada de almidón a un valor comprendido entre 20 y 50 meq/l (miliequivalentes por litro). La temperatura a la cual se desarrolla la hidrólisis puede ser comprendida en-

tre 105 y 135°C, pero se prefiere en general trabajar a presión a una temperatura próxima a 117°C. La duración de la hidrólisis es variable y está correlacionada de manera inversa con la cantidad de ácido puesta en práctica y con la temperatura a la cual se efectúa aquélla.

La interdependencia de estos tres parámetros es bien conocida por los técnicos en la materia que saben ajustarlos para que al final de esta etapa se obtenga un hidrolizado de almidón cuyo D.E. esté comprendido entre 8 y 15. Valores de D.E. que se apartan demasiado de estos valores no permitirían obtener con buenos rendimientos los hidrolizados de almidón con polimolecularidad reducida.

La eventual etapa de hidrólisis enzimática con ayuda de alfa-amilasa bacteriana, es efectuada preferentemente a una temperatura comprendida entre 40 y 100°C, preferentemente entre 50 y 80°C. Una etapa de este tipo, que se traduce sobre todo en la hidrólisis de los productos de muy alto peso molecular, permite a igual rendimiento cromatográfico, reducir el índice de polidispersidad de los productos obtenidos.

El pH del medio reactivo está entonces regulado por medio de cal, por ejemplo a un valor próximo al pH óptimo de la alfa-amilasa utilizada y que está generalmente comprendido entre 5 y 7.

La cantidad de enzima utilizada está comprendida preferentemente entre 200 y 2.000 unidades TAU (Thermostable amylase units) ("unidades de amilasa termoestable") por kilo de almidón utilizado. Esta unidad no convencional queda definida del modo siguiente: una unidad TAU es la cantidad de enzima que convierte en condiciones estándar 1 mg de almidón soluble por minuto en un producto que tiene el mismo poder de absorción a 620 nm, después de reacción con yodo, que un color de referencia. Estas condiciones estándar son: pH 6,6, temperatura 30°C, duración de la reacción de 15 a 25 minutos.

Es posible obtener el protocolo preciso de esta medición de la sociedad GIST.

No obstante es preferible utilizar una cantidad de enzima comprendida entre 500 y 1500 TAU por kilogramo de almidón, cantidad tal que no debe ser demasiado reducida para que la reacción se desarrolle en un tiempo aceptable y que no sea demasiado importante para que se pueda interrumpir a tiempo esta hidrólisis, de la que se debe recordar que es conveniente terminar a la obtención de un D.E. comprendido entre 11 y 18, preferentemente entre 12 y 15.

Se indicará nuevamente, que los valores de D.E. que se aparten demasiado de estos valores no permitirían obtener, con buenos rendimientos, hidrolizados de almidón con débil polimolecularidad que se consideran como productos del procedimiento según la invención.

Para interrumpir esta hidrólisis se puede utilizar cualquier procedimiento de desnaturalización química o física de la alfa-amilasa. Se prefiere no obstante utilizar un procedimiento físico-químico y éste es realizado cómodamente por calentamiento del medio reactivo a una temperatura de 70 a 120°C durante 5 a 60 minutos, después de haber llevado dicho medio a un pH inferior a 4.

Es preferible, antes de proceder a la etapa si-

guiente de la cromatografía del medio reactivo obtenido por hidrólisis ácida y después eventualmente enzimática del almidón céreo ("waxy"), efectuar las operaciones básicas de filtración y de desmineralización que tienen por finalidad eliminar las proteínas insolubles o insolubilizadas por el tratamiento físico o químico de desnaturalización enzimática, así como las sales minerales u otras impurezas iónicas o no cargadas contenidas en el almidón utilizado o añadidas para realizar los tratamientos anteriores.

La etapa de cromatografía se efectúa de manera conocida en sí misma con respecto a otros hidrolizados de almidón. Puede ser efectuada de modo discontinuo o continuo (lecho móvil simulado) pero se debe efectuar sobre adsorbentes del tipo de resinas catiónicas macroporosas, puesto que la sociedad solicitante ha descubierto que las resinas catiónicas con estructura de gel utilizadas tradicionalmente en el fraccionamiento de los hidrolizados de almidón o de sus isomerizados, no son convenientes para esta aplicación. Es preciso igualmente que estas resinas sean resinas catiónicas fuertes y que sean utilizadas en forma alcalina o eventualmente alcalino-térea.

La forma potásica K⁺ es, no obstante, la preferente.

Esta etapa de cromatografía puede ser realizada, por ejemplo, utilizando el procedimiento y los aparatos descritos en la Patente U.S.A. 4 422 881 de la cual es titular la sociedad solicitante. Es preferible igualmente que las resinas utilizadas a título de adsorbente cromatográfico tengan una granulometría homogénea y comprendida entre 100 y 1.500 micras aproximadamente. Una granulometría preferente es de 200 a 500 micras. Un tipo de resinas particularmente apreciado para la puesta en práctica de este procedimiento es la resina C 150 en forma K⁺, comercializada por la sociedad PUROLITE.

La elección de los parámetros de funcionamiento cromatográfico entre los cuales se observa más particularmente los caudales relativos de elución, de alimentación del jarabe a fraccionar, es decir, en el caso del hidrolizado de almidón céreo ("waxy") ácido y además eventualmente enzimático, el caudal de extracción de la fracción que constituye el hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad y el caudal relativo de la fracción que reúne esencialmente los polímeros de glucosa de poco peso molecular retenidos por la resina y finalmente la composición de las zonas de desabsorción, de adsorción y de enriquecimiento cuando se utiliza el procedimiento y el dispositivo de la Patente U.S.A. 4.422.881 se explica y se ilustra en el ejemplo.

La elección de estos parámetros se efectúa de manera tal que la fracción X₁ que constituye el hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad, representa del 10 al 80%, preferentemente de 30 a 70% y todavía de manera más preferente de 40 a 60% de la materia seca del hidrolizado de almidón "waxy", ácido-enzima utilizado en esta etapa de fraccionamiento.

Para conseguir este resultado estos parámetros se escogen del modo siguiente cuando se realiza el fraccionamiento cromatográfico según las indicaciones de la Patente U.S.A. precitada

y cuando el adsorbente utilizado es una resina catiónica macroporosa reticulada con aproximadamente 7,5% de divinilbenceno, de una granulometría comprendida entre 400 y 1200 micras, y cuando esta resina es utilizada en forma K^+ :

- caudal de elución relativo de 75 a 750 l/h/m³ de adsorbente.

- caudal de alimentación relativo de hidrolizado de almidón céreo, de 10 a 100 l/h/m³ de adsorbente

- caudal de extracción relativo de la fracción X₁ que constituye el hidrolizado de almidón con reducida polimolecularidad de 65 a 650 l/h/m³ de adsorbente.

- caudal de extracción relativo de la fracción X₂ que contiene esencialmente los polímeros de glucosa de reducido peso molecular de 20 a 200 l/h/m³ de adsorbente.

La hidrólisis del almidón céreo utilizado en las condiciones particulares del procedimiento de la presente invención hace que los hidrolizados utilizados en la etapa de cromatografía no contengan de forma detectable polímeros de glucosa cuya masa molecular es superior a 200.000 daltons. Esto simplifica enormemente esta etapa de cromatografía puesto que no es necesario fraccionar nuevamente la fracción X₁ para no conservar más que los polímeros de glucosa de dimensiones medias. Este estado de las cosas explica parcialmente el excelente rendimiento en el hidrolizado de almidón con reducida polimolecularidad, que permite obtener el procedimiento de la invención.

La fracción X₁ puede servir de base en su estado y después de purificaciones tradicionales por decoloración, filtración, desmineralización, para la confección de soluciones de diálisis puesto que no contiene materias insolubles sino que puede ser también ventajosamente modificada por vía química o biológica para aumentar su estabilidad, especialmente la estabilidad térmica.

Por esta razón, dicha fracción puede ser hidrogenada para facilitar polímeros cuyo extremo final de glucosa reductora está substituido por un extremo sorbitol no reductor.

Una transformación de este tipo puede ser obtenida por lo tanto especialmente por técnicas de hidrogenación catalítica bien conocidas por los técnicos en la materia. Estas técnicas consisten por ejemplo en someter una solución de un azúcar reductor, eventualmente el hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad, en presencia de un catalizador de níquel de Raney, con una presión de hidrógeno de 40 a 70 kg/cm² y a una temperatura de 100 a 150°C. La hidrogenación continúa algunas horas hasta que el producto hidrogenado no muestra prácticamente poder reductor adicional.

Esta fracción X₁ puede ser sometida igualmente a la acción de enzimas extraídas en especial de bacterias del tipo *Rhizobium* o *Arthrobacter* que tienen la particularidad de isomerizar el eslabón de maltosa reductor terminal de los polímeros obtenidos por el procedimiento de la invención en un eslabón alfa-alfa trehalosa no reductor.

Una isomeración de este tipo puede ser conseguida, por ejemplo, gracias a las técnicas que se

dan a conocer en la solicitud de Patente europea EP 606 753 cuya materia se incorpora a la actual a título de referencia. Consiste en someter una solución del hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad a la acción de una enzima que forma sacáridos no reductores a una temperatura de 40 a 55°C y un pH comprendido entre 5 y 10. La casi ausencia de moléculas de reducido peso molecular (glucosa, maltosa, maltotriosa...) en los productos obtenidos por el procedimiento de la presente invención, productos en los que la enzima es poco activa, permite obtener productos que muestran solamente un pequeño poder reductor y que a pesar de todo no están compuestos por unidades de anhidroglucosa.

Es preciso observar que ninguno de estos procedimientos, de hidrogenación o de isomeración enzimática modifica sensiblemente el Mp, el Mn o el índice de polimolecularidad de los productos sometidos a estas acciones. Igualmente, la solubilidad en el agua de estos productos, se conserva completamente.

Si bien están particularmente bien adaptados como agentes osmóticos utilizables en diálisis peritoneal, los productos de la invención, tanto si se trata de hidrolizados de almidón de reducida polimolecularidad o de sus equivalentes hidrogenados o isomerizados, son igualmente utilizables por ser soportes muy poco higroscópicos de edulcorantes intensos, de colorantes, de perfumes, de café o té solubles, y pueden ser utilizados de manera ventajosa en todos los casos de utilización de las maltodextrinas tradicionales de bajo DE, insensibles a la retrogradación.

La fracción X₂, compuesta de polímeros de glucosa de reducido peso molecular puede ser recuperada además en su totalidad y puede ser hidrolizada completamente en glucosa, por ejemplo, lo que contribuye además a la economía del procedimiento de la invención.

Esta fracción X₂ puede ser asimismo comercializada en un estado tal como una maltodextrina con D.E. próximo a 22, exenta de polímeros relativamente pesados de glucosa.

El ejemplo siguiente tiene por objeto ilustrar la invención. No debe ser limitativo para la misma en especial en lo que respecta a la etapa de cromatografía, que no se describe en esta memoria más que para un material particular que permite una realización específica de un procedimiento continuo.

También se pueden utilizar en el procedimiento de la invención procesos discontinuos que requieren una o varias columnas, igual que otros sistemas continuos. La geometría de los dispositivos utilizados y la eficacia de los movimientos de pistón generados en el núcleo de las resinas pueden tener una influencia sobre los parámetros anteriormente indicados, pero el técnico sabrá encontrar con rapidez en qué sentido es conveniente modificarlos alrededor de los valores medios indicados si no dispone exactamente de la instalación aquí descrita.

Ejemplo

Licuefacción ácida

Se procede a la licuefacción por vía ácida de una lechada de almidón de maíz "maxy" o céreo de una materia seca de 320 g/kg a una

temperatura de 117°C. Se utiliza para ello ácido clorhídrico al que se añade una lechada de almidón de manera que ésta presenta una acidez de 34 meg/l.

Se termina esta licuefacción por vía ácida enfriando el hidrolizado desde el momento en que éste alcanza un DE de valor 11,5.

Se puede entonces medir para este hidrolizado un Mp de 10.070 y un Mn de 2.020. El contenido de polímeros de peso molecular superior a 100.000 daltons es aproximadamente de 0,18%, el de DP1, DP2, DP3 es aproximadamente de 7%.

Licuefacción enzimática

El hidrolizado ácido obtenido de esta manera es ajustado con pH de 6,2, su temperatura se lleva a 65°C y a continuación se añade 0,15 °/.. en peso de alfa amilasa bacteriana MAXAMYL^R comercializada por la sociedad GIST. Esta enzima posee una actividad específica de 6500 TAU/g. Se deja continuar la hidrólisis hasta la obtención de un DE de valor 12,6, y después se lleva rápidamente al conjunto cinco minutos a 120°C para desnaturar la enzima.

Se puede entonces medir para este hidrolizado doble ácido-enzima, un Mp de 8600 y un Mn de 1650. El contenido de polímeros de peso molecular superior a 100.000 daltons no es más de 0,1% aproximadamente. El contenido de DP1 + DP2 + DP3 es aproximadamente de 8,5%. Este hidrolizado es entonces filtrado, decolorado, desmineralizado de manera acostumbrada para purificar los hidrolizados de almidón.

El jarabe obtenido, perfectamente incoloro y límpido, que se reconcentra hasta un contenido de materia seca de 30%, se encuentra entonces listo para ser sometido a la etapa de fraccionamiento cromatográfico.

Separación cromatográfica

El fraccionamiento de este hidrolizado doble ácido-enzima ha sido efectuado en una instalación cromatográfica continua cuyos detalles de construcción y de funcionamiento se describen en la Patente US 4.422.881, cuyos detalles no se han repetido aquí excepto en lo que hace falta para la comprensión del procedimiento.

Esta instalación comprende, tal como se ha indicado en la figura 2 de la patente USA (citada en esta descripción en lo que respecta a la figura 1 y para la explicación detallada de la cual se hará referencia en dicha patente USA), ocho columnas o etapas C₁ a C₈ de 200 litros cada una, llenas de resina catiónica fuerte, macroporosa C 150 comercializada por la sociedad PUROLITE, cuyas resinas han sido permutadas en forma de potasio, con una granulometría comprendida entre 400 y 1200 micras y una proporción de reticulación de 7,5%.

Por el ajuste de las electroválvulas se establece en esta instalación una zona I de desadsorción de dos etapas que corresponden a las columnas 6 y 7, una zona II de adsorción de una sola etapa que corresponde a la columna 8 y una zona III de enriquecimiento y de separación del hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad de 5 etapas, que corresponden a las columnas 1 a 5, tal como se ha mostrado en la figura 1. Esta figura 1 es una representación esquemática de la instalación según la figura 2, pero no se han hecho

figurar en ella más que

- las columnas C₁ a C₈,
- el dispositivo de cierre que en este caso es la electroválvula (106),

5 - las canalizaciones de alimentación de agua y de hidrolizado doble ácido-enzima a fraccionar que se han mostrado respectivamente en (128) y (14), y

10 - la canalización (138) de extracción de glucosa y de polímeros de glucosa, de reducido peso molecular, que se han retenido por la resina por una parte (fracción 2) y la canalización (146) de extracción del hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad (fracción 1).

15 El dispositivo de cierre (106) mantiene en la configuración adoptada una estanqueidad total entre, por una parte la zona III, que es una zona de enriquecimiento de alto peso molecular en el extremo de la cual se recupera el hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad por la canalización (146) y por otra parte la zona I de desadsorción de glucosa y de polímeros de glucosa de reducido peso molecular, zona encima de la cual se introduce el agua de desadsorción.

20 Este dispositivo de cierre (106) asegura el sentido de paso de la fase líquida sobre la resina.

Un reloj de control ajustado a 1500 segundos asegura para los caudales siguientes:

- Agua, por la canalización (128), 366 litros/hora.

30 - Hidrolizado de almidón doble ácido-enzima a 30% de materias secas, por la canalización (14), 50 litros/hora.

35 - Hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad, por la canalización (146), 326 litros/hora.

- Glucosa y polímeros de glucosa de reducido peso molecular, por la canalización (138), 90 litros/hora.

40 Al final del período de 1500 segundos, se pasan hacia la derecha todas las entradas y salidas igual que el dispositivo de cierre (106).

45 Estos caudales se establecen de manera tal que al final de los 1500 segundos la cantidad de hidrolizado de almidón doble ácido-enzima sea compatible con el volumen de resina adsorbente y su capacidad de adsorción. Igualmente, la cantidad de agua admitida durante ese tiempo es la que permite desadsorber la casi totalidad de glucosa y de los polímeros de reducido peso molecular que han sido adsorbidos por la resina.

50 La parte relativa del rendimiento en polímeros de la glucosa de reducido índice de polimolecularidad y de los productos de reducido peso molecular queda asegurada por la relación de los caudales en la salida de las canalizaciones (146) y (138). En las condiciones indicadas en el cuadro de este ejemplo, el rendimiento ponderal en polímeros de glucosa de reducido índice de polimolecularidad es sensiblemente igual a 50% de las materias secas introducidas en el sistema cromatográfico.

55 Un aumento de este rendimiento que se obtendría aumentando el caudal de la salida (146) se traduciría en la obtención de un producto cuyo índice de polimolecularidad aumentaría y cuyo Mp y Mn quedarían reducidos.

60 La disminución de este rendimiento se traduciría, tal como se puede comprender, en el resul-

tado inverso.

Para efectuar esta cromatografía, la temperatura en el interior de las columnas se mantiene a 75°C.

La fracción X1, que está compuesta en realidad en estas condiciones por una parte de agua pura que procede de la elución de la columna de resina del ciclo anterior se escinde en dos subfracciones. La primera subfracción, que representa los primeros 700 segundos del ciclo de 1500 segundos, es decir, los 63,5 primeros litros de cada ciclo, se compone de agua prácticamente pura que no es recuperada.

La segunda parte de esta fracción, que procede de la instalación por la salida (146) entre el segundo 701° y el final del ciclo de 1500 segundos es recuperada para sufrir una purificación suplementaria. Es esta fracción la que constituye con una materia seca aproximadamente de 4,5% el hidrolizado de almidón con reducido índice de polimolecularidad.

Esta fracción, que no es utilizable en su estado, debe sufrir para su aplicación en diálisis peritoneal continua y ambulatoria los tratamientos de purificación siguientes pero que no tienen influencia sobre el Mp, el Mn o el índice de polimolecularidad del producto obtenido después de la etapa de cromatografía.

Se debe comprender que se pueden hacer proceder estos tratamientos de purificación por los tratamientos de hidrogenación catalítica o de isomerización enzimática que ya se han descrito más adelante.

Purificación

La segunda parte de la fracción X1 procedente de la etapa de cromatografía eventualmente hidrogenada o isomerizada, es concentrada en vacío hasta un contenido de materia seca de 35%. Entonces es desmineralizada en una batería de resinas de intercambio de iones constituida por una resina catiónica fuerte permutada en forma de hidrógeno, de una resina aniónica débil permu-

tada en forma de hidroxilo y de un lecho mixto de resinas catiónica y aniónica fuertes igualmente en forma de H⁺ y OH⁻. La desmineralización es efectuada en condiciones, especialmente de caudal, tales que se obtiene una resistividad de los jarabes superior a 10⁶ ohms.cm.

A la salida de la desmineralización, el jarabe es tratado mediante 1% de negro ACTICARBON 3S comercializado por la sociedad CECA con la finalidad de eliminar las sustancias pirógenas.

Este jarabe es filtrado a continuación sobre filtros bacteriológicos de malla 0,22 micras con la finalidad de esterilizarlo y después es atomizado en condiciones rigurosas de asepsia para facilitar un polvo perfectamente blanco, inodoro y sin sabor.

Este hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad revela el análisis siguiente:

Contenido de DP + DP2 + DP3 es de 1%, el contenido de polímeros de glucosa de peso molecular superior a 100.000 daltons es inferior a 0,25%

Mp 14600

Mn 6300

Mp/Mn = 2,3

Se observará el índice de polimolecularidad extremadamente reducido del producto obtenido por un procedimiento según la invención.

A título indicativo, el análisis de la fracción X2 que recibe la glucosa y los polímeros de glucosa de reducido peso molecular han mostrado el análisis siguiente:

Mp 4400

Mn 870

El hidrolizado de almidón de reducido índice de polimolecularidad purificado de este modo es deshidratado y entonces es puesto fácilmente en solución acompañado de otros electrolitos para proporcionar agentes osmóticos de un rendimiento extremadamente elevado en diálisis peritoneal continua y ambulatoria.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la fabricación de un hidrolizado de almidón que presenta un índice de polimolecularidad inferior a 2,8, **caracterizado** por consistir en:

- hidrolizar por vía ácida una lechada de almidón "waxy" (céreo) hasta un D.E. comprendido entre 8 y 15;
- cromatografiar el hidrolizado obtenido de esta manera sobre resinas catiónicas fuertes macroporosas en forma alcalina o alcalino-térrica;
- recoger el hidrolizado de almidón excluido en esta etapa de cromatografía.

2. Procedimiento de fabricación, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el hidrolizado de almidón obtenido presenta un índice de polimolecularidad inferior a 2,5.

3. Procedimiento de fabricación, según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado** porque después de la etapa de hidrólisis por vía ácida se hidroliza por vía enzimática el hidrolizado ácido, con ayuda de α -amilasa bacteriana hasta un D.E. comprendido entre 11 y 18.

4. Procedimiento de fabricación, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque el rendimiento ponderal de hidrolizado de almidón excluido está comprendido entre 10 y 80% del hidrolizado utilizado en la etapa de cromatografía.

5. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque la cromatografía es efectuada sobre resinas en forma de

potasio.

6. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado** porque el hidrolizado de almidón excluido es sometido a una etapa de estabilización térmica que consiste en una hidrogenación catalítica o en una isomeración enzimática que transforma los extremos reductores en trehalosa.

7. Hidrolizado de almidón céreo, completamente soluble en agua y con reducido índice de polimolecularidad, **caracterizado** por presentar un índice de polimolecularidad inferior a 2,8, una masa molecular media en peso Mp comprendida entre 8.000 y 22.500 daltons y una masa molecular media en número Mn inferior a 8.000 daltons.

8. Hidrolizado de almidón céreo, según la reivindicación 7, **caracterizado** por presentar un índice de polimolecularidad inferior a 2,5.

9. Hidrolizado de almidón cerúleo, según cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8, **caracterizado** porque presenta una masa molecular media en peso Mp comprendida entre 12.000 y 20.000 daltons.

10. Hidrolizado de almidón, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, **caracterizado** por el hecho de que es hidrogenado o isomerizado.

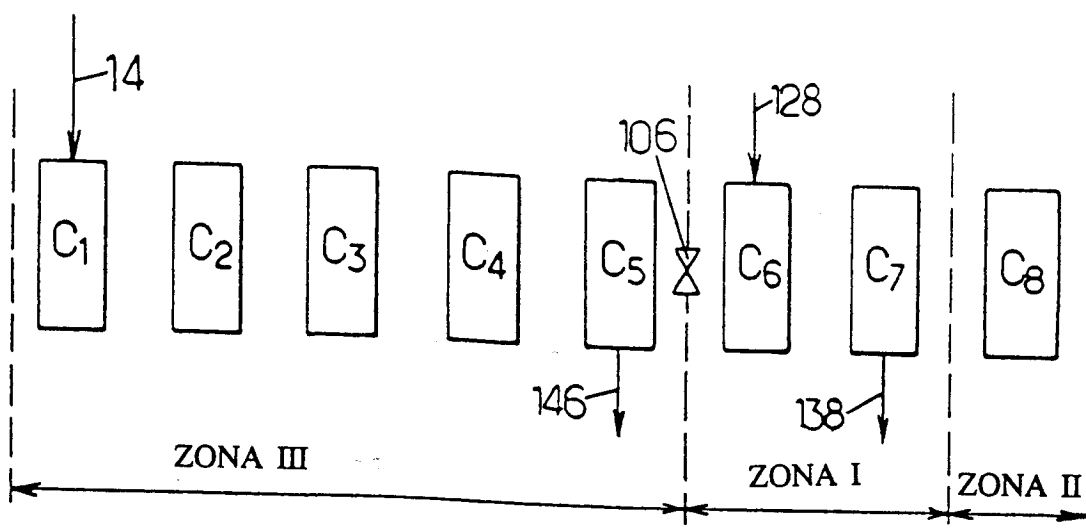
11. Hidrolizado de almidón, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, **caracterizado** porque contiene menos de 3% de glucosa y de polímeros de glucosa de DP inferior o igual a 3 y menos de 0,5% de polímeros de glucosa de DP superior a 600.

12. Aplicación de un hidrolizado de almidón, con reducido índice de polimolecularidad, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, para obtener un agente osmótico destinado a su utilización en diálisis peritoneal continua y ambulatoria.

NOTA INFORMATIVA: Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

FIG. 1.



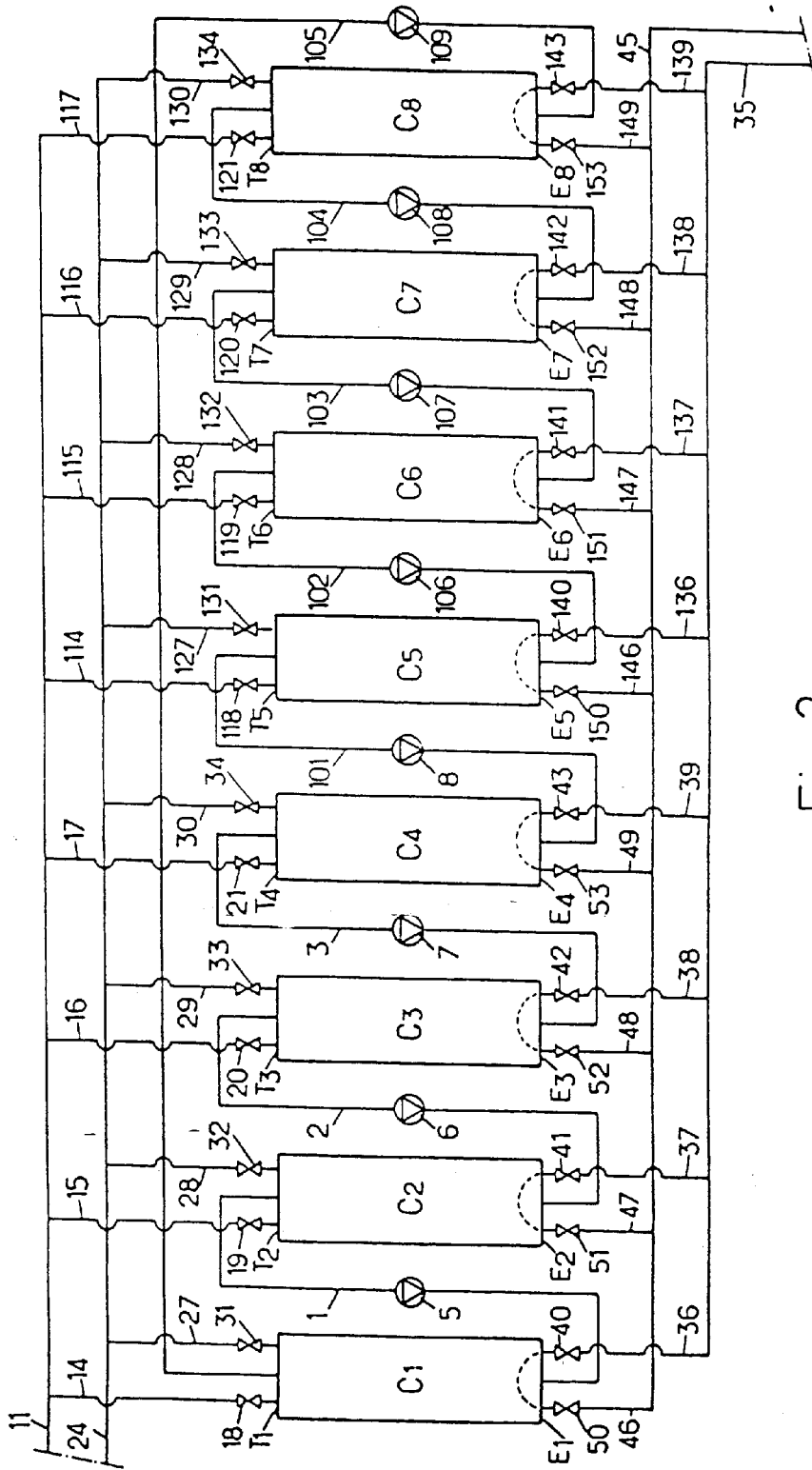


Fig.2.