

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 769**

51 Int. Cl.:

C07C 209/84 (2006.01)

C07C 209/86 (2006.01)

C07C 211/09 (2006.01)

C12P 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.08.2012 PCT/KR2012/006761**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.02.2013 WO13028030**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2012 E 12825496 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.05.2017 EP 2749649**

54 Título: **Procedimiento de separación y purificación de 1,4-diaminobutano de una solución fermentada**

30 Prioridad:

24.08.2011 KR 20110084728

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

17.10.2017

73 Titular/es:

**CJ CHEILJEDANG CORPORATION (100.0%)
Dongho-ro 330 Ssangnim-dong Jung-gu
Seoul 100-400, KR**

72 Inventor/es:

**GWAK, WON SIK;
HONG, SOON WON;
SHIN, SOO AN y
LEE, HAN WON**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 637 769 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 separación y purificación de 1,4-diaminobutano de una solución fermentada

Campo de la técnica

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano de alta pureza y alto rendimiento a partir de una solución fermentada.

Técnica anterior

10 1,4-diaminobutano (también conocido como putrescina), abundantemente encontrado en organismos muertos y semen, se usa como monómero de poliamida 4,6 en la industria química. Hasta la fecha, el procedimiento comercializado ha sido un procedimiento químico. En el procedimiento, el succinonitrilo se produce por reacción de cianuro de hidrógeno y acrilonitrilo y se deshidrogena para producir 1,4-diaminobutano, seguido de purificación. Sin embargo, este procedimiento químico sufre las desventajas de tratar una materia prima altamente tóxica, que requiere una alta temperatura y una alta presión para la hidrogenación y usar un catalizador muy costoso.

Por tanto, como alternativa al procedimiento químico, se requiere una fuente de carbono derivada de biomasa reciclable para su uso en la producción de 1,4-diaminobutano.

15 Recientemente, se ha desarrollado la fermentación que usa microorganismos de variantes para producir 1,4-diaminobutano (Publicación de Patente Coreana N.º 10-2009-0107920). Sin embargo, los estudios sobre separación y purificación de 1,4-diaminobutano a partir de una solución fermentada de alta pureza y alto rendimiento siguen siendo insuficientes.

20 Ya se conoce por la solicitud de Patente Europea 2.263.996 A1, un procedimiento para la preparación de una diamina a partir de una solución acuosa de una sal de diamina en condiciones alcalinas, en las que la sal se prepara por nanofiltración. Sin embargo, no se dan recomendaciones para la preparación de 1,4-diaminobutano de alta pureza por filtración a partir de una solución fermentada.

25 Conducir a la presente invención, a una investigación intensiva y exhaustiva sobre la separación y purificación de 1,4-diaminobutano, llevada a cabo por los presentes inventores, dió como resultado el hallazgo de que 1,4-diaminobutano se puede separar y purificar a una alta pureza y alto rendimiento a través de una serie de procedimientos que incluyen desalinización mediante adición de un material alcalino a una solución fermentada, a la que se ha retirado la masa celular, eliminación de impurezas por cristalización y ciclos repetidos de recuperación y concentración.

Divulgación**30 Problema de la técnica**

La presente invención es para proporcionar un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano de alta pureza y alto rendimiento a partir de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano, a través de la retirada de masa celular, desalinización, concentración, eliminación de impurezas y procedimientos de recuperación.

Solución de la técnica

35 Con el fin de conseguir el objeto de la misma, la presente invención proporciona un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano a partir de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano, que comprende retirar la masa celular de la solución fermentada (etapa 1); añadir un material alcalino a la solución fermentada, a la que se ha retirado la masa celular de la etapa 1 para eliminar las sales producidas (etapa 2); concentrar la solución fermentada, desalada de la etapa 2 (etapa 3); eliminar las impurezas por filtración de la solución fermentada, desalada de la etapa 3 (etapa 4); y recuperar 1,4-diaminobutano de la solución fermentada, a la que se ha eliminado las impurezas (etapa 5).

45 La etapa 1 es una etapa en la que se retira una masa celular de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano que se produce a través de un procedimiento de fermentación. Mientras contenga células modificadas para producir 1,4-diaminobutano, cualquier solución fermentada se puede usar en la presente invención, independientemente de los tipos de microorganismos empleados. Microorganismos disponibles son los que pertenecen a las formas de Escherichia, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Pantoea, Serratia y Coryne.

La solución fermentada usada en la presente invención que usa, por ejemplo, una variante de Corynebacterium, una variante de E.coli, etc., puede producir 1,4-diaminobutano.

50 Un procedimiento usado para retirar la masa celular de la solución fermentada puede emplear una centrifuga, una prensa de filtro, un filtro de tierra de diatomeas, un filtro de vacío rotativo, un separador de membrana, o aglomeración y flotación, etc., pero sin limitarse a estos.

La masa celular retirada puede secarse para su uso como alimento para animales o como estiércol. La solución a partir de la cual se retira la masa celular se transfiere a un tanque de almacenamiento de ajuste de pH.

5 El paso 2 es para disociar la sal producida durante la fermentación mediante la adición de un material alcalino a la solución fermentada, a la que se ha retirado la masa celular de la etapa 1, de modo que la desalación facilite la purificación de 1,4-diaminobutano.

10 Cuando el 1,4-diaminobutano está en forma libre en un medio de cultivo, el pH de la solución pasa a ser 11,2 o mayor. Cuando el pH es alto, las células no pueden producir 1,4-diaminobutano y experimentar lisis. Para evitar esto, se añade un agente neutralizante a la solución durante la fermentación. Predominantemente, el agente neutralizante es ácido sulfúrico. La razón por la que no se emplea ácido clorhídrico es la aparición de un problema con causticidad.

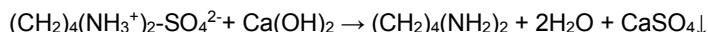
Además, el medio contiene sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) como fuente de N para 1,4-diaminobutano. Ya que se usa 2NH₄⁺

15 de sulfato de amonio como fuente de N, la fracción restante SO₄²⁻ está presente en forma libre o alguno reacciona con 1,4-diaminobutano en una condición neutra para formar una sal de 1,4-diaminobutano ((CH₂)₄(NH₃⁺)₂-SO₄²⁻). De acuerdo con los tipos de fuente de N, 1,4-diaminobutano puede estar presente con un anión, tal como Cl⁻, distinto de SO₄²⁻.

Como se ha mencionado anteriormente, el agente neutralizante neutraliza la solución fermentada, a la que se ha retirado la masa celular en términos de pH y hace al 1,4-diaminobutano presente como una sal unida con un anión tal como SO₄²⁻ en la condición neutra, de modo que el 1,4-diaminobutano en forma de sal es difícil de purificar.

20 En la presente invención, se introduce la etapa 2 con el fin de separar fácilmente 1,4-diaminobutano añadiendo un material alcalino a la solución para eliminar la sal unida al 1,4-diaminobutano.

Esto se puede representar como se muestra en el siguiente esquema de reacción.



25 Con el fin de eliminar la sal unida a 1,4-diaminobutano, se añade un material alcalino para ajustar el pH de 11,2 a 14. En el esquema de reacción, Ca(OH)₂ sirve como un material alcalino.

De acuerdo con su composición química, el 1,4-diaminobutano toma un catión monovalente a un pH de 11,2 o menos y un catión divalente a un pH de 9,7 o menos. Por tanto, a un pH bajo, 1,4-diaminobutano pasa a ser un catión divalente, de modo que se asocia con un anión (sal) y, por tanto, es difícil de purificar. Por lo tanto, la solución debe ajustarse preferentemente a un pH de 11,2 o mayor y, más preferentemente, a un pH de 11,2 a 14.

30 Ejemplos de material alcalino añadido en la presente invención incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio, hidróxido de potasio, hidróxido de litio e hidróxido de amonio.

La sal producida (sulfato de calcio en el esquema de reacción) se puede segregar usando una centrífuga, una prensa de filtro, un filtro de tierra de diatomeas, un filtro de vacío rotativo, un separador de membrana, o aglomeración y flotación, etc., pero sin limitarse a estos.

35 La sal recuperada (p. ej., sulfato de calcio) se puede purificar adicionalmente para su uso como aditivo o material en comidas, cementos, fertilizantes, moldes de escayola y yeso medicinal. Por esta desalinización de acuerdo con el esquema de reacción, principalmente solo se elimina el sulfato de calcio, porque los otros componentes, excepto el sulfato de calcio, no se cristalizan debido a su alta solubilidad en agua.

40 La etapa 3 está diseñada para concentrar la solución fermentada desalada en la etapa 2, potenciando, por tanto el rendimiento de purificación de 1,4-diaminobutano.

45 Ya que después de la desalinización, el líquido restante es principalmente agua, la eliminación del agua puede tener prioridad sobre otras etapas. El concentrador se puede seleccionar entre el grupo que consiste en, pero no de forma limitativa, un concentrador centrífugo, un evaporador, un evaporador de circulación natural, un evaporador de vacío a baja temperatura, un evaporador de vacío rotatorio, un evaporador de vacío, un evaporador de película delgada y un evaporador de placa. Preferentemente, la solución fermentada se puede concentrar mediante un procedimiento a baja temperatura usando un evaporador de vacío a baja temperatura. Este evaporador de vacío a baja temperatura se puede usar en las condiciones expuestas a continuación.

50 Una condición de presión es una presión de 1,3 kpa a 101,3 kpa y preferentemente de 9,3 kpa a 26,7 kpa. Una condición de temperatura se mantiene de 10 a 100 ° C y preferentemente de 45 a 67 ° C. A este respecto, se elimina agua hasta que el contenido de agua se reduce de un 5 a un 30 % en peso y preferentemente de un 10 a un 25 % en peso.

Cuando el grado de concentración es alto, la viscosidad se incrementa, dificultando la filtración. Cuando el grado de

- concentración es bajo, las impurezas pueden no formarse como un precipitado, lo que hace que la concentración no tenga sentido en términos de purificación. Además, el rendimiento de purificación puede variar dependiendo del % en agua del concentrado. Si se elimina todo el agua, las impurezas pasan a ser de baja solubilidad y forman finos precipitados que tardan mucho tiempo en filtrarse. Junto con el líquido condensado, se recupera el amoníaco producido durante la fermentación. Este subproducto se puede convertir en sulfato de amonio usando ácido sulfúrico.
- La etapa 4 es una etapa en la que se eliminan las impurezas de la solución fermentada concentrada en la etapa 3, contribuyendo a una mejora en el rendimiento de purificación de 1,4-diaminobutano.
- Las impurezas presentes en la solución fermentada, concentrada se pueden eliminar por filtración usando diversos procedimientos, que incluyen, pero no de forma limitativa, una centrífuga, una prensa de filtro, un filtro de tierra de diatomeas, un filtro de vacío rotativo, un separador de membrana, aglomeración o flotación o un papel de filtro. Después de la filtración, el líquido se usa en la etapa de recuperación de 1,4-diaminobutano mientras los sólidos se descartan.
- Opcionalmente, el procedimiento puede comprender adicionalmente una etapa de cristalización entre las etapas 3 y 4. Comprendiendo adicionalmente, la cristalización de la solución fermentada, concentrada después de la etapa de concentración de la solución fermentada, desalada, las impurezas se pueden eliminar a medida que transcurre el crecimiento cristalino durante la cristalización de la solución fermentada. Además, el rendimiento de purificación se puede aumentar adicionalmente por el crecimiento cristalino a través de la cristalización de la solución fermentada.
- Para la cristalización, se puede usar un procedimiento que incluye, pero no de forma limitativa, cristalización por enfriamiento, cristalización por extracción de sal, cristalización por ahogamiento, cristalización en solución, cristalización por fusión y cristalización por semillamiento. Preferente es un procedimiento que excluye el uso de un ingrediente adicional porque el ingrediente, si se añade, debe eliminarse. Específicamente se puede usar cristalización por enfriamiento. En resumen, la cristalización por enfriamiento se puede realizar enfriando la solución fermentada a una velocidad de 0,01 °C/min~10 °C/min y, preferentemente a una velocidad de 0,05 °C/min~1 °C/min a 20 °C.
- La Etapa 5 es una etapa en la que se recupera 1,4-diaminobutano de la solución fermentada, que carece de impurezas de la etapa 4. El 1,4-diaminobutano se puede separar de la solución fermentada, que carece de impurezas.
- Para esta recuperación, se puede llevar a cabo una concentración a alta temperatura y una destilación fraccionada en sucesión. En detalle, Se deja entrar vapor del procedimiento de concentración a alta temperatura en una columna de destilación a través de una entrada situada a una altura media de la columna de destilación.
- Las condiciones de presión para la concentración a alta temperatura y la destilación fraccionada están a una presión de 1,3 kpa a 101,3 kpa y preferentemente a una presión de 9,3 kpa a 26,7 kpa. Las condiciones de temperatura son una temperatura de 30 a 158 ° C y preferentemente una temperatura de 80 a 120 ° C. En una realización específica de la presente invención, la destilación a las condiciones de presión y temperatura anteriores permitió la separación en agua y amonio en la parte superior de la columna y en 1,4-diaminobutano en la parte inferior de la columna.
- El líquido de la columna inferior de la concentración a alta temperatura se concentra hasta que la cantidad inicial de la solución fermentada se reduce a un 2~10 % en peso y preferentemente a un 4~8 % en peso. El resto en la concentración a alta temperatura se puede volver a hacer circular a un procedimiento de concentración a baja temperatura, de manera que potencie el rendimiento de purificación mediante el reciclaje y la repetición de los procedimientos de la presente invención. La presente invención se repite a medida que estos procedimientos se hacen circular, aumentando de este modo el rendimiento de purificación. En la presente invención, la solución que queda después de la concentración a alta temperatura se vuelve a reciclar a la concentración de la etapa 3.
- De acuerdo con otro aspecto de la misma, la presente invención proporciona un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano a partir de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano, que comprende retirar la masa celular de la solución fermentada (etapa 1); añadir un material alcalino a la solución fermentada, a la que se ha retirado la masa celular de la etapa 1 para eliminar las sales producidas (etapa 2); Concentrar la solución fermentada, desalada de la etapa 2 (etapa 3); cristalizar la solución fermentada de la etapa 3 (etapa 4); eliminar las impurezas de la solución fermentada, cristalizada de la etapa 4 (etapa 5); y recuperar el 1,4-diaminobutano de la solución fermentada, a la que se han eliminado las impurezas de la etapa 5 (etapa 6).
- Las etapas 1 a 3 son las mismas que las descritas para las etapas 1 a 3 mencionadas anteriormente. Además, las etapas 5 y 6 corresponden respectivamente a las etapas 4 y 5 mencionadas anteriormente.
- La etapa 4 es cristalizar la solución fermentada, concentrada en la que se eliminan las impurezas a través del crecimiento de cristales. Por tanto, este paso potencia adicionalmente el rendimiento de purificación.
- Para el crecimiento de cristales, se puede lograr la cristalización usando un procedimiento que incluye, pero no de forma limitativa, cristalización por enfriamiento, cristalización por extracción de sal, cristalización por ahogamiento,

5 cristalización en solución, cristalización por fusión y cristalización por semillamiento. Preferente es un procedimiento que excluye el uso de un ingrediente adicional porque el ingrediente, si se añade, debe eliminarse. Específicamente se puede usar cristalización por enfriamiento. En resumen, la cristalización por enfriamiento se puede realizar enfriando la solución fermentada a una velocidad de 0,01 °C/min~10 °C/min y preferentemente a una velocidad de 0,05 °C/min~1 °C/min a 20 °C.

Efectos ventajosos

10 De acuerdo con el procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano a partir de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano, la masa celular retirada de la solución fermentada se puede usar como alimento para animales mientras que las sales eliminadas de la solución fermentada son aplicables a aditivos industriales. Además, se puede producir 1,4-diaminobutano a alta pureza y alto rendimiento mediante la concentración y destilación de la solución restante.

Descripción de los dibujos

15 FIG.1 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano a alta pureza y alto rendimiento a partir de una solución que contiene 1,4-diaminobutano producido como resultado de la fermentación, a través de la retirada de masa celular, desalinización, concentración, eliminación de impurezas y recuperación.

20 FIG.2 es un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano a alta pureza y alto rendimiento a partir de una solución que contiene 1,4-diaminobutano producido como resultado de la fermentación, a través de la retirada de masa celular, desalinización, concentración a baja temperatura, cristalización, filtración, concentración a alta temperatura y destilación.

Modo de invención

Se puede obtener una mejor comprensión de la presente invención mediante los ejemplos siguientes que se exponen para ilustrar, pero que no deben interpretarse como limitantes de la presente invención.

25 Se analizó 1,4-diaminobutano bruto, aminoácidos, ácidos orgánicos e iones usando cromatografía líquida de alta presión (denominada en lo sucesivo en el presente documento "HPLC") mientras que se midió 1,4-diaminobutano purificado usando cromatografía de gases (denominada en lo sucesivo en el presente documento "CG "). Para la determinación de agua, se usó un procedimiento de titulación Kaal-Fischer.

EJEMPLO 1: Preparación de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano y retirada de masa celular de la solución

30 Se preparó una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano de acuerdo con la descripción de la Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2010-124867. En detalle, se cultivó un microorganismo de *Korynebacterium* que puede producir putrescina, el cual se modificó para regular negativamente la expresión de un gen que codifica para la ornitina carbamoil transferasa (argF) y un gen que codifica para el exportador de glutamato (Ncg11221) o para disminuir la actividad de dichos productos de expresión génica y para introducirse un gen que codifica para la ornitina descarboxilasa (speC) en el mismo.

40 Entonces, se colocaron 5,050 g de la solución fermentada en un vaso de precipitados de 10 L y se retiró la masa celular usando un separador de membrana. El separador de membrana estaba en forma de casete, identificado como Pellicon 2 de Millipore, con un tamaño de poro de 0,1 µm y un área de 0,5 m². El cuerpo del filtro de la membrana, un producto de Millipore, consiste en una entrada de alimentación de la célula, una trayectoria de circulación y una salida de líquido de la masa celular retirada. Después de la filtración, se retiraron 255,1 g de la solución que contenía la masa celular, entonces, salieron 4794,9 g del efluente sin células. Las composiciones se resumen en la Tabla 1, a continuación.

TABLA 1

| Ingrediente | Antes de la retirada de masa celular | Solución que contiene masa celular | Solución sin células |
|-------------------|--------------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| Agua | 3752,6 g | 3565,0 g | 187,6 g |
| Masa celular | 50 g | 0 g | 50 g |
| 1,4-diaminobutano | 500 g | 490 g | 10 g |
| Aminoácidos | 44,5 g | 44 g | 0,5 g |
| Iones | 695,8 g | 688,9 g | 6,9 g |
| Ácidos orgánicos | 7,1 g | 7 g | 0,1 g |
| Suma | 5050 g | 4794,9 g | 255,1g |

EJEMPLO 2) Desalinización

5 En un vaso de precipitados de 10 L, se agitaron 4794,9 g de la solución sin células del Ejemplo 1 a temperatura ambiente y se alimentaron con 528,9 g de hidróxido de calcio a una velocidad de 17,6 g/min. Después de 2 horas de agitación, la sal, de este modo formada se eliminó por centrifugación. La sal era sulfato de calcio y representó una cantidad de 1123,3 g que contenía agua.

EJEMPLO 3) Concentración a baja temperatura

10 En un concentrador de 5 L de Eyela, se concentraron 4200,5 g de la solución del Ejemplo 2 a una presión de 80 mmHg a una temperatura de vapor de 47 ° C en un 70 %, 75 % y 80 %. Para la concentración del 70 %, el líquido condensado eliminado representó una cantidad de 2899,9 g inclusive 1 g de 1,4-diaminobutano.

Las composiciones de la solución en cada etapa se analizaron en % de concentración y los resultados se dan en las Tablas 2 y 3. El rendimiento fue de 39,2 % con la concentración del 70 % y de 45,8 % con la concentración del 75 %. Para la concentración del 80 %, el rendimiento fue de 11,3 % y 17,9 % mayor que los de las concentraciones de 75 % y 70 %, respectivamente.

TABLA 2

| Ingrediente | Concentración de agua al 70 % en el concentrador de baja temperatura | | | | | | | | | |
|-------------------|--|---|--|---|--------------------------------|---|---|--|--|--|
| | Solución alimentada al concentrador de baja temperatura | Líquido condensado del concentrador de baja temperatura | Líquido filtrado/cristal después de la condensación a baja temperatura | Líquido filtrado/solución después de la condensación a baja temperatura | Concentrado a alta temperatura | Líquido en la columna de destilación superior | Líquido en la columna de destilación inferior | | | |
| Agua | 3624,9 g | 2537,1 g | 3,8 g | 1084 g | 0 g | 1083,8 g | 0,2 g | | | |
| 1,4-diaminobutano | 480,2 g | 0,4 g | 1,7 g | 478,2 g | 282,1 g | 0 g | 196 g | | | |
| Aminoácidos | 43,2 g | 0 g | 11,7 g | 31,5 g | 31,5 g | 0 g | 0 g | | | |
| Iones | 45,4 g | 0 g | 22 g | 23,5 g | 11,7 g | 11,8 g | 0 g | | | |
| Ácidos orgánicos | 6,8 g | 0 g | 2,5 g | 4,3 g | 4,3 g | 0 g | 0 g | | | |
| Suma | 4200,5 g | 2537,4 g | 41,6 g | 1621,5 g | 329,6 g | 1095,6 g | 196,2 g | | | |
| Rendimiento | Finalmente se recuperó un 39,2 % | | | | | | | | | |

TABLA 3

| Ingrediente | Concentración de agua al 75 % en el concentrador de baja temperatura | | | | | | | | | |
|-------------------|--|---|--|---|--------------------------------|---|---|--|--|--|
| | Solución alimentada al concentrador de baja temperatura | Líquido condensado del concentrador de baja temperatura | Líquido filtrado/cristal después de la condensación a baja temperatura | Líquido filtrado/solución después de la condensación a baja temperatura | Concentrado a alta temperatura | Líquido en la columna de destilación superior | Líquido en la columna de destilación inferior | | | |
| Agua | 3624,9 g | 2718,1 g | 5,9 g | 900,9 g | 0 g | 900,7 g | 0,2 g | | | |
| 1,4-diaminobutano | 480,2 g | 0,6 g | 2,4 g | 477,2 g | 248,1 g | 0 g | 229,1 g | | | |
| Aminoácidos | 43,2 g | 0 g | 15,8 g | 27,3 g | 27,3 g | 0 g | 0 g | | | |
| Iones | 45,4 g | 0 g | 24,4 g | 21 g | 9,6 g | 11,4 g | 0 g | | | |
| Ácidos orgánicos | 6,8 g | 0 g | 2,9 g | 4 g | 4 g | 0 g | 0 g | | | |
| Suma | 4200,5 g | 2718,7 g | 51,5 g | 1430,4 g | 289 g | 912,1 g | 229,3 g | | | |
| Rendimiento | Finalmente se recuperó un 45,8 % | | | | | | | | | |

EJEMPLO 4) Eliminación de impurezas

4-1) En caso de que solo se llevase a cabo filtración a alta temperatura

Después de la concentración del Ejemplo 3, la solución fermentada restante, que representó una cantidad de 1300,6 g, se filtró usando un cristizador de doble camisa a alta temperatura para eliminar las impurezas.

5 4-2) En caso de que se llevase a cabo cristalización y filtración

Después de la concentración del Ejemplo 3, la solución fermentada restante, que representó una cantidad de 1300,6 g, se transportó a un cristizador de doble camisa de 2 L en el que se disminuyó la temperatura de 50 °C a 20 °C a una velocidad de enfriamiento de 0.01 °C/min.

A 20°C, la solución se mantuvo durante 1 h, seguido de filtración. El filtrado cristalino pesó 65,4 inclusive agua.

10 La comparación de las composiciones entre 4-1) y 4-2) se resume en la Tabla 4, a continuación. Como se muestra en los datos, la cristalización + filtración de la sección 4-2) eliminó impurezas con mayor eficacia que la filtración a alta temperatura de la sección 4-1).

TABLA 4

| Ingrediente | 4-1) Filtración a alta temperatura | 4-2) Cristalización + Filtración |
|-------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Agua | 5,3 g | 8,5 g |
| 1,4-diaminobutano | 1,4 g | 3,4 g |
| Aminoácidos | 8,6 g | 22,9 g |
| Iones | 23,4 g | 26,9 g |
| Ácidos orgánicos | 1,6 g | 3,8 g |
| Suma | 40,4 g | 65,4 g |

15 **EJEMPLO 5) Recuperación**

Para recuperar 1,4-diaminobutano del concentrado del Ejemplo 4, se llevó a cabo concentración a alta temperatura y destilación fraccionada.

20 Se alimentaron 1235,2 g de la solución que carece de impurezas a un reactor de doble camisa de 2 L, cuya parte superior estaba conectada a un punto medio de una columna de destilación. Esta columna de destilación era una columna de 30 etapas en un tipo de bandeja, disponible en el mercado en Ace Glass, con un punto de unión al reactor situado en la etapa 11ª desde el fondo. El reactor se expuso a una presión de 10,7 kpa a una temperatura de vapor de 50-90 °C antes de la experimentación. Su temperatura se mantuvo a 47 °C durante la evaporación inicial del agua y se elevó a 90 °C con la vaporización concomitante de 1,4-diaminobutano. El gas vaporizado se alimentó a la columna de destilación en la que se recuperó agua y amonio en una cantidad total de 728,3 g a la columna superior, con la recuperación de 285,8 g de 1,4-diaminobutano (pureza CG de 99,9 % en peso) en la columna inferior. El resto, que representaba una cantidad de 221,1 g en el reactor de doble camisa, se hizo circular en un condensador.

30 Las composiciones en las etapas de recuperación posteriores a la eliminación de las impurezas del Ejemplo 4 se resumen en la Tabla 5, a continuación. El rendimiento después de la etapa de cristalización fue 18,9 % mayor que el de después de la filtración a alta temperatura solo.

TABLA 5

| Ingrediente | 4-1) Filtración a alta temperatura | | | | | 4-2) Cristalización + Filtración | | | | |
|-------------------|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Líquido para la concentración a alta temperatura | Concentrado a alta temperatura | Líquido en la columna superior | Líquido en la columna inferior | en el líquido para la concentración a alta temperatura | Concentrado a alta temperatura | Líquido en la columna superior | Líquido en la columna inferior | Líquido en la columna superior | Líquido en la columna inferior |
| Agua | 720,7 g | 0 g | 720,5 g | 0,2 g | 717,4 g | 0 g | 717,1 g | 0,3 g | | |
| 1,4-diaminobutano | 477,8 g | 286,7 g | 0 g | 191,1 g | 475,9 g | 190,4 g | 0 g | 285,5 g | | |
| Aminoácido | 34,5 g | 34,5 g | 0 g | 0 g | 20,3 g | 20,3 g | 11,1 g | 0 g | | |
| Iones | 22 g | 10,2 g | 11,8 g | 0 g | 18,5 g | 7,4 g | 0 g | 0 g | | |
| Ácido orgánico | 5,2 g | 5,2 g | 0 g | 0 g | 3,1 g | 3,1 g | 0 g | 0 g | | |
| Suma | 1260,2 g | 336,6 g | 732,2 g | 191,3 g | 1235,2 g | 221,1 g | 728,3 g | 285,8 g | | |
| Rendimiento total | 38,2 % | | | | 57,1 % | | | | | |

EJEMPLO 6) Procedimiento de circulación continua

La solución que quedó después de la concentración a alta temperatura del Ejemplo 5 se volvió a hacer circular al reactor de baja temperatura. Después de 10 ciclos, se dan las composiciones finales en cada paso de recuperación en la Tabla 6. Esta reciclización dió como resultado un rendimiento final de 94,6 %.

5

TABLA 6

| Ingrediente | Líquido alimentado al reactor de baja temperatura | Líquido condensado desde el reactor de baja temperatura | Líquido filtrado/cristal de la concentración a baja temperatura | Líquido filtrado/solución de la concentración a baja temperatura | Líquido para la concentración a alta temperatura | Líquido en la columna superior | Líquido en la columna inferior | |
|-------------------|---|---|---|--|--|--------------------------------|--------------------------------|--|
| Agua | 3624,9 g | 2898,3 g | 13,1 g | 713,5 g | 0 g | 713 g | 0,5 g | |
| 1,4-diaminobutano | 795,6 g | 1,6 g | 5,6 g | 788,4 g | 315,4 g | 0 g | 473,1 g | |
| Amino | 81,5 g | 0 g | 43,2 g | 38,3 g | 38,3 g | 0 g | 0 g | |
| Ácido | | | | | | | | |
| Ión | 53,8 g | 0 g | 31,8 g | 22 g | 8,4 g | 13,6 g | 0 g | |
| Ácido orgánico | 12,4 g | 0 g | 6,8 g | 5,6 g | 5,6 g | 0 g | 0 g | |
| Suma | 4568,2 g | 2899,9 g | 100,5 g | 1567,8 g | 367,7 g | 726,6 g | 473,5 g | |
| Rendimiento | final 94,6 % | | | | | | | |

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de separación y purificación de 1,4-diaminobutano a partir de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano, que comprende:
- 5 retirar la masa celular de la solución fermentada (etapa 1);
añadir un material alcalino a la solución fermentada a la que se ha retirado la masa celular de la etapa 1 para eliminar las sales producidas (etapa 2);
concentrar la solución fermentada, desalada de la etapa 2 (etapa 3);
eliminar las impurezas por filtración de la solución fermentada, concentrada de la etapa 3 (etapa 4); y
recuperar 1,4-diaminobutano de la solución fermentada, a la que se han eliminado las impurezas (etapa 5).
- 10 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el material alcalino se selecciona entre el grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido cálcico, hidróxido de magnesio, hidróxido potásico, hidróxido de litio e hidróxido de amonio.
3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se lleva a cabo la concentración de la etapa 3 por concentración a baja temperatura.
- 15 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que se lleva a cabo la concentración a baja temperatura eliminando líquido condensado a una presión de 1,3 kPa a 101,3 kPa a una temperatura de vapor de 10 °C a 100 °C.
5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se lleva a cabo la concentración de la solución fermentada de la etapa 3 hasta que el concentrado tiene un contenido de agua de un 5 a un 30 % en peso.
- 20 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente una etapa de cristalización entre la etapa 3 y la etapa 4.
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se lleva a cabo la recuperación de la etapa 5 realizando una concentración a alta temperatura y una destilación fraccionada en sucesión.
- 25 8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que se lleva a cabo la concentración a alta temperatura concentrando la solución fermentada, a la que se han eliminado las impurezas a una presión de 1,3 kPa a 101,3 kPa a una temperatura de 30 a 158 °C para formar líquido condensado y alimentando el líquido condensado a una columna de destilación.
- 30 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que se recupera agua y amonio en una parte superior de la columna de destilación mientras que se recupera 1,4-diaminobutano en una parte inferior de la columna de destilación.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se lleva a cabo la recuperación de la etapa 5 haciendo circular la solución fermentada que queda después de la concentración a alta temperatura de nuevo a la etapa 3.
- 35 11. Un procedimiento para separar y purificar 1,4-diaminobutano a partir de una solución fermentada que comprende 1,4-diaminobutano, que comprende:
- 40 retirar la masa celular de la solución fermentada (etapa 1);
añadir un material alcalino a la solución fermentada a la que se ha retirado la masa celular de la etapa 1 para eliminar las sales producidas (etapa 2);
concentrar la solución fermentada, desalada de la etapa 2 (etapa 3);
cristalizar la solución fermentada, concentrada de la etapa 3 (etapa 4);
eliminar las impurezas por filtración de la solución fermentada, cristalizada de la etapa 4 (etapa 5); y
recuperar 1,4-diaminobutano de la solución fermentada, a la que se han eliminado las impurezas de la etapa 5 (etapa 6).
- 45 12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el material alcalino de la etapa 2 se selecciona entre el grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido cálcico, hidróxido de magnesio, hidróxido potásico, hidróxido de litio e hidróxido de amonio.
13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que se lleva a cabo la concentración de la etapa 3 por concentración a baja temperatura.
- 50 14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que se lleva a cabo la concentración a baja temperatura eliminando líquido condensado a una presión de 1,3 kPa a 101,3 kPa a una temperatura de vapor de 10 °C a 100 °C.
15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que se lleva a cabo la cristalización de la etapa 4

enfriando la solución fermentada a una velocidad de enfriamiento de 0.05 °C/min a 1 °C/min.

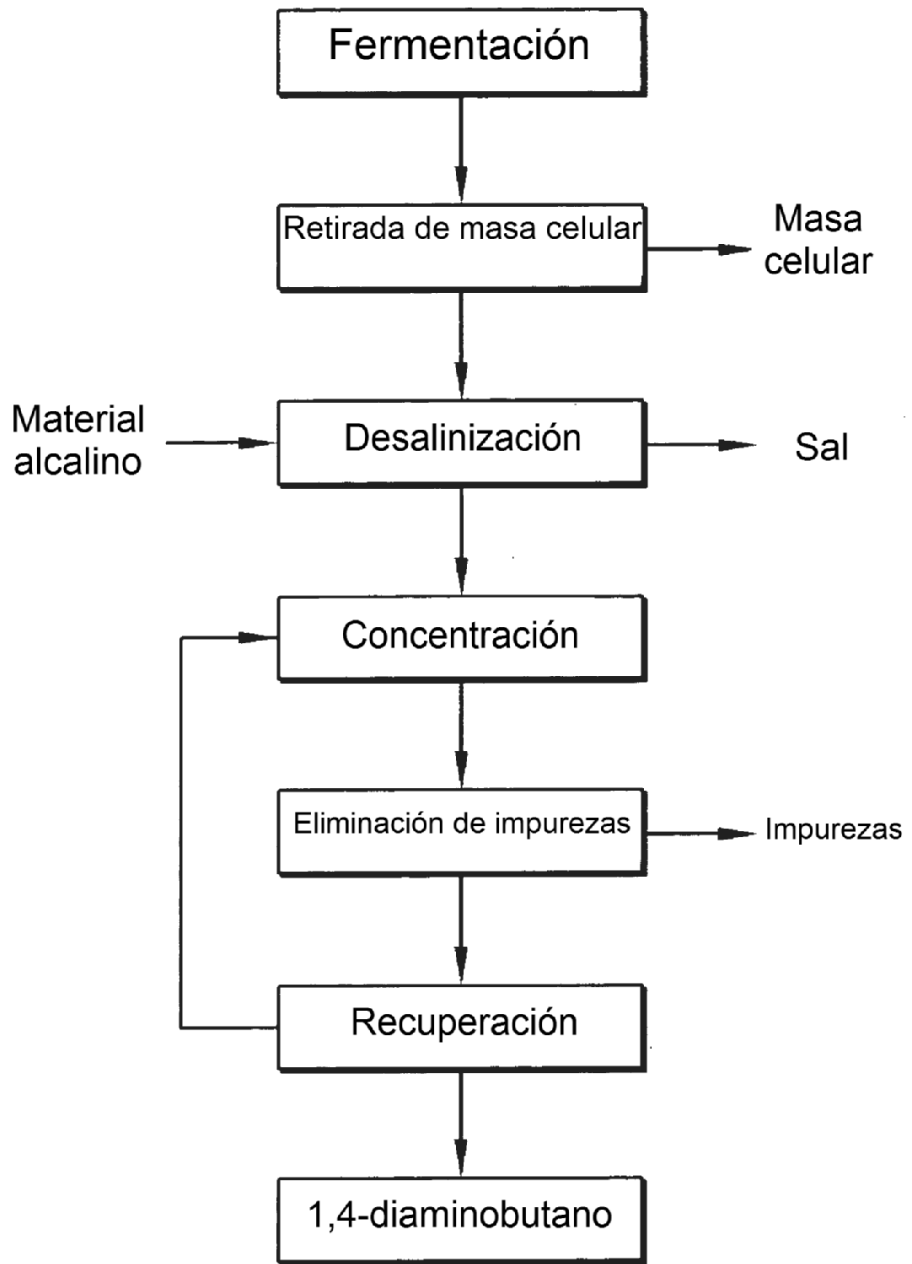
16. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que se lleva a cabo la recuperación de la etapa 6 realizando una concentración a alta temperatura y una destilación fraccionada en sucesión.

5 17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 16, en el que se lleva a cabo la concentración a alta temperatura concentrando la solución a la que se han eliminado las impurezas a una presión de 1,3 kPa a 101,3 kPa a una temperatura de 30 a 158 °C para formar líquido condensado y alimentando el líquido condensado a una columna de destilación.

10 18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 17, en el que se recupera agua y amonio en una parte superior de la columna de destilación mientras que se recupera 1,4-diaminobutano en una parte inferior de la columna de destilación.

19. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la solución fermentada que queda después de la concentración a alta temperatura se vuelve a hacer circular a la etapa 3.

[FIG. 1]



[FIG. 2]

