(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 545 490**

(51) Int. CI.:

C12P 7/40 (2006.01)
C12P 7/42 (2006.01)
C07C 51/02 (2006.01)
B01D 11/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2009 E 09772206 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2015 EP 2294206**

(54) Título: **Procedimiento para la preparación de ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos libres**

(30) Prioridad:

04.07.2008 DE 102008040193

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.09.2015

(73) Titular/es:

EVONIK RÖHM GMBH (100.0%)
Kirschenallee
64293 Darmstadt, DE

(72) Inventor/es:

HAAS, THOMAS;
TACKE, THOMAS;
MARX, ACHIM;
SCHRAVEN, ALEXANDER;
ZEHNACKER, OLIVIER y
WITTMANN, EVA-MARIA

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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 (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

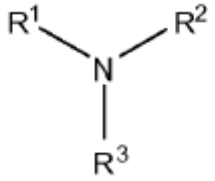
DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos libres.

Sector del invento

Es objeto del invento un procedimiento para la preparación de ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos libres, que comprende las etapas de procedimiento de

A) preparación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico mediante una célula biológica que se encuentra en un medio acuoso, la cual es un microorganismo, mediando adición de una amina de la fórmula general (I)



Fórmula (I)

representando R^1, R^2 y R^3, independientemente unos de otros, unos radicales hidrocarbilo ramificados o sin ramificar, eventualmente sustituidos, iguales o diferentes, o H,

B) en el caso de que la amina añadida en la etapa A) del procedimiento sea soluble en agua, la adición de una amina insoluble en agua, de la fórmula general (I),

obteniéndose en la etapa A) o respectivamente B) del procedimiento un sistema de múltiples fases, y formándose a partir de la amina insoluble en agua y del ácido α- o β-hidroxicarboxílico el correspondiente carboxilato de amonio, y

C) separación de la fase insoluble en agua y

D) calentamiento de la fase insoluble en agua mediando liberación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre, caracterizado por que el ácido α- o β-hidroxicarboxílico se escoge entre el conjunto que se compone de ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido glicólico, ácido 2-hidroxi-isobutírico, ácido 3-hidroxi-propiónico, ácido 3-hidroxi-butírico, ácido 3-hidroxi-valeriánico, ácido 3-hidroxi-hexanoico, ácido 3-hidroxi-heptanoico, ácido 3-hidroxi-octanoico y ácido 3-hidroxi-isobutírico, siendo definido el concepto de "insoluble en agua" como una solubilidad de menos que 100 g/kg de la solución acuosa y el concepto de "soluble en agua" como una solubilidad igual a o de más que 100 g/kg de la solución acuosa.

Estado de la técnica

La preparación bioquímica de ácidos carboxílicos es bien conocida debido p.ej. a la producción del ácido láctico o del ácido cítrico. Puesto que la mayoría de los procesos de fermentación se llevan a cabo a un valor del pH del medio, que está situado por encima del valor de pK_s del ácido carboxílico que se debe de preparar, los ácidos carboxílicos resultan en su mayor parte en forma de una sal y no en forma del ácido libre. Estos carbonatos son transformados en la mayoría de los casos en sus ácidos libres mediante la adición de unos ácidos.

El documento de solicitud de patente internacional WO9815517 describe un procedimiento para la extracción del ácido láctico con un disolvente orgánico de carácter básico o respectivamente con unas aminas inmiscibles con agua.

El documento de patente alemana DE 102006052311 describe un procedimiento para la preparación de ácidos α-hidroxicarboxílicos libres mediante calentamiento de los correspondientes carboxilatos de amonio en presencia de unas aminas terciarias mediando una eliminación por destilación del amoníaco resultante, seguida por otra separación por destilación, y una consiguiente formación de la amina terciaria y del ácido α-hidroxicarboxílico libre.

El documento de patente de los EE.UU. US 4.275.234 describe un procedimiento extractivo de ácidos carboxílicos con ciertas aminas como agente de extracción, que comprende una adicional etapa de extracción de retorno en condiciones acuosas, que permite que el ácido carboxílico se presente de nuevo en una solución acuosa.

El documento US 4.444.881 describe un procedimiento para el aislamiento de unos ácidos orgánicos a partir de un caldo de fermentación mediante la transformación del ácido en su sal de calcio, la adición de un carbonato de una amina terciaria soluble en agua mediando formación de la sal de trialquilamonio y de un carbonato de calcio que precipita, el aumento de la concentración de la solución de la sal de trialquilamonio y el desdoblamiento de la sal de trialquilamonio por calentamiento.

El documento EP 1385593 describe un procedimiento para el tratamiento de unos ácidos carboxílicos de cadena corta a partir de una solución de sus complejos con alquil-amonio por destilación mediando la adición de un hidrocarburo formador de azeótropos, en unas condiciones en las que el complejo de alquil-amonio se descompone en el ácido carboxílico de cadena corta libre, y en la alquil-amina.

El documento US 5.510.526 describe un procedimiento para el tratamiento de un ácido láctico libre a partir de un caldo de fermentación mediante la extracción con un agente de extracción que contiene una trialquil-amina no miscible con agua, que tiene un número de por lo menos 18 átomos de carbono, en presencia de CO_2, la separación de la fase orgánica con respecto de la fase acuosa y la separación final del ácido láctico libre con respecto de la fase orgánica.

El documento WO 02090312 describe un proceso para la purificación de ácidos carboxílicos libres a partir de unas soluciones acuosas, en el que se calienta la solución acuosa en forma de una mezcla con un disolvente orgánico y de este modo se obtiene el ácido libre.

El documento US 5.132.456 describe un procedimiento de múltiples etapas para la purificación de ácidos carboxílicos libres a partir de un medio acuoso, en el que en primera lugar el ácido carboxílico se extrae con un agente absorbente de ácidos, y después de la separación de este agente con respecto del medio acuoso, el ácido carboxílico se extrae de retorno de nuevo a partir de o desde este agente absorbente de ácidos, con unas aminas solubles en agua, en forma del carboxilato de amonio. A continuación, se desdobla el carboxilato de amonio.

El artículo recopilativo de Wasewar K L y colaboradores (Ind. Eng. Chem. Res. 2004, tomo 43, páginas 5969-5982) describe la fermentación y la extracción reactiva del ácido láctico, enfocándose principalmente en la extracción con unas alquil-aminas. Se describen diversos métodos para el aislamiento del ácido láctico a partir de la fase orgánica, predominantemente mediante una extracción de retorno en una fase acuosa.

Todos los procedimientos tienen la desventaja de que resultan grandes cantidades de unas corrientes acuosas de sustancias o de que se forman unos productos, que no pueden ser aportados de nuevo al procedimiento y, por consiguiente, quedan como un material de desecho.

La misión del invento fue poner a disposición un procedimiento, que supere las desventajas antes mencionadas del estado de la técnica.

Descripción del invento

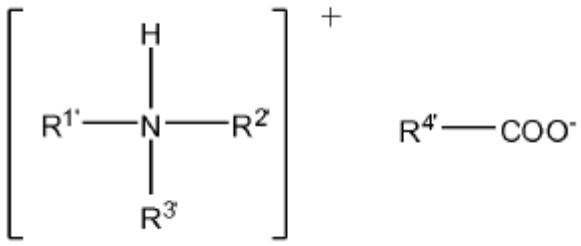
Sorprendentemente, se encontró que un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos libres, que comprende las etapas del procedimiento de preparación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico mediante una célula biológica mediando la adición de una amina y eventualmente, en el caso de que esta amina añadida sea soluble en agua, la adición de otra amina insoluble en agua, separación de la fase insoluble en agua y calentamiento de la misma mediando liberación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre, resuelve el problema planteado por esta misión.

Constituye una ventaja del invento el hecho de que se suprime un proceso de acidificación de las soluciones de reacción con, por ejemplo, unos ácidos inorgánicos o dióxido de carbono. De esta manera se suprime la formación de grandes cantidades de sales tales como p.ej. el sulfato de amonio, o de yeso, tal como aparece frecuentemente en otros procesos.
Otra ventaja consiste en que el agua se separa tempranamente en el procedimiento de una manera energéticamente favorable, mediante por ejemplo una separación de fases, y por consiguiente en el procedimiento se reducen aún más unas corrientes de sustancias que consumen energía. Asimismo, no es necesario evaporar estas corrientes de sustancias.
Todavía otra ventaja del presente invento reside en el hecho de que la inhibición de los productos, que aparece frecuentemente en el caso de ciertos procesos bioquímicos, se puede evitar mediante la utilización de una amina que no es soluble en agua.

El concepto de "ácido carboxílico" en el sentido del presente invento abarca tanto al ácido carboxílico libre (-COOH) como también a la correspondiente sal ($-COO^-$).

El concepto de "ácido hidroxicarboxílico" en el sentido del presente invento describe a unos ácidos carboxílicos que tienen por lo menos un grupo hidroxilo y un grupo de ácido carboxílico, y contiene tanto el ácido carboxílico libre (-COOH) como también la correspondiente sal ($-COO^-$).

El concepto de "carboxilato de amonio" en el sentido del presente invento incluye a todos los carboxilatos de un grupo cargado positivamente de modo monovalente con un nitrógeno que tiene cuatro enlaces. Como ejemplo se ha de mencionar la siguiente fórmula general



representando $R^{1'}$, $R^{2'}$, $R^{3'}$ y $R^{4'}$, independientemente unos de otros, unos radicales hidrocarbilo ramificados o sin ramificar, eventualmente sustituidos, iguales o diferentes, o H.

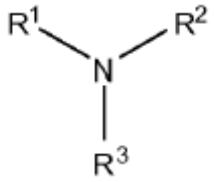
El concepto de "insoluble en agua" se define en el sentido del presente invento como una solubilidad de menos que 100 g/kg de la solución acuosa.

El concepto de "soluble en agua" se define en el sentido del presente invento como una solubilidad igual a o de más que 100 g/kg de la solución acuosa.

Todos los tantos por ciento (%) indicados en son, siempre y cuando que no se indique otra cosa distinta, tantos por ciento en masa.

Por lo tanto, es un objeto del invento un procedimiento para la preparación de ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos libres, que comprende las etapas de procedimiento de

A) preparación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico mediante una célula biológica, que se encuentra en un medio acuoso, la cual es un microorganismo, mediando la adición de una amina de la fórmula general (I)



Fórmula (I)

representando R^1, R^2 y R^3, independientemente unos de otros, unos radicales hidrocarbilo ramificados o sin ramificar, eventualmente sustituidos, iguales o diferentes, o H,

B) en el caso de que la amina añadida en la etapa A) del procedimiento sea soluble en agua, la adición de una amina insoluble en agua de la fórmula general (I),

obteniéndose en la etapa A) o respectivamente B) del procedimiento un sistema de múltiples fases y formándose el correspondiente carboxilato de amonio a partir de la amina insoluble en agua y del ácido α- o β-hidroxicarboxílico, y

C) separación de la fase insoluble en agua y

D) calentamiento de la fase insoluble en agua mediando liberación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre, caracterizado por que el ácido α- o β-hidroxicarboxílico se escoge entre el conjunto que se compone de ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido glicólico, ácido 2-hidroxi-isobutírico, ácido 3-hidroxi-propiónico, ácido 3-hidroxi-butírico, ácido 3-hidroxi-valeriánico, ácido 3-hidroxi-hexanoico, ácido 3-hidroxi-heptanoico, ácido 3-hidroxi-octanoico y ácido 3-hidroxi-isobutírico, estando definido el concepto de "insoluble en agua" como una solubilidad de menos que 100 g/kg de la solución acuosa y el concepto de "soluble en agua" como una solubilidad igual a o de más que 100 g/kg de la solución acuosa.

En la etapa A de procedimiento se preparan unos ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos mediante una célula biológica, que se encuentra en un medio acuoso, la cual es un microorganismo, de acuerdo con unos procedimientos que son conocidos por un experto en la especialidad. Según sean la célula empleada y el ácido carboxílico preparado, los parámetros de los procedimientos se adaptan de una manera correspondiente. En los casos de estos procedimientos se puede tratar, por ejemplo, de unos procedimientos fermentativos.

De manera preferida, la célula empleada se escoge entre el conjunto de los géneros que comprenden: *Aspergillus, Corynebacterium, Brevibacterium, Bacillus, Acinetobacter, Alcaligenes, Lactobacillus, Paracoccus, Lactococcus, Candida, Pichia, Hansenula, Kluyveromyces, Saccharomyces, Escherichia, Zymomonas, Yarrowia, Methylobacterium, Ralstonia, Pseudomonas, Rhodospirillum, Rhodobacter, Burkholderia, Clostridium y Cupriavidus.*

De manera especialmente preferida, la célula empleada se escoge entre el conjunto que se compone de las especies *Aspergillus nidulans, Aspergillus niger, Alcaligenes latus, Bacillus megaterium, Bacillus subtilis, Brevibacterium flavum, Brevibacterium lactofermentum, Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae, Kluveromyces lactis, Candida blankii, Candida rugosa, Corynebacterium glutamicum, Corynebacterium efficiens, Zymomonas mobilis, Yarrowia lipolytica, Hansenula polymorpha, Methylobacterium extorquens, Ralstonia eutropha, en particular*

Ralstonia eutropha H16, Rhodospirillum rubrum, Rhodobacter sphaeroides, Paracoccus versutus, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas putida, Acinetobacter calcoaceticus y *Pichia pastoris,* prefiriéndose muy especialmente *Escherichia coli, Yarrowia lipolytica, Corynebacterium glutamicum* y *Ralstonia eutropha*.

Una forma especial de realización del procedimiento conforme al invento se distingue por el hecho de que en la etapa A) del procedimiento se emplea una célula, que es capaz de formar ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos a partir de por lo menos una fuente de carbono, que se escoge entre el conjunto que se compone de dióxido de carbono y monóxido de carbono.

Por consiguiente, en este caso se trata del empleo de unas células que crecen acetogénica o bien autotróficamente, de manera preferida de aquellas que se escogen entre el conjunto que se compone de *Acetogenium kivui, Acetobacterium woodii, Acetoanaerobium noterae, Clostridium aceticum, Butyribacterium methylotrophicum, Clostridium acetobutylicum, Clostridium thermoaceticum, Eubacterium limosum, Peptostreptococcus productus, Clostridium ljungdahlii, Ralstonia eutropha* y *Clostridium carboxydivorans.*

Como una amina añadida en la etapa A) del procedimiento se pueden emplear amoníaco y unas alquil-aminas; en este caso, se pueden emplear unas alquil-aminas primarias, secundarias y terciarias, así como unas sales cuaternarias de aminas.

Se prefiere que la amina añadida se emplee en la etapa A) del procedimiento, con el fin de influir sobre el valor del pH del medio acuoso, de manera preferida para aumentarlo. De manera preferida, el valor del pH es mantenido, mediante la amina añadida en la etapa A) del procedimiento, en un intervalo de 2 hasta 9, de manera preferida de 4 hasta 8, de manera especialmente preferida de 5 hasta 7.

De manera preferida, como aminas en la etapa A) del procedimiento se emplean unas aminas insolubles en agua. De manera preferida, en la etapa A) del procedimiento se emplean unas aminas en las que R^1, R^2 y R^3 representan, independientemente unos de otros, unos radicales alquilo sin ramificar, sin sustituir, iguales o diferentes, de manera preferida con 2 hasta 20, de manera especialmente preferida con 4 hasta 16, de manera muy especialmente preferida con 6 hasta 12 átomos de C, o H.
De manera preferida, en la etapa A) del procedimiento, en el caso de las aminas insolubles en agua se trata de unas alquil-aminas que tienen por lo menos 16 átomos de C, de manera preferida de unas trialquil-aminas y de manera especialmente preferida de unas trialquil-aminas que se escogen entre el conjunto que se compone de trihexil-aminas, trioctil-amina, tridecil-amina, tricapril-aminas y tridodecil-aminas.

En una forma especial de realización del procedimiento conforme al invento puede ser ventajoso emplear en la etapa A) del procedimiento unas aminas con una fuerza básica más grande; en este caso, como aminas, se prefiere emplear unas dialquil-aminas, y de manera preferida unas dialquil-aminas escogidas entre el conjunto que se compone de di-isotridecil-amina, bis(2-etil-hexil)amina, lauril-trialquil-metil-aminas, diundecil-amina y didecil-amina.

La amina se añade en la etapa A) del procedimiento por lo menos en la relación molar de 1,1 por 1, de manera preferida de 1,5 a 5 por 1, referida al ácido carboxílico.

Después de, o también constantemente durante, la etapa A) del procedimiento, las porciones líquidas o una parte de las porciones líquidas y las células biológicas se pueden separar unas de otras según unos procedimientos conocidos por un experto en la especialidad, tales como, por ejemplo, los de centrifugación, filtración tangencial etc.. Eventualmente, unos componentes separados tales como un medio acuoso o unas células se pueden aportar de nuevo al procedimiento.
Eventualmente, los componentes líquidos obtenidos en la etapa A) del procedimiento se pueden aumentar de concentración antes de las otras etapas del procedimiento.

Como una amina añadida en la etapa B) del procedimiento se pueden emplear todas las aminas insolubles en agua, de manera preferida unas alquil-aminas, que son conocidas por un experto en la especialidad. De manera preferida, en la etapa B) del procedimiento se emplean unas aminas insolubles en agua, en las que R^1, R^2 y R^3 representan, independientemente unos de otros, unos radicales alquilo sin ramificar, sin sustituir, iguales o diferentes, de manera preferida con 2 hasta 20, de manera especialmente preferida con 4 hasta 16, de manera muy especialmente preferida con 6 hasta 12 átomos de C, o H.

Unas aminas que se emplean de manera más preferida corresponden a las aminas insolubles en agua más arriba mencionadas en la etapa A) del procedimiento.

La amina se añade en la etapa B) del procedimiento por lo menos en la relación molar de 1,1 por 1, de manera preferida de 1,5 a 5 por 1, referida al ácido α- o β-hidroxicarboxílico.

En la etapa B) del procedimiento, la amina soluble en agua de la etapa A) del procedimiento puede ser eliminada por

lo menos parcialmente. Especialmente, cuando en la etapa B) del procedimiento se emplea una amina insoluble en agua, que constituye una base más débil (que tiene un valor de pK_B más pequeño) que la amina soluble en agua, se prefiere que sea eliminada por lo menos una parte de la amina soluble en agua.

Esto se puede conseguir, por ejemplo, mediante una extracción, por medio de un intercambiador de iones, mediante un calentamiento, y por consiguiente mediante una expulsión térmica de la amina soluble en agua, o sino mediante la introducción de CO_2, precipitando la amina soluble en agua en forma de un carbonato. Un procedimiento dado a modo de ejemplo para la separación de la amina soluble en agua se describe en el documento DE 102006052311. La amina soluble en agua que se había eliminado, puede ser aportada de nuevo a la etapa A) del procedimiento.

Después de la etapa A) o respectivamente B) del procedimiento se presenta un sistema de múltiples fases, y a partir de la amina insoluble en agua y del ácido α- o β-hidroxicarboxílico se ha formado el correspondiente carboxilato de amonio.

El carboxilato de amonio se presenta de manera preferida - referido a los mismos volúmenes de las fases acuosas y de las fases orgánicas - en su mayor parte, de manera preferida en más que un 60 %, de manera especialmente preferida en más que un 80 %, y de manera muy especialmente preferida en más que un 90 % en una fase insoluble en agua.

Un disolvente insoluble en agua adicional se puede añadir eventualmente a la amina insoluble en agua, con el fin de garantizar unas propiedades ventajosas, tales como, por ejemplo, unas mejores separaciones de las fases o unas fases más estables, de disminuir la viscosidad de la amina o de aumentar la solubilidad del ácido carboxílico.
Como un disolvente insoluble en agua adicional se pueden emplear por ejemplo unos alcoholes con por lo menos ocho átomos de carbono tales como, por ejemplo, la metil-isobutil-cetona, unos disolventes aromáticos tales como por ejemplo el tolueno y el xileno, y unos disolventes alifáticos no polares, tales como por ejemplo el queroseno y el hexano. De manera preferida se emplean el alcohol oleílico y el dodecanol.
De manera preferida, se emplean aquellos disolventes adicionales, cuyo punto de ebullición está situado por encima del punto de ebullición de la amina insoluble en agua.

En la etapa C) del procedimiento se separan con respecto de la fase acuosa unas fases insolubles en agua que contienen el carboxilato de amonio. Esto se puede realizar mediante todos los procedimientos conocidos por un experto en la especialidad, con los cuales se puedan separar unas fases orgánicas con respecto de unas fases acuosas, tales como por ejemplo los de decantación, centrifugación o también destilación. Unos ejemplos de ellos se encuentran, entre otros lugares, en la obra Perry's Chemical Engineers' Handbook (Manual del Ingeniero Químico de Perry, (sección 15); de Robert H Perry, Don W Green, James O Malone; publicado en 1999; McGraw-Hill.

Dentro del marco del procedimiento conforme al invento puede ser ventajoso que la fase acuosa separada sea aportada de nuevo al procedimiento.
Asimismo puede ser ventajoso purificar ulteriormente a la fase insoluble en agua que se ha separado, tal como, por ejemplo, mediante una extracción, una filtración, una centrifugación, unos intercambiadores de iones o un aumento de la concentración tal como, por ejemplo, mediante una destilación o una extracción.

La liberación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre en la etapa D) del procedimiento se efectúa mediante calentamiento de la fase insoluble en agua, de manera preferida bajo una presión reducida, por medio del desdoblamiento del carboxilato de amonio.

Una presión reducida significa en el sentido del invento una presión de menos que $1*10^5$ Pa, de manera preferida de menos que $0,9*10^5$ Pa, y de manera especialmente preferida de menos que $0,8*10^5$ Pa.

El tipo del calentamiento depende del equipo o de la instalación que se utilice y puede efectuarse, por ejemplo, a través de un baño de calefacción, de una camisa de envoltura atemperable del reactor o mediante una puesta en contacto de la fase insoluble en agua con una corriente gaseosa calentada.

La temperatura se escoge, en dependencia de la presión utilizada, de tal manera que tenga lugar el desdoblamiento térmico de la sal y que se minimice la formación de productos secundarios. De manera preferida, simultáneamente se elimina por destilación por lo menos una parte del ácido α- o β-hidroxicarboxílico que se haya formado durante la reacción. Unos apropiados intervalos de temperaturas y presiones pueden ser determinados por un experto en la especialidad al igual que la duración necesaria del tratamiento térmico, por ejemplo, mediante una vigilancia de la cantidad que se forme de la amina o respectivamente del ácido carboxílico o de la evolución de la temperatura de la solución de reacción.

En una forma de realización preferida, la temperatura en la etapa D) del procedimiento se sitúa en un intervalo de temperaturas de 80°C a 300°C, de manera preferida de 120°C a 250°C, de manera especialmente preferida de 150°C a 220°C.

La amina insoluble en agua, que se ha obtenido en la etapa D) del procedimiento, puede ser aportada de nuevo al procedimiento.

La fracción de productos, que se ha obtenido en la etapa D) del procedimiento y que contiene unos ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos, puede ser convertida químicamente sin más purificación para dar unos productos consiguientes. Se prefiere, por ejemplo, la deshidratación de unos ácidos hidroxicarboxílicos para dar unos ácidos carboxílicos insaturados.

Una serie de procedimientos destinados a realizar la deshidratación de ácidos hidroxicarboxílicos son conocidos por un experto en la especialidad, unos tales se describen a modo de ejemplo en el documento de solicitud de patente europea PCT/EP2007/055394 (divulgado como el documento WO 2007/141208), así como en los documentos US 3.666.805 y US 5.225.594.

El procedimiento conforme al invento puede contener, por lo demás, una o varias etapas subsiguientes para realizar la purificación y el aislamiento de los ácidos carboxílicos a partir de la fracción de productos. Unas apropiadas etapas del procedimiento son, entre otras, unos procesos de concentración, cristalización, cromatografía por intercambio de iones, electrodiálisis, extracción con unos disolventes reactivos, y la purificación por esterificación del ácido carboxílico con unos alcoholes apropiados, una subsiguiente destilación del éster obtenido y una subsiguiente hidrólisis del éster para dar el ácido libre, así como unas combinaciones de estas etapas. Unos productos secundarios que están contenidos en la fracción de productos, se pueden eliminar después del aislamiento del ácido carboxílico libre que se ha formado al realizar el desdoblamiento térmico de la sal, o se pueden convertir químicamente en el ácido carboxílico.

En los Ejemplos expuestos a continuación se describe el presente invento a modo de ejemplo, sin que el invento, cuya amplitud de uso se establece a partir de la descripción global y de las reivindicaciones, deba de estar restringido a las formas de realización mencionadas en los Ejemplos.

Las siguientes Figuras son una parte constituyente de los Ejemplos:
Figura 1: Crecimiento de células en presencia de diferentes concentraciones de TOA
Figura 2: Preparación del ácido 2-hidroxi-isobutírico en presencia de diferentes concentraciones de TOA
Figura 3: Esquema del proceso con el empleo de una amina insoluble en agua en la etapa A) del procedimiento
Figura 4: Esquema del proceso con el empleo de una amina soluble en agua en la etapa A) del procedimiento

Ejemplos:

Biocompatibilidad de la TOA (trioctil-amina) con Ralstonia eutropha
Unos cultivos de *Ralstonia eutropha* PHB-4 (reclasificada como *Cupriavidus necator*, DSMZ 541) que habían sido transformados con el plásmido: pBBR1MCS-2::*icmA-icmB* con la SEQ ID No. 1, fueron fermentados a la escala de 400 ml en un medio patrón durante 46 horas hasta llegar a una DO (densidad óptica a 600 nm) de aprox. 30, lo que corresponde a unas CFU (acrónimo del inglés "colony formed units" = unidades de formación de colonias) de $1x10^{11}$ por ml, en unas condiciones clásicas (30°C; pH 6,8; rpm (revoluciones por minuto) 250-750; pO_2 20 %).
Después de un período de tiempo de fermentación de 48 horas se añadieron 0,5 %, 1 %, 5 % y 10 % (p/v = en peso/volumen) de la trioctil-amina (TOA) en condiciones estériles. Después de otras 6 y 20 horas se determinaron las CFU.
Para la determinación de las CFU se prepararon unas series de diluciones de los caldos. Las diluciones se sembraron en placas sobre unas placas de agar y se incubaron durante 24 horas a 30°C. Se efectuó una determinación repetida cuatro veces de las diluciones 10^7 y 10^8.
Resultado: Las CFU continuaron aumentando a lo largo de un período de tiempo de 20 horas (período de tiempo de fermentación 46-65 horas) en presencia de TOA (0,5 %, 1 %, 5 % y 10 % (p/v)).
Los valores se han recopilado en la siguiente Tabla, los valores de las CFU se han normalizado con respecto a 1 ml del caldo de fermentación.

	0 h	6 h	24 h
0,5 % de TOA	3,75E+10,	5,31E+10	6,00E+10
1 % de TOA	3,60E+10	3,73E+10	1,44 E+11
5 % de TOA	1,44E+11	1,25E+11	8,08E+11
10 % de TOA	1,34E+11	1,61E+11	1,82E+11

Preparación de un ácido carboxílico mediante una célula biológica, que se encuentra en un medio acuoso, en presencia de una trialquil-amina
Unas células de *Ralstonia eutropha* PHB-4 (reclasificada como *Cupriavidus necator*, DSMZ 541), que producen el ácido 2-hidroxi-isobutírico, que habían sido transformadas con el plásmido pBR1MCS-2::*icmA-icmB*, SEQ ID No. 1, se cultivaron como dos cultivos de 50 ml en un incubador con sacudimiento en unas condiciones clásicas (30°C, 140

rpm, 20 h) en un medio LB.
De este material se sobreinocularon 5 x 10 ml en 40 ml de un medio de una sal inorgánica que había sido modificado para la producción de una biomasa (de acuerdo con Schlegel y colaboradores, 1961) y se incubaron durante 10 h en unas condiciones clásicas.

Los cultivos de la biomasa se separaron por centrifugación y se resuspendieron en 10 ml de un medio modificado de una sal inorgánica.
Con las resuspensiones se inocularon 5 matraces de un incubador con sacudimiento Ramos (acrónimo del inglés "Respiration Activity Monitoring System", = sistema para la vigilancia de la actividad de respiración). Los matraces habían sido cargados con un medio modificado de una sal inorgánica (por adición de 1 g/l de un extracto de levadura y de 15 g/l de fructosa) con la vitamina B12 (60 mg/l). 3 matraces contenían adicionalmente 1, 5 y 10 % (p/v) de trioctil-amina (TOA).
Los matraces se incubaron durante 24 h en unas condiciones clásicas (30°C, 140 rpm).
Después de 0, 15 y 24 horas se extrajeron unas muestras y se determinaron las CFU (la DO), el pH y la concentración de 2HIB en el caldo.
Para la determinación de las CFU se prepararon unas series de diluciones de los caldos. Las diluciones se sembraron en placas con 300 mg/l de kanamicina sobre unas placas de agar LB y se incubaron durante 24 h a 30°C. Se efectuó una determinación repetida 4 veces de las diluciones de 10^{-8} y 10^{-9}.
La Figura 1 muestra los resultados de las cultivaciones; los valores de las CFU se han normalizado con respecto a un 1 ml de caldo de fermentación. El crecimiento de las células no es influenciado evidentemente por la presencia de la alquil-amina.
La determinación de la concentración del ácido carboxílico preparado, a saber el ácido 2-hidroxi-isobutírico, se efectuó mediante una cromatografía de iones (con el acrónimo IC (Methrom 761 Compact con un Autosampler, método Dionex AS154 x 250 mm + una columna previa AG 154 x 350 ml) y una HPLC (cromatografía de fase líquida de alto rendimiento) (de Agilent Technologies HPLC series 1200, método Aminex).

La Figura 2 muestra el valor de medición de la IC de las cultivaciones más arriba mencionadas de las concentraciones de 2-HIB.
En todas las tandas el ácido 2-hidroxi-isobutírico se forma a lo largo de todo el período de tiempo de ensayo.

Desdoblamiento térmico de la sal de alquil-amonio
Una solución de la sal de trioctil-amonio se preparó mediante mezcladura del ácido 2-hidroxi-isobutírico (2-HIB) con la trioctil-amina (TOA). Para esto, se pesaron inicialmente 10 g del ácido 2-hidroxi-isobutírico y se disolvieron en 90 g de TOA. A partir de este pesaje de entrada se establece una relación estequiométrica de la TOA al ácido 2-hidroxi-isobutírico de 2,64.
En un evaporador rotatorio se dispusieron previamente 50,6 g de esta solución de sal de trioctil-amonio. Mediante una bomba de vacío se ajustó una presión absoluta de 27 mbar para el desdoblamiento térmico de la sal. El baño de aceite utilizado para el atemperamiento de la carga previa se ajustó y se mantuvo constante a 180 °C. Después de aproximadamente 20 min cristalizaron junto a las partes frías de vidrio unos cristales de color blanco. Después de aprox. 4 h se interrumpió el ensayo. El pesaje de la carga previa, después del desdoblamiento térmico, proporcionó una reducción de la masa de 3,5 g. Los cristales de color blanco, que se encontraban junto al vidrio, se separaron por lavado con agua y se analizaron mediante una HPLC. Este análisis mostró que en el caso de estos cristales se trata del ácido 2-hidroxi-isobutírico. Mediante un análisis elemental (de C, H, N, O) se analizaron las muestras, tanto antes del comienzo del ensayo como también después de haber finalizado el experimento. Sobre la base de estos análisis se pudieron calcular las concentraciones y las cantidades de sustancia de las respectivas sustancias. En el colector de carga previa se encontró después del ensayo todavía un 98,4 % de la cantidad alimentada de TOA; al final del ensayo se encontraba todavía en la carga previa un 34,4 % de la masa de sustancia inicial del ácido 2-hidroxi-isobutírico. Un 65,6 % de la masa pesada inicialmente del ácido 2-hidroxi-isobutírico se pudo desdoblar térmicamente desde la sal y se pudo recuperar parcialmente en forma de cristales junto a las partes frías de vidrio.

Esquema ejemplificativo del proceso con el empleo de una amina insoluble en agua en la etapa A) del procedimiento
La Figura 3 describe una forma de realización del procedimiento conforme al invento, en la que en la etapa A) del procedimiento se emplea una amina insoluble en agua. Éstas se emplean en el fermentador para la regulación del valor del pH. De esta manera se forman en el fermentador unos carboxilatos de amonio. Después de la separación de la biomasa, se pueden separar la fase insoluble en agua y la fase acuosa. La fase acuosa se puede devolver al fermentador después de una purificación eventual. En la fase insoluble en agua se encuentran los carboxilatos de amonio. Éstos se pueden desdoblar en un desdoblamiento térmico de la sal, conectado a continuación, en el ácido libre y en la correspondiente amina. Después de una purificación eventual, la amina se puede devolver de nuevo al fermentador para efectuar la regulación del valor del pH, y por consiguiente, se puede conducir en circuito.

Esquema ejemplificativo del proceso con el empleo de una amina soluble en agua en la etapa A) del procedimiento
La Figura 4 describe una forma de realización del procedimiento conforme al invento, en la que en la etapa A) del procedimiento se emplea una amina insoluble en agua para la regulación del valor del pH. De esta manera se forman unos carboxilatos de amonio en el fermentador. Después de la separación de la biomasa, las aminas

insolubles se añaden a la solución acuosa. En esta etapa B) del procedimiento los carboxilatos se transfieren a la fase orgánica y eventualmente las aminas insolubles en agua se eliminan parcialmente. La fase orgánica se aporta al desdoblamiento térmico de la sal, con lo cual se forman, por una parte, el ácido libre y, por otra parte, las aminas. Las dos corrientes de sustancias pueden ser purificadas en caso necesario en una etapa separada de purificación (no tomada en cuenta en el procedimiento). Las aminas obtenidas de esta manera pueden ser aportadas de nuevo al proceso.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Evonik Röhm GmbH
<120> Procedimiento para la preparación de ácidos carboxílicos libres
<130> 2008P00197
<160> 1
<170> PatentIn versión 3.4
<210> 1
<211> 7296
<212> DNA
<213> Artificial
<220>
<223> Plasmido
<400> 1

accttcggga gcgcctgaag cccgttctgg acgccctggg gccgttgaat cgggatatgc 60

aggccaaggc cgccgcgatc atcaaggccg tgggcgaaaa gctgctgacg gaacagcggg 120

aagtccagcg ccagaaacag gcccagcgcc agcaggaacg cgggcgcgca catttccccg 180

aaaagtgcca cctgggatga atgtcagcta ctgggctatc tggacaaggg aaaacgcaag 240

cgcaaagaga aagcaggtag cttgcagtgg gcttacatgg cgatagctag actgggcggt 300

tttatggaca gcaagcgaac cggaattgcc agctggggcg ccctctggta aggttgggaa 360

gccctgcaaa gtaaactgga tggctttctt gccgccaagg atctgatggc gcaggggatc 420

aagatctgat caagagacag gatgaggatc gtttcgcatg attgaacaag atggattgca 480

cgcaggttct ccggccgctt gggtggagag gctattcggc tatgactggg cacaacagac 540

aatcggctgc tctgatgccg ccgtgttccg gctgtcagcg caggggcgcc cggttctttt 600

tgtcaagacc gacctgtccg gtgccctgaa tgaactgcag gacgaggcag cgcggctatc 660

gtggctggcc acgacgggcg ttccttgcgc agctgtgctc gacgttgtca ctgaagcggg 720

aagggactgg ctgctattgg gcgaagtgcc ggggcaggat ctcctgtcat ctcaccttgc 780

tcctgccgag aaagtatcca tcatggctga tgcaatgcgg cggctgcata cgcttgatcc 840

ggctacctgc ccattcgacc accaagcgaa acatcgcatc gagcgagcac gtactcggat 900

ggaagccggt cttgtcgatc aggatgatct ggacgaagag catcaggggc tcgcgccagc 960

cgaactgttc gccaggctca aggcgcgcat gcccgacggc gaggatctcg tcgtgaccca 1020

tggcgatgcc tgcttgccga atatcatggt ggaaaatggc cgcttttctg gattcatcga 1080

ctgtggccgg ctgggtgtgg cggaccgcta tcaggacata gcgttggcta cccgtgatat 1140

tgctgaagag cttggcggcg aatgggctga ccgcttcctc gtgctttacg gtatcgccgc 1200

tcccgattcg cagcgcatcg ccttctatcg ccttcttgac gagttcttct gagcgggact 1260

ctggggttcg aaatgaccga ccaagcgacg cccaacctgc catcacgaga tttcgattcc 1320

accgccgcct tctatgaaag gttgggcttc ggaatcgttt tccgggacgc cggctggatg 1380

atcctccagc gcggggatct catgctggag ttcttcgccc acccccatgg gcaaatatta 1440

tacgcaaggc gacaaggtgc tgatgccgct ggcgattcag gttcatcatg ccgtttgtga 1500

tggcttccat gtcggcagaa tgcttaatga attacaacag tttttatgca tgcgcccaat 1560

acgcaaaccg cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgacaggtt 1620

tcccgactgg aaagcgggca gtgagcgcaa cgcaattaat gtgagttagc tcactcatta 1680

ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc ggctcgtatg ttgtgtggaa ttgtgagcgg 1740

ataacaattt cacacaggaa acagctatga ccatgattac gccaagcgcg caattaaccc 1800

tcactaaagg gaacaaaagc tgggtaccgg gccccccctc gaggtcgacg gtatcgataa 1860

gcttgatatc gaattcctgc agcccggggg atccactagt tctagaaata attttgttta 1920

actttaagaa ggaattcagg agcccttcac catgacctgg cttgagccgc agataaagtc 1980

ccaactccaa tcggagcgca aggactggga agcgaacgaa gtcggcgcct tcttgaagaa 2040

ggcccccgag cgcaaggagc agttccacac gatcggggac ttcccggtcc agcgcaccta 2100

caccgctgcc gacatcgccg acacgccgct ggaggacatc ggtcttccgg ggcgctaccc 2160

gttcacgcgc gggccctacc cgacgatgta ccgcagccgc acctggacga tgcgccagat 2220

cgccggcttc ggcaccggcg aggacaccaa caagcgcttc aagtatctga tcgcgcaggg 2280

ccagaccggc atctccaccg acttcgacat gcccacgctg atgggctacg actccgacca 2340

cccgatgagc gacggcgagg tcggccgcga gggcgtggcg atcgacacgc tggccgacat 2400

ggaggcgctg ctggccgaca tcgacctcga gaagatctcg gtctcgttca cgatcaaccc 2460

gagcgcctgg atcctgctcg cgatgtacgt ggcgctcggc gagaagcgcg gctacgacct 2520

gaacaagctg tcgggcacgg tgcaggccga catcctgaag gagtacatgg cgcagaagga 2580

gtacatctac ccgatcgcgc cgtcggtgcg catcgtgcgc gacatcatca cctacagcgc 2640

gaagaacctg aagcgctaca acccgatcaa catctcgggc taccacatca gcgaggccgg 2700

ctcctcgccg ctccaggagg cggccttcac gctggccaac ctgatcacct acgtgaacga 2760

ggtgacgaag accggtatgc acgtcgacga attcgcgccg cggttggcct tcttcttcgt 2820

gtcgcaaggt gacttcttcg aggaggtcgc gaagttccgc gccctgcgcc gctgctacgc 2880

gaagatcatg aaggagcgct tcggtgcaag aaatccggaa tcgatgcggt tgcgcttcca 2940

ctgtcagacc gcggcggcga cgctgaccaa gccgcagtac atggtcaacg tcgtgcgtac 3000

gtcgctgcag gcgctgtcgg ccgtgctcgg cggcgcgcag tcgctgcaca ccaacggcta 3060

cgacgaagcc ttcgcgatcc cgaccgagga tgcgatgaag atggcgctgc gcacgcagca 3120

gatcattgcc gaggagagtg gtgtcgccga cgtgatcgac ccgctgggtg gcagctacta 3180

cgtcgaggcg ctgaccaccg agtacgagaa gaagatcttc gagatcctcg aggaagtcga 3240

gaagcgcggt ggcaccatca agctgatcga gcagggctgg ttccagaagc agattgcgga 3300

cttcgcttac gagaccgcgc tgcgcaagca gtccggccag aagccggtga tcggggtgaa 3360

ccgcttcgtc gagaacgaag aggacgtcaa gatcgagatc cacccgtacg acaacacgac 3420

ggccgaacgc cagatttccc gcacgcgccg cgttcgcgcc gagcgcgacg aggccaaggt 3480

gcaagcgatg ctcgaccaac tggtggctgt cgccaaggac gagtcccaga acctgatgcc 3540

gctgaccatc gaactggtga aggccggcgc aacgatgggg gacatcgtcg agaagctgaa 3600

ggggatctgg ggtacctacc gcgagacgcc ggtcttctga gcaggaagct tcccaccatg 3660

gaccaaatcc cgatccgcgt tcttctcgcc aaagtcggcc tcgacggcca tgaccgaggc 3720

gtcaaggtcg tcgctcgcgc gctgcgcgac gccggcatgg acgtcatcta ctccggcctt 3780

catcgcacgc ccgaagaggt ggtcaacacc gccatccagg aagacgtgga cgtgctgggt 3840

gtaagcctcc tgtccggcgt gcagctcacg gtcttcccca agatcttcaa gctcctggac 3900

gagagaggcg ctggcgactt gatcgtgatc gccggtggcg tgatgccgga cgaggacgcc 3960

gcggccatcc gcaagctcgg cgtgcgcgag gtgctactgc aggacacgcc cccgcaggcc 4020

atcatcgact cgatccgctc cttggtcgcc gcgcgcggcg cccgctgaaa gggcgagctc 4080

tccaattcgc cctatagtga gtcgtattac gcgcgctcac tggccgtcgt tttacaacgt 4140

cgtgactggg aaaaccctgg cgttacccaa cttaatcgcc ttgcagcaca tccccctttc 4200

gccagctggc gtaatagcga agaggcccgc accgatcgcc cttcccaaca gttgcgcagc 4260

ctgaatggcg aatggaaatt gtaagcgtta atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt 4320

gttaaatcag ctcatttttt aaccaatagg ccgactgcga tgagtggcag ggcggggcgt 4380

aatttttta aggcagttat tggtgccctt aaacgcctgg tgctacgcct gaataagtga 4440

taataagcgg atgaatggca gaaattcgaa agcaaattcg acccggtcgt cggttcaggg 4500

cagggtcgtt aaatagccgc ttatgtctat tgctggttta ccggtttatt gactaccgga 4560

agcagtgtga ccgtgtgctt ctcaaatgcc tgaggccagt ttgctcaggc tctccccgtg 4620

gaggtaataa ttgacgatat gatcatttat tctgcctccc agagcctgat aaaaacggtg 4680

aatccgttag cgaggtgccg ccggcttcca ttcaggtcga ggtggcccgg ctccatgcac 4740

cgcgacgcaa cgcggggagg cagacaaggt atagggcggc gaggcggcta cagccgatag 4800

tctggaacag cgcacttacg ggttgctgcg caacccaagt gctaccggcg cggcagcgtg 4860

acccgtgtcg gcggctccaa cggctcgcca tcgtccagaa aacacggctc atcgggcatc 4920

ggcaggcgct gctgcccgcg ccgttcccat tcctccgttt cggtcaaggc tggcaggtct 4980

ggttccatgc ccggaatgcc gggctggctg ggcggctcct cgccggggcc ggtcggtagt 5040

tgctgctcgc ccggatacag ggtcgggatg cggcgcaggt cgccatgccc caacagcgat 5100

tcgtcctggt cgtcgtgatc aaccaccacg gcggcactga acaccgacag gcgcaactgg 5160

tcgcggggct ggccccacgc cacgcggtca ttgaccacgt aggccgacac ggtgccgggg 5220

ccgttgagct tcacgacgga gatccagcgc tcggccacca agtccttgac tgcgtattgg 5280

accgtccgca aagaacgtcc gatgagcttg gaaagtgtct tctggctgac caccacggcg 5340

ttctggtggc ccatctgcgc cacgaggtga tgcagcagca ttgccgccgt gggtttcctc 5400

gcaataagcc cggcccacgc ctcatgcgct ttgcgttccg tttgcaccca gtgaccgggc 5460

ttgttcttgg cttgaatgcc gatttctctg gactgcgtgg ccatgcttat ctccatgcgg 5520

tagggtgccg cacggttgcg gcaccatgcg caatcagctg caacttttcg gcagcgcgac 5580

aacaattatg cgttgcgtaa aagtggcagt caattacaga ttttctttaa cctacgcaat 5640

gagctattgc ggggggtgcc gcaatgagct gttgcgtacc ccccttttt aagttgttga 5700

tttttaagtc tttcgcattt cgccctatat ctagttcttt ggtgcccaaa gaagggcacc 5760

cctgcggggt tcccccacgc cttcggcgcg gctccccctc cggcaaaaag tggcccctcc 5820

ggggcttgtt gatcgactgc gcggccttcg gccttgccca aggtggcgct gccccccttgg 5880

aacccccgca ctcgccgccg tgaggctcgg ggggcaggcg ggcgggcttc gccttcgact 5940

gcccccactc gcataggctt gggtcgttcc aggcgcgtca aggccaagcc gctgcgcggt 6000

cgctgcgcga gccttgaccc gccttccact tggtgtccaa ccggcaagcg aagcgcgcag 6060

gccgcaggcc ggaggctttt ccccagagaa aattaaaaaa attgatgggg caaggccgca 6120

ggccgcgcag ttggagccgg tgggtatgtg gtcgaaggct gggtagccgg tgggcaatcc 6180

ctgtggtcaa gctcgtgggc aggcgcagcc tgtccatcag cttgtccagc agggttgtcc 6240

acgggccgag cgaagcgagc cagccggtgg ccgctcgcgg ccatcgtcca catatccacg 6300

ggctggcaag ggagcgcagc gaccgcgcag ggcgaagccc ggagagcaag cccgtagggc 6360

gccgcagccg ccgtaggcgg tcacgacttt gcgaagcaaa gtctagtgag tatactcaag 6420

cattgagtgg cccgccggag gcaccgcctt gcgctgcccc cgtcgagccg gttggacacc 6480

aaaagggagg ggcaggcatg gcggcatacg cgatcatgcg atgcaagaag ctggcgaaaa 6540

tgggcaacgt ggcggccagt ctcaagcacg cctaccgcga gcgcgagacg cccaacgctg 6600

acgccagcag gacgccagag aacgagcact gggcggccag cagcaccgat gaagcgatgg 6660

gccgactgcg cgagttgctg ccagagaagc ggcgcaagga cgctgtgttg gcggtcgagt 6720

acgtcatgac ggccagcccg gaatggtgga agtcggccag ccaagaacag caggcggcgt 6780

tcttcgagaa ggcgcacaag tggctggcgg acaagtacgg ggcggatcgc atcgtgacgg 6840

ccagcatcca ccgtgacgaa accagcccgc acatgaccgc gttcgtggtg ccgctgacgc 6900

aggacggcag gctgtcggcc aaggagttca tcggcaacaa agcgcagatg acccgcgacc 6960

agaccacgtt tgcggccgct gtggccgatc tagggctgca acggggcatc gagggcagca 7020

aggcacgtca cacgcgcatt caggcgttct acgaggccct ggagcggcca ccagtgggcc 7080

acgtcaccat cagcccgcaa gcggtcgagc cacgcgccta tgcaccgcag ggattggccg 7140

aaaagctggg aatctcaaag cgcgttgaga cgccggaagc cgtggccgac cggctgacaa 7200

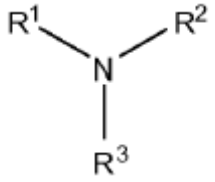
aagcggttcg gcaggggtat gagcctgccc tacaggccgc cgcaggagcg cgtgagatgc 7260

gcaagaaggc cgatcaagcc caagagacgg cccgag 7296

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de ácidos α- o β-hidroxicarboxílicos libres, que comprende las etapas de procedimiento de

A) preparación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico mediante una célula biológica, que se encuentra en un medio acuoso, la cual es un microorganismo, mediando adición de una amina de la fórmula general (I)



Fórmula (I)

en la que R^1, R^2 y R^3 representan, independientemente unos de otros, unos radicales hidrocarbilo ramificados o sin ramificar, eventualmente sustituidos, iguales o diferentes, o H,

B) en el caso de que la amina añadida en la etapa A) del procedimiento sea soluble en agua, la adición de una amina insoluble en agua de la fórmula general (I),

obteniéndose en la etapa A) o respectivamente B) del procedimiento un sistema de múltiples fases, y formándose a partir de la amina insoluble en agua y del ácido α- o β-hidroxicarboxílico el correspondiente carboxilato de amonio, y

C) separación de la fase insoluble en agua y

D) calentamiento de la fase insoluble en agua mediando liberación de un ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre, caracterizado por que el ácido α- o β-hidroxicarboxílico se escoge entre el conjunto que se compone de ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido glicólico, ácido 2-hidroxi-isobutírico, ácido 3-hidroxi-propiónico, ácido 3-hidroxi-butírico, ácido 3-hidroxi-valeriánico, ácido 3-hidroxi-hexanoico, ácido 3-hidroxi-heptanoico, ácido 3-hidroxi-octanoico y ácido 3-hidroxi-isobutírico,

estando definidos los conceptos de "insoluble en agua" como una solubilidad de menos que 100 g/kg de la solución acuosa y de "soluble en agua" como una solubilidad igual a o de más que 100 g/kg de la solución acuosa.

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que en la etapa A) del procedimiento se añade una amina insoluble en agua de la fórmula general (I).

3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que en la etapa A) o B) del procedimiento R^1, R^2 y R^3 representan, independientemente unos de otros, unos radicales hidrocarbilo sin ramificar y sin sustituir, iguales o diferentes,.

4. Procedimiento de acuerdo con por lo menos una de las reivindicaciones 1 hasta 3, caracterizado por que en la etapa D) del procedimiento, el ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre es liberado bajo una presión reducida.

5. Procedimiento de acuerdo con por lo menos una de las reivindicaciones 1 hasta 4, caracterizado por que en la etapa D) del procedimiento, el ácido α- o β-hidroxicarboxílico libre es liberado en un intervalo de temperaturas de 80°C a 300°C.

6. Procedimiento de acuerdo con por lo menos una de las reivindicaciones 1 hasta 5, caracterizado por que la amina añadida se emplea en la etapa A) del procedimiento con el fin de influir sobre el valor del pH del medio acuoso.

7. Procedimiento de acuerdo con por lo menos una de las reivindicaciones 1 hasta 6, caracterizado por que en la etapa D) del procedimiento el compuesto de la fórmula general (I) se recupera y se aporta de nuevo al procedimiento.

8. Procedimiento de acuerdo con por lo menos una de las reivindicaciones 1 hasta 7, caracterizado por que la célula empleada en la etapa A) del procedimiento se escoge entre el conjunto que se compone de los géneros:
Aspergillus, Corynebacterium, Brevibacterium, Bacillus, Acinetobacter, Alcaligenes, Lactobacillus, Paracoccus, Lactococcus, Candida, Pichia, Hansenula, Kluyveromyces, Saccharomyces, Escherichia, Zymomonas, Yarrowia, Methylobacterium, Ralstonia, Pseudomonas, Rhodospirillum, Rhodobacter, Burkholderia, Clostridium y Cupriavidus.

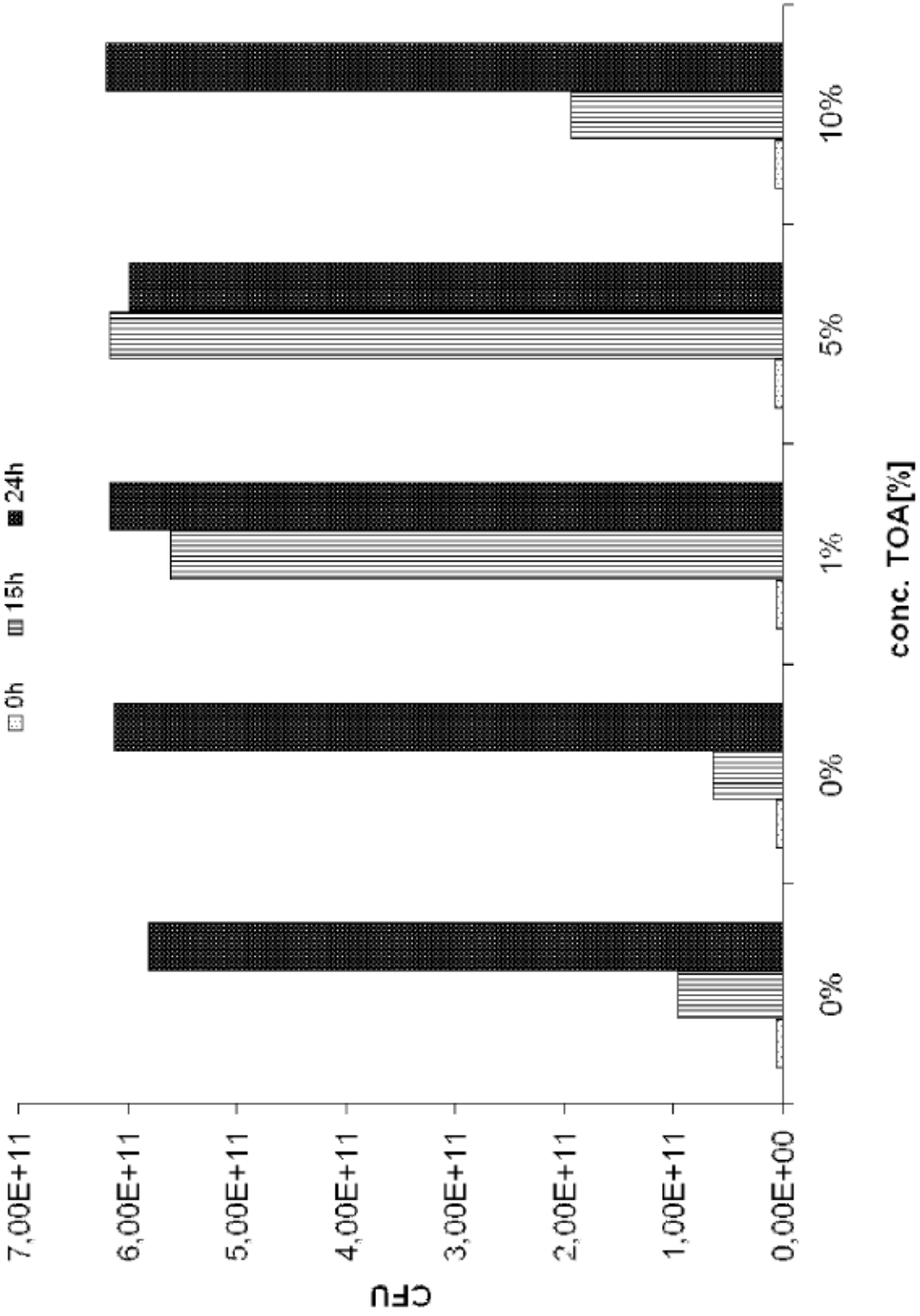

0h
15h
24h
CFU
7,00E+11
6,00E+11
5,00E+11
4,00E+11
3,00E+11
2,00E+11
1,00E+11
0,00E+00
0%
0%
1%
5%
10%
conc. TOA[%]

Figura 1

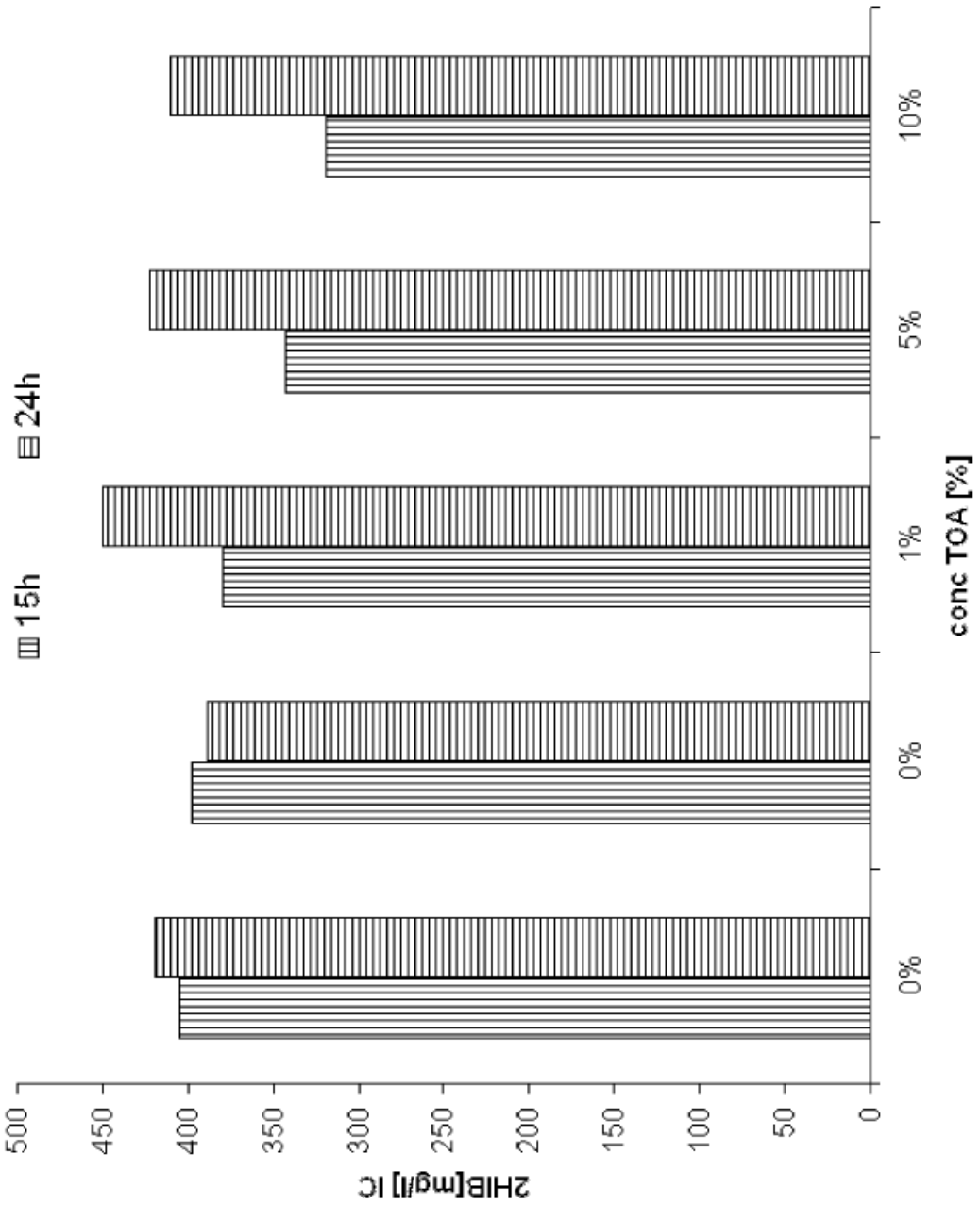

15h
24h
2HIB[mg/l] IC
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0%
0%
1%
5%
10%
conc TOA [%]

Figura 2

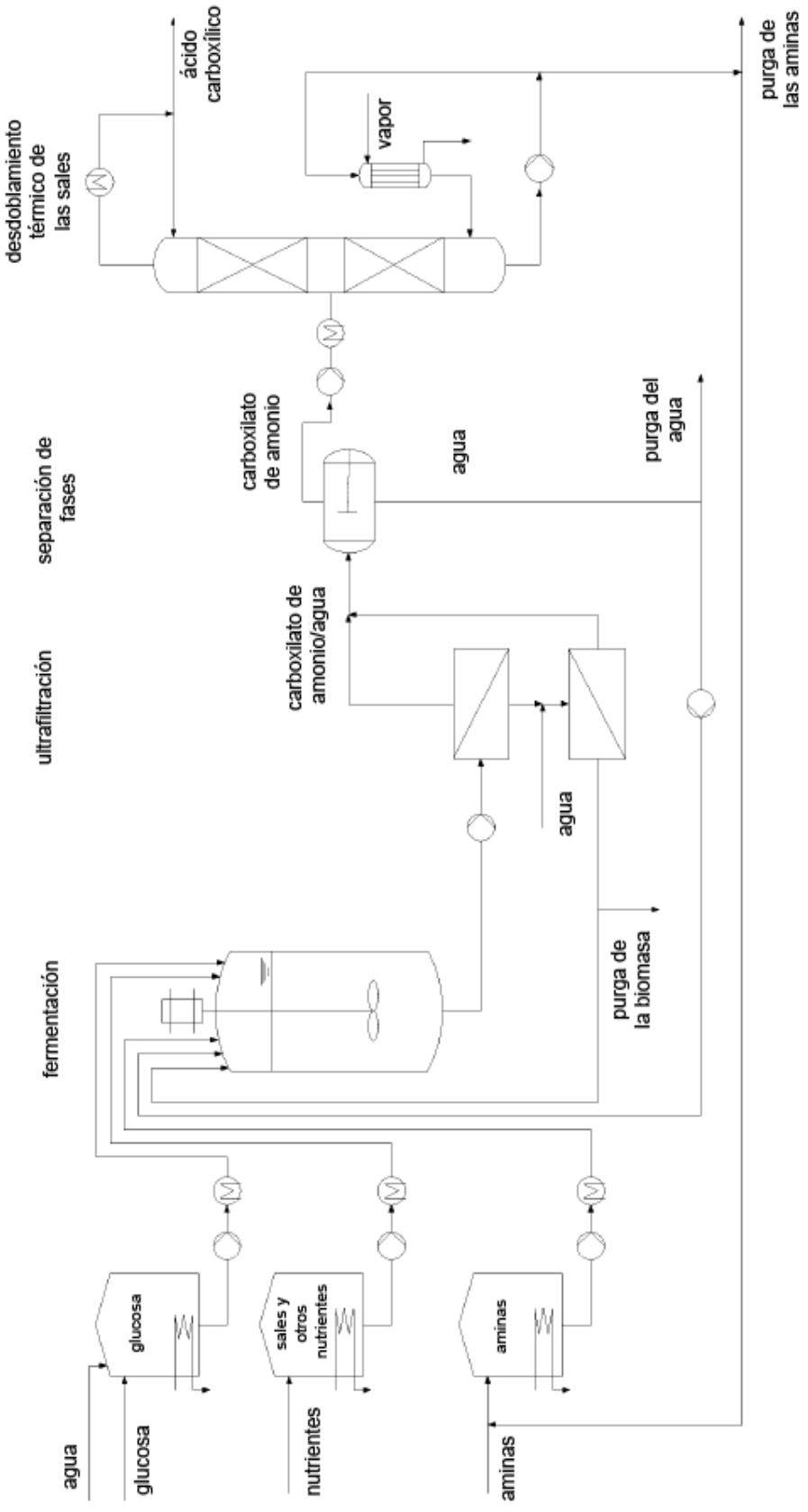

agua
glucosa
glucosa
nutrientes
sales y otros nutrientes
aminas
aminas
fermentación
purga de la biomasa
agua
ultrafiltración
carboxilato de amonio/agua
separación de fases
carboxilato de amonio
agua
purga del agua
desdoblamiento térmico de las sales
ácido carboxílico
vapor
purga de las aminas

Figura 3

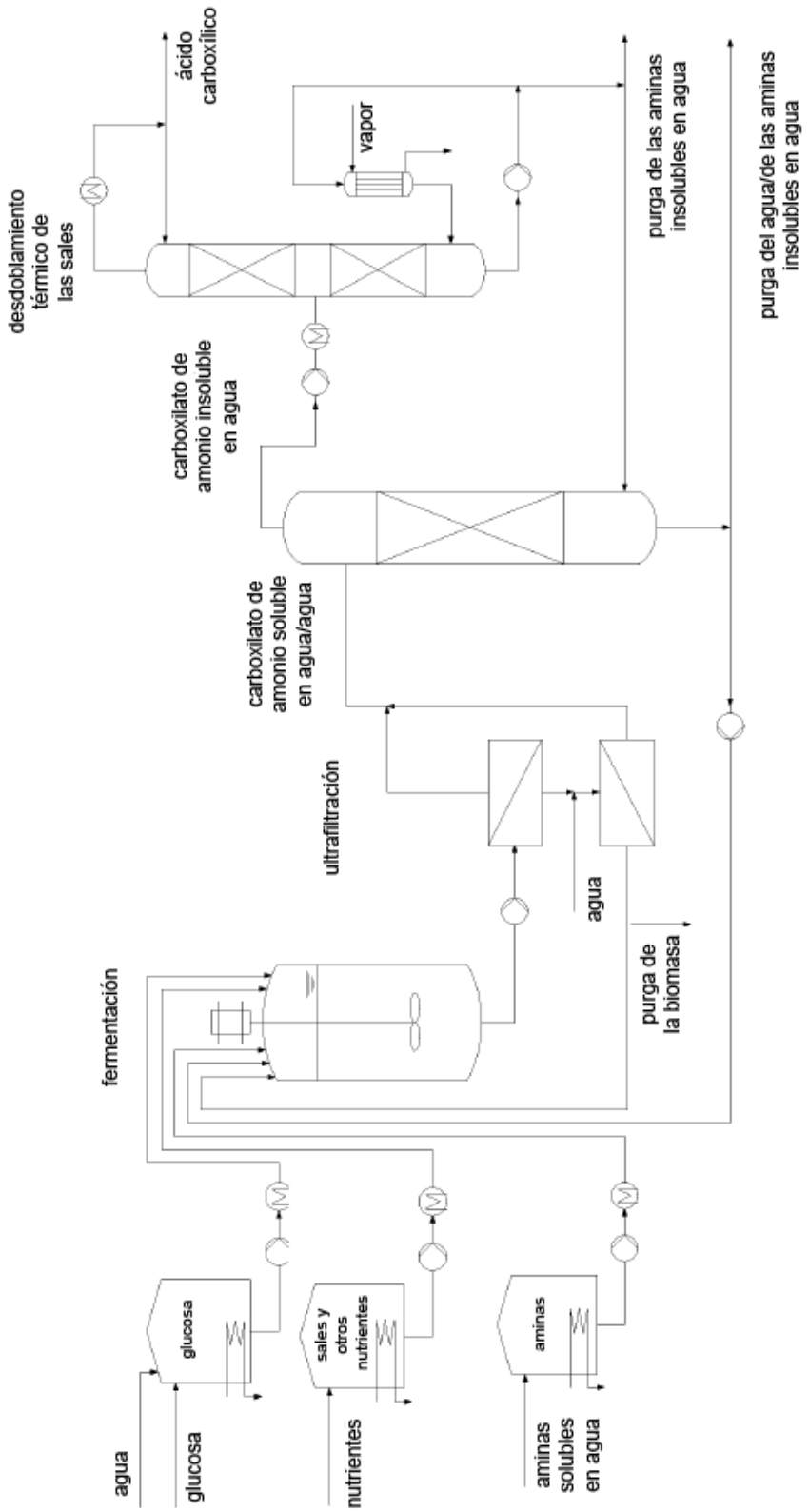

ácido carboxílico
vapor
desdoblamiento térmico de las sales
purga de las aminas insolubles en agua
purga del agua/de las aminas insolubles en agua
carboxilato de amonio insoluble en agua
carboxilato de amonio soluble en agua/agua
ultrafiltración
agua
purga de la biomasa
fermentación
glucosa
sales y otros nutrientes
aminas
agua
glucosa
nutrientes
aminas solubles en agua

Figura 4