



(21) 申请号 202111467920.0

C07C 237/06 (2006.01)

(22) 申请日 2021.12.02

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 102643209 A, 2012.08.22

申请公布号 CN 113968794 A

CN 102924321 A, 2013.02.13

(43) 申请公布日 2022.01.25

审查员 冯媛

(73) 专利权人 大连医诺生物股份有限公司

地址 116600 辽宁省大连市经济技术开发区49号

(72) 发明人 王碧 洪永德 范超 阮超 刘军
陈剑彬 吴文忠

(74) 专利代理机构 大连格智知识产权代理有限公司 21238

专利代理师 刘晓琴

(51) Int. Cl.

C07C 231/24 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种分离纯化谷氨酰胺的工艺方法

(57) 摘要

本发明公开了一种从发酵液中分离提取L-谷氨酰胺的工艺,其包括:陶滤微滤、脱色、加入试剂I、浓缩、结晶、洗晶、干燥等步骤。其中,所述试剂I选自3-乙酰吡啶、(2,2,6,6-四甲基-4-哌啶基)-1,3-苯二酰胺、2,6-二叔丁基吡啶、N-甲基-N-乙烯基乙酰胺中的至少一种。所述试剂I增加了L-谷氨酰胺热稳定性,耐酸碱的稳定性;杂质不易析出,大大提高产品收率;同时试剂I的用量为ppm级,不会残留在产品中。该工艺不使用离子交换步骤,节省酸、碱,减少废水、废液。产品纯度99.0%以上,且产品收率90%以上。具有良好的工业化应用前景。

1. 一种从发酵液中分离提取L-谷氨酰胺的工艺,其特征在于,其包括如下步骤:微滤、脱色、加入试剂I获得混合液、浓缩、结晶;所述的试剂I选自3-乙酰吡啶、(2,2,6,6-四甲基-4-哌啶基)-1,3-苯二酰胺、2,6-二叔丁基吡啶、N-甲基-N-乙烯基乙酰胺中的至少一种;所述的试剂I在混合液中的浓度为10~1000ppm;所述加入试剂I的步骤后还调节溶液的pH至5.2~6.0。

2. 根据权利要求1所述的工艺,其特征在于,所述的试剂I在混合液中的浓度为150-250ppm。

3. 根据权利要求1所述的工艺,其特征在于,所述微滤步骤包括:将发酵液调节pH6.5~7.5后,经孔径0.2~0.5 μ m的滤膜过滤,收集滤过液。

4. 根据权利要求3所述的工艺,其特征在于,所述的滤膜选自陶瓷膜、玻璃膜、聚四氟乙烯膜、混合纤维素膜中的至少一种。

5. 根据权利要求1所述的工艺,其特征在于,所述脱色步骤包括:加入滤过液质量0.02~2wt%的脱色剂进行除杂脱色,所述脱色剂选自活性白土和/或粉末活性炭。

6. 根据权利要求5所述的工艺,其特征在于,所述脱色剂加入量为滤液质量的0.1~0.5wt%。

7. 根据权利要求1所述的工艺,其特征在于,所述浓缩步骤包括:在-0.08~-0.098Mpa的真空度,且50~75℃温度下,对混合液进行减压浓缩。

8. 根据权利要求1所述的工艺,其特征在于,所述结晶步骤包括:在0~25℃下,搅拌结晶至少2h,搅拌速率50~200rpm,过滤。

一种分离纯化谷氨酰胺的工艺方法

技术领域

[0001] 本发明涉及涉及生物化工领域,具体涉及一种谷氨酰胺分离提取的工艺方法。

背景技术

[0002] L-谷氨酰胺(L-glutamine,L-Gln)是有L-谷氨酸的 γ -羧基酰胺化成的一种氨基酸,化学名2,5-二氨基-5-氧代戊酸,相对分子质量146.15,分子式:C₅H₁₀N₂O₃,是构成蛋白质的基本氨基酸之一。谷氨酰胺是白色斜方晶体或结晶性粉末;无臭,有微甜味,大约于185℃熔化并分解,结晶状态下稳定,溶于水,难溶于甲醇、乙醇、丙酮和乙酸乙酯等有机溶剂。等电点为5.65。

[0003] 谷氨酰胺除参与蛋白质合成外,其酰胺氮可作为氮源,参与核酸和糖蛋白等合成,与组织生长和修补有密切的关系。医学研究表明,人体谷氨酰胺缺乏将引发多种疾病,谷氨酰胺的补充对肌体各种机能具有广泛而重要的影响。谷氨酰胺有多种功能,如增强免疫功能、维护酸碱平衡、增加细胞体积、增强肌肉细胞蛋白质合成等。谷氨酰胺在医药领域的用途主要有以下方面:(1)用于治疗运动综合征和高强度劳动或运动后的疲劳恢复;(2)重建免疫系统(用于烧伤、艾滋病、关节炎等的治疗和康复);(3)治疗肝脏疾病和恢复肝脏功能;(4)减少癌症治疗中化疗和放射性治疗的副作用;(5)治疗腹部溃疡、阶段性回肠炎、过敏性肠炎、溃疡等;(6)广泛用于维持大脑功能,治疗癫痫、帕金森综合征、肌肉萎缩和酒精中毒。

[0004] 目前,谷氨酰胺的生产工艺主要有三种,即化学合成法、发酵法和酶转化法。其中发酵法是现今工业生产谷氨酰胺的主要方法。离子交换法是分离提纯采用的主要方法。因为发酵液中存在菌体、谷氨酸、蛋白质、糖类、无机盐等杂质,故通常是先对发酵液进行预处理(过滤、离心等),调节pH值,通过阴阳离子交换树脂柱进行分离,再对流出液进行浓缩结晶得到谷氨酰胺晶体。但采用离子交换方法树脂用量大,酸碱消耗多,并且L-谷氨酰胺遇热以及酸碱不稳定。在强酸性条件下会分解产生谷氨酸,收率会大大降低。此外,离子交换法酸碱废液容易造成环境污染。因此研究者在预处理方面提出了超滤、絮凝、电渗析等方法及其组合形式。除了用离子交换的方法,采用纳滤膜进行分离是目前研究的热点。主要是利用筛分效应以及离子与荷电膜之间的Donnan效应。纳滤膜法没有酸碱废水,但其成本相对较高,而且鉴于技术问题在其放大上有一定的困难。因此,本领域亟需一种新的技术解决L-谷氨酰胺提取工艺中的问题。

发明内容

[0005] 针对现有技术中的不足之处,本发明提供一种从发酵液中分离提取L-谷氨酰胺的工艺方法。该方法不使用离子交换步骤,节省酸、碱;大幅度减少了废水、废液的排放。在分离过程中,加入特定试剂,使得L-谷氨酰胺稳定性增高,提高产品收率。

[0006] 本发明提供了一种从发酵液中分离提取L-谷氨酰胺的工艺,其包括:微滤、脱色、加入试剂I获得混合液;浓缩、结晶、洗晶、干燥等步骤。所述的试剂I选自3-乙酰吡啶、(2,2,6,6-四甲基-4-哌啶基)-1,3-苯二酰胺、2,6-二叔丁基吡啶、N-甲基-N-乙烯基乙酰胺中的

至少一种。

[0007] 进一步地,所述的试剂I在混合液中的浓度为10~1000ppm;更优选的,所述的试剂I在混合液中的浓度为150~250ppm。进一步地,所述加入试剂I的步骤后还调节溶液的pH至5.2~6.0;更为优选的pH为5.65。所述调节pH的酸选用盐酸、磷酸、硫酸或硝酸,优选盐酸或硫酸,最优选盐酸。

[0008] 进一步地,所述微滤步骤包括:调节pH6.5~7.5后的发酵液经滤膜过滤,收集滤过液。

[0009] 进一步地,所述微滤步骤中,使用孔径0.2~0.5 μm 的滤膜对发酵液进行过滤,优选的滤膜选自陶瓷膜、玻璃膜、聚四氟乙烯膜、混合纤维素膜中的至少一种;最优选的孔径是0.3 μm ~0.45 μm 。

[0010] 进一步地,所述微滤步骤的温度为15~30 $^{\circ}\text{C}$,压力为1.5~2.0MPa。

[0011] 进一步地,所述脱色步骤包括:加入滤过液质量0.02~2wt%的脱色剂进行除杂脱色,所述脱色剂选自活性白土、粉末活性炭中的至少一种;更优选的,所述脱色剂加入量为滤液质量的0.1~0.5wt%。

[0012] 进一步地,所述减压浓缩步骤包括:在-0.08~-0.098Mpa的真空度,且50~75 $^{\circ}\text{C}$ 温度下,对混合液进行减压浓缩,按照浓缩后液体中的固含量计算,浓缩至浓缩液质量为固含量的2.25倍~3.5倍。

[0013] 进一步地,所述结晶步骤包括:在0~25 $^{\circ}\text{C}$ 下,搅拌结晶至少2h,搅拌速率50~200rpm,过滤;最优选3~5 $^{\circ}\text{C}$,搅拌结晶至少2h,搅拌速率100~150rpm。

[0014] 进一步地,所述洗晶步骤包括:将过滤后的晶体,加入1~4倍重量的40%~95%乙醇,搅拌洗晶至少20min,过滤;最优选2倍晶体重量的95%乙醇洗。

[0015] 进一步地,所述真空干燥步骤包括:在-0.08~-0.098Mpa的真空度下干燥,得到99.0%以上纯度的L-谷氨酰胺。

[0016] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0017] 本申请的技术方案是在浓缩结晶时加入试剂I,增加了L-谷氨酰胺热稳定性,耐酸碱的稳定性;L-谷氨酰胺发酵液中的谷氨酸杂质不易析出,相比之下浓缩更易分离得到L-谷氨酰胺,大大提高产品收率;同时避免了在浓缩结晶过程中,调pH过程等影响L-谷氨酰胺的收率;且试剂I的用量为ppm级,在最后洗晶工艺中,可以被乙醇直接洗涤干净,不会残留在产品中。本发明提供的工艺不使用离子交换步骤,节省酸、碱,大幅度减少了废水、废液的排放。最后产品品质高,纯度98.0%以上,且产品收率90%以上。

具体实施方式

[0018] 下面结合实施例对本发明作进一步说明,但应当理解本发明的保护范围并不受实施例的限制。本发明中,除非另有其他明确说明,否则百分比、百分含量均以质量计。如无特殊说明,所使用的实验方法均为常规方法,所用材料、试剂等均可从商业途径购买。

[0019] 实施例1

[0020] 取L-谷氨酰胺发酵液1L,L-谷氨酰胺含量60.3g。经孔径0.3 μm 的陶瓷膜对发酵液进行过滤,系统的温度为25 $^{\circ}\text{C}$,压力为1.5MPa。微滤清液加入0.5%的活性炭,搅拌脱色30min,过滤。脱色液中,加入200ppm的3-乙酰基吡啶,常温搅拌30min,混匀。盐酸调节pH至

5.65,在-0.098Mpa的真空度,且75℃温度下减压浓缩至脱色液固含量的2.5倍。收集浓缩液,在4℃下,搅拌结晶,搅拌速率100rpm;过滤,过滤晶体加入2倍95%乙醇洗晶30min,过滤,真空干燥最终获得L-谷氨酰胺55.8g,收率92.0%,纯度99.7%。

[0021] 实施例2

[0022] 取L-谷氨酰胺发酵液1L,L-谷氨酰胺含量60.3g。经孔径0.3μm的陶瓷膜对发酵液进行过滤,系统的温度为25℃,压力为1.5MPa。微滤清液加入0.5%的活性炭,搅拌脱色30min,过滤。脱色液中,加入100ppm的3-乙酰基吡啶,常温搅拌30min,混匀。盐酸调节pH至5.65,在-0.098Mpa的真空度,且75℃温度下减压浓缩至脱色液固含量的2.5倍。收集浓缩液,在4℃下,搅拌结晶,搅拌速率100rpm;过滤,过滤晶体加入2倍95%乙醇洗晶30min,过滤,真空干燥最终获得L-谷氨酰胺50.5g,收率82.1%,纯度98.1%。

[0023] 实施例3

[0024] 取L-谷氨酰胺发酵液1L,L-谷氨酰胺含量60.3g。经孔径0.3μm的陶瓷膜对发酵液进行过滤,系统的温度为25℃,压力为1.5MPa。微滤清液加入0.5%的活性炭,搅拌脱色30min,过滤。脱色液中,加入500ppm的3-乙酰基吡啶,常温搅拌30min,混匀。盐酸调节pH至5.65,在-0.098Mpa的真空度,且75℃温度下减压浓缩至脱色液固含量的2.5倍。收集浓缩液,在4℃下,搅拌结晶,搅拌速率100rpm;过滤,过滤晶体加入2倍95%乙醇洗晶30min,过滤,真空干燥最终获得L-谷氨酰胺54.0g,收率89.0%,纯度99.4%。

[0025] 实施例4

[0026] 取L-谷氨酰胺发酵液1L,L-谷氨酰胺含量60.3g。经孔径0.3μm的陶瓷膜对发酵液进行过滤,系统的温度为25℃,压力为1.5MPa。微滤清液加入0.5%的活性炭,搅拌脱色30min,过滤。脱色液中,加入200ppm的3-乙酰基吡啶,常温搅拌30min,混匀。盐酸调节pH至5.65,在-0.098Mpa的真空度,且75℃温度下减压浓缩至脱色液固含量的2.5倍。收集浓缩液,在4℃下,搅拌结晶,搅拌速率100rpm;过滤,过滤晶体加入2倍40%乙醇洗晶30min,过滤,真空干燥最终获得L-谷氨酰胺51g,收率94.1%,纯度99.4%。

[0027] 对比例1

[0028] 专利CN106434781B实施例工艺路线:发酵液-微滤-絮凝-等电点沉降-再次絮凝-清液浓缩,等电点结晶;结果:收率88.6%,纯度99.1%。

[0029] 专利CN104745666 B实施例工艺路线:发酵液-微滤-一次结晶-复溶、强酸阳离子交换、弱碱阴离子交换、弱酸阳离子交换-活性炭脱色-单效低温浓缩-5℃结晶10h;结果:收率67%,纯度98%。

[0030] 专利CN102924321B实施例工艺路线:发酵液-微滤-浓缩、7℃结晶10h-0.5倍水洗-复溶、阳、阴离子交换-纳滤-脱色-二次结晶10℃、10h结果:收率64%,纯度99.1%。

[0031] 对比例2

[0032] 取三组L-谷氨酰胺发酵液作平行实验,各组均为1L,且L-谷氨酰胺含量分别为61.7g、63.1g、60.3g。分别经孔径0.3μm的陶瓷膜对发酵液进行过滤,系统的温度为25℃,压力为1.5MPa。微滤清液加入0.5%的活性炭,搅拌脱色30min,过滤。三组脱色液中,均不加入试剂I。常温搅拌30min,混匀。盐酸调节pH至5.65,在-0.098Mpa的真空度,且75℃温度下减压浓缩至脱色液固含量的2.5倍。收集浓缩液,在4℃下,分别搅拌结晶,搅拌速率100rpm;分别过滤,过滤晶体加入2倍95%乙醇洗晶30min,过滤,真空干燥最终获得L-谷氨酰胺,分别

称量后计算收率,收率分别为68.2%、65.9%、67.7%,经检测,纯度分别为93%,95%,97.0%。

[0033] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,本领域的技术人员在本发明披露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应该以权利要求书的保护范围为准。