

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200910025531.5

[51] Int. Cl.

C07C 55/10 (2006.01)

C07C 51/42 (2006.01)

C07C 51/41 (2006.01)

B01D 61/14 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 7 月 8 日

[11] 公开号 CN 101475464A

[22] 申请日 2009.2.9

[21] 申请号 200910025531.5

[71] 申请人 南京工业大学

地址 210009 江苏省南京市新模范马路 5 号

[72] 发明人 吴昊 姜岷 韦萍 雷丹

姚忠 左鹏

[74] 专利代理机构 南京苏高专利商标事务所(普通合伙)

代理人 肖明芳

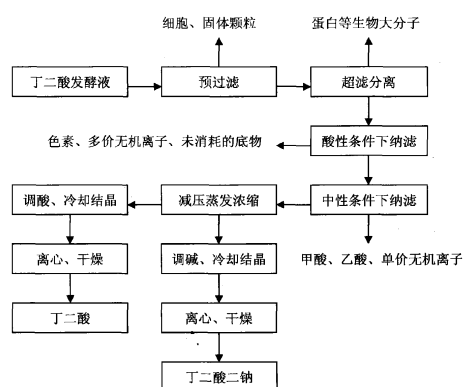
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 1 页

[54] 发明名称

一种利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法

[57] 摘要

本发明公开了一种利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法：丁二酸发酵液经预过滤、酸性条件下超滤、超滤透过液酸性条件下纳滤、纳滤透过液中性条件下再次纳滤、纳滤截留液减压蒸发浓缩、浓缩液碱性条件下冷却结晶得丁二酸二钠或浓缩液酸性条件下冷却结晶得丁二酸。本发明在分离提取丁二酸或丁二酸二钠过程中不使用任何有机溶剂及活性炭，将丁二酸的脱色、纯化、脱盐及预浓缩等工艺在同一纳滤分离装置中完成。该方法具有条件温和、操作简便、选择性好、原料成本低、产品质量高、污染小等优点，并可回收发酵液中未消耗的底物，具有广泛的社会和经济效益。



1、一种利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其特征在于该方法包括如下步骤：

- (1) 采用微滤或板框加压过滤的方法，对丁二酸发酵液进行预过滤；
- (2) 调节步骤(1)得到的滤液的 pH 值至 4.0~6.0，进行超滤，收集超滤透过液；
- (3) 调节超滤透过液的 pH 值至 3.0~4.0，进行纳滤，收集纳滤透过液；
- (4) 调节纳滤透过液的 pH 值至 6.0~7.0，再次进行纳滤，收集纳滤截留液；
- (5) 将步骤(4)得到的纳滤截留液进行减压蒸发浓缩；
- (6) 浓缩液 50~70℃保温，用氢氧化钠或碳酸钠将浓缩液调节至 pH8，再冷却结晶、干燥，得丁二酸二钠；或者，浓缩液 50~70℃保温，用浓硫酸或浓盐酸将浓缩液调节至 pH2.0~3.0，冷却结晶、干燥，得丁二酸。

2、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其特征在于步骤(1)中，所述的丁二酸发酵液，丁二酸的浓度为 24~70g/L。

3、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其特征在于步骤(1)中，所述微滤方法，其微滤膜孔径为 0.1~0.2 μm ，膜组件形式为中空纤维式或管式膜，膜材质为有机膜或无机陶瓷膜，操作压力为 0.1~0.2Mpa，操作温度为 15~40℃；所述板框加压过滤方法，发酵液中可加入适量的絮凝剂和助滤剂，絮凝剂为非离子型、阴离子型高分子絮凝剂或无机絮凝剂，助滤剂为珍珠岩或硅藻土。

4、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其特征在于步骤(2)中，所使用的超滤膜截留分子量为 5000~150000 道尔顿，膜组件形式为卷式或管式膜，其膜材质为有机膜或无机陶瓷膜，操作压力为 0.2~0.4Mpa，操作温度为 25~40℃。

5、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其特征在于步骤(3)中，所使用的纳滤膜为卷式有机膜，纳滤膜截留分子量为 150~350 道尔顿，操作压力为 1.0~2.5Mpa，操作温度为 25~40℃；当纳滤截留液浓缩至初始进料体积的 20%时，加入与纳滤截留液相同体积的去离子水进行渗滤，如此重复 2~3 次，当收集的纳滤透过液为原超滤液体积的 120~150%时，停止纳滤。

6、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其特征在于步骤(4)中，所使用的纳滤膜为卷式有机膜，纳滤膜截留分子量为 150~160 道尔顿，操作压力为 1.0~2.5Mpa，操作温度为 25~35℃；当纳滤截留液浓缩至初始进料体积的 20%时，加入与纳滤截留液相同体积的去离子水进行渗滤，如此重复 2~3 次，直至纳滤截留液再次浓缩至初始进料体积的 20%时，停止纳滤。

7、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法，其

特征在于步骤(5)中, 将纳滤截留液在 65~75℃、-0.08~0.1 MPa 条件下, 减压蒸发浓缩至原始纳滤截留液体积的 1/2~1/3。

8、根据权利要求 1 所述的利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸及丁二酸钠的方法, 其特征在于步骤(6)中, 冷却结晶条件为 4℃, 80rpm, 6~12h。

一种利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法

技术领域

本发明属于生物分离工程技术领域，具体涉及利用纳滤技术从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法。

背景技术

丁二酸(Succinic Acid, Butanedioic Acid)又称琥珀酸，是一种重要的二元有机羧酸，是微生物三羧酸循环及厌氧发酵的重要代谢产物，广泛用于可降解材料、制药、表面活性剂、防护涂料、染料和其它工业中。而其盐——丁二酸二钠（干贝素）也是重要的食品添加剂具有特殊的海鲜风味而广泛地应用于食品工业。从丁烷通过顺式丁烯二酐生产丁二酸，因原料成本和环境污染等原因使得丁二酸作为基本化工原料的广泛应用受到限制。厌氧发酵法制备丁二酸以成本较低的可再生的生物质和温室气体二氧化碳为原料，污染少，能耗低，因此以微生物发酵生产丁二酸的研究与开发正在美国、日本、欧盟及我国深入开展，而从发酵液中高效分离提取丁二酸是生物法制备丁二酸的重要技术。

目前公开专利及文献中涉及从微生物发酵液中提取制备丁二酸的方法主要有钙盐法、溶剂萃取法、铵盐法、电渗析法、离子交换法、膜分离法。美国专利US5168055采用钙盐中和法提取丁二酸，路线长、效率低下，产生大量硫酸钙废渣，酸碱消耗大，增加了成本和环境污染。美国专利US5034105、US5143834采用两级膜电渗析分离提纯丁二酸的方法，但该法电渗析膜损耗及电能消耗极高，且不能处理二价离子。美国专利US5958744采用铵盐法提取丁二酸，但其结晶过程操作条件苛刻，需要高温裂解硫酸盐，步骤繁琐，难度大。Lee SY等人（Process Biochemistry 41 (2006):1461）采用溶剂萃取法从发酵液中提取丁二酸，需使用昂贵而具有毒性的叔胺类萃取剂及助溶剂，残留溶剂的毒性对食品级及医药级丁二酸的质量存在安全隐患，此外还有溶剂回收问题。中国专利CN200810195852.5、CN200810195851.0采用离子交换法处理并分离提取丁二酸，由于丁二酸发酵液中含有大量杂质离子，导致树脂污染加重，交换容量迅速下降，树脂处理频繁，存在再生困难、洗脱剂用量及排污量大等问题。中国专利ZL200610086003.7采用微滤、超滤膜分离提取丁二酸，但由于发酵液酸化时产生大量硫酸镁，可能会导致产品硫酸盐超标或提取收率下降。此外上述分离提取丁二酸过程中多采用价格较为昂贵的活性炭进行脱色精制。总之，目前丁二酸的分离提取方法在简化工艺、提高产品质量及降低成本等方面仍有待改进。

纳滤（NF）是近20年来发展起来的一种新型膜分离技术，纳滤膜是拥有纳米级微孔的复合荷电膜，基于其筛分原理适合对分子量介于150~1000道尔顿有机分子进行分

离, 基于其电荷效应, 适合将单价离子与多价离子及中性物质分离。近年来将纳滤应用于生物产品分离已有专利报道, 多涉及抗生素浓缩、中草药提取、多糖纯化等领域, 如中国专利 CN1511839、CN1202121、CN1364764, 其目标产品的分子量 ≥ 250 道尔顿, 但鲜有将纳滤用于分子量 150 道尔顿以下产品的专利报道, 中国专利 CN101265179 将纳滤用于乳酸(分子量 90 道尔顿)的提取, 将乳酸透过纳滤膜与其它分子量较小的杂质分离。丁二酸的分子量仅为 118 道尔顿, 将纳滤技术用于其与小分子杂质及多价盐的分离, 并采用纳滤膜对其进行预浓缩, 经专利检索还未见报道。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是提供一种利用纳滤技术从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法, 以克服现有丁二酸提取方法存在的步骤多、收率低、排污大及产品质量不易控制的缺点。

为解决上述技术问题, 本发明所采用的技术方案如下:

一种利用纳滤从丁二酸发酵液中分离提取丁二酸的方法, 包括如下步骤:

(1) 采用微滤或板框加压过滤的方法, 对丁二酸发酵液进行预过滤, 以除去菌体及固体颗粒;

(2) 调节步骤(1)得到的滤液的 pH 值至 4.0~6.0, 进行超滤, 以除去蛋白等生物大分子, 收集超滤透过液;

(3) 调节超滤透过液的 pH 值至 3.0~4.0, 进行纳滤, 以除去色素、多价无机离子及未消耗的底物, 收集纳滤透过液;

(4) 调节含有丁二酸的纳滤透过液的 pH 值至 6.0~7.0, 再次进行纳滤, 以除去甲酸、乙酸等副产物及单价无机离子, 收集纳滤截留液, 实现预浓缩;

(5) 将步骤(4)得到的纳滤截留液进行减压蒸发浓缩;

(6) 浓缩液 50~70℃保温, 用氢氧化钠或碳酸钠将浓缩液调节至 pH8, 再冷却结晶、干燥, 得丁二酸二钠; 或者, 浓缩液 50~70℃保温, 用浓硫酸或浓盐酸将浓缩液调节至 pH2.0~3.0, 冷却结晶、干燥, 得丁二酸。

步骤(1)中, 所述的丁二酸发酵液由产丁二酸的菌株发酵制备而得, 丁二酸的浓度为 24~70g/L。

步骤(1)中, 所述微滤方法, 其微滤膜孔径为 0.1~0.2 μm , 膜组件形式为中空纤维式或管式膜, 膜材质为有机膜或无机陶瓷膜, 操作压力为 0.1~0.2Mpa, 操作温度为 15~40℃; 所述板框加压过滤方法, 发酵液中可加入适量的絮凝剂和助滤剂, 板框预涂助滤剂, 絮凝剂为非离子型、阴离子型高分子絮凝剂或无机絮凝剂, 助滤剂为珍珠岩或硅藻土。

步骤(2)中,所使用的超滤膜截留分子量为 5000~150000 道尔顿,膜组件形式为卷式或管式膜,其膜材质为有机膜或无机陶瓷膜,操作压力为 0.2~0.4Mpa,操作温度为 25~40℃。

步骤(3)中,所使用的纳滤膜为卷式有机膜,纳滤膜截留分子量为 150~350 道尔顿,优选为 150~160 道尔顿,操作压力为 1.0~2.5Mpa,操作温度为 25~40℃;当纳滤截留液浓缩至初始进料体积的 20%时,加入与纳滤截留液相同体积的去离子水进行渗滤,如此重复 2~3 次,当收集的纳滤透过液为原超滤液体积的 120~150%时,停止纳滤。

步骤(4)中,所使用的纳滤膜为卷式有机膜,纳滤膜截留分子量为 150~160 道尔顿,操作压力为 1.0~2.5Mpa,操作温度为 25~35℃;当纳滤截留液浓缩至初始进料体积的 20%时,加入与纳滤截留液相同体积的去离子水进行渗滤,如此重复 2~3 次,直至纳滤截留液再次浓缩至初始进料体积的 20%时,停止纳滤。

步骤(5)中,将纳滤截留液在 65~75℃、-0.08~-0.1MPa 条件下,减压蒸发浓缩至原始纳滤截留液体积的 1/2~1/3。

步骤(6)中,冷却结晶条件为 4℃, 80rpm, 6~12h。

本发明利用纳滤从发酵液中分离提取丁二酸的方法流程图见图 1。

有益效果:本发明提供一种利用纳滤将生物法制备的丁二酸与发酵液中色素、未消耗底物、副产的甲酸、乙酸等生物小分子及各种无机离子分离的方法;并将脱色、纯化、脱盐及丁二酸的预浓缩在同一纳滤分离装置中完成,条件温和,操作简便,可缩短流程,节省设备投资;分离提取丁二酸或丁二酸二钠过程中不使用任何有机溶剂与活性炭,原料成本低;分离选择性好,产品质量高,安全性好,可直接用于食品与医药行业;环境友好,可回收发酵液中未消耗的底物。该法具有广泛的社会和经济效益。

附图说明

图 1 为利用纳滤从发酵液中分离提取丁二酸的方法流程图。

具体实施方式

根据下述实施例,可以更好地理解本发明。然而,本领域的技术人员容易理解,实施例所描述的具体的物料配比、工艺条件及其结果仅用于说明本发明,而不应限制权利要求书中所详细描述的本发明。

实施例 1:

以葡萄糖为碳源制备的丁二酸发酵液,其中含丁二酸 67g/L,乙酸 12g/L,甲酸 6g/L,葡萄糖 9g/L, pH6.7。

发酵液中添加阴离子型絮凝剂,以硅藻土为助滤剂进行板框压滤,过滤温度 70℃,

除菌率为 91%，蛋白去除率 27%，收集滤液；用硫酸调节滤液至 pH5.0，采用截留分子量为 150000 道尔顿的管式无机膜进行超滤，温度 35℃，操作压力 0.3Mpa，蛋白去除率 75%，收集超滤液，脱色率 27%；两次纳滤工序采用的纳滤膜截留分子量均为 150 道尔顿，用硫酸将超滤液调节至 pH3.0，进行纳滤分离，温度 25℃，操作压力 1.8Mpa，丁二酸透过率为 97.3%，葡萄糖截留率为 93%，硫酸根截留率为 94%，镁离子截留率为 88%，氨基氮截留率为 90%，蛋白截留率 100%，膜平均通量为 70L/m²·h，透过液为无色透明状，脱色率为 99.7%；用氢氧化钠将透过液调节至 pH6.5，再次进行纳滤，温度 35℃，操作压力 2.5Mpa，膜平均通量为 42L/m²·h，氯离子去除率为 78%，甲酸去除率为 84.5%，乙酸去除率为 64.4%，丁二酸截留率为 97.4%，丁二酸被预浓缩至 230g/L。

将纳滤截留液在 65℃下减压蒸发（真空度-0.1 MPa），浓缩至原体积的 1/3，保温 60℃，流加质量百分比为 30%的氢氧化钠溶液将其调节至 pH8，冷却结晶（4℃，12h，搅拌速度 80 转/分钟），离心过滤晶体，干燥后获得产品丁二酸二钠（干贝素），为白色结晶粉末，纯度达 99.5%，硫酸盐含量低于 0.002%，各项指标均符合 FCC IV 标准。

实施例 2：

以葡萄糖为碳源制备的丁二酸发酵液，其中含丁二酸 45g/L，乙酸 9g/L，甲酸 5g/L，不含葡萄糖，pH6.5。

用硫酸调节发酵液至 pH4.5 进行微滤，使用的管式无机微滤膜的孔径为 0.175μm，操作温度 40℃，操作压力为 0.1Mpa，除菌率为 99.8%，蛋白去除率 41%，收集滤液；用硫酸调节滤液至 pH4.5，采用截留分子量为 10000 道尔顿的卷式有机膜进行超滤，温度 25℃，操作压力 0.25Mpa，蛋白去除率 90%，收集超滤透过液，脱色率 68%；两次纳滤工序采用的纳滤膜截留分子量均为 160 道尔顿，用硫酸将超滤液调节至 pH4.0，进行纳滤分离，温度 25℃，操作压力 1.5Mpa，丁二酸透过率为 98.8%，硫酸根截留率为 90%，镁离子截留率为 84%，氨基氮截留率为 95%，蛋白截留率 100%，膜平均通量为 35L/m²·h，透过液为无色透明状，脱色率为 100%；用氢氧化钠将透过液调节至 pH6.0，再次进行纳滤，温度 40℃，操作压力 2.0Mpa，膜平均通量为 62L/m²·h，氯离子去除率为 91%，甲酸去除率为 81.0%，乙酸去除率为 61.0%，丁二酸截留率为 99.0%，丁二酸被预浓缩至 191g/L。

将纳滤截留液在 70℃下减压蒸发（真空度-0.09 MPa），浓缩至原体积的 1/2，保温 60℃，流加浓硫酸将其调节至 pH2.8，冷却结晶（4℃，8h，搅拌速度 80 转/分钟），离心过滤晶体，干燥后获得产品丁二酸，为白色结晶粉末，纯度达 99.7%，硫酸盐含量低于 0.002%，氯化物含量低于 0.005%，各项指标均符合 FCCIV 标准。

实施例 3:

以秸秆水解糖液为碳源制备的丁二酸发酵液,其中含丁二酸 51g/L,乙酸 11g/L,甲酸 7g/L,不含葡萄糖, pH6.4,

用硫酸调节发酵液至 pH4.0 进行微滤,使用的中空纤维式有机微滤膜的孔径为 0.1 μ m,操作温度 20 $^{\circ}$ C,除菌率为 99.5%,蛋白去除率 35%,收集滤液;用硫酸调节滤液至 pH4.0,采用截留分子量为 5000 道尔顿的卷式有机膜进行超滤,温度 40 $^{\circ}$ C,操作压力 0.3Mpa,蛋白去除率 95%,收集超滤液,脱色率 80%;两次纳滤工序采用的纳滤膜截留分子量均为 160 道尔顿,用硫酸将超滤液调节至 pH3.0,进行纳滤分离,温度 30 $^{\circ}$ C,操作压力 2.0Mpa,丁二酸透过率为 98.8%,硫酸根截留率为 89%,镁离子截留率为 86%,氨基氮截留率为 89%,蛋白截留率 100%,膜平均通量为 56L/m²·h,透过液为无色透明状,脱色率为 100%;用氢氧化钠将透过液调节至 pH7.0,再次进行纳滤,温度 35 $^{\circ}$ C,操作压力 2.5Mpa,膜平均通量为 30L/m²·h,氯离子去除率为 95%,甲酸去除率为 78.0%,乙酸去除率为 65%,丁二酸截留率为 98.5%,丁二酸被预浓缩至 218g/L。

将纳滤截留液在 70 $^{\circ}$ C 下减压蒸发(真空度-0.1MPa),浓缩至原体积的 1/2,保温 70 $^{\circ}$ C,流加浓盐酸将其调节至 pH2.5,冷却结晶(4 $^{\circ}$ C, 10h,搅拌速度 80 转/分钟),离心过滤晶体,干燥后获得产品丁二酸,为白色结晶粉末,纯度达 99.5%,硫酸盐含量低于 0.002%,氯化物含量低于 0.005%,各项指标均符合 FCCIV 标准。

实施例 4:

以秸秆水解糖液为碳源制备的丁二酸发酵液,其中含丁二酸 59g/L,乙酸 13g/L,甲酸 8g/L,葡萄糖 12g/L, pH6.7。

发酵液中添加非离子型絮凝剂,以珍珠岩为助滤剂进行板框压滤,过滤温度 80 $^{\circ}$ C,除菌率为 92%,蛋白去除率 10%,收集滤液;用硫酸调节滤液至 pH5.5,采用截留分子量为 8000 道尔顿的卷式有机膜进行超滤,温度 35 $^{\circ}$ C,操作压力 0.2Mpa,蛋白去除率 83%,收集超滤液,脱色率 65%;两次纳滤工序采用的纳滤膜截留分子量均为 150 道尔顿,用硫酸将超滤液调节至 pH3.0,进行纳滤分离,温度 30 $^{\circ}$ C,操作压力 2.5Mpa,丁二酸透过率为 99.1%,葡萄糖截留率为 89%,硫酸根截留率为 86%,镁离子截留率为 80%,氨基氮截留率为 96%,蛋白截留率 100%,膜平均通量为 55L/m²·h,透过液为无色透明状,脱色率为 99.5%;用氢氧化钠将透过液调节至 pH6.5,再次进行纳滤,温度 30 $^{\circ}$ C,操作压力 1.7Mpa,膜平均通量为 40L/m²·h,氯离子去除率为 90%,甲酸去除率为 88.5%,乙酸去除率为 67%,丁二酸截留率为 98.0%,丁二酸被预浓缩至 200g/L。

将纳滤截留液在 75 $^{\circ}$ C 下减压蒸发(真空度-0.08MPa),浓缩至原体积的 1/3,保温

60℃，流加质量百分比为 30%的碳酸钠溶液将其调节至 pH8，冷却结晶（4℃，8h，搅拌速度 80 转/分钟），离心过滤晶体，干燥后获得产品丁二酸二钠（干贝素），为白色结晶粉末，纯度达 99.8%，硫酸盐含量低于 0.002%，各项指标均符合 FCC IV 标准。

实施例 5：

以葡萄糖为碳源制备的丁二酸发酵液，其中含丁二酸 63g/L，乙酸 12g/L，甲酸 6g/L，不含葡萄糖，pH6.5。

用硫酸调节发酵液至 pH5.0 进行微滤，使用的管式无机微滤膜的孔径为 0.1μm，操作温度 30℃，操作压力为 0.15Mpa，除菌率为 99.9%，蛋白去除率 38%，收集滤液；用硫酸调节滤液至 pH4.5，采用截留分子量为 5000 道尔顿的卷式有机膜进行超滤，温度 30℃，操作压力 0.3Mpa，蛋白去除率 98%，收集超滤透过液，脱色率 65%；采用的纳滤膜截留分子量为 350 道尔顿，用硫酸将超滤液调节至 pH4.0，进行纳滤分离，温度 25℃，操作压力 1.8Mpa，丁二酸透过率为 99.3%，硫酸根截留率为 85%，镁离子截留率为 80%，氨基氮截留率为 76%，蛋白截留率 100%，膜平均通量为 53L/m²·h，透过液为无色透明状，脱色率为 100%；用氢氧化钠将透过液调节至 pH6.0，再次进行纳滤，纳滤膜截留分子量为 160 道尔顿，温度 40℃，操作压力 2.0Mpa，膜平均通量为 62L/m²·h，氯离子去除率为 91%，甲酸去除率为 79.0%，乙酸去除率为 68.6%，丁二酸截留率为 98.4%，丁二酸被预浓缩至 184g/L。

将纳滤截留液在 65℃下减压蒸发（真空度-0.1 MPa），浓缩至原体积的 1/2，保温 70℃，流加浓硫酸将其调节至 pH2.8，冷却结晶（4℃，8h，搅拌速度 80 转/分钟），离心过滤晶体，干燥后获得产品丁二酸，为白色结晶粉末，纯度达 99.4%，硫酸盐含量低于 0.002%，氯化物含量低于 0.005%，各项指标均符合 FCCIV 标准。

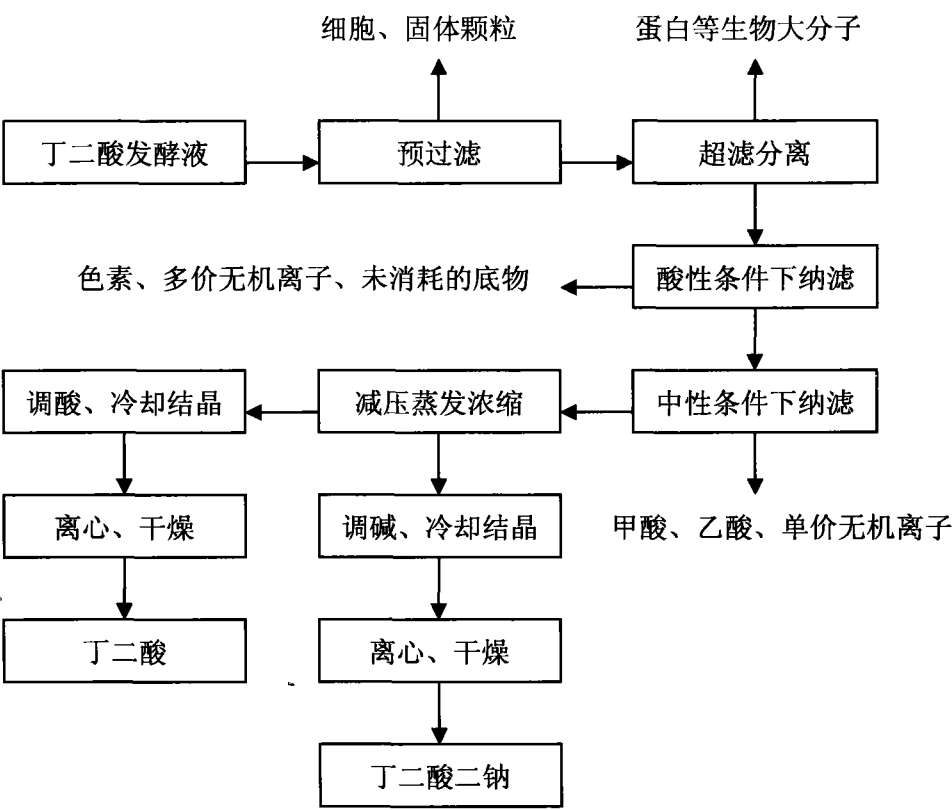


图 1