

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 502**

51 Int. Cl.:

C07D 223/10 (2006.01)

C07D 201/08 (2006.01)

C12P 7/44 (2006.01)

C12P 17/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2011 PCT/US2011/039895**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.12.2011 WO2011159555**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2011 E 11726029 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2582678**

54 Título: **Procesos para producir caprolactama y derivados de la misma a partir de caldos de fermentación que contienen adipato de diamonio o adipato de monoamonio**

30 Prioridad:

16.06.2010 US 355197 P

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

24.05.2017

73 Titular/es:

**BIOAMBER INC. (100.0%)
1250 Rene-Levesque West, Suite 4310
Montreal, QC H3B 4W8, CA**

72 Inventor/es:

**FRUCHEY, OLAN, S.;
MANZER, LEO, E.;
DUNUWILA, DILUM;
KEEN, BRIAN, T.;
ALBIN, BROOKE, A.;
CLINTON, NYE, A. y
DOMBEK, BERNARD, D.**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 613 502 T3

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

Procesos para producir caprolactama y derivados de la misma a partir de caldos de fermentación que contienen adipato de diamonio o adipato de monoamonio

5

Solicitud relacionada

Esta solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos N.º 61/355.197, presentada el 16 de junio de 2010.

10

Campo técnico

Esta divulgación se refiere a procesos para producir caprolactama (CL) a partir de caldos de fermentación con adipato de diamonio (DAA) o adipato de monoamonio (MAA).

15

Antecedentes

Ciertos productos carbonosos de la fermentación de azúcar están considerados sustitutos de materiales derivados del petróleo para uso como materias primas para la fabricación de productos químicos que contienen carbono. Un producto de este tipo es el ácido adípico (AA). Dado que dicho proceso para la producción directa de AA sustancialmente puro a partir de un caldo de fermentación que contiene DAA o caldo de fermentación que contiene MAA y el posible uso de dicho AA puro como material fuente para la producción de CL, podría ser útil proporcionar procesos para producir CL y derivados de la misma de manera económica y respetuosa con el medio ambiente.

20

25

El documento EP1505052 desvela un método para producir un ácido dicarboxílico y/o ácido tricarboxílico, que comprende una etapa de fermentación en presencia de un agente de neutralización seleccionado entre amoníaco, carbonato de amonio y urea, para obtener una solución de reacción que contiene una sal de amonio de un ácido dicarboxílico y/o tricarboxílico, seguida por una etapa de cristalización reactiva que se lleva a cabo añadiendo un ácido monocarboxílico a dicha solución de reacción, con lo que el ácido dicarboxílico y/o ácido tricarboxílico precipita, y una etapa de separación en la que el ácido dicarboxílico y/o tricarboxílico precipitado se separa. En un ejemplo, se produce ácido adípico a partir de adipato de diamonio mediante cristalización reactiva con ácido acético.

30

Resumen

Se proporciona un proceso para producir CL a partir de un caldo de fermentación que contiene DAA o caldo de fermentación que contiene MAA clarificados, que incluye destilar el caldo a presión superatmosférica a una temperatura de >100 °C a aproximadamente 300 °C para formar una fracción de cabeza que comprende agua y amoníaco, y una fracción pesada que comprende AA y al menos aproximadamente 20 % en peso de agua, refrigerar y/o evaporar la fracción pesada para alcanzar una temperatura y composición suficientes para hacer que la fracción pesada se separe en una parte líquida y una parte sólida que es AA sustancialmente puro, separar la parte sólida de la parte líquida, y poner en contacto al menos una parte de la parte sólida con hidrógeno, opcionalmente en presencia de un disolvente, en presencia de un catalizador de hidrogenación y una fuente de amoníaco, a una temperatura de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 500 °C y una presión de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 40 MPa para producir la CL.

35

40

45

También se proporciona un proceso para producir CL a partir de un caldo de fermentación que contiene DAA o caldo de fermentación que contiene MAA clarificados, que incluye añadir un disolvente de separación de amoníaco y/o un disolvente que forma un azeótropo con agua al caldo, destilar el caldo a una temperatura y una presión suficientes para formar una fracción de cabeza que comprende agua y amoníaco, y una fracción pesada que comprende AA y al menos aproximadamente el 20 % en peso de agua, refrigerar y/o evaporar la fracción pesada para alcanzar una temperatura y composición suficientes para hacer que la fracción pesada se separe en una parte líquida y una parte sólida que es AA sustancialmente puro, separar la parte sólida de la parte líquida, y poner en contacto al menos una parte de la parte sólida con hidrógeno, opcionalmente en presencia de un disolvente, en presencia de un catalizador de hidrogenación y una fuente de amoníaco, a una temperatura de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 500 °C y una presión de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 40 MPa para producir la CL.

50

55

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de bloques de un proceso para preparar AA a partir de un caldo de fermentación que contiene DAA o un caldo de fermentación que contiene MAA.

60

La figura 2 es un gráfico que muestra la solubilidad de AA en agua en función de la temperatura.

La figura 3 es un diagrama de flujo para producir CL y al menos un derivado de CL a partir de AA.

Descripción detallada

65

Se apreciará que al menos una parte de la siguiente descripción pretende referirse a ejemplos representativos de

procesos seleccionados para ilustración en los dibujos y no pretende definir o limitar la divulgación, aparte de en las reivindicaciones adjuntas.

5 Los procesos de los inventores pueden apreciarse mediante referencia a la figura 1, que muestra en forma diagrama de bloques un ejemplo representativo, 10, de los métodos de los inventores.

10 Un recipiente de cultivo 12, normalmente un fermentador esterilizable por vapor *in situ*, puede usarse para cultivar un cultivo microbiano (no mostrado) que se utiliza posteriormente para la producción del caldo de fermentación que contiene DAA, MAA y/o AA. Dichos recipientes de cultivo se conocen en la técnica y no se describen adicionalmente.

15 El cultivo microbiano puede comprender microorganismos capaces de producir AA a partir de fuentes de carbono fermentables tales como azúcares de carbohidrato. Los ejemplos representativos de microorganismos incluyen *Escherichia coli* (*E. coli*), *Aspergillus niger*, *Corynebacterium glutamicum* (también llamado *Brevibacterium flavum*), *Enterococcus faecalis*, *Veillonella parvula*, *Actinobacillus succinogenes*, *Paecilomyces varioti*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides amylophilus*, *Lebsiella pneumoniae*, mezclas de los mismos y similares.

20 Los microorganismos preferidos incluyen la cepa anamorfa de *Candida tropicalis* (Castellani) Berkhout, OH23 que tiene el número de acceso ATCC 24887, la cepa de *E. coli* AB2834/pKD136/pKD8.243A/pKD8.292 que tiene el número de acceso ATCC 69875, los clones de cósmido de *E. coli* designados 5B12, 5F5, 8F6 y 14D7 que comprenden un vector que expresa la ciclohexanona monoxigenasa que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 2 y codificada por la SEQ ID NO: 1 de la cepa de *Acinetobacter* SE19, y la cepa de levadura disponible de Verdezyne, Inc. (Carlsbad, CA, EE. UU.; en lo sucesivo "levadura de Verdezyne") que produce AA a partir de alcanos y otras fuentes de carbono.

30 Pueden producirse caldos de fermentación que contienen AA a partir de la cepa anamorfa de *Candida tropicalis* (Castellani) Berkhout, OH23 que tiene el número de acceso ATCC 24887 mediante cultivo a 32 °C en un medio líquido que contiene 300 mg de NH₄H₂PO₄, 200 mg de KH₂PO₄, 100 mg de K₂HPO₄, 50 mg de MgSO₄•7H₂O, 1 µg de biotina, extracto de levadura al 0,1 % (p/v) y *n*-hexadecano a aproximadamente el 1 % (v/v) en 100 ml de agua destilada. También pueden usarse otros medios de cultivo tales como caldo YM que contiene *n*-hexadecano. El procedimiento para producir caldos de fermentación que contienen AA a partir de medios que contienen *n*-hexadecano cultivando *Candida tropicalis* (Castellani) Berkhout, cepa anamorfa OH23 que tiene el número de acceso ATCC 24887 también se describe en el documento Okuhura et al., 35 Agr. Biol. Chem. 1376 (1971).

35 También pueden producirse caldos de fermentación que contienen AA a partir de la cepa de *E. coli* AB2834/pKD136/pKD8.243A/pKD8.292 que tiene el número de acceso ATCC 69875. Esto puede hacerse de la siguiente manera. Un litro de medio LB (en un matraz de agitación Erlenmeyer de 4 l) que contenía IPTG (0,2 mM), ampicilina (0,05 g), cloranfenicol (0,02 g) y espectinomocina (0,05 g) puede inocularse con 10 ml de un cultivo durante una noche de células de la cepa de *E. coli* AB2834/pKD136/pKD8.243A/pKD8.292 cultivadas a 250 rpm durante 10 h a 37 °C. Las células pueden recogerse, resuspenderse en 1 l de medio mínimo M9 que contenía D-glucosa 56 mM, ácido shikímico (0,04 g), IPTG (0,2 mM), ampicilina (0,05 g), cloranfenicol (0,02 g) y espectinomocina (0,05 g). Los cultivos pueden devolverse a continuación a incubación a 37 °C. Después de la resuspensión en medio mínimo, el pH del cultivo puede monitorizarse estrechamente, particularmente durante las 12 h iniciales. Cuando el cultivo alcanza un pH de 6,5, puede añadirse NaOH 5 N o una cantidad apropiada de otra base tal como hidróxido de amonio para ajustar el pH de vuelta a aproximadamente 6,8. Durante el periodo de acumulación de 48 h, no se debe permitir al cultivo caer por debajo de pH 6,3. Después de 24 h en el medio pueden detectarse *cis*, *cis*-muconato 12 mM y protocatecuato 1 mM en el sobrenadante de cultivo junto con D-glucosa 23 mM. Después de 48 h en el medio, células de la cepa de *E. coli* AB2834/pKD136/pKD8.243A/pKD8.292 pueden sustituir esencialmente a la D-glucosa 56 mM en el medio con *cis*, *cis*-muconato 17 mM.

55 La reducción de *cis*, *cis*-muconato AA sintetizado por microbios para producir un caldo de fermentación que comprenden AA puede continuar a continuación de la siguiente manera. Pueden añadirse cincuenta miligramos de platino sobre carbón (10 %) a 6 ml de un sobrenadante de cultivo libre de células a partir de la fermentación que contiene *cis*, *cis*-muconato aproximadamente 17,2 mM. Esta muestra puede hidrogenarse a continuación a 50 psi de presión de hidrógeno durante 3 h a temperatura ambiente para producir un caldo de fermentación que contiene AA. El caldo de fermentación producido de esta manera puede contener, por ejemplo, AA aproximadamente 15,1 mM. El procedimiento para producir caldos de fermentación que contienen AA cultivando células de la cepa de *E. coli* AB2834/pKD136/pKD8.243A/pKD8.292 mediante cultivo en un medio de cultivo que comprende D-glucosa también se describe en los documentos Draths & Frost, 116 J. Am. Chem. Soc. 399 (1994); Draths y Frost, 18 Biotechnol. Prog. 201 (2002); US 5.487.987 y US 5.616.496.

65 También pueden producirse caldos de fermentación que contienen AA a partir de los clones de cósmido de *E. coli* designados 5B12, 5F5, 8F6 y 14D7 que comprenden un vector que expresa la ciclohexanona monoxigenasa de SEQ ID NO: 2 codificada por la SEQ ID NO: 1 de la cepa de *Acinetobacter* SE19 cultivando estos clones en medio mínimo M9 suplementado con glucosa al 0,4 % como fuente de carbono. Las células pueden cultivarse a 30 °C con

agitación durante 2 h y la adición de 330 ppm de ciclohexanol al medio. A esto puede seguirle incubación adicional a 30 °C durante un periodo de tiempo adicional tal como, por ejemplo, 2 h, 4 h o 20 h u otros intervalos de tiempo. El procedimiento para producir caldos de fermentación que contienen AA cultivando los clones de cósmido de *E. coli* designados 5B12, 5F5, 8F6 y 14D7 que comprenden un vector que expresa la ciclohexanona monooxigenasa codificada por la SEQ ID NO: 1 de la cepa de *Acinetobacter* SE19 en un medio de cultivo que comprende D-glucosa y ciclohexanol también se describe en el documento US 6.794.165.

También pueden producirse caldos de fermentación que contienen AA con la cepa de levadura de Verdezyne disponible de Verdezyne, Inc. (Carlsbad, CA, EE. UU.), que el 8 de febrero de 2010 se describió que producía AA cuando se cultivaba en un medio (por ejemplo, medio SD) que comprende alcanos u otras fuentes de carbono tales como azúcares y aceites de base vegetal.

También pueden producirse caldos de fermentación que contienen AA a partir de *E. coli* u otros microorganismos transformados con ácidos nucleicos que codifican succinil-CoA:acetil-CoA acil transferasa; 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa; 3-hidroxiadipil-CoA deshidratasa; 5-carboxi-2-pentenoil-CoA reductasa; adipil-CoA sintetasa, fosfotransadipilasa/adipato quinasa, adipil-CoA transferasa o adipil-CoA hidrolasa. Pueden producirse además caldos de fermentación que contienen AA a partir de *E. coli* u otros microorganismos transformados con ácidos nucleicos que codifican succinil-CoA:acetil-CoA acil transferasa; 3-oxoadipil-CoA transferasa; 3-oxoadipato reductasa; 3-hidroxiadipato deshidratasa; y 2-enoato reductasa. También pueden producirse caldos de fermentación que contienen AA a partir de *E. coli* u otros microorganismos transformados con ácidos nucleicos que codifican alfa-cetoadipil-CoA sintetasa, fosfotranscetoadipilasa/alfa-cetoadipato quinasa o alfa-cetoadipil-CoA:acetil-CoA transferasa; 2-hidroxiadipil-CoA deshidrogenasa; 2-hidroxiadipil-CoA deshidratasa; 5-carboxi-2-pentenoil-CoA reductasa; y adipil-CoA sintetasa, fosfotransadipilasa/adipato quinasa, adipil-CoA:acetil-CoA transferasa o adipil-CoA hidrolasa. También pueden producirse más adicionalmente caldos de fermentación que contienen AA a partir de *E. coli* u otros microorganismos transformados con ácidos nucleicos que codifican 2-hidroxiadipato deshidrogenasa; 2-hidroxiadipil-CoA sintetasa, fosfotranshidroxiadipilasa/2-hidroxiadipato quinasa o 2-hidroxiadipil-CoA:acetil-CoA transferasa; 2-hidroxiadipil-CoA deshidratasa; 5-carboxi-2-pentenoil-CoA reductasa; y adipil-CoA sintetasa, fosfotransadipilasa/adipato quinasa, adipil-CoA:acetil-CoA transferasa o adipil-CoA hidrolasa.

La fermentación con *E. coli* u otros microorganismos transformados con ácidos nucleicos que codifican estas enzimas puede realizarse usando diversas fuentes de carbono diferentes en condiciones estándar en medios de cultivo estándar (por ejemplo, medio mínimo M9) y suplementos antibióticos o nutricionales apropiados necesarios para mantener el fenotipo transformado. El procedimiento para producir caldos de fermentación que contienen AA cultivando *E. coli* u otros microorganismos transformados con ácidos nucleicos que codifican estas enzimas, medios de cultivo y fuentes de carbono apropiados también se describen en el documento US 2009/0305364.

Procedimientos para producir caldos de fermentación que contienen ácidos dicarboxílicos tales como AA cultivando *Saccharomyces cerevisiae* y otras cepas, cepas de microorganismos, medios de cultivo y fuentes de carbono apropiados también se describen en el documento WO 2010/003728.

Una fuente de carbono fermentable (por ejemplo, carbohidratos y azúcares), opcionalmente una fuente de nitrógeno y nutrientes complejos (por ejemplo, licor de maceración de maíz), componentes de medios adicionales tales como vitaminas, sales y otros materiales que pueden mejorar el crecimiento celular y/o la formación de producto, y agua pueden introducirse en el recipiente de cultivo 12 para cultivo y sustentación del cultivo microbiano. Normalmente, el cultivo microbiano se cultiva en condiciones aerobias proporcionado burbujeando un gas rico en oxígeno (por ejemplo, aire os similar). Normalmente, se proporcionan un ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico o similar) e hidróxido de amonio para control del pH durante el cultivo del cultivo microbiano.

En un ejemplo (no mostrado), las condiciones aerobias en el recipiente de cultivo 12 (proporcionadas burbujeando un gas rico en oxígeno) se cambian a condiciones anaerobias cambiando el gas rico en oxígeno a un gas deficiente en oxígeno (por ejemplo, CO₂ o similar). El entorno anaerobio puede desencadenar la bioconversión de la fuente de carbono fermentable en AA *in situ* en el recipiente de cultivo 12. Se proporciona hidróxido de amonio para control del pH durante la bioconversión de la fuente de carbono fermentable en AA. El AA que se produce es al menos parcial si no totalmente neutralizado a DAA debido a la presencia del hidróxido de amonio, lo que causa la producción de un caldo que comprende DAA. La adición de CO₂ puede proporcionar una fuente de carbono adicional para la producción de AA.

En otro ejemplo, el contenido del recipiente de cultivo 12 puede transferirse mediante la corriente 14 a un recipiente de bioconversión 16 independiente para bioconversión de una fuente de carbohidratos en AA. Un gas deficiente en oxígeno (por ejemplo, CO₂ o similar) se burbujea en el recipiente de bioconversión 16 para proporcionar condiciones anaerobias que desencadenan la producción de AA. Se proporciona hidróxido de amonio para control del pH durante la bioconversión de la fuente de carbohidratos en AA. Debido a la presencia del hidróxido de amonio, el AA producido se neutraliza al menos parcialmente a DAA, causando la producción de un caldo que comprende DAA. La adición de CO₂ puede proporcionar una fuente de carbono adicional para la producción de AA.

En otro ejemplo más, la bioconversión puede llevarse a cabo a un pH relativamente bajo (por ejemplo, 3 - 6). Puede

proporcionarse una base (hidróxido de amonio o amoniaco) para control del pH durante la bioconversión de la fuente de carbohidratos en AA. Dependiendo del pH deseado, debido a la presencia o carencia del hidróxido de amonio, se produce a AA o el AA producido se neutraliza al menos parcialmente a MAA, DAA o una mezcla que comprende AA, MAA y/o DAA. Por lo tanto, el AA producido durante la bioconversión puede neutralizarse posteriormente, 5 opcionalmente en una etapa adicional, proporcionando amoniaco o hidróxido de amonio, lo que conduce a un caldo que comprende DAA. Como consecuencia, un "caldo de fermentación que contiene DAA" generalmente significa que el caldo de fermentación comprende DAA y posiblemente cualquier número de otros componentes tales como MAA y/o AA, ya sean añadidos y/o producidos mediante bioconversión o de otra manera. Análogamente, un "caldo de fermentación que contiene MAA" generalmente significa que el caldo de fermentación comprende MAA y 10 posiblemente cualquier número de otros componentes tales como DAA y/o AA, ya sean añadidos y/o producidos mediante bioconversión o de otra manera.

El caldo resultante de la bioconversión de la fuente de carbono fermentable (en el recipiente de cultivo 12 o el recipiente de bioconversión 16, dependiendo de dónde tiene lugar la bioconversión), normalmente contiene sólidos 15 insolubles tales como biomasa celular y otro material suspendido, que se transfieren mediante la corriente 18 a un aparato de clarificación 20 antes de la destilación. La eliminación de sólidos insolubles clarifica el caldo. Esto reduce o previene el ensuciamiento del equipo de destilación posterior. Los sólidos insolubles pueden eliminarse mediante una cualquiera de varias técnicas de separación sólido-líquido, solas o en combinación, que incluyen aunque sin limitarse a centrifugado y filtración (incluyendo, aunque sin limitarse a ultra-filtración, micro-filtración o filtración de 20 lecho profundo). La elección de filtración puede realizarse usando técnicas conocidas en la técnica. Los compuestos inorgánicos solubles pueden eliminarse mediante cualquier número de métodos conocidos tales como, aunque sin limitarse a, intercambio iónico, adsorción física y similares.

Un ejemplo de centrifugado es una centrífuga de discos continua. Puede ser útil añadir una etapa de filtración de 25 pulido después del centrifugado tal como una filtración de flujo sin salida o de flujo transversal que puede incluir el uso de un auxiliar de filtro tal como tierra de diatomeas o similar, o más preferentemente ultra-filtración o micro-filtración. La membrana de ultra-filtración o micro-filtración puede ser cerámica o polimérica, por ejemplo. Un ejemplo de una membrana polimérica es SeIRO MPS-U20P (membrana de ultra-filtración estable al pH) fabricada por Koch Membrane Systems (850 Main Street, Wilmington, MA, EE. UU.). Ésta es una membrana de polietersulfona 30 disponible en el mercado con un valor límite de peso molecular de 25.000 Dalton que normalmente funciona a presiones de 0,35 a 1,38 MPa (presión máxima de 1,55 MPa) y a temperaturas de hasta 50 °C. Como alternativa, puede emplearse una etapa de filtración en solitario usando ultra-filtración o micro-filtración.

El caldo que contiene DAA o caldo que contiene MAA clarificado resultante, sustancialmente libre del cultivo 35 microbiano y otros sólidos, se transfiere mediante la corriente 22 al aparato de destilación 24.

El caldo de destilación clarificado debe contener DAA en una cantidad que es al menos una mayoría de, preferentemente al menos aproximadamente el 70 % en peso, más preferentemente el 80 % en peso y de la forma 40 más preferente al menos aproximadamente el 90 % en peso de todas las sales de dicarboxilato de diamonio en el caldo. La concentración de DAA y/o MAA como un porcentaje en peso (% en peso) de las sales totales de ácido dicarboxílico en el caldo de fermentación puede determinarse mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) u otros medios conocidos.

El agua y el amoniaco se eliminan del aparato de destilación 24 como una fracción de cabeza, y al menos una parte 45 se recicla opcionalmente mediante la corriente 26 al recipiente de bioconversión 16 (o recipiente de cultivo 12 que funciona en el modo anaerobio).

La temperatura y presión de destilación específicas no son críticas siempre que la destilación se lleve a cabo de una 50 manera que garantice que la fracción de cabeza de destilación contenga agua y amoniaco, y la fracción pesada de destilación comprenda al menos algo de AA y al menos aproximadamente el 20 % en peso de agua. Una cantidad más preferida de agua es al menos aproximadamente el 30 % en peso y una cantidad aún más preferida es al menos aproximadamente el 40 % en peso. La velocidad de eliminación de amoniaco de la etapa de destilación se incrementa al incrementarse la temperatura y también puede incrementarse inyectando vapor (no mostrado) durante la destilación. La velocidad de eliminación de amoniaco durante la destilación también puede incrementarse llevando 55 a cabo destilación al vacío o burbujeando el aparato de destilación con un gas no reactivo tal como aire, nitrógeno o similar.

La eliminación de agua durante la etapa de destilación puede potenciarse mediante el uso de un agente que forma 60 un azeótropo orgánico tal como tolueno, xileno, metilciclohexano, metil isobutil cetona, ciclohexano, heptano o similar, siempre que la fracción pesada contenga al menos aproximadamente el 20 % en peso de agua. Si la destilación se lleva a cabo en presencia de un agente orgánico capaz de formar un azeótropo que consiste en el agua y el agente, la destilación produce una fracción pesada bifásico que comprende una fase acuosa y una fase orgánica, en cuyo caso la fase acuosa puede separarse de la fase orgánica, y la fase acuosa usarse como fracción pesada de destilación. Subproductos tales como adipimida y adipamida se evitan sustancialmente siempre que el 65 agua en la fracción pesada se mantenga a un nivel de al menos aproximadamente el 30 % en peso.

Una temperatura preferida para la etapa de destilación está en el intervalo de aproximadamente 50 °C a aproximadamente 300 °C, dependiendo de la presión. Un intervalo de temperatura más preferido es de aproximadamente 150 °C a aproximadamente 240 °C, dependiendo de la presión. Una temperatura de destilación de aproximadamente 170 °C a aproximadamente 230 °C se prefiere. "Temperatura de destilación" se refiere a la temperatura de la fracción pesada (para destilaciones discontinuas ésta puede ser la temperatura en el momento en que se toma la última cantidad deseada de fracción de cabeza).

Añadir un disolvente orgánico miscible en agua o un disolvente de separación de amoníaco facilita la desamoníación a diversas temperaturas y presiones de destilación tal como se ha descrito anteriormente. Dichos disolventes incluyen disolventes apróticos, bipolares, que contienen oxígeno que pueden ser capaces de formar puentes de hidrógeno pasivos. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitarse a, diglima, triglima, tetraglima, sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido (DMSO), amidas tales como dimetilformamida (DMF) y dimetilacetamida, sulfonas tales como dimetilsulfona, gamma-butirolactona (GBL), sulfolano, polietilenglicol (PEG), butoxitriglicol, N-metilpirrolidona (NMP), éteres tales como dioxano, metil etil cetona (MEK) y similares. Dichos disolventes ayudan a la eliminación de amoníaco del DAA o MAA en el caldo clarificado. Independientemente de la técnica de destilación, es importante que la destilación se lleve a cabo de una manera que garantice que al menos parte del MAA y al menos aproximadamente el 20 % en peso de agua permanezca en la fracción pesada y aún más ventajosamente al menos aproximadamente el 30 % en peso. La destilación puede llevarse a cabo a presiones atmosférica, subatmosférica o superatmosférica.

En otras condiciones tales como cuando la destilación se lleva a cabo en ausencia de un agente azeotrópico o disolvente de separación de amoníaco, la destilación se lleva a cabo a presión superatmosférica a una temperatura de más de 100 °C a aproximadamente 300 °C para formar una fracción de cabeza que comprende agua y amoníaco y una fracción pesada que comprende AA y al menos aproximadamente el 20 % en peso de agua. La presión superatmosférica normalmente está dentro de un intervalo de mayor que la atmósfera ambiente hasta e incluyendo aproximadamente 25 atmósferas. Ventajosamente la cantidad de agua es al menos aproximadamente el 30 % en peso.

La destilación puede ser una instantánea de una fase, una destilación multifase (es decir, una destilación en columna multifase) o similar. La instantánea de una fase puede llevarse a cabo en cualquier tipo de caldera de vaporización rápida (por ejemplo, un evaporador de película renovada, evaporador de película fina, caldera de vaporización rápida de termosifón, caldera de vaporización rápida de circulación forzada y similares). Las múltiples fases de las columnas de destilación pueden conseguirse usando bandejas, relleno o similares. El relleno puede ser relleno aleatorio (por ejemplo, anillos Raschig, anillos Pall, monturas Berl y similares) o relleno estructurado (por ejemplo, relleno de Koch-Sulzer, relleno Intalox, Mellapak y similares). Las bandejas pueden ser de cualquier diseño (por ejemplo, bandejas de tamiz, bandejas de válvulas, bandejas de burbujeo y similares). La destilación puede realizarse con cualquier número de fases teóricas.

Si el aparato de destilación es una columna, la configuración no es particularmente crítica, y la columna puede estar diseñada usando criterios bien conocidos. La columna se puede hacer funcionar en modo de separación por arrastre, modo de rectificación o modo de fraccionamiento. La destilación puede llevarse a cabo en modo discontinuo, semicontinuo o continuo. En el modo continuo, el caldo es alimentado de forma continua al interior del aparato de destilación, y la fracción de cabeza y la fracción pesada se retiran de forma continua del aparato a medida que se forman. El destilado procedentes de destilación es una solución de amoníaco/agua, y la fracción pesada de destilación son una solución acuosa, líquida de MAA y AA, que puede contener también otras sales subproductos de fermentación (es decir, acetato de amonio, formiato de amonio, lactato de amonio y similares) y cuerpos de color.

La fracción pesada de destilación puede transferirse mediante la corriente 28 al aparato de refrigeración 30 y refrigerarse mediante técnicas convencionales. La técnica de refrigeración no es crítica. Puede usarse un intercambiador de calor (con recuperación de calor). Puede usarse un refrigerador por vaporización instantánea para refrigerar la fracción pesada a aproximadamente 15 °C. La refrigeración a 15 °C normalmente emplea un refrigerante refrigerado tal como, por ejemplo, solución de glicol o, menos preferentemente, salmuera. Una etapa de concentración puede estar incluida antes de la refrigeración para ayudar a incrementar la producción de producto. Además, tanto la concentración como la refrigeración pueden combinarse usando métodos conocidos tales como evaporación al vacío y eliminación de calor usando camisas de refrigeración integradas y/o intercambiadores de calor externos.

Se descubrió que la presencia de algo de MAA en la fracción pesada líquida facilita la separación inducida por refrigeración de la fracción pesada en una parte líquida en contacto con una parte sólida que al menos "consiste esencialmente" en AA (lo que significa que la parte sólida es al menos AA cristalino sustancialmente puro) reduciendo la solubilidad de AA en la fracción pesada líquidos acuosos que contienen MAA. La figura 2 ilustra la solubilidad de AA en agua. Se descubrió, por lo tanto, que el AA puede cristalizar más completamente a partir de una solución acuosa si algo de MAA también está presente en esa solución. Una concentración preferida de MAA en dicha solución es de aproximadamente el 20 % en peso. Una concentración más preferida de MAA en dicha solución está en el intervalo de aproximadamente 3 % en peso en ppm. Este fenómeno permite la cristalización de AA (es

decir, formación de la parte sólida de la fracción pesada de destilación) a temperaturas superiores a aquellas que se requerirían en ausencia de MAA.

5 La fracción pesada de destilación se introduce mediante la corriente 32 en el separador 34 para separación de la parte sólida de la parte líquida. La separación puede conseguirse mediante filtración a presión (por ejemplo, usando filtros de presión de tipo Nutsche o Rosenmond), centrifugado y similares. El producto sólido resultante puede recuperarse como el producto 36 y secarse, si se desea, mediante métodos estándar.

10 Después de la separación, puede ser deseable tratar la parte sólida para garantizar que no queda ninguna parte líquida sobre las una o más superficies de la parte sólida. Una manera de minimizar la cantidad de parte líquida que queda sobre la superficie de la parte sólida es lavar la parte sólida separada con agua y secar la parte sólida lavada resultante (no mostrada). Una manera conveniente de lavar la parte sólida es usar una llamada "centrífuga de cesta" (no mostrada). Centrífugas de cesta adecuadas están disponibles de The Western States Machine Company (Hamilton, OH, EE. UU.).

15 La parte líquida de la fracción pesada de destilación 34 (es decir, las aguas madres) puede contener AA disuelto restante, cualquier MAA no convertido, cualesquiera subproductos de fermentación tales como acetato, lactato o formiato de amonio, y otras impurezas menores. Esta parte líquida puede introducirse mediante la corriente 38 en un aparato corriente abajo 40. En un caso, el aparato 40 puede ser un medio para fabricar un descongelante mediante tratamiento en la mezcla con una cantidad apropiada de hidróxido de potasio, por ejemplo, para convertir las sales de amonio en sales de potasio. El amoniaco generado en la reacción puede recuperarse para reutilizarlo en el recipiente de bioconversión 16 (o recipiente de cultivo 12 que funciona en el modo anaerobio). La mezcla resultante de sales de potasio es valiosa como descongelante y anticongelante.

25 Las aguas madres procedentes de la etapa de separación de sólidos 34 pueden reciclarse (o reciclarse parcialmente) al aparato de destilación 24 mediante la corriente 42 para potenciar adicionalmente la recuperación de AA, así como convertir adicionalmente MAA en AA.

30 La parte sólida de la cristalización inducida por refrigeración es AA sustancialmente puro y es, por lo tanto, útil para las utilidades conocidas de AA.

Puede usarse HPLC para detectar la presencia de impurezas que contienen nitrógeno tales como adipamida y adipimida. La pureza de AA puede determinarse mediante análisis de carbono y nitrógeno elementales. Un electrodo de amoniaco puede usarse para determinar una aproximación grosera de la pureza de AA.

35 Dependiendo de las circunstancias y diversas entradas de funcionamiento, hay casos cuando el caldo de fermentación puede ser un caldo de fermentación que contiene MAA clarificado o un caldo de fermentación que contiene AA clarificado. En esas circunstancias, puede ser ventajoso añadir MAA, DAA y/o AA y, opcionalmente, amoniaco y/o hidróxido de amonio a esos caldos de fermentación para facilitar la producción de AA sustancialmente puro. Por ejemplo, el pH operativo del caldo de fermentación puede orientarse de modo que el caldo sea un caldo que contiene MAA o un caldo que contiene AA. Pueden añadirse MAA, DAA, AA, amoniaco y/o hidróxido de amonio a esos caldos para alcanzar un pH del caldo preferentemente menor de 6 para facilitar la producción del AA sustancialmente puro mencionado anteriormente. En una forma particular, es especialmente ventajoso reciclar AA, MAA y agua a partir de la fracción pesada líquida que resulta de la etapa de destilación 24 en el caldo de fermentación y/o el caldo de fermentación clarificado. En referencia al caldo que contiene MAA, dicho caldo generalmente significa que el caldo de fermentación comprende MAA y posiblemente cualquier número de otros componentes tales como DAA y/o AA, ya sean añadidos y/o producidos mediante bioconversión o de otro modo.

50 Las corrientes que comprenden AA, tal como se presentan en la figura 3, pueden ponerse en contacto con diversos reactantes y catalizadores a temperaturas y presiones seleccionadas para producir CL. El AA puede disolverse o suspenderse en agua o un disolvente tal como dioxano para uso en reacciones corriente abajo tales como conversión en CL. Es posible convertir dichas soluciones o suspensiones de AA (y MAA a DAA) mediante la adición de una fuente de amoniaco (por ejemplo, NH_3 o NH_4OH). Por lo tanto, pueden deshidratarse soluciones o suspensiones de AA para formar una amida de AA seguida por hidrogenación de la amida para formar CL.

55 Puede producirse CL mediante diversos métodos tales como métodos desvelados en el documento GB 778.253, por ejemplo. El documento GB 778.253 desvela que AA, diamida de ácido adípico o derivados de AA formadores de diamida pueden convertirse en CL en una sola fase. AA, su diamida o un derivado formador de diamida del mismo, pueden tratarse como un líquido con hidrógeno a temperatura elevada, que preferentemente no superan los 220 °C, y a presión en presencia de amoniaco y un catalizador de hidrogenación. El proceso no produce hexametildiamina (HMD) como podría esperarse, sino CL con amoniaco eliminado. La diamina de ácido adípico o su sal de diamonio puede usarse como material de partida o AA o un derivado de AA formador de diamina que, como el cloruro de diácido o un di-éster, se convierte añadiendo amoniaco en diamina de ácido adípico y a continuación en CL.

65 Aunque es posible producir CL solo, tal como se ha mencionado anteriormente, también es posible coproducir CL con otros materiales útiles tales como, por ejemplo, HMD. Puede encontrarse un ejemplo en el documento JP

49/019250. Pueden producirse CL y HMD simultáneamente tratando AA, adipamida, DAA o un adipato de alquilo con NH_3 y H_2 en presencia de catalizador metálico de Ru. Un ejemplo desvela que AA 36,5 g, H_2O 4,5 g, NH_3 líq. 255 g y 20 g de C activo que contenía Ru al 5 % se trataron durante 4 horas en H_2 a una medida de 60 kg/cm^2 a 240°C . Esto dio como resultado 9,2 g de CL y 7,7 g de HMD. Los residuos de destilación que contienen AA y sus derivados, por ejemplo, ácido aminocaproico, se reciclaron para proporcionar 4,4 g adicionales de CL y 3,7 g de HMD.

Además, es posible producir CL a partir de un adipamida tal como diamida o la monoamida de AA tal como también se desvela en el documento GB 778.253. Por ejemplo, el documento GB 778.253 trataba una suspensión de 180 g de diamida adipica en aproximadamente 3 litros de dioxano técnico con 45 g de níquel Raney en un autoclave con agitación de 5 litros a 220°C a una presión de hidrógeno de 250 atm. La presión se incrementó a aproximadamente 380 atm. El calentamiento se interrumpió después de 15 horas. El autoclave se enfrió y el producto se separó del catalizador. Después de destilar la dioxina, un aceite ligero se fraccionó en un vacío. Después de unas pocas gotas de primeras series, la CL se destiló en un intervalo de ebullición de 120°C a $130^\circ\text{C}/6 \text{ mm}$ y se cristalizó con un punto de fusión de 69°C . La CL podía polimerizarse a continuación mediante métodos conocidos a una poliamida que tiene un punto de fusión de aproximadamente 220°C .

Pueden promoverse catalizadores de hidrogenación para la conversión de AA en CL para aumentar la actividad o selectividad del catalizador. El promotor puede incorporarse en el catalizador durante cualquier etapa en el procesamiento químico del constituyente catalizador. El promotor químico generalmente potencia la función física o química del agente catalizador, pero también puede añadirse para retrasar reacciones secundarias no deseables. Los promotores adecuados incluyen, por ejemplo, metales seleccionados entre estaño, zinc, cobre, renio, oro, plata, y combinaciones de los mismos. Otros promotores que pueden usarse son elementos seleccionados entre el Grupo I y el Grupo II de la Tabla Periódica.

El catalizador puede estar soportado o no soportado. Un catalizador soportado es uno en el que el agente catalizador activo se deposita sobre un material de soporte mediante una serie de métodos tales como pulverización, remojo o mezcla física, seguida por secado, calcinación y, si fuera necesario, activación mediante métodos tales como reducción u oxidación. Materiales usados frecuentemente como soporte son sólidos porosos con áreas superficiales totales elevadas (externas e internas) que pueden proporcionar concentraciones elevadas de sitios activos por unidad de peso de catalizador. El soporte del catalizador puede potenciar la función del agente catalizador. Un catalizador metálico soportado es un catalizador soportado en el que el agente catalizador es un metal.

Un catalizador que no está soportado sobre un material de soporte del catalizador es un catalizador no soportado. Un catalizador no soportado puede ser negro de platino o un catalizador Raney® (W.R. Grace & Co., Columbia, MD), por ejemplo. Los catalizadores Raney® tienen un área superficial elevada debido al lixiviado de forma selectiva de una aleación que contiene los uno o más metales activos y un metal lixiviable (habitualmente aluminio). Los catalizadores Raney® tienen actividad elevada debido a la mayor área específica y permiten el uso de temperaturas más bajas en reacciones de hidrogenación. Los metales activos de los catalizadores Raney® incluyen níquel, cobre, cobalto, hierro, rodio, rutenio, renio, osmio, iridio, platino, paladio, compuestos de los mismos y combinaciones de los mismos.

También pueden añadirse metales promotores a los metales Raney® básicos para afectar a la selectividad y/o la actividad del catalizador Raney®. Los metales promotores para catalizadores Raney® pueden seleccionarse entre metales de transición de los Grupos IIIA a VIIIA, IB y IIB de la Tabla Periódica de los Elementos. Los ejemplos de metales promotores incluyen cromo, molibdeno, platino, rodio, rutenio, osmio y paladio, normalmente a aproximadamente el 2 % en peso del metal total.

El soporte del catalizador puede ser cualquier sustancia inerte sólida que incluye, aunque sin limitarse a, óxidos tales como sílice, alúmina y óxido de titanio; sulfato de bario; carbonato de calcio; y carbones. El soporte del catalizador puede estar en forma de polvo, gránulos, microgránulos o similares.

Un material de soporte preferido puede seleccionarse entre el grupo que consiste en carbón, alúmina, sílice, sílice-alúmina, sílice-óxido de titanio, óxido de titanio, óxido de titanio-alúmina, sulfato de bario, carbonato de calcio, carbonato de estroncio, compuestos de los mismos y combinaciones de los mismos. Los catalizadores metálicos soportados también pueden tener materiales de soporte fabricados a partir de uno o más compuestos. Son soportes más preferidos carbón, óxido de titanio y alúmina. Soportes preferidos adicionales son carbones con un área superficial mayor de aproximadamente $100 \text{ m}^2/\text{g}$. Un soporte preferido adicional es carbón con un área superficial mayor de aproximadamente $200 \text{ m}^2/\text{g}$. Preferentemente, el carbón tiene un contenido de cenizas que es menor de aproximadamente el 5 % en peso del soporte del catalizador. El contenido de cenizas es el residuo inorgánico (expresado como un porcentaje del peso original del carbón) que queda después de la incineración del carbón.

Un contenido preferido de catalizador metálico en el catalizador soportado puede ser de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 20 % del catalizador soportado basándose en el peso del catalizador metálico más el peso del soporte. Un intervalo de contenido de catalizador metálico más preferido es de aproximadamente el 1 % a

aproximadamente el 10 % del catalizador soportado.

5 Combinaciones de catalizador metálico y sistema de soporte pueden incluir cualquiera de los metales mencionados en el presente documento con cualquiera de los soportes mencionados en el presente documento. Combinaciones preferidas de catalizador metálico y soporte incluyen paladio sobre carbón, paladio sobre alúmina, paladio sobre óxido de titanio, platino sobre carbón, platino sobre alúmina, platino sobre sílice, iridio sobre sílice, iridio sobre carbón, iridio sobre alúmina, rodio sobre carbón, rodio sobre sílice, rodio sobre alúmina, níquel sobre carbón, níquel sobre alúmina, níquel sobre sílice, renio sobre carbón, renio sobre sílice, renio sobre alúmina, rutenio sobre carbón, rutenio sobre alúmina y rutenio sobre sílice.

10 Combinaciones preferidas adicionales de catalizador metálico y soporte incluyen rutenio sobre carbón, rutenio sobre alúmina, paladio sobre carbón, paladio sobre alúmina, paladio sobre óxido de titanio, platino sobre carbón, platino sobre alúmina, rodio sobre carbón y rodio sobre alúmina.

15 Normalmente, las reacciones de hidrogenación se llevan a cabo a temperaturas de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 500 °C en reactores mantenidos a presiones de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 MPa.

20 El método de uso del catalizador para hidrogenar una alimentación que contiene AA o MAA puede realizarse mediante diversos modos de funcionamiento generalmente conocidos en la técnica. Por lo tanto, el proceso de hidrogenación global puede realizarse con un reactor de lecho fijo, diversos tipos de reactores trifásicos con sólidos en suspensión, agitados por gas o mecánicamente, o similares. El proceso de hidrogenación puede hacerse funcionar en modo discontinuo o continuo, en el que una fase líquida acuosa que contiene el precursor a hidrogenar está en contacto con una fase gaseosa que contiene hidrógeno a presión elevada y el catalizador sólido particulado.

25 La temperatura, el disolvente, el catalizador, la configuración del reactor, la presión y la velocidad de mezcla son todos parámetros que afectan a la conversión y la selectividad. Las relaciones entre estos parámetros pueden ajustarse para efectuar la conversión, velocidad de reacción y selectividad deseadas en la reacción del proceso.

30 Una temperatura preferida puede ser de aproximadamente 25 °C a 500 °C, más preferentemente de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 400 °C, y de la forma más preferida de aproximadamente 150 °C a 400 °C. La presión puede ser preferentemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 40 MPa.

35 Los procesos y/o la conversión pueden llevarse a cabo en modo discontinuo, discontinuo secuencial (es decir, una serie de reactores discontinuos) o continuo en cualquiera del equipo empleado de forma habitual para procesos continuos. El agua condensada formada como el producto de la reacción se elimina mediante métodos de separación empleados de forma habitual para dichas separaciones.

40 Es posible convertir CL en poliamidas tales como Nylon 6, tal como se muestra en la figura 3. Un proceso para dicha conversión se desvela en el documento JP 2008/144075. El proceso comprende polimerizar una composición de materia prima que contiene al menos CL y agua. La composición de materia prima contiene a continuación, como agente de recubrimiento, uno cualquiera seleccionado entre las tres combinaciones que consisten en (a) al menos un tipo de compuesto de ácido monocarboxílico y al menos un tipo de compuesto de monoamina primaria o secundaria, (b) al menos un tipo de compuesto de ácido monocarboxílico y al menos un tipo de compuesto de diamina primaria o compuesto de diamina secundaria y (c) al menos un tipo de compuesto de ácido dicarboxílico and al menos un tipo de compuesto de monoamina primaria o compuesto de diamina secundaria. Puede aplicarse calor a la composición de materia prima a una temperatura de al menos aproximadamente 240 °C para iniciar la polimerización.

50 Ejemplos

Los procesos de los inventores se ilustran mediante los siguientes ejemplos representativos no limitantes.

55 Se cree que el uso de una solución de DAA sintética es un buen modelo para el comportamiento de un caldo real en los procesos de los inventores debido a la solubilidad de los subproductos de fermentación típicos descubiertos en el caldo real. Los subproductos principales producidos durante la fermentación son acetato de amonio, lactato de amonio y formiato de amonio. El acetato de amonio, el lactato de amonio y el formiato de amonio son significativamente más solubles en agua que el AA, y cada uno está normalmente presente en el caldo a menos del 10 % de la concentración de DAA. Además, incluso cuando los ácidos (ácidos acético, fórmico y láctico) se formaron durante la etapa de destilación, son miscibles con agua y no cristalizarán a partir del agua. Esto significa que el AA alcanza saturación y cristaliza a partir de solución (es decir, formando la parte sólida), dejando las impurezas de 60 ácidos disueltas en las aguas madres (es decir, la parte líquida).

Ejemplo 1

Este ejemplo muestra la conversión de DAA en MAA.

- 5 Un matraz de fondo redondo de 1 l se cargó con 800 g de una solución de DAA sintético al 4,5 %. El matraz estaba equipado con una sección Oldershaw de cinco bandejas que estaba coronada con un cabezal de destilación. El destilado se recogió en un receptor enfriado con hielo. El contenido del matraz se calentó con un manto calefactor y se agitó con un agitador magnético. Se inició la destilación y se recogieron 719,7 g de destilado. La valoración del destilado reveló que era una solución de amoniaco al 0,29 % (es decir una conversión de aproximadamente el 61 % de DAA a MAA). El residuo caliente (76 g) se descargó del matraz y se colocó en un matraz Erlenmeyer y se enfrió lentamente a temperatura ambiente mientras se agitó durante una semana. El contenido se enfrió a continuación a 15 °C durante 60 minutos y a continuación se enfrió a 10 °C durante 60 minutos y finalmente 5 °C durante 60 minutos mientras se agitaba. Los sólidos se filtraron y se secaron en un horno de vacío durante 2 hora a 75° produciendo 16,2 g. El análisis de los sólidos para el contenido de amoniaco mediante electrodo de amoniaco indicó que era aproximadamente una relación molar 1:1 de amoniaco y AA.

Ejemplo 2

Este ejemplo muestra la conversión de MAA en AA.

- 20 Un autoclave Parr de 300 ml se cargó con 80 g de MAA sintético y 124 g de agua. El autoclave se selló y el contenido se agitó y se calentó a aproximadamente 200 °C (la presión autógena fue de aproximadamente 203 psig). Una vez que el contenido alcanzó temperatura, a continuación se introdujo agua en el autoclave a una velocidad de aproximadamente 2 g/min y se eliminó vapor del autoclave a una velocidad de aproximadamente 2 g/min por medio de un regulador de contrapresión. El vapor que sale del autoclave se condensó y se recogió en un receptor. El autoclave se hizo funcionar en estas condiciones hasta que se había introducido un total de 1210 g de agua y se habían recogido un total de 1185 g de destilado. El contenido del autoclave (209 g) se enfriaron parcialmente y se descargaron del reactor. A la suspensión acuosa espesa se le permitió reposar agitando a temperatura ambiente durante una noche en un matraz Erlenmeyer. La suspensión acuosa espesa se filtró a continuación y los sólidos se aclararon con 25 g de agua. Los sólidos húmedos se secaron en un horno de vacío a 75 °C durante 1 h produciendo 59 g de producto AA. El análisis mediante un electrodo de ion amonio reveló 0,015 mmoles de ion amonio/g de sólido. El punto de fusión del sólido recuperado fue de 151 a 154 °C.

Ejemplo 3

Este ejemplo muestra la conversión de DAA en MAA en presencia de un disolvente.

- 35 Un matraz se cargó con 36,8 g de agua destilada y 19,7 g de hidróxido de amonio concentrado. A continuación se añadieron lentamente 23,5 g de ácido adipico. La mezcla se agitó formando una solución transparente que a continuación se colocó en un matraz de fondo redondo de 500 ml que contenía una barra agitadora. A continuación se añadió triglima (80 g) al matraz. El matraz se equipó a continuación con una sección de columna Oldershaw de 1" de 5 bandejas que se coronó con un cabezal de destilación. El cabezal de destilación se equipó con un receptor enfriador con baño de hielo. El matraz de destilación también se equipó con un embudo de adición que contenía 150 g de agua destilada. El contenido se agitó a continuación y se calentó con un manto calefactor. Cuando empezó a aparecer destilado, el agua en el embudo de adición se añadió gota a gota al matraz a la misma velocidad que a la que se retiraba el destilado. La destilación se detuvo cuando toda el agua en el embudo de adición se había añadido. Se había recogido un total de 158 g de destilado. La valoración del destilado reveló un contenido de amoniaco del 1,6 %. Esto es equivalente al 46 % del amoniaco cargado. En otras palabras, el residuo es una mezcla 91/9 de adipato de monoamonio/adipato de diamonio. Después de enfriar temperatura ambiente, el residuo se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se enfrió lentamente a 5 °C mientras se agitaba. La suspensión acuosa espesa se filtró y los cristales húmedos se secaron a continuación en un horno de vacío durante 2 horas produciendo 5,5 g de sólidos. El análisis de los sólidos indicó esencialmente una relación de uno a uno de ion amonio con respecto a ion adipato (es decir adipato de monoamonio).

Ejemplo 4

Este ejemplo muestra la conversión de MAA en AA en presencia de un disolvente.

- 60 Un matraz se cargó con 46,7 g de agua destilada y 9,9 g de hidróxido de amonio concentrado. A continuación se añadieron lentamente 23,5 g de ácido adipico. La mezcla se agitó formando una solución transparente que a continuación se colocó en un matraz de fondo redondo de 500 ml que contenía una barra agitadora. A continuación se añadió triglima (80 g) al matraz. El matraz se equipó a continuación con una sección de columna Oldershaw de 1" de 5 bandejas que se coronó con un cabezal de destilación. El cabezal de destilación se equipó con un receptor enfriador con baño de hielo. El matraz de destilación también se equipó con un embudo de adición que contenía 1800 g de agua destilada. El contenido se agitó a continuación y se calentó con un manto calefactor. Cuando empezó a aparecer destilado, el agua en el embudo de adición se añadió gota a gota al matraz a la misma velocidad

que a la que se retiraba el destilado. La destilación se detuvo cuando toda el agua en el embudo de adición se había añadido. Se había recogido un total de 1806,2 g de destilado. La valoración del destilado reveló un contenido de amoníaco del 0,11 %. Esto es equivalente al 72 % del amoníaco cargado. En otras palabras el residuo es una mezcla 72/28 de ácido adípico/adipato de monoamonio. El residuo se colocó a continuación en un matraz Erlenmeyer y se enfrió a 0 °C mientras se agitaba y se le permitió reposar durante 1 h. La suspensión acuosa espesa se filtró produciendo 18,8 g de una torta húmeda y 114,3 g de aguas madres. Los sólidos se secaron a continuación al vacío a 80 °C durante 2 h produciendo 13,5 g de sólidos. Los sólidos se disolvieron a continuación en 114 g de agua caliente y a continuación se enfriaron a 5 °C y se mantuvieron en agitación durante 45 minutos. La suspensión acuosa espesa se filtró produciendo 13,5 g de sólidos húmedos y 109,2 g de aguas madres. Los sólidos se secaron al vacío a 80 °C durante 2 h dando 11,7 g de sólidos secos. El análisis de los sólidos reveló un contenido de ion amonio de 0,0117 mmol/g (es decir ácido adípico esencialmente puro).

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> BIOAMBER S.A.S.
- <120> PROCESOS PARA PRODUCIR CAPROLACTAMA Y DERIVADOS DE LA MISMA A PARTIR DE CALDOS DE FERMENTACIÓN QUE CONTIENEN ADIPATO DE DIAMONIO O ADIPATO DE MONOAMONIO
- 20 <130> DNP-10-1064WO
- <140>
- <141>
- 25 <150> 61/355.197
- <151> 16-06-2010
- <160> 2
- 30 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 1644
- <212> ADN
- 35 <213> *Acinetobacter* sp.
- <400> 1

ES 2 613 502 T3

atggagatta tcatgtcaca aaaaatggat tttgatgcta tcgtgattgg tgggtggttt 60
ggcggacttt atgcagtcaa aaaattaaga gacgagctcg aacttaaggt tcaggctttt 120
gataaagcca cggatgtcgc aggtacttgg tactggaacc gttaccaggg tgcattgtcg 180
gatacagaaa cccacctcta ctgctattct tgggataaag aattactaca atcgcctagaa 240
atcaagaaaa aatatgtgca aggcctgat gtacgcaagt atttacagca agtggctgaa 300
aagcatgatt taaagaagag ctatcaattc aataccgagg ttcaatcggc tcattacaac 360
gaagcagatg ccttgtggga agtcaccact gaatatggtg ataagtacac ggcgcgtttc 420
ctcatcaactg ctttaggctt attgtctgcg cctaacttgc caaacatcaa aggcattaat 480
cagtttaaag gtgagctgca tcataccagc cgctggccag atgacgtaag ttttgaaggt 540
aaacgtgtcg gcgtgattgg tacgggttcc accgggtgtc aggttattac ggctgtggca 600
cctctggcta aacacctcac tgtcttccag cgttctgcac aatacagcgt tccaattggc 660
aatgatccac tgtctgaaga agatgttaaa aagatcaaag acaattatga caaaatttgg 720
gatggtgtat ggaattcagc ccttgccctt ggccctgaatg aaagcacagt gccagcaatg 780
agcgtatcag ctgaagaacg caaggcagtt tttgaaaagg catggcaaac aggtggcgggt 840
ttccgtttca tgtttgaaac tttcgggtgat attgccacca atatggaagc caatatcgaa 900
gcgcaaaatt tcattaaggg taaaattgct gaaatcgta aagatccagc cattgcacag 960
aagcttatgc cacaggattt gtatgcaaaa cgtccgttgt gtgacagtgg ttactacaac 1020
acctttaacc gtgacaatgt ccgtttagaa gatgtgaaag ccaatccgat tgttgaat 1080
accgaaaacg gtgtgaaact cgaaaatggc gatttcggtg aattagacat gctgatatgt 1140
gccacagggt ttgatgccgt cgatggcaac tatgtgcgca tggacattca aggtaaaaac 1200
ggcttggcca tgaaagacta ctggaaagaa ggtccgctga gctatatggg tgcaccgta 1260
aataactatc caaacatggt catggtgctt ggaccgaatg gcccgtttac caacctgccg 1320
ccatcaattg aatcacagggt ggaatggatc agtgatacca ttcaatacac ggttgaat 1380
aatgttgaat ccattgaagc gacaaaagaa gcggaagaac aatggactca aacttgcgcc 1440
aatattgcgg aatgacctt attccctaaa gcgcaatcct ggatttttgg tgcgaatatc 1500
ccgggcaaga aaaacacggg ttacttctat ctcggtggtt taaaagaata tcgcagtccg 1560
ctageccaact gcaaaaacca tgcctatgaa ggttttgata ttcaattaca acgttcagat 1620
atcaagcaac ctgccaatgc ctaa 1644

<210> 2
<211> 547
<212> PRT
<213> *Acinetobacter* sp.

<400> 2

5

10

ES 2 613 502 T3

Met Glu Ile Ile Met Ser Gln Lys Met Asp Phe Asp Ala Ile Val Ile
1 5 10 15

Gly Gly Gly Phe Gly Gly Leu Tyr Ala Val Lys Lys Leu Arg Asp Glu
20 25 30

Leu Glu Leu Lys Val Gln Ala Phe Asp Lys Ala Thr Asp Val Ala Gly
35 40 45

Thr Trp Tyr Trp Asn Arg Tyr Pro Gly Ala Leu Ser Asp Thr Glu Thr
50 55 60

His Leu Tyr Cys Tyr Ser Trp Asp Lys Glu Leu Leu Gln Ser Leu Glu
65 70 75 80

Ile Lys Lys Lys Tyr Val Gln Gly Pro Asp Val Arg Lys Tyr Leu Gln
85 90 95

Gln Val Ala Glu Lys His Asp Leu Lys Lys Ser Tyr Gln Phe Asn Thr
100 105 110

Ala Val Gln Ser Ala His Tyr Asn Glu Ala Asp Ala Leu Trp Glu Val
115 120 125

Thr Thr Glu Tyr Gly Asp Lys Tyr Thr Ala Arg Phe Leu Ile Thr Ala
130 135 140

Leu Gly Leu Leu Ser Ala Pro Asn Leu Pro Asn Ile Lys Gly Ile Asn
145 150 155 160

Gln Phe Lys Gly Glu Leu His His Thr Ser Arg Trp Pro Asp Asp Val
165 170 175

Ser Phe Glu Gly Lys Arg Val Gly Val Ile Gly Thr Gly Ser Thr Gly
180 185 190

ES 2 613 502 T3

Val Gln Val Ile Thr Ala Val Ala Pro Leu Ala Lys His Leu Thr Val
 195 200 205
 Phe Gln Arg Ser Ala Gln Tyr Ser Val Pro Ile Gly Asn Asp Pro Leu
 210 215 220
 Ser Glu Glu Asp Val Lys Lys Ile Lys Asp Asn Tyr Asp Lys Ile Trp
 225 230 235 240
 Asp Gly Val Trp Asn Ser Ala Leu Ala Phe Gly Leu Asn Glu Ser Thr
 245 250 255
 Val Pro Ala Met Ser Val Ser Ala Glu Glu Arg Lys Ala Val Phe Glu
 260 265 270
 Lys Ala Trp Gln Thr Gly Gly Gly Phe Arg Phe Met Phe Glu Thr Phe
 275 280 285
 Gly Asp Ile Ala Thr Asn Met Glu Ala Asn Ile Glu Ala Gln Asn Phe
 290 295 300
 Ile Lys Gly Lys Ile Ala Glu Ile Val Lys Asp Pro Ala Ile Ala Gln
 305 310 315 320
 Lys Leu Met Pro Gln Asp Leu Tyr Ala Lys Arg Pro Leu Cys Asp Ser
 325 330 335
 Gly Tyr Tyr Asn Thr Phe Asn Arg Asp Asn Val Arg Leu Glu Asp Val
 340 345 350
 Lys Ala Asn Pro Ile Val Glu Ile Thr Glu Asn Gly Val Lys Leu Glu
 355 360 365
 Asn Gly Asp Phe Val Glu Leu Asp Met Leu Ile Cys Ala Thr Gly Phe
 370 375 380
 Asp Ala Val Asp Gly Asn Tyr Val Arg Met Asp Ile Gln Gly Lys Asn
 385 390 395 400
 Gly Leu Ala Met Lys Asp Tyr Trp Lys Glu Gly Pro Ser Ser Tyr Met
 405 410 415
 Gly Val Thr Val Asn Asn Tyr Pro Asn Met Phe Met Val Leu Gly Pro
 420 425 430
 Asn Gly Pro Phe Thr Asn Leu Pro Pro Ser Ile Glu Ser Gln Val Glu
 435 440 445
 Trp Ile Ser Asp Thr Ile Gln Tyr Thr Val Glu Asn Asn Val Glu Ser
 450 455 460

ES 2 613 502 T3

Ile Glu Ala Thr Lys Glu Ala Glu Glu Gln Trp Thr Gln Thr Cys Ala
465 470 475 480

Asn Ile Ala Glu Met Thr Leu Phe Pro Lys Ala Gln Ser Trp Ile Phe
485 490 495

Gly Ala Asn Ile Pro Gly Lys Lys Asn Thr Val Tyr Phe Tyr Leu Gly
500 505 510

Gly Leu Lys Glu Tyr Arg Ser Ala Leu Ala Asn Cys Lys Asn His Ala
515 520 525

Tyr Glu Gly Phe Asp Ile Gln Leu Gln Arg Ser Asp Ile Lys Gln Pro
530 535 540

Ala Asn Ala
545

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para producir caprolactama a partir de un caldo de fermentación que contiene adipato de diamonio o caldo de fermentación que contiene adipato de monoamonio clarificados, que comprende:
- 5 (a) destilar el caldo a presión superatmosférica a una temperatura de >100 °C a 300 °C para formar una fracción de cabeza que comprende agua y amoniaco, y una fracción pesada que comprende ácido adípico y al menos el 20 % en peso de agua;
- 10 (b) refrigerar y/o evaporar la fracción pesada para alcanzar una temperatura y composición suficientes para hacer que la fracción pesada se separe en una parte líquida y una parte sólida que es ácido adípico sustancialmente puro;
- (c) separar la parte sólida de la parte líquida; y
- (d) poner en contacto al menos una parte de la parte sólida con hidrógeno, opcionalmente en presencia de un disolvente, en presencia de un catalizador de hidrogenación y una fuente de amoniaco, a una temperatura de 25 °C a 500 °C y una presión de 0,5 a 40 MPa para producir la caprolactama.
- 15 2. Un proceso para producir caprolactama a partir de un caldo de fermentación que contiene adipato de diamonio o caldo de fermentación que contiene adipato de monoamonio clarificados, que comprende:
- 20 (a) añadir al caldo un disolvente de separación de amoniaco y/o un disolvente que forma un azeótropo con agua;
- (b) destilar el caldo a una temperatura y una presión suficientes para formar una fracción de cabeza que comprende agua y amoniaco, y una fracción pesada que comprende ácido adípico y al menos el 20 % en peso de agua;
- 25 (c) refrigerar y/o evaporar la fracción pesada para alcanzar una temperatura y composición suficientes para hacer que la fracción pesada se separe en una parte líquida y una parte sólida que es ácido adípico sustancialmente puro;
- (d) separar la parte sólida de la parte líquida; y
- (e) poner en contacto al menos una parte de la parte sólida con hidrógeno, opcionalmente en presencia de un disolvente, en presencia de un catalizador de hidrogenación y una fuente de amoniaco, a una temperatura de 25 °C a 500 °C y una presión de 0,5 a 40 MPa para producir la caprolactama.
- 30 3. El proceso de las reivindicaciones 1 o 2, en el que producir la caprolactama comprende deshidratar al menos parte de la parte sólida en presencia de una fuente de amoniaco para producir una amida de ácido adípico, seguida por hidrogenación de la amida para formar caprolactama.
- 35 4. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además convertir la caprolactama en NYLON 6.
- 40 5. El proceso de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el caldo de fermentación se obtiene fermentando una fuente de carbono en presencia de un microorganismo seleccionado entre el grupo que consiste en *Candida tropicalis* (Castellani) Berkhout, cepa anamorfa OH23 que tiene el número de acceso ATCC 24887; la cepa de *E. coli* AB2834/pKD136/pKD8.243A/pKD8.292 que tiene el número de acceso ATCC 69875; el clon de cósmido de *E. coli* 5B12 que comprende un vector que expresa la ciclohexanona monoxigenasa codificada por la SEQ ID NO: 1, el clon de cósmido de *E. coli* 5F5 que comprende un vector que expresa la ciclohexanona monoxigenasa codificada por la SEQ ID NO: 1; el clon de cósmido de *E. coli* 8F6 que comprende un vector que expresa la ciclohexanona monoxigenasa codificada por la SEQ ID NO: 1; el clon de cósmido de *E. coli* 14D7 que comprende un vector que expresa la ciclohexanona monoxigenasa codificada por la SEQ ID NO: 1.
- 45 6. El proceso de la reivindicación 2, en el que la destilación del caldo se lleva a cabo en presencia de un disolvente de separación de amoniaco que es al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en diglima, triglima, tetraglima, sulfóxidos, amidas, sulfonas, polietilenglicol (PEG), butoxitriglicol, N-metilpirrolidona (NMP), éteres, y metil etil cetona (MEK) o en presencia de un disolvente que forma un azeótropo con agua que es al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en tolueno, xileno, metilciclohexano, metil isobutil cetona, hexano, ciclohexano y heptano.
- 50 55

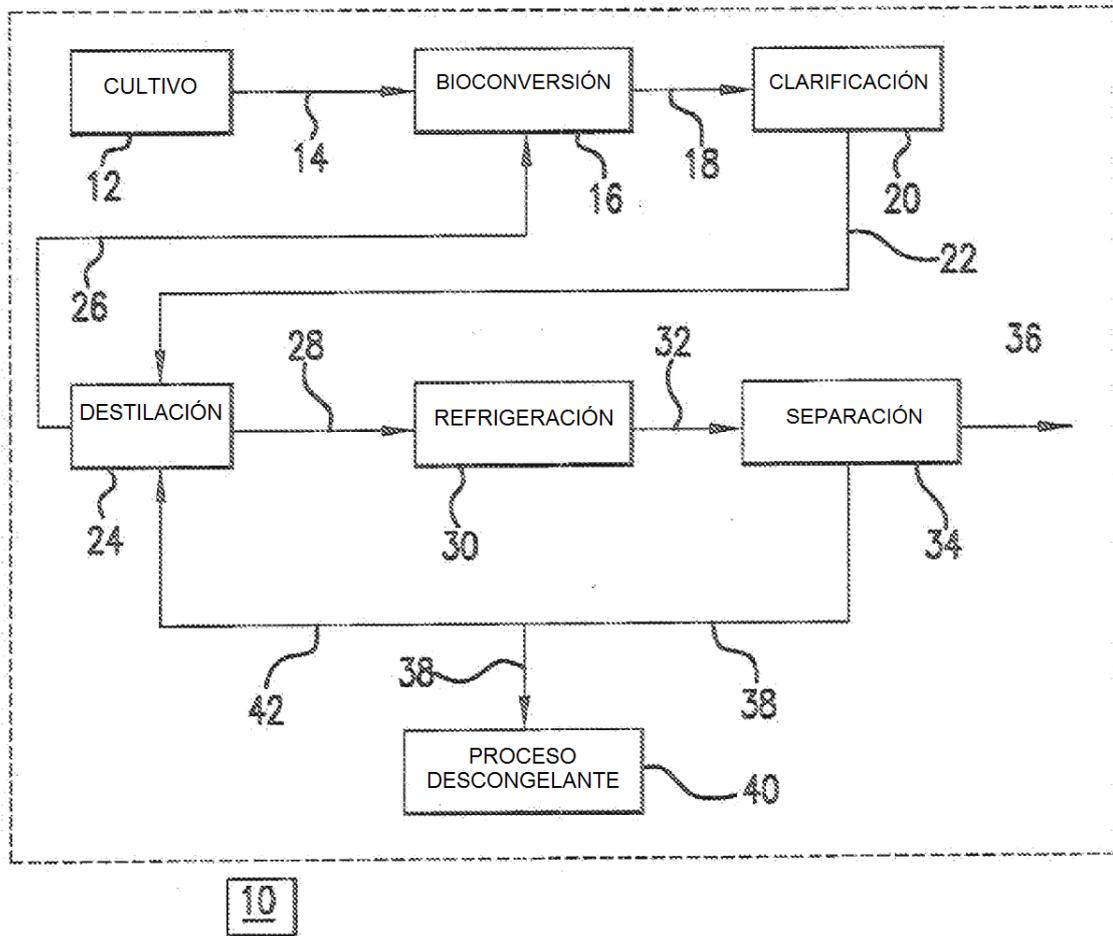


FIG.1

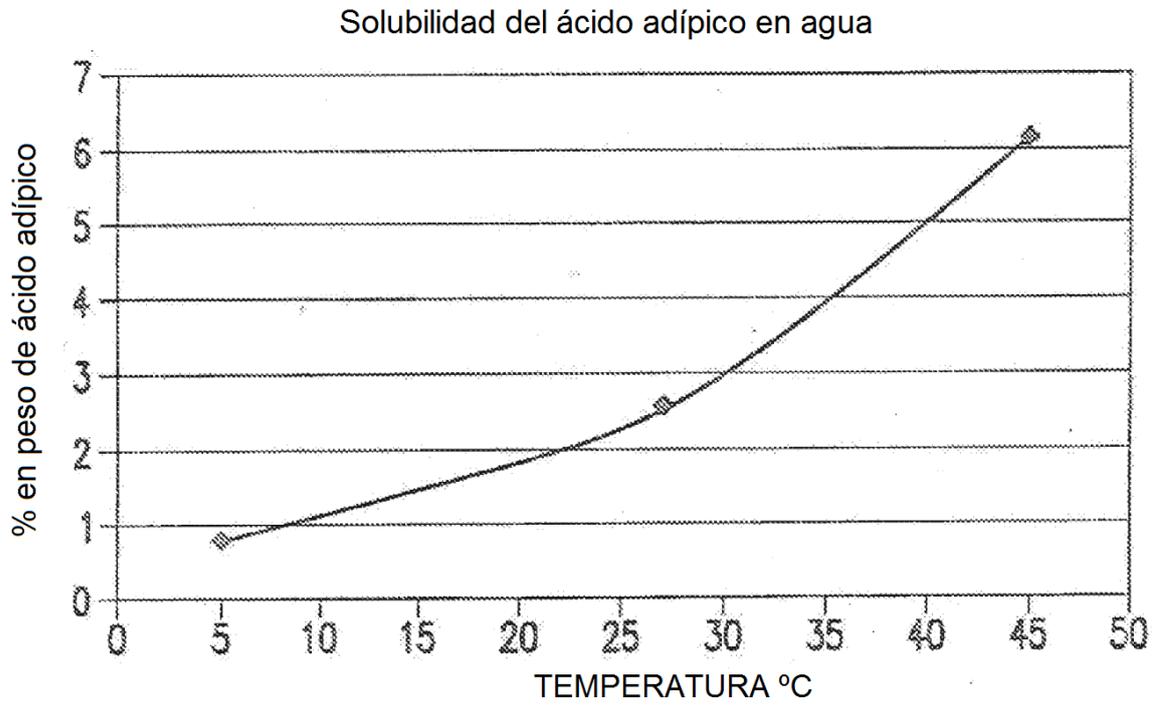


FIG.2

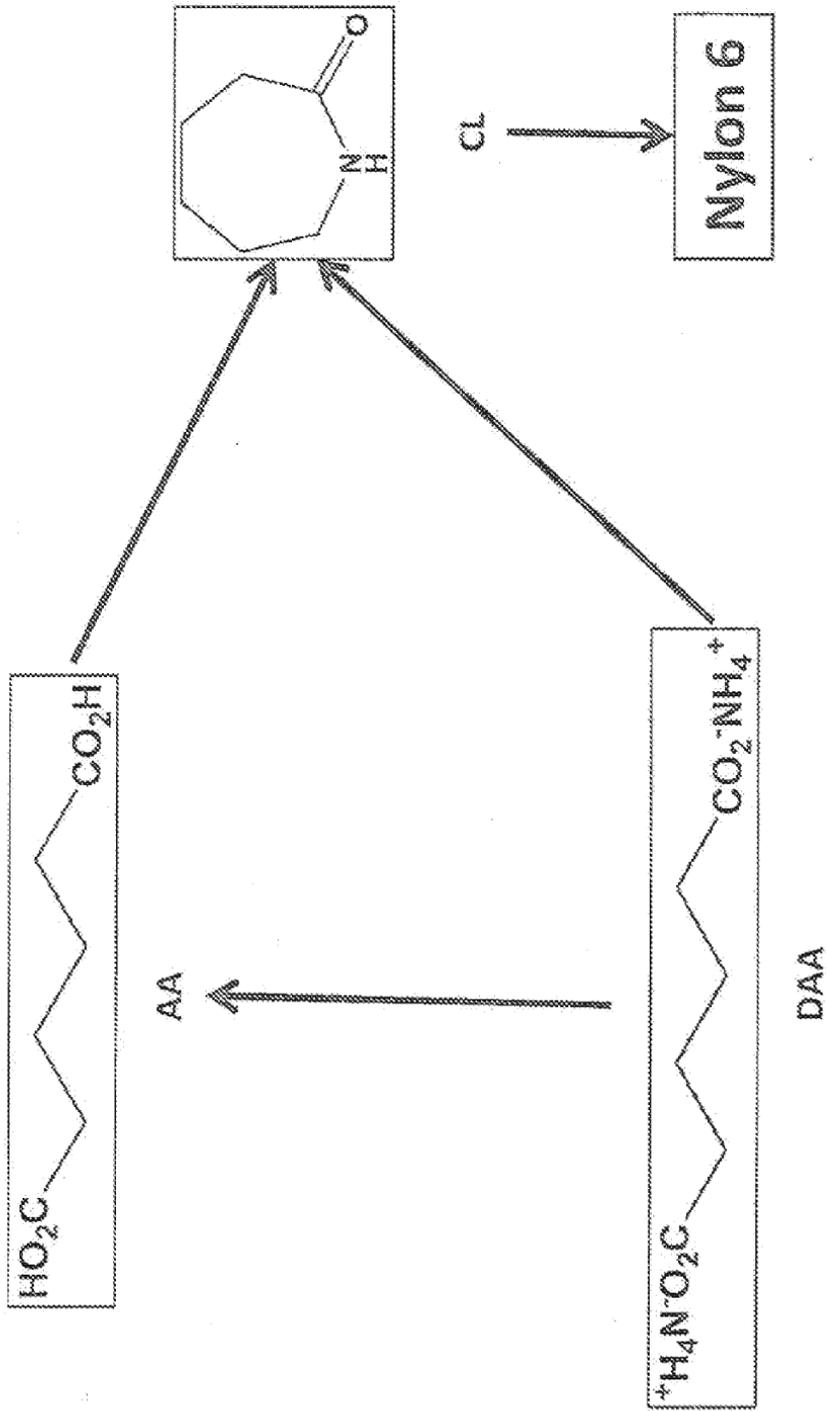


FIG. 3