

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 619 848**

51 Int. Cl.:

**C12P 13/08** (2006.01)

**C12N 1/21** (2006.01)

**C12N 1/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.11.2007 PCT/KR2007/006024**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.06.2008 WO08066307**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.11.2007 E 07834319 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2084291**

54 Título: **Procedimiento de recuperación de L-treonina de caldo de fermentación de L-treonina usando un agente no disolvente**

30 Prioridad:

**27.11.2006 KR 20060117947**

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

**27.06.2017**

73 Titular/es:

**CJ CHEILJEDANG CORPORATION (100.0%)  
500 NAMDAEMUNRO 5-GA  
JUNG-GU, SEOUL 100-749, KR**

72 Inventor/es:

**CHO, GYU-NAM;  
CHOI, WON-SEOP;  
SEO, YONG-BUM;  
HAN, SEUNG-WOO;  
KIM, YOO-SHIN;  
SHIN, MOUNG-KI;  
PARK, HEE-SUNG y  
HONG, SOON-WON**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 619 848 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

Procedimiento de recuperación de L-treonina de caldo de fermentación de L-treonina usando un agente no disolvente

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de recuperación de L-treonina desde el caldo de fermentación de un microorganismo productor de L-treonina usando un agente no disolvente y, más particularmente, a un procedimiento de recuperación de L-treonina cristalina usando un procedimiento de anegación en el que el caldo de fermentación de un microorganismo productor de L-treonina se filtra y el filtrado se concentra y se hace reaccionar con un agente no disolvente para cristalizar L-treonina, a L-treonina cristalina recuperada usando el procedimiento y a un aditivo de piensos que contiene la L-treonina cristalina.

**Antecedentes de la técnica**

La L-treonina, que es un aminoácido esencial, se usa principalmente en formulaciones completas de aminoácidos, suplementos nutricionales y similares. Recientemente, se ha usado L-treonina como aditivo para pienso para animales junto con L-lisina y, por tanto, ha aumentado la demanda de L-treonina.

15 La L-treonina se produce principalmente por fermentación y concentración-cristalización. Es decir, los cuerpos microbianos se retiran del caldo de fermentación de microorganismos productores de L-treonina por filtración o separación centrífuga, el pH del filtrado obtenido se ajusta, y después el filtrado de pH ajustado se concentra con disolvente que se retira para recuperar la L-treonina cristalina en forma de una aguja.

20 Sin embargo, cuando se usa el procedimiento concentración-cristalización, el rendimiento de recuperación de L-treonina cristalina es bajo. En el procedimiento de concentración-cristalización, para mantener la eficacia de separación de la pasta cristalina concentrada y la calidad del producto, una solución o caldo que contiene L-treonina se concentra hasta el intervalo del 50 al 70 % de L-treonina. Como la cristalización se realiza calentando el filtrado de un caldo de fermentación que contiene L-treonina para evaporar un disolvente, la cristalización transcurre a una alta temperatura, y una gran cantidad de L-treonina se disuelve en el filtrado, es decir, la solución madre consiguiente. Por tanto, cuando la pasta cristalina se separa usando un separador, una cantidad relativamente grande de L-treonina permanece en la solución madre y, por tanto, su recuperación es imposible.

25 Además, la forma de aguja de la L-treonina cristalina, generada en el procedimiento de concentración-cristalización, crea una gran desventaja. En ausencia de aditivos o agentes no disolventes, la forma cristalina de L-treonina es delgada, larga y con forma de aguja. Por lo tanto, la L-treonina cristalina formada en el procedimiento de concentración-cristalización está en forma de aguja delgada, con una longitud de aproximadamente 50 a 250 µm. Se produce aglomeración en la pasta cristalina entre los cristales de L-treonina en forma de aguja y, de ese modo, la viscosidad de la pasta cristalina aumenta, provocando una reducción en la eficacia de separación cuando se separan los cristales. Si se disminuye la eficacia de separación, se disminuye la productividad de L-treonina y permanecen impurezas en los productos de L-treonina y, por tanto, se degrada la calidad del producto. Los cristales de L-treonina en forma de aguja también reducen la capacidad de flujo del producto y, por tanto, esto causa un montón de inconvenientes cuando los consumidores usan el producto. Generalmente, los consumidores usan L-treonina como aditivo de pienso para animales. La L-treonina se añade al pienso para animales usando un sistema manual o automático. En este caso, una reducción en la capacidad de flujo de la L-treonina causa problemas en el uso de dicho sistema de mezcla manual o automático de pienso para animales, y esto a menudo conduce a reclamaciones de los consumidores. Además, la fuerte tendencia de los cristales de L-treonina en forma de aguja a aglomerarse conduce a conglomeración y apelmazamiento durante su almacenamiento a largo plazo y transporte. Debido a la aglomeración, los consumidores a menudo puede que tengan que procesar los productos aglomerados de L-treonina para obtener L-treonina antes de usarlos. En una era de competición global, cualquier reclamación de los consumidores y el consecuente daño a la reputación del producto puede constituir un problema tan grande como debilitar la organización de una empresa. Por tanto, la baja capacidad de flujo de los cristales de L-treonina en forma de aguja puede ejercer una seria desventaja.

30 La publicación de patente coreana n.º 2000-0013855 divulga un procedimiento de purificación de L-treonina desde un caldo de fermentación de L-treonina por recristalización. Sin embargo, este procedimiento se realiza en cuatro etapas de modo que el procedimiento es excesivamente complicado con un motón de equipo necesario. Además, se usa una torre de resina de intercambio iónico para recuperar la pérdida de solución madre y, por tanto, se usa una gran cantidad de ácido, base y agua. Además, en todas las etapas de cristalización, se usa un procedimiento de concentración-cristalización para formar los cristales de L-treonina en forma de aguja, lo que provoca una baja capacidad de flujo de los productos de L-treonina.

35 La publicación de patente coreana n.º 2000-0013854 divulga un procedimiento de purificación de L-treonina usando electrodiálisis. Este procedimiento puede reducir la cantidad de ácido, base y agua usada en comparación con un procedimiento convencional de resina de intercambio iónico. Sin embargo, como la solución de L-treonina que pasa a través de un electrodializador se concentra a presión reducida para producir un producto de L-treonina en forma de aguja, la capacidad de flujo del producto es baja. Además, en comparación con el caso de concentrar directamente

un filtrado de un caldo de fermentación microbiana, tarda más de 6 horas en pasar a través del electrodiálizador. Por tanto, la productividad del producto de L-treonina es baja.

5 Los documentos US-A-5 087 566, US-A-5 264 353 y US-A-4 427 774 divulgan procedimientos para la recuperación de L-treonina desde un caldo de fermentación que comprende, después de completarse el cultivo, filtración o centrifugación, y recuperación de L-treonina desde el filtrado resultante por combinación de tratamiento de intercambio iónico, elución, concentración del eluyente y adición de un agente no disolvente.

### **Divulgación de la invención**

#### **Problema técnico**

10 Por lo tanto, aún existe una necesidad de desarrollar un procedimiento mejorado de recuperación de L-treonina, que puede resolver los inconvenientes de los consumidores que están causados por el bajo rendimiento de recuperación de L-treonina desde caldo de fermentación, y la baja capacidad de flujo del producto de L-treonina como resultado de las formas de los cristales de L-treonina.

#### **Solución técnica**

15 La presente invención proporciona un procedimiento de recuperación de L-treonina cristalina desde el caldo de fermentación de un microorganismo productor de L-treonina por cristalización por anegación.

20 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un procedimiento de recuperación de L-treonina desde un caldo de fermentación de un microorganismo productor de L-treonina, comprendiendo el procedimiento: separar cuerpos microbianos del caldo de fermentación que contiene L-treonina que se obtiene cultivando un microorganismo productor de L-treonina y filtrando el caldo para obtener un filtrado; concentrar el filtrado; y hacer reaccionar el filtrado concentrado con un agente no disolvente para obtener cristales esféricos de L-treonina.

Los microorganismos usados en fermentación para preparar el caldo de fermentación que contiene L-treonina pueden ser cualquier microorganismo que pueda producir L-treonina.

25 Los microorganismos usados en producir L-treonina pueden ser una cepa transformada de *Escherichia coli*. La cepa transformada se cultiva en un medio inclinado para obtener un cultivo de siembra y después, usando el cultivo de siembra, se realizan el precultivo y el cultivo principal para producir finalmente el caldo de fermentación que contiene L-treonina. El caldo de fermentación producido puede contener del 5 al 15 % en peso de L-treonina.

La separación de los cuerpos microbianos desde el caldo de fermentación de un microorganismo puede realizarse por un procedimiento seleccionado del grupo que consiste en filtración, separación centrífuga y tratamiento térmico.

30 El caldo puede filtrarse por filtración en membrana y, por tanto, se separa en un filtrado y un lodo que contiene los microorganismos. La filtración en membrana se realiza para retirar los cuerpos microbianos en el caldo de fermentación. En la filtración en membrana, los cuerpos microbianos que no pasan a través de los poros de la membrana y las impurezas adicionales se retiran del caldo de fermentación y se obtiene solamente una solución que puede pasar a través de los poros de la membrana como filtrado. En el presente documento, el residuo que no puede pasar a través de los poros de la membrana y, por tanto, no se obtiene como filtrado, se menciona como lodo, y el lodo puede desecharse en un procedimiento de purificación de L-treonina.

35 Un filtro de membrana usado en la filtración en membrana puede ser cualquier filtro que pueda separar los cuerpos microbianos del caldo de fermentación. Las condiciones de funcionamiento del filtro de membrana pueden establecerse fácilmente por los expertos en la materia para separar los cuerpos microbianos del caldo de fermentación. Por ejemplo, el caldo de fermentación puede calentarse hasta aproximadamente 60 °C con antelación a una presión transmembrana (TMP) de 1,2 a 1,5. La TMP se refiere a un valor que representa la intensidad de la presión que se aplica en una dirección horizontal contra una solución que fluye en una dirección vertical, e indica la presión dada al filtro de membrana por la solución en el filtro de membrana. El tamaño de los poros del filtro de membrana usado puede seleccionarse fácilmente por los expertos en la materia.

45 De acuerdo con una realización de la presente invención, puede formarse una capa de gel en aproximadamente 1 hora después de comenzar la filtración en membrana. La formación de la capa de gel es para mantener el flujo permeado del filtrado a un cierto nivel durante un largo periodo de tiempo formando una delgada capa de los cuerpos microbianos sobre una superficie de la membrana de filtración. Si no se forma una capa de gel, el flujo permeado del filtrado disminuye rápidamente y, por tanto, el filtrado puede que no se obtenga apropiadamente y el filtro de membrana debe lavarse más frecuentemente. Después de completarse la formación de la capa de gel, el filtrado se obtiene a través del filtro de membrana.

50 El filtrado obtenido a través de la filtración en membrana se concentra. El procedimiento de concentración es para reducir la carga en procedimientos posteriores disminuyendo la cantidad del filtrado, y el procedimiento de concentración también es para facilitar la formación cristalina aumentando la concentración de L-treonina en el filtrado.

El procedimiento de recuperación de L-treonina desde el caldo de fermentación de microorganismos de acuerdo con la presente invención incluye concentrar el filtrado obtenido separando los cuerpos microbianos productores de L-treonina del caldo de fermentación.

5 El procedimiento de concentración del filtrado obtenido después de separar los cuerpos microbianos puede realizarse por concentración a presión reducida. Preferentemente, la concentración a presión reducida puede realizarse en un concentrador a una temperatura de 65 a 75 °C a una presión de vacío de 90,66 a 93,32 kPa (680 a 700 mm-Hg). Las condiciones de la concentración a presión reducida pueden ajustarse dependiendo del progreso de la concentración o para ajustar la velocidad del progreso.

10 De acuerdo con una realización de la presente invención, la cantidad de sólidos totales en el filtrado puede ajustarse al intervalo del 20 al 30 % en peso por concentración.

De acuerdo con una realización de la presente invención, la cantidad de L-treonina en el filtrado concentrado puede estar en el intervalo del 5 al 25 % en peso. Preferentemente, la cantidad de L-treonina en el filtrado concentrado puede estar en el intervalo del 10 al 15 % en peso.

15 El procedimiento de recuperación de L-treonina desde el caldo de fermentación de un microorganismo de acuerdo con la presente invención incluye hacer reaccionar el filtrado concentrado con un agente no disolvente para obtener cristales de L-treonina.

20 Los cristales de L-treonina pueden obtenerse del filtrado concentrado que contiene L-treonina por cristalización por anegación usando agente no disolvente. En la cristalización por anegación, se reduce rápidamente la solubilidad de un material diana disuelto en una solución usando agente no disolvente y, por tanto, se induce fácilmente una alta supersaturación a temperatura ambiente, provocando la recuperación de los cristales del material diana con un alto rendimiento. La expresión "agente no disolvente" usada en el presente documento se refiere a un disolvente en el que el material diana no es soluble a un nivel detectable.

25 En una realización de la presente invención, el agente no disolvente puede ser al menos un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, isopropanol y mezclas de los mismos. Preferentemente, el agente no disolvente usado en la presente invención puede ser metanol.

30 La supersaturación de los cristales diana en la cristalización por anegación puede formarse por dos procedimientos. Uno es añadir una solución que contiene un material diana (por ejemplo, caldo de fermentación que contiene L-treonina filtrado y concentrado) al agente no disolvente (por ejemplo, metanol). El otro es añadir el agente no disolvente a la solución que contiene el material diana. Es decir, cuando el agente no disolvente está contenido en un cristizador, el caldo de fermentación que contiene L-treonina, a añadirse posteriormente al agente no disolvente en el cristizador, está contenido en un tanque de almacenamiento de material de partida; o, cuando el caldo de fermentación que contiene L-treonina está contenido en el cristizador, el metanol, a añadirse posteriormente al concentrado de L-treonina en el cristizador, está contenido en el tanque de almacenamiento de material de partida. Las FIG. 2A y 2B son imágenes microscópicas que muestran formas cristalinas que dependen del procedimiento de formación del estado supersaturado en la cristalización por anegación de acuerdo con una realización de la presente invención. La FIG. 2A es una imagen microscópica de un resultante de anegación obtenido añadiendo metanol como agente no disolvente a un filtrado concentrado, y la FIG. 2B es una imagen microscópica de un resultante de anegación obtenido añadiendo un filtrado concentrado a metanol como agente no disolvente. Como se ilustra en las FIG. 2A y 2B, cuando el concentrado de L-treonina contenido en el tanque de almacenamiento de material de partida se añade al metanol contenido en el cristizador a un caudal constante, que es el procedimiento usado para producir el resultante mostrado en la FIG. 2B, pueden obtenerse cristales de L-treonina más duros y más esféricos.

De acuerdo con una realización de la presente invención, la reacción del filtrado concentrado con el agente no disolvente puede realizarse añadiendo el filtrado concentrado al agente no disolvente en el cristizador.

45 De acuerdo con una realización de la presente invención, la reacción del filtrado concentrado con el agente no disolvente puede realizarse añadiendo el agente no disolvente al filtrado concentrado en el cristizador.

De acuerdo con una realización de la presente invención, el filtrado concentrado o el agente no disolvente puede añadirse al cristizador a un caudal de 1,0 a 5,0 g/min, y preferentemente de 1,0 a 3,0 g/min. Cuando el caudal es mayor de 3,0 g/min, la intensidad de los cristales resulta débil, mientras que cuando el caudal es inferior de 1,0 g/min, se forman cristales finos. Por tanto, el caudal puede mantenerse preferentemente a 1,0 hasta 3,0 g/min.

50 Usando el procedimiento descrito anteriormente, se mezcla metanol en el cristizador y el concentrado de L-treonina para producir un estado supersaturado, que provoca la formación de cristales esféricos de L-treonina. La FIG. 3 es un gráfico que muestra la nucleación cristalina y la aglomeración de L-treonina medida usando un analizador Lasentec de tamaño de partículas, para analizar el mecanismo de cristalización en la cristalización por anegación. Como se muestra en la FIG. 3, el tamaño de las partículas de los cristales crece durante el periodo de anegación, y el tamaño de las partículas de los cristales disminuye después del periodo de anegación. Por otro lado, la cantidad de partículas producidas tiende a aumentar de forma continua con el tiempo.

En la cristalización por anegación, el tanque de almacenamiento en que se pone el material diana a cristalizar o el agente no disolvente y el cristizador en el que realmente se realiza la cristalización se mantienen a una temperatura específica. La temperatura, volumen y tasa de inyección de reactivos en la cristalización por anegación afectan a la forma, tamaño y similares de las partículas cristalinas.

5 De acuerdo con una realización de la presente invención, la temperatura del filtrado concentrado que contiene L-treonina puede estar en el intervalo de 60 a 70 °C.

De acuerdo con una realización de la presente invención, la temperatura del agente no disolvente puede estar en el intervalo de 20 a 30 °C.

10 De acuerdo con una realización de la presente invención, la temperatura del filtrado concentrado que contiene L-treonina puede ser de 70 °C, y la temperatura del agente no disolvente puede ser de 20 °C.

Generalmente, cuando la temperatura del agente no disolvente se aumenta, el tamaño del cristalino esférico se aumenta. En una realización de la presente invención, cuando la cristalización se realiza añadiendo el concentrado de L-treonina a una temperatura de 70 °C a metanol de una temperatura de 20 °C, pueden obtenerse cristales grandes.

15 Además, en la cristalización por anegación, es importante la cantidad del agente no disolvente usado. Cuando la cantidad del agente no disolvente usado se reduce, se reduce el efecto de reducción de la solubilidad; por otro lado, cuando la cantidad del agente no disolvente usado es grande, aumenta el coste.

20 En una realización de la presente invención, el volumen del agente no disolvente usado puede ser de 1,0 a 3,0 veces el volumen del filtrado concentrado. En una realización de la presente invención, cuando la cantidad de metanol usado es de 1,0 a 3,0 veces el volumen del concentrado de L-treonina al 15-25%, se obtiene un rendimiento cristalino optimizado.

25 En una realización de la presente invención, cuando los cristales esféricos de L-treonina generados por la cristalización por anegación se separan usando un separador y después se secan, pueden obtenerse cristales esféricos de L-treonina que tienen un contenido de al menos el 98,5% de L-treonina con un rendimiento de recuperación de al menos el 95%.

En una realización de la presente invención, el procedimiento de recuperación de L-treonina desde el caldo de fermentación de un microorganismo usando el agente no disolvente puede incluir adicionalmente separar los cristales de L-treonina que tienen un tamaño promedio de partícula de 80 a 100 µm.

30 En una realización de la presente invención, el filtrado concentrado se hace reaccionar con el agente no disolvente para obtener L-treonina cristalina, y después el agente no disolvente se recupera de una solución madre separada y puede reutilizarse. Como se ilustra en la FIG. 1, los cristales se forman por la reacción del filtrado concentrado con el agente no disolvente y se separan, y el agente no disolvente en la solución madre que queda después de la separación se recupera por destilación y puede reutilizarse.

35 La L-treonina cristalina se recupera del caldo de fermentación de un microorganismo productor de L-treonina usando el agente no disolvente.

Puede prepararse un aditivo para piensos que contiene la L-treonina cristalina recuperada del caldo de fermentación de un microorganismo producto de L-treonina usando el agente no disolvente.

40 La L-treonina cristalina recuperada del caldo de fermentación usando el agente no disolvente es esférica a diferencia de la L-treonina cristalina recuperada usando un procedimiento de concentración convencional, siendo, por tanto, buena capacidad de flujo y alta densidad aparente. Por consiguiente, cuando la L-treonina cristalina de la presente invención se usa como aditivo para piensos, puede contribuir a una reducción en los costes de transporte.

En una realización de la presente invención, la L-treonina cristalina recuperada puede tener un contenido de al menos el 98,5%, un contenido de humedad de menos del 1% y una densidad aparente de  $930 \pm 50 \text{ kg/m}^3$ .

45 A partir de ahora en el presente documento, la presente invención se describirá más específicamente con referencia a los siguientes ejemplos. Los siguientes ejemplos son solamente con propósitos ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

### Efectos ventajosos

50 De acuerdo con el procedimiento de recuperación de cristales esféricos de L-treonina usando el agente no disolvente para reducir la solubilidad de L-treonina en una solución, los cristales pueden recuperarse reduciendo la solubilidad de la L-treonina en una solución madre a temperatura ambiente a diferencia de la cristalización por concentración realizada a alta temperatura y, por tanto, puede obtenerse un alto rendimiento de recuperación cristalina. Además, en comparación con los cristales convencionales de L-treonina con forma de aguja, los cristales esféricos de L-treonina obtenidos usando el agente no disolvente de acuerdo con la presente invención tienen

excelente capacidad de flujo, que proporciona un fácil envasado y manipulación, y una alta densidad aparente, que conduce a una reducción en los costes de transporte, y que potencia de ese modo la satisfacción de los usuarios.

### **Descripción de los dibujos**

5 Las características y ventajas anteriores y otras de la presente invención llegarán a ser más evidentes describiendo en detalle realizaciones ejemplares de las mismas con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

la FIG. 1 es un diagrama de flujo esquemático que muestra un procedimiento de recuperación de L-treonina, de acuerdo con una realización de la presente invención;

10 las FIG. 2A y 2B son imágenes microscópicas que muestran formas cristalinas que dependen del procedimiento de producción del estado supersaturado en la cristalización por anegación de acuerdo con una realización de la presente invención, en la que la FIG. 2A es una imagen microscópica de un resultante de anegación obtenido añadiendo metanol como agente no disolvente a un filtrado concentrado y la FIG. 2B es una imagen microscópica de un resultante de anegación obtenido añadiendo un filtrado concentrado a metanol como agente no disolvente; y la FIG. 3 es un gráfico que muestra el modo en el que prosigue la nucleación cristalina con el tiempo en la cristalización por anegación, que se observó usando un analizador Lasentec de tamaño de partículas.

### **Modo para la invención**

#### Recuperación de L-treonina cristalina desde caldo de fermentación que contiene L-treonina

20 Se cultivó *Escherichia coli* FTR2533 recombinante que produce L-treonina en un medio de producción (glucosa 40 g/l,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  6-9 g/l,  $\text{MgSO}_4$  4-6 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2-4 g/l,  $\text{FeSO}_4$  80-90 mg/l,  $\text{MnSO}_4$  10-13 mg/l,  $\text{CoCl}_2$  4-6 mg/l,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  1-3 mg/l,  $\text{ZnSO}_4$  1-3 mg/l y  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0,3-0,8 mg/l) a 33 °C durante 65 horas para producir un caldo de fermentación que contiene L-treonina. Se añadieron 100 l del caldo de fermentación producido por fermentación a un filtro de membrana. Después, el caldo de fermentación se filtró por el filtro de membrana y se obtuvo un filtrado que tiene un 9,5% de L-treonina y un 12,0% de sólidos totales. El filtrado se concentró a presión reducida hasta la cantidad de sólidos totales del 24,2 % en peso y después se almacenó en un tanque de almacenamiento de material de partida a una temperatura constante de 70 °C. Se puso metanol en un volumen 2,0 veces el del concentrado de L-treonina en un cristalizador. Después, aunque el concentrado de L-treonina en el tanque de almacenamiento de material de partida se añadió al cristalizador a una tasa de 2,0 g/min, el metanol y el concentrado de L-treonina se hicieron reaccionar en el cristalizador; el concentrado de L-treonina y el metanol se mezclaron completamente usando un agitador a 300 rpm. Después de añadirse la cantidad total del concentrado de L-treonina al cristalizador, la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos. Después, se separó una pasta cristalina usando un separador. El cristalino separado se secó en una secadora a una temperatura de 60 °C durante 2 horas para obtener cristales de L-treonina que tenían un contenido del 98,5% con un rendimiento de recuperación del 96%. En el presente documento, el producto de L-treonina tenía una densidad aparente de 953,3 kg/m<sup>3</sup>, un contenido de humedad del 0,4% y un contenido de material inorgánico del 0,3%.

35 Aunque la presente invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencia a realizaciones ejemplares de la misma, los expertos en la materia entenderán que pueden hacerse diversos cambios en la forma y los detalles. Se apreciará que la invención puede modificarse dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento de recuperación de L-treonina de un caldo de fermentación de un microorganismo productor de L-treonina, que comprende:
- 5        separar los cuerpos microbianos del caldo de fermentación que contiene L-treonina obtenido cultivando los microorganismos productores de L-treonina y filtrando el caldo de fermentación separado para obtener un filtrado;  
      concentrar el filtrado; y  
      hacer reaccionar el filtrado concentrado con un agente no disolvente para obtener cristales esféricos de L-treonina.
- 10      2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la reacción del filtrado concentrado con un agente no disolvente se realiza añadiendo el filtrado concentrado al agente no disolvente contenido en un cristalizador o añadiendo el agente no disolvente al filtrado concentrado contenido en un cristalizador.
3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente no disolvente se selecciona del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, isopropanol y mezclas de los mismos.
- 15      4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el volumen del agente no disolvente usado es de 1,0 a 3,0 veces el volumen del filtrado concentrado.
5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que una temperatura del filtrado concentrado está en el intervalo de 60 a 70 °C.
- 20      6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que una temperatura del agente no disolvente está en el intervalo de 20 a 30 °C.

FIG. 1

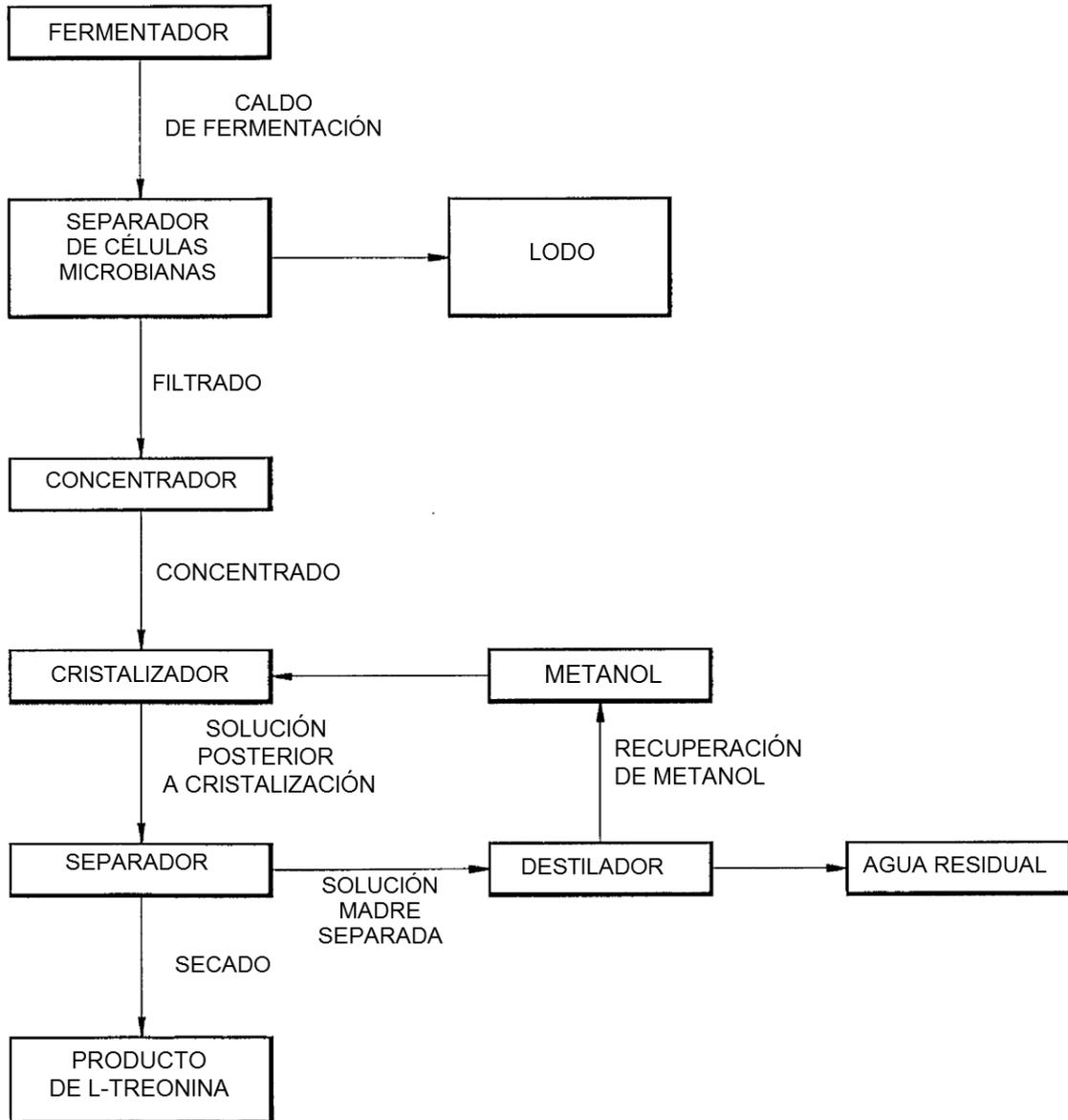


FIG. 2

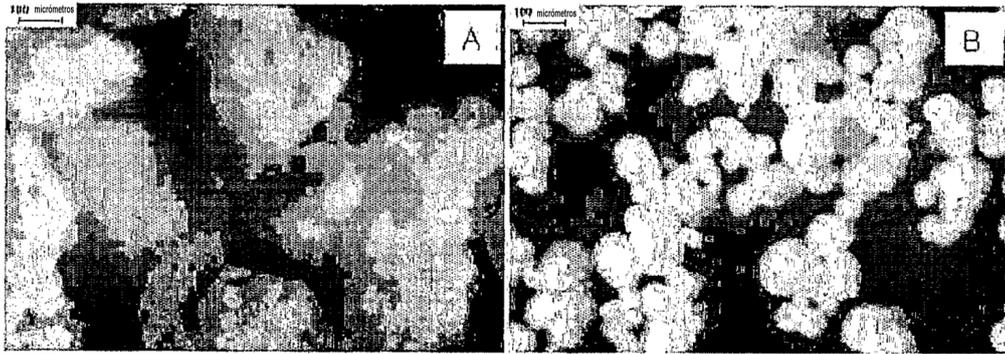


FIG. 3

