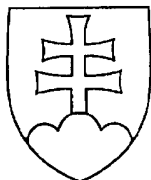


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: **640-99**  
(22) Dátum podania prihlášky: **14. 5. 1999**  
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **3. 6. 2003**  
Vestník ÚPV SR č.: **6/2003**  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **A 878/98**  
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **22. 5. 1998**  
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **AT**  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **13. 3. 2000**  
Vestník ÚPV SR č.: **03/2000**  
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **23. 5. 2003**  
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:  
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT:  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT:

(11) Číslo dokumentu:

# 283 377

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>:

**C07B 43/00**

**C07B 43/04**

**C07B 63/00**

(73) Majiteľ: **DSM Fine Chemicals Austria GmbH, Linz, AT;**

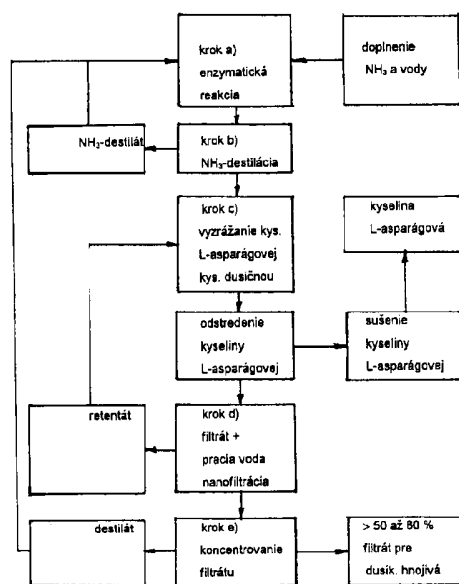
(72) Pôvodca: **Giselbrecht Karl-Heinz, Pasching, AT;**  
**Schaller Josef, Linz, AT;**

(74) Zástupca: **Tomeš Pavol, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Spôsob výroby kyseliny L-asparágovej**

(57) Anotácia:

Opisuje sa spôsob výroby kyseliny L-asparágovej, ktorý pozostáva z nasledujúcich krokov: a) kyselina fumarová reaguje s amoniakom na amónny L-aspartát v inertnom rozpúšťadle v prítomnosti aspartázy alebo mikroorganizmov produkujúcich aspartázu, b) odstráni sa prípadný nadbytočný amoniak z reakčnej zmesi, c) kyselina L-asparágová sa vyzráža prídavkom kyseliny dusičnej, oddelí sa, perie sa a suší sa, následne d) z vyzrážaného filtrátu sa pomocou nanofiltrácie oddelí zvyšok kyseliny L-asparágovej a zvyšok kyseliny fumarovej, retentát sa zavedie späť do kroku c) a e) filtrát z kroku d) sa koncentruje, pritom sa uvoľňujúci destilát s nadbytkom amoniaku, prípadne oddeleného v kroku b) pridáva opäť do kroku a) a koncentrovaný filtrát sa prípadne používa ako významná látka do dusíkatého hnojiva.



## Oblasť techniky

Vynález sa týka spôsobu výroby kyseliny L-asparágovej.

## Doterajší stav techniky

Kyselina L-asparágová je esenciálna východisková látka pre najrôznejšie aditíva pre farmaceutický priemysel a potravinársky priemysel. Kyselina L-asparágová sa používa napríklad na výrobu umelých sladidiel, ako aspartam. O výrobe kyseliny L-asparágovej sa preto už opisalo množstvo chemických a enzymatických postupov. Pri enzymatických variantoch sa kyselina L-asparágová získa spravidla enzymatickou adíciou amoniaku na kyselinu fumarovú s nasledujúcim vyzrážaním z takto získaného roztoku amónneho L-aspartátu.

Podľa stavu techniky sa môže vyzrážanie kyseliny L-asparágovej uskutočniť napríklad prídavkom kyseliny sírovej alebo kyseliny chlorovodíkovej alebo iných kyselín, ako kyseliny p-toluolsulfónovej.

Nevýhodami pritom však sú, že strata amoniaku je veľká a vylučuje sa veľké množstvo odpadovej vody s vysokou koncentráciou amónnych solí použitých kyselín.

Z tohto dôvodu sa skúša nájsť možnosť, ktorá znižuje problematiku odpadových vôd alebo ju úplne odstraňuje.

Podľa US 4 560 653 sa vyzrážanie kyseliny L-asparágovej uskutočňuje napríklad prídavkom kyseliny maleinovej. Po oddelení kyseliny L-asparágovej sa zostávajúci materský lúh podrobí izomerizačnému kroku, pri ktorom sa kyselina maleinová izomerizuje na kyselinu fumarovú pomocou katalyzátora obsahujúceho brómové ióny, čistí sa a znova sa privádza do enzymatickej reakcie.

Na obdenie izomerizačného kroku boli nájdené ďalšie vhodné prídavky na vyzrážanie kyseliny L-asparágovej.

V japonskom zverejnenom spise JP 08-33493 (Chem. Abstracts 124:315 167) sa opisuje použitie kyseliny fumarovej, prípadne solí kyseliny fumarovej ako prostriedku na zrážanie. Nevýhoda tohto variantu spôsobu spočíva v zlej rozpustnosti kyseliny fumarovej vo vode, čím sa pri spracovaní materského lúhu buď musí oddestilovať veľké množstvo vody alebo je potrebná veľmi zriedená cesta s veľkými reakčnými objemami.

## Podstata vynálezu

Predmetom vynálezu je preto spôsob výroby kyseliny L-asparágovej enzymokatalytickou reakciou kyseliny fumarovej s amoniakom na amónny L-aspartát v inertnom rozpúšťadle, z ktorého sa následne prídavkom kyseliny vyzeráza kyselina L-asparágová, ktorý je charakterizovaný tým, že

- kyselina fumarová reaguje s amoniakom na amónny L-aspartát v inertnom rozpúšťadle v prítomnosti aspartázy alebo mikroorganizmov produkujúcich aspartázu,
- odstráni sa prípadný nadbytočný amoniak z reakčnej zmesi a
- kyselina L-asparágová sa vyzeráza prídavkom kyseliny dusičnej, oddelí sa, perie sa a suší sa a následne
- z vyzerázaného filtrátu sa pomocou nanofiltrácie oddelí zvyšok kyseliny L-asparágovej a zvyšok kyseliny fumarovej, retentát sa zavedie späť do kroku c) a
- filtrát z kroku d) sa koncentruje, pritom sa uvoľňujúci destilát s nadbytkom amoniaku, prípadne oddeleného v kroku b), pridáva opäť do kroku a) a koncentrovaný filtrát sa prípadne používa ako významná látka pre dusíkaté hnojivo.

Pri spôsobe podľa vynálezu sa kyselina L-asparágová vyzeráza pomocou kyseliny dusičnej. Reakčné toky prebie-

hajú podľa vynálezu v kruhu. Spôsob podľa vynálezu je zrejmy z obrázka, v ktorom sú schematicky znázornené reakčné toky.

Koncentrovaný filtrát získaný v kroku e) sa môže použiť priamo ako významná látka pre dusíkaté hnojivo.

V prvom kroku spôsobu podľa vynálezu je ponechaná enzymatická reakcia kyseliny fumarovej s amoniakom. Reakcia pritom nastáva v inertnom rozpúšťadle. Ako inertné rozpúšťadlo sú vhodné voda, zmes vody s etanolom alebo vody s acetónom a podobne. Prednostne sa používa voda. Kyselina fumarová sa pritom môže použiť v koncentracii až k hranici rozpustnosti, takže sa získa buď roztok alebo suspenzia. Do tohto roztoku, prípadne suspenzie, sa zavádza amoniak plyný, tekutý alebo v podobe 10 až 35 hmotn. % roztoku, čím sa teplota zvýši až na 60 °C a hodnota pH sa nastaví medzi 7 a 9.

Prednostne sa používa vodný 20 až 30 hmotn. % roztok amoniaku. Do takto získaného systému, prednostne roztoku, sa potom pri 20 až 60 °C, prednostne pri 30 až 50 °C zamieša enzým aspartáza alebo mikroorganizmus produkujúci aspartázu. Pri tomto prídavku enzýmu aspartázy alebo mikroorganizmu produkujúceho aspartázu je výhodné, keď sa prídavkom amoniaku získa roztok, pretože v prípade suspenzie je vplyvom adsorpcie enzýmu a tým podmienenej straty aktivity potrebné viac enzýmu. Pre takmer kvantitatívnu reakciu po až 24 až 30 hodinách je pritom potrebné 30 až 50 IU (enzymatická aktivita) na mol kyseliny fumarovej.

Mikroorganizmy produkujúce aspartázu sú napríklad *Pseudomonas fluorescens*, *Protens vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Bacterium succinum*, *Bacillus subtilis*, *Aerobacter aerogenes*, *Micrococcus sp.*, *Escherichia coli* a podobne.

Ďalšie vhodné mikroorganizmy produkujúce aspartázu sú opísané napríklad v US 3 791 926 a US 3 198 712.

Pri spôsobe podľa vynálezu sa ďalej môže použiť čistená alebo syntetická aspartáza. Enzým, respektíve mikroorganizmus produkujúci aspartázu sa môže pridávať v tekutej alebo vo viazanej podobe, ako je opísané v EP 0 127 940.

Po úplnej reakcii, koniec reakcie sa môže zistiť napríklad fotometricky, nastáva podľa kroku b) prípadne oddelenie amoniaku destiláciou alebo stripovaním.

Krok b) môže nastať pri normálnom tlaku alebo pri redukovanom tlaku a pri teplotách 30 až 110 °C, prednostne pri 40 až 90 °C.

Nadbytočný amoniak sa pritom z reakčnej zmesi odstráni pomocou priebežných destilačných metód, napríklad pomocou tenkovrstvovej odparky a podobne. Podľa destilačnej metódy sa pritom pracuje prednostne pri normálnom tlaku alebo pri redukovanom tlaku medzi 80 až 200 mbar. Takto získaný destilát amoniaku sa opätovne používa ako edukt pre nasledujúcu ďalšiu enzymatickú reakciu a) spoločne s destilátom z nasledujúceho kroku d).

Po oddelení amoniaku alebo priamo v nadväznosti na krok a) nastáva v kroku c) vyzeráza kyseliny L-asparágovej.

K tomu sa k roztoku amónneho L-aspartátu pridáva kyselina dusičná, až sa docielí hodnota pH medzi 2 a 5, prednostne až k izoelektrickému bodu. Kyselina dusičná sa prednostne pridáva ako 10 až 65 %, prednostne ako 60 % kyselina dusičná. Teplota reakčnej zmesi pritom je medzi 15 a 60 °C, prednostne medzi 20 a 35 °C.

Vedľa kyseliny dusičnej sa k roztoku amónneho L-aspartátu pridá z druhého reakčného cyklu retentát z nanofiltrácie filtrátu po zrážaní, získaný v nasledujúcom kroku d) a obsahujúci zvyškové množstvo kyseliny L-asparágovej a kyseliny fumarovej.

Následne sa reakčná zmes ochladí, prednostne na 0 až 15 °C, oddelí sa vykryštalizovaná kyselina L-asparágová, napríklad filtráciou, najmä absorpčnou filtráciou alebo od-

stredním. Prednostne sa kyselina L-asparágová oddeľuje odstredním alebo dekantáciou.

Odfiltrované kryštály kyseliny L-asparágovej sa následne perú, prednostne vodou a sušia. Pracná voda sa pritom môže zaviesť späť do kroku a) a prednostne sa podrobiť nasledujúcej nanofiltrácii. Filtrát zostávajúci po vyzrážaní, získaný po oddelení kyseliny L-asparágovej, a pracná voda sa potom v kroku d) podrobí nanofiltrácii. Hodnota pH pritom je prednostne medzi 4 a 11, najmä prednostne medzi 7 a 10 a prednostne sa nastaví pomocou  $\text{NH}_3$ . Tlak je prednostne medzi 1 až 50 barov. Teplota je prednostne 10 až 50 °C, najmä prednostne 15 až 30 °C. Nanofiltráciu sa môže získať späť z filtrátu kyselina L-asparágová, obsiahnutá vo filtráte a zvyškové množstvo kyseliny fumarovej, ako amónnej soli, ktorá sa nachádza v retentáte. Takto získaný retentát sa vedie z druhého reakčného cyklu do kroku c) kryštalizačného procesu.

Filtrát získaný nanofiltráciou (cca 20 % roztok dusičnanu amónneho) sa v kroku e) koncentruje, napríklad odparným vodu, až sa získa 50 až 80 %, prednostne 60 až 70 % roztok dusičnanu amónneho. Tento roztok sa môže dodať ako organický bezuhlíkový roztok dusičnanu amónneho priamo ako východisková látka do dusíkatého hnojiva. Destilát zostávajúci po druhom reakčnom cykle po koncentracii sa pridáva s nadbytkom amoniaku, prípadne oddeľným v kroku b), do enzým katalytickej reakcie v kroku a).

Spôsobom podľa vynálezu sa môže získať kyselina L-asparágová v kvantitatívnom výťažku, to znamená až k 99 % a obsahom > 99,5 %.

#### Príklady uskutočnenia vynálezu

Do 850 ml (950 g) reakčného roztoku kyseliny L-asparágovej (DSM-Chemia Linz), obsahujúceho 240 g (1,8 mol) kyseliny L-asparágovej, vyrobenej reakciou 210 g (1,8 mol) kyseliny fumarovej, 200 ml 25 hmotn. % roztoku amoniaku v 280 ml  $\text{H}_2\text{O}$  v prítomnosti 0,08 ml roztoku aspartázy (1 100 IU/ml), bola pridaná 65 % kyselina dusičná, až bola dosiahnutá hodnota pH 2,7 (pozri tabuľka 1). Po 115 minútach bolo uskutočnené pomocou ľadu ochladenie na 0 °C, vyzrážaná usadenina sa odstredí, perie sa v 100 ml destilovanej vody a 10 min sa odstredí do sucha. Získalo sa 312 g pevnej látky s vlhkosťou 22,9 %. Toto zodpovedá 225,2 g (93,9 %) sušenej kyseliny L-asparágovej.

Ďalej sa získalo 123,7 g (124 ml) pracnej vody a 834,5 g (800 ml) filtrátu po zrážaní (materský lúh M1). Pracná voda a taktiež materský lúh M1 boli nastavené 25 % čpavkovou vodou na pH 9, a potom podrobené nanofiltrácii. Takto získaný 20 % roztok dusičnanu amónneho bol koncentrovaný na 65 %. Retentát bol pri ďalších vsádzkach opäť pridaný do kroku c) kryštalizačného procesu.

Tabuľka 1

čas (min.)	$\text{HNO}_3$ (g)	$\text{HNO}_3$ (ml)	pH	teplota
0	0	0	10,2	23,4
10	71	49	9,0	30,5
20	89	53	8,0	29,8
25	95	55	8,0	30,0
35	117	84	5,0	30,1
40	135	98	* 4,5 na 5,4	*30,1 na 31,3
55	150	108	5,4	30,6
65	166	133	5,0	32,6
90	229	166	4,5	32,2
100	247	178	4,0	32,5
105	255	184	3,5	32,4
110	259	188	3,0	32,2
115	262	190	2,7	31,8

\* začiatok kryštalizácie, krátky nárast hodnoty pH a teploty

#### PATENTOVÉ NÁROKY

1. Spôsob výroby kyseliny L-asparágovej enzým katalyticou reakciou kyseliny fumarovej s amoniakom na amónny L-aspartát v inertnom rozpúšťadle, z ktorého sa následne prídavkom kyseliny vyzráža kyselina L-asparágová, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že

a) kyselina fumarová reaguje s amoniakom na amónny L-aspartát v inertnom rozpúšťadle v prítomnosti aspartázy alebo mikroorganizmov produkujúcich aspartázu,

b) odstráni sa prípadný nadbytočný amoniak z reakčnej zmesi a

c) kyselina L-asparágová sa vyzráža prídavkom kyseliny dusičnej, oddelí sa, perie sa a suší sa a následne

d) z vyzrážaného filtrátu sa pomocou nanofiltrácie oddelí zvyšok kyseliny L-asparágovej a zvyšok kyseliny fumarovej, retentát sa zavedie späť do kroku c) a

e) filtrát z kroku d) sa koncentruje, pritom sa uvoľňujúci destilát s nadbytkom amoniaku, prípadne oddeleného v kroku b), pridáva opäť do kroku a) a koncentrovaný filtrát sa prípadne používa ako významná látka pre dusíkaté hnojivo.

2. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že ako rozpúšťadlo sa v kroku a) používa voda, zmes voda/etanol alebo zmes voda/acetón.

3. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa krok a) uskutočňuje pri hodnote pH medzi 7 a 9.

4. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa destiluje podľa kroku b) pri teplotách medzi 30 a 110 °C a pri normálnom tlaku alebo pri redukovanom tlaku.

5. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa krok c) uskutočňuje pri hodnote pH medzi 2 a 5.

6. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa krok c) uskutočňuje pri teplote medzi 15 a 60 °C.

7. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa nanofiltrácia v kroku d) uskutočňuje pri hodnote pH medzi 4 a 11, tlaku medzi 1 a 50 barov a teploty medzi 10 a 50 °C.

8. Spôsob podľa nároku 7, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že hodnota pH je medzi 7 a 10.

9. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa filtrát z kroku d) koncentruje na 50 až 80 % roztok.

Koniec dokumentu