

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 686**

51 Int. Cl.:

**C07C 51/42** (2006.01)

**C07C 55/02** (2006.01)

**C07C 55/21** (2006.01)

**C07C 53/126** (2006.01)

**C07C 57/13** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2014 PCT/EP2014/078747**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015 WO15091952**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2014 E 14827434 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 3083544**

54 Título: **Procedimiento para la separación de ácidos dicarboxílicos de mezclas acuosas**

30 Prioridad:

**20.12.2013 IT NO20130009**

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

**14.05.2018**

73 Titular/es:

**NOVAMONT S.P.A. (100.0%)**

**Via G. Fauser 8**

**28100 Novara, IT**

72 Inventor/es:

**VERDOLIVA, ANTONIO**

74 Agente/Representante:

**MARTÍN BADAJOZ, Irene**

ES 2 667 686 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 para la separación de ácidos dicarboxílicos de mezclas acuosas

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a un procedimiento para la separación de ácidos dicarboxílicos de mezclas acuosas de ácidos mono y dicarboxílicos de cadena larga. En particular, esta invención se refiere a un procedimiento para separar y purificar dichos ácidos que incluye una etapa de ultrafiltración.

10

**Antecedentes técnicos**

Los ácidos dicarboxílicos C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> (también indicados individual o colectivamente en esta solicitud como "ácidos dicarboxílicos de cadena larga") son productos intermedios químicos bien conocidos ampliamente usados principalmente como productos intermedios en la producción de perfumes, lubricantes, adhesivos y como comonomeros para la producción de diversos tipos de polímeros tales como, por ejemplo, poliésteres alifáticos y alifático-aromáticos del tipo diácido-diol y poliamidas del tipo diácido-diamina.

15

20

25

En la actualidad, estos ácidos dicarboxílicos se obtienen mediante procedimientos químicos convencionales a partir de diversas materias primas de origen tanto fósil como renovable. En lo que se refiere a procedimientos de síntesis que parten de materias primas de origen fósil, ejemplos típicos son las reacciones de oxidación terminal de hidrocarburos lineales tales como, por ejemplo, tridecano. En lo que se refiere a procedimientos de síntesis que parten de materias primas de energía renovable, puede mencionarse a modo de ejemplo la ozonólisis de ácido oleico para obtener ácido azelaico y ácido pelargónico, la síntesis de ácido sebácico mediante la fusión alcalina de ácido ricinoleico o reacciones de metátesis de ácidos grasos monoinsaturados. En los últimos años, la búsqueda siempre creciente de nuevas tecnologías que tengan menor impacto medioambiental también ha creado un incentivo para buscar procedimientos para obtener estos diácidos de cadena larga usando procedimientos de fermentación a partir de los hidrocarburos o ácidos monocarboxílicos lineales correspondientes.

30

En todos esos procedimientos, ya sean del tipo químico convencional o del tipo fermentativo, los ácidos dicarboxílicos se obtienen generalmente en una mezcla con ácidos monocarboxílicos que pueden derivar de cantidades residuales de la materia prima de partida o producirse como productos intermedios en la reacción de síntesis para el producto deseado.

35

Se han propuesto diversos métodos para separar y purificar los ácidos dicarboxílicos así producidos que contemplan, por ejemplo, cristalización, destilación, extracción líquido/líquido o sedimentación.

40

Por ejemplo, el documento WO 01/04337 describe un procedimiento para la purificación de caldos de fermentación para la recuperación de ácidos carboxílicos. El procedimiento de purificación contempla una primera etapa en la que el pH del caldo de fermentación se ajusta a un valor de 2 o menos y una segunda etapa en la que el caldo a ese pH se calienta hasta una temperatura de aproximadamente 60-105 °C. En esas condiciones se forma un sistema trifásico (una fase acuosa que contiene algunos residuos celulares, una fase orgánica que contiene los ácidos carboxílicos y una fase sólida que contiene residuos celulares).

45

El documento GB 2.016.453, en cambio, describe un procedimiento para la purificación de caldos de fermentación en el que el caldo se basifica, separándose una fase líquida que contiene los ácidos dicarboxílicos. Posteriormente, la disolución se acidifica a pH < 4, haciendo que precipiten los ácidos dicarboxílicos.

50

El documento US 6.143.532 describe un procedimiento para la purificación de caldos de fermentación para la recuperación de ácidos carboxílicos. El procedimiento de purificación contempla una primera etapa en la que el pH del caldo de fermentación se ajusta a un valor de al menos 6 y una segunda etapa en la que el caldo a este pH se calienta hasta una temperatura de aproximadamente 60-75 °C. En esas condiciones se forma un sistema trifásico (una fase acuosa superior transparente, una fase orgánica intermedia que contiene los ácidos carboxílicos, y una fase acuosa inferior que contiene residuos celulares).

55

El documento CN 102476987 divulga un procedimiento para la separación de ácido dodecanodioico a partir de un caldo de fermentación. El caldo de fermentación que contiene el 10 % de la sal de sodio del ácido dodecanodioico se alimenta a un dispositivo de ultrafiltración para retirar proteínas y pigmentos. Para obtener ácido dodecanodioico con un grado de pureza suficiente, el permeado que contiene el ácido dicarboxílico se extrae entonces con un disolvente orgánico, se calienta y se acidifica y luego se recupera mediante cristalización de la fase orgánica.

60

65

El documento US 2011/028759 describe un procedimiento para la recuperación y purificación de un ácido orgánico tal como ácido láctico a partir de un caldo de fermentación que contiene una forma de sal del ácido orgánico, que comprende las etapas de someter el caldo de fermentación a una de ultrafiltración y microfiltración para formar un primer permeado, concentrar el primer permeado para formar un caldo concentrado, someter el caldo concentrado a una membrana líquida soportada para la extracción de ácido láctico dando lugar a una corriente independiente que

comprende una disolución extraída, someter la disolución extraída a carbón activado para la eliminación del color, a una resina de intercambio catiónico para la desmineralización y a una resina de intercambio aniónico para la eliminación de impurezas aniónicas.

## 5 Sumario de la invención

5 Sin embargo, métodos tales como los descritos anteriormente no hacen posible obtener dichos ácidos con un alto grado de pureza de modo económico y, por tanto, es necesario desarrollar métodos nuevos, más sencillos y mejorados para la separación y purificación de ácidos dicarboxílicos de cadena larga que sean suficientemente  
10 eficaces y selectivos y que al mismo tiempo no sean económicamente desfavorables.

Por tanto, el objeto de esta invención reside en proporcionar un procedimiento nuevo y mejorado para la separación y purificación de ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  que tenga ventajas apreciables y obvias en comparación con los procedimientos conocidos descritos anteriormente.

15 En particular, esta invención se refiere a un procedimiento para la separación de ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  de una mezcla acuosa que contiene ácidos monocarboxílicos  $C_8-C_{24}$  además de dichos ácidos dicarboxílicos a través de ultrafiltración, caracterizado porque durante dicha ultrafiltración dichos ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  están en la mezcla acuosa en forma de sales.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de ultrafiltración para separar ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  de una mezcla acuosa que contiene, además de dichos ácidos dicarboxílicos, ácidos monocarboxílicos  $C_8-C_{24}$ , estando dicho procedimiento caracterizado por el hecho de que durante dicha ultrafiltración los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  en la mezcla acuosa están en forma salificada, y porque dicha mezcla acuosa se lleva a un pH de 8 o mayor.

25 El procedimiento para la separación de ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  (ácidos dicarboxílicos de cadena larga) de una mezcla acuosa que contiene ácidos monocarboxílicos  $C_8-C_{24}$  (ácidos monocarboxílicos de cadena larga) según la presente invención comprende las etapas de:

30 i. convertir los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  en dicha mezcla acuosa en una forma de sal, en el que dicha mezcla acuosa se lleva a un pH de 8 o mayor,

ii. someter a ultrafiltración la mezcla acuosa que comprende los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  en forma de sal que se originan a partir de la etapa i.

## 35 Descripción detallada

En el significado de esta invención, el término "cadena larga" identifica compuestos que tienen de 8 a 24 átomos de carbono en la cadena principal. Ejemplos típicos de estos ácidos dicarboxílicos de cadena larga son ácido cis-9-octadecenodioico, ácido octadecanodioico, ácido hexadecanodioico, ácido tetradecanodioico y ácido brasílico. Ejemplos típicos de ácidos monocarboxílicos de cadena larga son en cambio ácido oleico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido mirístico y ácido tridecanoico.

45 En este procedimiento, la ultrafiltración de la mezcla acuosa hace posible separar los ácidos monocarboxílicos de cadena larga de los ácidos dicarboxílicos de cadena larga; de hecho se ha descubierto que durante la etapa de ultrafiltración, los ácidos monocarboxílicos se retienen selectivamente en el retenido mientras que los ácidos dicarboxílicos en cambio pasan al permeado, del que pueden recuperarse fácilmente. En una realización preferida, este procedimiento proporciona la recuperación (etapa (iii)) de los ácidos dicarboxílicos del permeado obtenido a partir de la etapa de ultrafiltración.

50 Aunque el procedimiento según esta invención es particularmente adecuado para su aplicación aguas abajo de procedimientos de fermentación, se entiende que también es posible alimentar este procedimiento con mezclas acuosas que contienen ácidos mono y dicarboxílicos de cadena larga que se originan a partir de procedimientos de cualquier otro tipo, tales como por ejemplo los procedimientos químicos convencionales del tipo descrito al comienzo de esta solicitud.

Además, el procedimiento según esta invención también puede usarse para separar mezclas de ácidos dicarboxílicos de cadena larga que tienen cadenas de átomos de carbono de diferentes longitudes de las mezclas acuosas que los contienen junto con ácidos monocarboxílicos.

60 Dependiendo del origen de las mezclas acuosas, estas pueden someterse a una o más etapas preliminares de pretratamiento tales como filtración, esterilización, incubación o evaporación. Por ejemplo, en el caso de mezclas acuosas que se originan a partir de procedimientos de fermentación, la mezcla acuosa puede tratarse en primer lugar para inactivar los microorganismos que están presentes durante la fermentación. Este tratamiento puede aplicarse usando cualquier procedimiento físico o químico conocido por los expertos en la técnica, por ejemplo incubando la mezcla a alta temperatura, irradiándola con radiación UV o gamma o microondas, o tratándola con  
65

agentes químicos adecuados tales como, por ejemplo, glutaraldehído o ácido peracético. La elección del tipo de tratamiento de inactivación y sus condiciones dependen principalmente del tipo de microorganismo usado en la fermentación y, por tanto, los expertos en la técnica serán capaces de identificar las condiciones apropiadas para realizar tal inactivación.

5 La etapa (i) de conversión de los ácidos mono y dicarboxílicos en la mezcla acuosa en una sal se realiza normalmente mediante la adición de una base, que puede ser de cualquier tipo, por ejemplo un hidróxido alcalino o alcalinotérreo o mezclas de los mismos. A modo de ejemplo, KOH y NaOH son bases adecuadas para su uso en la etapa (i) del procedimiento según esta invención. La base puede añadirse o bien en forma sólida o bien como  
10 disolución acuosa, en este último caso añadiendo una disolución lo suficientemente concentrada como para evitar la dilución excesiva de la mezcla que contiene los ácidos dicarboxílicos de cadena larga. En el caso de NaOH, por ejemplo, disoluciones acuosas 8 N son adecuadas con este propósito.

15 Aunque las condiciones de pH precisas en las que la formación de las sales de los ácidos mono y dicarboxílicos presentes en la mezcla dependen de la naturaleza de los propios ácidos y de los demás componentes que pueden estar presentes en la mezcla acuosa, se conoce bien que la formación de sales de ácidos mono y dicarboxílicos se favorece al aumentar el pH. Por tanto, los expertos en la técnica serán capaces de elegir la cantidad y el tipo de base que es más apropiado para convertir los ácidos presentes en la mezcla en sales.

20 La etapa (i) en de este procedimiento se lleva a cabo preferiblemente ajustando la mezcla acuosa a condiciones de pH en las que los ácidos mono y dicarboxílicos están de manera sustancialmente completa en forma de sales. De este modo, se mejora la eficacia de separación, por motivos que se ilustrarán a continuación en esta solicitud. En el procedimiento de la presente invención, la etapa (i) se realiza ajustando la mezcla acuosa a un pH de 8 o más, preferiblemente de 10 o más, e incluso más preferiblemente de 12 o más. No obstante, para evitar el uso excesivo  
25 de base en esta etapa y no hacer que las etapas posteriores del procedimiento sean innecesariamente onerosas, el pH de la mezcla acuosa en la etapa (i) del procedimiento puede ajustarse no obstante a valores de pH de 13 o menos, preferiblemente de 12,5 o menos. En una realización incluso más preferida del procedimiento según esta invención, la etapa (i) se realiza por tanto a un pH de entre 8 y 13, preferiblemente de entre 10 y 12,5 e incluso más preferiblemente a un pH de entre 12 y 12,5.

30 La etapa de formación de sal (i) en el procedimiento según esta invención puede llevarse a cabo a lo largo de un amplio intervalo de temperatura de entre 15 y 70 °C. Tal como se conoce, la temperatura también tiene un efecto sobre la constante de disociación ácida de los ácidos y, por tanto, la etapa (i) del procedimiento se realiza generalmente de manera ventajosa a temperaturas de 25 °C o más, preferiblemente de 30 °C o más, y más  
35 preferiblemente en el intervalo de entre 35 y 55 °C.

Dependiendo de los diversos requisitos de separación y de la naturaleza de los ácidos que tienen que separarse, los expertos en la técnica estarán por tanto en posición de equilibrar el efecto del pH y la temperatura en la etapa (i) del procedimiento según esta invención. Por ejemplo, para separar ácido cis-9-octadecenodioico de mezclas acuosas  
40 que lo contienen junto con ácido oleico, la etapa (i) del procedimiento se realiza ventajosamente ajustando la mezcla a un pH de entre 9 y 12,5 y a una temperatura de entre 35 y 55 °C.

Preferiblemente, la etapa de formación de sal (i) se realiza con agitación, fomentando por tanto una mezcla rápida y uniforme de la base con los diversos componentes de la mezcla acuosa. Ventajosamente, una vez que se ha  
45 completado la adición de la base, la agitación de la mezcla acuosa se mantiene a temperatura constante durante un tiempo de entre 10 y 30 minutos.

Al final de la etapa (i), los ácidos mono y dicarboxílicos están presentes en la mezcla en forma de sal. El aumento del pH de la mezcla acuosa puede dar lugar a la formación de una suspensión sólida que si está presente se separa convenientemente para ayudar en la etapa de ultrafiltración posterior. Al depositarse sobre las membranas de la  
50 unidad de filtración cualquier suspensión sólida puede dar lugar, de hecho, a un aumento de su presión de funcionamiento con una reducción consiguiente del rendimiento. En el caso de mezclas acuosas que se originan a partir de procedimientos de fermentación, esta fase de separación también hace posible retirar cualquier residuo celular presente en la mezcla acuosa. En el significado de esta invención, el término "suspensión sólida" también  
55 significa dispersiones coloidales, suspensiones espesas y cualquier fracción que tenga una densidad lo suficientemente alta como para separarse de un sobrenadante. En una realización del procedimiento según esta invención, la suspensión sólida presente al final de la etapa (i) se separa por tanto de la mezcla acuosa antes de la etapa de ultrafiltración (ii).

60 En esta fase de separación, la mezcla acuosa que se origina a partir de la etapa de formación de sal (i) puede someterse a uno o más tratamientos seleccionados de sedimentación, centrifugación, filtración, microfiltración, otras técnicas de separación sólido/líquido adecuadas y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, la etapa de separación de la suspensión sólida puede contemplar el uso combinado de centrifugación y microfiltración, alimentando la mezcla acuosa en la que está presente la suspensión acuosa a una centrífuga y posteriormente  
65 sometiendo a microfiltración el sobrenadante separado tras la centrifugación. La elección del tipo de equipos, sus combinaciones y su método de funcionamiento dependerán principalmente de la cantidad y naturaleza de la

suspensión sólida que tiene que separarse.

En este procedimiento, la etapa de ultrafiltración de la mezcla acuosa hace posible separar los ácidos monocarboxílicos de los ácidos dicarboxílicos de cadena larga. Sin restringirse por la presente a ninguna teoría específica, se considera de hecho que los ácidos monocarboxílicos de cadena larga en forma de sal presentes en la mezcla acuosa forman agregados coloidales que se quedan en el retenido durante la etapa de ultrafiltración. Debido a la naturaleza anfífila de dichos ácidos monocarboxílicos en forma de sal, estos agregados se cree que son de naturaleza micelar. Tal como se conoce, la formación de micelas es un fenómeno que depende de muchos factores, entre los cuales los principales son la concentración de los compuestos que tienen una estructura anfífila y la temperatura del medio.

En el procedimiento según esta invención, dependiendo de la concentración inicial de los ácidos mono y dicarboxílicos en la mezcla acuosa, también es posible proporcionar una o más etapas de evaporación de la mezcla acuosa o de las diversas fracciones intermedias antes de la etapa de ultrafiltración para retirar parte del agua presente, ayudando así no solo a minimizar los volúmenes del equipo, sino también a hacer que la etapa de ultrafiltración sea más eficaz.

La etapa de ultrafiltración en este procedimiento puede realizarse a lo largo de un amplio intervalo de temperatura de entre 15 y 70 °C. Tal como se conoce, la temperatura también tiene un efecto sobre la constante de disociación ácida de los ácidos y, por tanto, esta etapa de ultrafiltración generalmente se realiza ventajosamente a temperaturas de 25 °C o superiores, preferiblemente de 30 °C o superiores, y más preferiblemente dentro del intervalo de entre 35 y 55 °C. En una realización preferida del procedimiento según esta invención, la etapa de ultrafiltración (ii) se lleva a cabo a la misma temperatura que la etapa de formación de sal (i).

Puede usarse cualquier técnica de ultrafiltración que use cualquier unidad de filtración equipada con una membrana semipermeable que sea, por ejemplo, tubular, con una fibra hueca en espiral del tipo "placa y marco" y que funcione usando un flujo tangencial o perpendicular a la superficie de la membrana, para la etapa de ultrafiltración en este procedimiento. Con respecto a las membranas de filtración que se usarán en la etapa de ultrafiltración, puede usarse cualquier membrana permeable de acetato de celulosa, derivados de acetato de celulosa tales como acetobutirato de celulosa, y polímeros sintéticos tales como por ejemplo polipropilenos, poliamidas, poliimidas, PVDF (poli(fluoruro de vinilideno)), PAN (poliacrilonitrilo), PES (polietersulfona) y cerámica. Se usan preferiblemente membranas semipermeables de acetato de celulosa o polietersulfona. La porosidad de las membranas tiene un efecto sobre el rendimiento de ultrafiltración y la eficacia de separación. En general, es preferible usar membranas que tienen una porosidad de 5 kDa o menos para retener ácidos monocarboxílicos que tienen una cadena principal con 14 átomos de carbono o menos en el retenido, mientras que pueden usarse incluso membranas que tienen una porosidad de 10 kDa o más para ácidos monocarboxílicos que tienen más de 14 átomos de carbono en la cadena principal.

La elección de la temperatura, presión transmembrana y otras condiciones de funcionamiento en las que se realiza la etapa de ultrafiltración está determinada principalmente por la viscosidad de la mezcla acuosa alimentada a la misma y el tipo y la porosidad de la membrana usada. En general, la viscosidad de la mezcla acuosa será mayor cuando se trabaja a bajas temperaturas y deberán usarse presiones de alimentación más altas para la misma membrana.

A medida que avanza la etapa de ultrafiltración, la viscosidad de la mezcla acuosa y la presión transmembrana tienden a aumentar de manera natural y la eficacia de separación tiende a disminuir. Esto hace necesario usar presiones cada vez mayores, que si son demasiado altas pueden dañar la unidad de filtración y comprometer la eficacia del procedimiento. Para evitar el uso de presiones excesivamente altas es posible usar la denominada diafiltración, alimentando una o más alícuotas de una disolución de reposición que compensa la parte de la mezcla acuosa que ha permeado a través de la membrana.

La diafiltración puede realizarse de manera o bien continua o bien discontinua. En el sistema discontinuo, la mezcla acuosa aguas arriba de la membrana se concentra progresivamente a través del efecto del producto que permea a través de la membrana. Para compensar la disolución permeada se añaden una o más alícuotas de disolución de reposición a la mezcla acuosa retenida en el retenido, y entonces se realizan ultrafiltraciones adicionales. Preferiblemente, en el procedimiento según esta invención, no se añaden más de 6 alícuotas de disolución de reposición para evitar una dilución excesiva del permeado con los ácidos dicarboxílicos de cadena larga.

La diafiltración también puede realizarse de manera continua. En este caso, la disolución de reposición se añade de manera continua al retenido de tal manera que se evita una concentración excesiva de la mezcla aguas arriba de la membrana de filtración y el consiguiente aumento de la presión necesaria para realizar la ultrafiltración.

La disolución de reposición se representa normalmente mediante una disolución que tiene un pH que es el mismo que el de la mezcla acuosa, lo que no alterará por tanto el grado de formación de sal en los ácidos mono y dicarboxílicos presentes en la misma.

Antes de la etapa en la que se recuperan los ácidos dicarboxílicos, el permeado que contiene el ácido dicarboxílico de cadena larga se acidifica ventajosamente. La acidificación comprende restablecer los ácidos dicarboxílicos de cadena larga a la forma no disociada y ayudar a su recuperación del resto del permeado. Esta acidificación se realiza ventajosamente usando ácidos fuertes tales como, por ejemplo, HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o mezclas de los mismos.

5 También pueden usarse entonces para la acidificación disoluciones acuosas de dichos ácidos fuertes que ventajosamente deben estar suficientemente concentradas para evitar la dilución excesiva del permeado. De hecho, esto hace que la recuperación posterior de los ácidos dicarboxílicos de cadena larga sea más onerosa.

10 La acidificación se realiza normalmente con agitación, ayudando así a un mezclado rápido y uniforme del ácido fuerte con los componentes del permeado. Ventajosamente, una vez que se ha completado la adición de ácido, el permeado se mantiene con agitación a una temperatura constante durante un tiempo de entre 5 y 10 minutos.

15 La etapa de recuperación de los ácidos dicarboxílicos de cadena larga se realiza ventajosamente a través de uno o más tratamientos de separación, por ejemplo mediante destilación, extracción líquido/líquido, adsorción, precipitación, cristalización o combinaciones de los mismos. Los expertos en la técnica serán capaces de elegir el método de recuperación apropiado dependiendo de la concentración y del tipo de ácidos dicarboxílicos presentes en el eluato.

20 En el caso de permeados que contienen varios ácidos dicarboxílicos de cadena larga, los expertos en la técnica serán capaces de recuperar los ácidos individuales por separado, haciendo un uso oportuno de sus propiedades químicas y físicas basándose en los tratamientos de separación mencionados anteriormente. Por ejemplo, dependiendo de las características de volatilidad de dichos ácidos, se conoce bien que pueden separarse ácidos que tienen mayor volatilidad de ácidos que tienen una volatilidad progresivamente mayor a diferentes alturas en la columna de destilación.

25 Preferiblemente, la etapa de recuperación en el procedimiento según esta invención se lleva a cabo mediante un tratamiento de precipitación de los ácidos dicarboxílicos del permeado obtenido en la etapa de ultrafiltración en el procedimiento. Este tratamiento de precipitación se realiza ventajosamente (iii-a) haciendo que precipiten los ácidos dicarboxílicos según cualquiera de los métodos conocidos por los expertos en la técnica y posteriormente (iii-b) separando los ácidos dicarboxílicos precipitados del permeado restante. La precipitación de los ácidos dicarboxílicos puede lograrse, por ejemplo, concentrando progresivamente los ácidos a través de la evaporación del agua en el permeado o reduciendo su solubilidad, por ejemplo disminuyendo la temperatura del permeado. También es posible combinar varios métodos de precipitación, por ejemplo concentrando primero los ácidos a través de la evaporación de agua del permeado y posteriormente reduciendo la solubilidad al disminuir la temperatura del permeado.

35 El precipitado obtenido se separa entonces del permeado restante mediante cualquiera de los métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo mediante filtración o centrifugación, o usando cualquier combinación de esos métodos.

40 En el caso de permeados que contienen varios ácidos dicarboxílicos de cadena larga, los expertos en la técnica serán capaces de llevar a cabo el tratamiento de precipitación de una manera tal que se recuperen los ácidos dicarboxílicos individuales por separado, por ejemplo, basándose en las características de solubilidad de dichos ácidos, precipitando y separando los ácidos que tienen menor solubilidad y repitiendo el tratamiento para ácidos que tienen una solubilidad cada vez mayor.

45 En una realización preferida del procedimiento según esta invención, se recuperan los ácidos dicarboxílicos de cadena larga mediante tratamiento de precipitación de un permeado que se origina a partir de la etapa de ultrafiltración que se ha acidificado previamente. Dependiendo de su concentración en el permeado y de su solubilidad en agua, los ácidos dicarboxílicos de cadena larga que pasan de la forma de sal a la forma no disociada pueden empezar de hecho a precipitar incluso durante la acidificación, acelerando y ayudando por tanto a la etapa posterior de recuperación por precipitación.

50 En una realización particularmente preferida del procedimiento según esta invención, el permeado que se origina a partir de la etapa de ultrafiltración en este procedimiento se acidifica hasta un pH de entre 2 y 3, preferiblemente de entre 2 y 2,2, y posteriormente se enfría, por ejemplo hasta 4 °C durante un periodo de aproximadamente 2 horas, para hacer que precipiten los ácidos dicarboxílicos de cadena larga.

55 Los ácidos dicarboxílicos de cadena larga recuperados del permeado pueden purificarse entonces posteriormente (etapa (iv)). Esta etapa de purificación puede realizarse mediante uno o más tratamientos seleccionados de desecación, liofilización, destilación, extracción líquido/líquido y cristalización por adsorción. En el caso de mezclas de ácidos dicarboxílicos de cadena larga, los expertos en la técnica serán capaces de realizar la etapa (iv) para recuperar los ácidos dicarboxílicos individuales por separado, haciendo un uso oportuno de sus propiedades físicas y químicas basándose en los tratamientos de separación mencionados anteriormente.

65 A continuación se describirá la invención a través de algunos ejemplos que se pretende que sean de naturaleza ilustrativa y que no restrinjan su alcance.

**Ejemplos**

Ejemplo 1

5 Se incubaron aproximadamente 9 litros de caldo de fermentación esterilizado derivado de la fermentación de un medio de cultivo que contenía ácido oleico usando una levadura de la especie de *Candida* en un baño termostatzado durante 60 minutos a 50 °C. Se agitó entonces el caldo de fermentación, que comprendía una mezcla acuosa que contenía 1,5 g/l de ácido oleico residual y 37,5 g/l de ácido cis-9-octodecenodioico, a 250 rpm a una temperatura de aproximadamente 50 °C y luego se añadió una disolución acuosa de NaOH 8 N al mismo para lograr un pH de 12. El caldo así obtenido se mantuvo con agitación a 250 rpm durante 30 minutos a 50 °C. Posteriormente, se centrifugó el caldo que se había basificado de este modo a 8000 rpm durante 20 minutos a aproximadamente 23 °C. Se separó el sobrenadante y se sometió a microfiltración en un filtro Sartopore 2. Al completarse la microfiltración, el volumen total del caldo básico y microfiltrado era de aproximadamente 9 litros.

15 Se sometió entonces el caldo básico y microfiltrado a ultrafiltración tangencial usando una unidad de filtro Mod. Cogent M1 equipada con una membrana PES Millipore con una porosidad de 10 kDa y un área superficial de filtración total de 0,33 m<sup>3</sup> funcionando en las siguientes condiciones:

presión de alimentación 2,6-3,0 bar

20 presión de retenido 0,6 bar

caudal de retenido 2,0 l/min

25 presión transmembrana: 2,3 bar

temperatura 25 °C

30 Se llevó a cabo el procedimiento de ultrafiltración usando diafiltración discontinua para la que se usó una disolución acuosa de NaOH 10 mN como disolución de reposición. Se añadieron aproximadamente 2 litros de disolución de reposición cuando el retenido había alcanzado aproximadamente el 25-20 % de su volumen inicial (aproximadamente 2 litros). Se repitió la adición de la disolución de reposición otras cuatro veces (se añadieron en total cinco alícuotas de 2 litros de disolución de reposición) repitiendo la adición siempre que el volumen del retenido alcanzó de nuevo el 25-20 % del volumen inicial (aproximadamente 2 litros). Se combinaron las diversas fracciones de permeado, obteniéndose un volumen de aproximadamente 18 litros, y se analizó para determinar el contenido en ácido oleico y ácido cis-9-octadecenodioico a través de cromatografía de gases en las siguientes condiciones:

Cromatógrafo de gases: ThermoFinnigan Focus GC;

40 Detector: FID a T 340 °C;

Columna: ZEBRON ZB-5Msi (15 m x D.I. 0,25 mm x grosor de película 0,25 µm);

45 T inicial: 90 °C, isocrática durante 2 min;

Aumento de temperatura: 12 °C/min;

T final: 320 °C, isocrática durante 5 min;

50 T de inyector: 300 °C;

Tipo de inyector: sin fraccionamiento;

Volumen inyectado: 1 µl;

55 Gas portador: N<sub>2</sub>;

Flujo de gas portador: 1,2 ml/min.

60 Se llevó a cabo el mismo análisis en el retenido (aproximadamente 1,8 litros). Se muestran los resultados en la tabla 1

Tabla 1

	Ácido oleico (g/l)	Ácido 9-cis-octadecenodioico (g/l)
Retenido	7,6	1,3
Permeado	No detectable	16,5

5 Se añadió entonces HCl 8 N al permeado con agitación constante a 250 rpm hasta que se alcanzó un pH de aproximadamente 2, provocando por tanto la precipitación del ácido cis-9-octadecenodioico. Se agitó entonces el permeado acidificado, durante aproximadamente 10 minutos y se mantuvo a 4 °C durante 12 horas. Se separó entonces el ácido cis-9-octadecenodioico del resto del permeado mediante filtración sobre papel de filtro.

10 Entonces se volvió a purificar el filtrado lavándolo con HCl 50 mM obteniéndose un rendimiento total de aproximadamente el 90 % de ácido cis-9-octadecenodioico en comparación con la cantidad presente en el caldo de fermentación.

Ejemplo 2

15 Se prepararon las siguientes cuatro mezclas acuosas que contenían ácidos mono y dicarboxílicos:

Mezcla acuosa 1: 250 mg de ácido oleico y 250 mg de ácido cis-9-octadecenodioico en 40 ml de agua;

20 Mezcla acuosa 2: 250 mg de ácido palmítico y 250 mg de ácido hexadecanodioico en 40 ml de agua;

Mezcla acuosa 3: 250 mg de ácido mirístico y 250 mg de ácido tetradecanodioico en 40 ml de agua;

Mezcla acuosa 4: 250 mg de ácido tridecanoico, 250 mg de ácido brasílico en 40 ml de agua.

25 Para la preparación de las cuatro mezclas acuosas, se dispersaron los ácidos mono y dicarboxílicos en agua y, para acelerar el procedimiento de disolución de dichos ácidos, se calentó el conjunto hasta aproximadamente 50 °C con agitación hasta que las mezclas aparecieron transparentes. Se elevó entonces el pH de las mezclas acuosas hasta un valor de 12,3 añadiendo una disolución acuosa de KOH 8 N, de nuevo con agitación. Posteriormente, se mantuvieron las mezclas con agitación a 50 °C durante aproximadamente 20 minutos.

30 Luego se sometieron 3 ml de cada una de las mezclas a una pruebas de ultrafiltración centrífuga a T = 25 °C usando una centrífuga HERAEUS Sepatech MEGAFUGE 1.0R y ultrafiltros adecuados que tenían diferentes porosidades (ultrafiltros PES Vivaspin de 5, 10, 30 y 50 kDa producidos por Sartorius y ultrafiltros Ultra de celulosa regenerada de 3 kDa producidos por Amicon) funcionando a una velocidad de centrifugación de 4000 rpm.

35 Se analizó el permeado mediante cromatografía de gases en las mismas condiciones que en el ejemplo 1 para determinar las cantidades de ácidos mono y dicarboxílicos presentes. Las tablas 2 - 5 muestran los porcentajes en peso de los ácidos mono y dicarboxílicos en los permeados así obtenidos en comparación con las cantidades presentes en las mezclas acuosas de partida.

40

Tabla 2 – Pruebas de ultrafiltración en la mezcla acuosa 1

Porosidad de la membrana	Ácido oleico	Ácido cis-9-octadecenodioico
10	0	100
30	0	100
50	20	100

45

Tabla 3 – Pruebas de ultrafiltración en la mezcla acuosa 2

Porosidad de la membrana	Ácido palmítico	Ácido hexadecanodioico
5	0	100
10	0	100
30	0	100
50	30	100

Tabla 4 – Pruebas de ultrafiltración en la mezcla acuosa 3\*

Porosidad de la membrana	Ácido mirístico	Ácido tetradecanodioico
5	0	100
10	5	100

\* ultrafiltración llevada a cabo a 30 °C

Tabla 5 – Pruebas de ultrafiltración en la mezcla acuosa 4

Porosidad de la membrana	Ácido tridecanoico	Ácido brásilico
3	0	100
5	4	100
10	10	100

5 Ejemplo 3

Para investigar el efecto del valor del pH y de la temperatura durante la ultrafiltración, se prepararon las siguientes 10 pruebas de ultrafiltración en las siguientes condiciones.

T de ultrafiltración	pH de ultrafiltración				
	12	10	9	8	7
20 °C	•	•	•	•	•
30 °C	•	•	•	•	•

10 Se prepararon 10 mezclas acuosas que contenían 10 mg/ml de ácido oleico y 10 mg/ml de ácido cis-9-octadecenodioico y diferentes valores de pH partiendo de una disolución madre preparada según el siguiente procedimiento: se pesaron 20 g de ácido cis-9-octadecenodioico y se disolvieron en 1400 ml de NaOH 0,5 N acuoso con agitación a 50 °C, monitorizando y manteniendo el pH en el intervalo de 12,0-12,5 añadiendo gota a gota NaOH 8 N acuoso. Cuando se completó la disolución del ácido cis-9-octadecenodioico, se añadieron 20 g de ácido oleico, dejando entonces la disolución con agitación a 50 °C durante 15 minutos y manteniendo el pH en el intervalo de 12,0-12,5 añadiendo gota a gota NaOH 8 N acuoso. Se enrasó entonces la disolución a aproximadamente 1800 ml añadiendo agua y NaOH 0,5 N acuoso para mantener un pH de 12. Se tomaron 15 alícuotas de la disolución madre y se diluyeron hasta 100 ml añadiendo diferentes cantidades de HCl 1 N acuoso para ajustar el pH al valor deseado. Cada mezcla acuosa se llevó entonces a la temperatura deseada para la ultrafiltración y se mantuvo a esa temperatura durante 10 minutos con agitación.

25 Las disoluciones acuosas presentaron un grado muy bajo de turbidez y se alimentaron a una etapa de ultrafiltración usando una centrífuga HERAEUS Sepatech MEGAFUGE 1.0R y ultrafiltros en ultrafiltros de celulosa regenerada TFF PXC010C50 de 10 kDa producidos por Millipore (50 cm<sup>2</sup> de área de filtración) funcionando a una velocidad de centrifugación de 4000 rpm. El procedimiento de ultrafiltración se llevó a cabo en 50 ml de las disoluciones acuosas, usando diafiltración discontinua para lo que se usó 10 ml de una disolución acuosa de NaOH 10 mN como la disolución de reposición, que se añadió cuando el retenido había alcanzado aproximadamente el 25 - 20 % de su volumen inicial. Se repitió la adición de la disolución de reposición otras cuatro veces (se añadieron en total cinco alícuotas de 50 ml de disolución de reposición) repitiendo la adición cuando el volumen del retenido alcanzó de nuevo el 25-20 % del volumen inicial. Se reunieron las diferentes fracciones de permeado y se analizaron para determinar el contenido en ácido oleico y ácido cis-9-octadecenodioico a través de cromatografía de gases en las mismas condiciones que en el ejemplo 1. Las tablas 6-7 muestran los porcentajes en peso de los ácidos mono y dicarboxílicos en los permeados así obtenidos en comparación con las cantidades presentes en las mezclas acuosas de partida.

Tabla 6 – Ultrafiltración a 20 °C

	pH				
	12	10	9	8	7
Ácido cis-9-octadecenodioico (%)	98	93	54	47,5	<10
Ácido oleico (%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

40

Tabla 7 – Ultrafiltración a 30 °C

	pH				
	12	10	9	8	7
Ácido cis-9-octadecenodioico (%)	98	98	90	50	<10
Ácido oleico (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,01

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para separar ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  de una mezcla acuosa que contiene, además de dichos ácidos dicarboxílicos, ácidos monocarboxílicos  $C_8-C_{24}$ , por medio de ultrafiltración,  
5 estando dicho procedimiento caracterizado por el hecho de que durante dicha ultrafiltración los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  en la mezcla acuosa están en forma salificada, en el que el procedimiento comprende las etapas de:
  - 10 i. llevar los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  en dicha mezcla acuosa a forma salificada, en el que dicha mezcla acuosa se lleva a un pH de 8 o mayor;
  - ii. someter a ultrafiltración dicha mezcla acuosa que comprende el ácido mono y dicarboxílico  $C_8-C_{24}$  en forma salificada de la fase (i).
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  se llevan a forma salificada añadiendo una base seleccionada de un hidróxido alcalino, un hidróxido alcalinotérreo o mezclas de los mismos.
- 20 3. Procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicha base se añade en forma sólida o en forma de disolución acuosa.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que dicha mezcla acuosa de la fase (i) se lleva a un pH comprendido entre 8 y 13.
- 25 5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la fase (i) se realiza a una temperatura comprendida entre 15 y 70 °C.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que entre la fase (i) y la fase (ii) se somete la mezcla acuosa a uno o más tratamientos de separación sólido/líquido.
- 30 7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que dicha ultrafiltración se realiza a una temperatura comprendida entre 15 y 70 °C.
8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que dicha ultrafiltración se realiza por medio de diafiltración.
- 35 9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que tras la ultrafiltración se recuperan los ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  del permeado.
- 40 10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que tras la ultrafiltración y antes de la recuperación se acidifica el permeado.
11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 9-10, en el que dichos ácidos dicarboxílicos de cadena larga  $C_8-C_{24}$  se recuperan por medio de un tratamiento de precipitación.
- 45 12. Uso de ultrafiltración para separar ácidos dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  de una mezcla acuosa que contiene, además de dichos ácidos dicarboxílicos, ácidos monocarboxílicos  $C_8-C_{24}$ , estando dicho procedimiento caracterizado por el hecho de que durante dicha ultrafiltración los ácidos mono y dicarboxílicos  $C_8-C_{24}$  en la mezcla acuosa están en forma salificada, y porque dicha mezcla acuosa se lleva a un pH de 8 o mayor.
- 50