



REPUBLIK
ÖSTERREICH
Patentamt

(10) Nummer: **AT 407 050 B**

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 2191/97
(22) Anmeldetag: 29.12.1997
(42) Beginn der Patentdauer: 15.04.2000
(45) Ausgabetag: 27.11.2000

(51) Int. Cl.⁷: **C12P 13/20**

(56) Entgegenhaltungen:
DE 3029348A1 US 4560653A

(73) Patentinhaber:
DSM CHEMIE LINZ GMBH
A-4021 LINZ, OBERÖSTERREICH (AT).

(72) Erfinder:
GISELBRECHT KARL-HEINZ DR.
PASCHING, OBERÖSTERREICH (AT).
SCHALLER JOSEF
LINZ, OBERÖSTERREICH (AT).

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON L-ASPARAGINSÄURE

(57) Verbessertes Verfahren zur Herstellung von L-Asparaginsäure durch enzymkatalysierte Umsetzung von Fumarsäure mit Ammoniak, bei welchem nach erfolgter Umsetzung überschüssiges Ammoniak aus dem Reaktionsgemisch entfernt, L-Asparaginsäure durch Zugabe von Essigsäure oder Ameisensäure ausgefällt wird, worauf aus der Mutterlauge unter Zugabe von Fumarsäure Ameisensäure und Essigsäure wieder freigesetzt werden und das abgespaltene Ammoniak sowie die freigesetzte Ameisen- oder Essigsäure und das bei der Freisetzung gebildete Ammoniumfumarat für nachfolgende Zyklen wiedereingesetzt werden.

AT 407 050 B

L-Asparaginsäure ist ein essentieller Ausgangsstoff für verschiedenste Additive für die pharmazeutische Industrie und den Nahrungsmittelsektor. Beispielsweise wird L-Asparaginsäure zur Herstellung von künstlichem Süßstoff, beispielsweise Aspartam, eingesetzt. Zur Herstellung von L-Asparaginsäure sind deshalb bereits eine Vielzahl von chemischen und enzymatischen Verfahren beschrieben. Bei den enzymatischen Varianten wird L-Asparaginsäure zumeist durch enzymatische Addition von Ammoniak an Fumarsäure mit nachfolgender Ausfällung aus der so erhaltenen L-Ammoniumaspartat-Lösung gewonnen.

Das Ausfällen von L-Asparaginsäure kann beispielsweise durch Zugabe einer Mineralsäure wie etwa Schwefelsäure oder Salzsäure oder anderer Säuren wie etwa p-Toluolsulfonsäure erfolgen.

Die Nachteile dabei sind jedoch, daß der Verlust an Ammoniak groß ist und eine große Menge an Abwasser mit einer hohen Konzentration an Ammoniumsalzen der verwendeten Säuren ausgeschieden wird.

Aus diesem Grund wurde versucht, Möglichkeiten zu finden, die Abwasserproblematik zu verringern oder gänzlich zu vermeiden.

Gemäß US 4,560,653 erfolgt das Ausfällen der L-Asparaginsäure beispielsweise durch Zugabe von Maleinsäure. Nach der Abtrennung von L-Asparaginsäure wird die verbleibende Mutterlauge einem Isomerisierungsschritt unterworfen, bei dem Maleinsäure in Fumarsäure etwa mittels eines Bromionen enthaltenden Katalysators isomerisiert wird, anschließend gereinigt und der enzymatischen Reaktion erneut zugeführt wird.

Um den Isomerisierungsschritt zu umgehen, wurde nach weiteren geeigneten Zusätzen zur Ausfällung von L-Asparaginsäure gesucht.

In JP 08-33493 A (Chem. Abstracts 1224: 315 167) wird die Verwendung von Fumarsäure bzw. Fumarsäuresalz als Fällungsmittel beschrieben. Der Nachteil dieser Verfahrensvariante liegt in der schlechten Wasserlöslichkeit von Fumarsäure, wodurch bei der Aufarbeitung der Mutterlauge entweder große Mengen an Wasser abdestilliert werden müssen oder eine sehr verdünnte Fahrweise mit großen Reaktionsvolumen erforderlich ist.

Aufgabe der Erfindung war es demnach, ein Verfahren zu finden, das die bisherigen Probleme bei der Ausfällung von L-Asparaginsäure vermeidet und das zu L-Asparaginsäure in hohen Ausbeuten und hoher Reinheit führt.

Unerwarteterweise konnte diese Aufgabe durch die Verwendung von Ameisensäure oder Essigsäure als Fällungsmittel und im Kreisfahren aller Reaktionsströme gelöst werden.

Gegenstand der Erfindung ist demnach, ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von L-Asparaginsäure durch enzymkatalysierte Umsetzung von Fumarsäure mit Ammoniak, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

- a) Fumarsäure in einem inerten Verdünnungsmittel in Gegenwart von Aspartase oder Aspartase-produzierenden Mikroorganismen mit Ammoniak zu Ammonium-L-Aspartat umgesetzt, anschließend
- b) Ammoniak aus dem Reaktionsgemisch entfernt und
- c) aus dem verbleibenden Reaktionsgemisch L-Asparaginsäure durch Zugabe von Ameisensäure oder Essigsäure ausgefällt, dann abgetrennt, gewaschen und getrocknet wird, sowie
- d) aus der mit dem Waschwasser vereinigten, Ammoniumformiat bzw. -acetat haltigen Mutterlauge unter Zugabe von Fumarsäure Ameisensäure bzw. Essigsäure freigesetzt,
- e) nach Filtration der so erhaltenen Ammoniumfumarat haltigen Lösung das Filtrat gegebenenfalls zusammen mit frischer Ameisensäure bzw. Essigsäure wiederum in Schritt c) zur Ausfällung von L-Asparaginsäure und
- f) das verbleibende Ammoniumfumarat mit dem Ammoniak aus Schritt b) vermennt und als Edukt in Schritt a) zugesetzt wird.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird L-Asparaginsäure mittels Ameisensäure oder Essigsäure ausgefällt. Die Reaktionsströme werden erfindungsgemäß alle im Kreis gefahren. Das erfindungsgemäße Verfahren ist aus Fig. 1 ersichtlich, in der die Reaktionsströme schematisch dargestellt sind.

Der erste Schritt des erfindungsgemäßen Verfahrens beinhaltet die enzymatische Reaktion der Fumarsäure mit Ammoniak. Die Reaktion findet dabei in einem inerten Verdünnungsmittel statt. Als inerte Verdünnungsmittel eignen sich Wasser, Wasser/Ethanol- oder Wasser/Aceton-Gemische

und dergleichen. Bevorzugt wird Wasser eingesetzt. Fumarsäure kann dabei in einer Konzentration bis zur Löslichkeitsgrenze verwendet werden, sodaß entweder eine Lösung oder aber eine Suspension erhalten wird. In diese Lösung bzw. Suspension wird Ammoniak gasförmig, verflüssigt oder in Form einer 10 bis 35 Gew.-%igen Lösung eingeleitet, wodurch sich die Temperatur bis zu 60 °C erhöht und sich ein pH-Wert zwischen 7 und 9 einstellt.

Bevorzugt wird eine wässrige 20 bis 30 Gew.-%ige Ammoniaklösung verwendet. In das so erhaltene System, vorzugsweise eine Lösung, wird sodann bei 20 bis 60°C, bevorzugt bei 30 bis 50°C, das Enzym Aspartase oder ein Aspartase-produzierender Mikroorganismus, eingerührt. Bei dieser Zugabe an Enzym- bzw. Aspartase-produzierenden Mikroorganismus ist es von Vorteil, wenn durch die Ammoniakzugabe eine Lösung erhalten wird, da im Falle einer Suspension durch Adsorption des Enzyms und dadurch bedingten Aktivitätsverlust mehr Enzym erforderlich ist. Für einen fast quantitativen Umsatz nach bis zu 24 bis 30 Stunden sind dabei 30 bis 50 IU (Enzymaktivität) pro Mol Fumarsäure erforderlich.

Aspartase-produzierende Mikroorganismen sind beispielsweise *Pseudomonas fluorescens*, *Protens vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Bacterium succinum*, *Bacillus subtilis*, *Aerobacter aerogenes*, *Micrococcus* sp. *Escherichia coli* u. a.

Weitere geeignete Aspartase-produzierende Mikroorganismen sind beispielsweise in US 3,791,926 und US 3,198,712 beschrieben.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren kann weiters gereinigte oder synthetische Aspartase eingesetzt werden. Das Enzym bzw. der Aspartase-produzierende Mikroorganismus kann in flüssiger oder in immobilisierter Form wie beispielsweise in EP 0 127 940 beschrieben, zugesetzt werden.

Nach vollendeter Reaktion, das Reaktionsende kann beispielsweise photometrisch ermittelt werden, erfolgt gemäß Schritt b) das Abtrennen von Ammoniak mittels Destination oder Strippen.

Schritt b) kann bei Normaldruck oder bei reduziertem Druck und bei Temperaturen von 30 bis 110°C, bevorzugt von 40 bis 90°C, erfolgen.

Überschüssiges Ammoniak wird dabei mittels geläufiger Destillationsmethoden, beispielsweise mittels Kurzweg- oder Dünnschichtverdampfer, Stripper u.s.w., aus dem Reaktionsgemisch entfernt. Je nach Destillationsmethode wird dabei entweder bevorzugt bei Normaldruck oder bei reduziertem Druck zwischen 80 und 200 mbar gearbeitet. Das so erhaltene Ammoniakdestillat wird in einem nachfolgenden Verfahrensschritt, Schritt f), bzw. als Edukt für eine nachfolgende weitere Enzymreaktion a) wiedereingesetzt.

Nach der Ammoniakentfernung erfolgt in Schritt c) das Ausfällen der L-Asparaginsäure.

Dazu wird der durch das Entfernen des Ammoniaks erhaltenen Monoammonium-L-Aspartat-Lösung Ameisensäure oder Essigsäure in einem molaren Verhältnis von Monoammonium-L-Aspartat zu Ameisensäure bzw. Essigsäure gleich 1 : 0,8 bis 2 bevorzugt 1 : 1 bis 1,2 zugesetzt. Bevorzugt wird Ameisensäure als Fällungsmittel eingesetzt. Der pH-Wert bei der Fällung liegt bevorzugt zwischen 4 und 6.

Ab dem zweiten Reaktionszyklus wird Ammoniumfumaratfiltrat, das freigesetzte Ameisensäure bzw. Essigsäure enthält, (erhalten aus dem nachfolgenden Schritt e)) der Monoammonium-L-Aspartat-Lösung als Fällungsmittel zugegeben. Um das gewünschte Molverhältnis zwischen Aspartat und Fällungsmittel zu erreichen, wird das Filtrat gegebenenfalls mit Ameisensäure bzw. Essigsäure ergänzt.

Die Reaktionstemperatur liegt zwischen 0 und 95°C, bevorzugt zwischen 20 und 90°C, besonders bevorzugt zwischen 40 und 70°C. Die auskristallisierte L-Asparaginsäure wird sodann aus dem Reaktionsgemisch abfiltriert, beispielsweise durch Absorptionsfiltration oder Zentrifugieren. Bevorzugt wird L-Asparaginsäure durch Zentrifugation abgetrennt. Die Filtriertemperatur liegt zwischen 10 und 70°C, bevorzugt zwischen 15 und 50°C. Die abfiltrierten Kristalle der L-Asparaginsäure werden abschließend gewaschen, vorzugsweise mit Wasser, und getrocknet. Aufgrund der sehr guten Löslichkeit von Ammoniakformiat bzw. -acetat ist für das Waschen der frisch gefällten L-Asparaginsäure nur sehr wenig Waschwasser notwendig. L-Asparaginsäure kann somit auch bei geringeren Temperaturen gewaschen werden. Enthält L-Asparaginsäure Ammoniumfumarat durch die Verwendung von Fumarsäure als Fällungsmittel, sind hingegen höhere Waschttemperaturen und Waschwassermengen notwendig.

Das verbleibende, nach Abtrennung von L-Asparaginsäure erhaltene Filtrat, sowie das beim

Waschen anfallende Waschwasser werden vereinigt, gegebenenfalls bis zur Hälfte eingedampft, mit Fumarsäure versetzt und zur Wiederfreisetzung der Ameisensäure bzw. Essigsäure, in Abhängigkeit von der gewählten Destillationsmethode unter reduziertem Druck oder Normaldruck bis auf Siedetemperatur erhitzt.

- 5 Bevorzugt erfolgt die Zugabe der Fumarsäure bei max. 100°C, besonders bevorzugt bei max. 70°C. Destillatwasser wird dabei gemeinsam mit einem kleinen Teil, etwa mit 1 bis 5 Mol% der Ameisensäure bzw. Essigsäure, abdestilliert.

Die verbleibende Lösung wird filtriert bzw. zentrifugiert, und das den Großteil der Ameisensäure bzw. Essigsäure enthaltende Ammonium-Fumarat-Filtrat wird ab dem zweiten
10 Zyklus in Schritt c) zur Ausfällung von L-Asparaginsäure wiedereingesetzt.

Dazu wird gegebenenfalls die bei der Freisetzung der Säure abdestillierte Menge durch Zugabe von frischer Ameisensäure bzw. Essigsäure ergänzt.

Der verbleibende Ammonium-Fumarat-Feststoff wird hingegen mit dem in Schritt b) abdestillierten Ammoniak vereinigt und ab dem zweiten Zyklus, der enzymkatalysierten Reaktion als Edukt in Schritt a) zugesetzt. Gleichzeitig wird die fehlende Ammoniakmenge durch Zugabe
15 von Ammoniak, bevorzugt in Form einer 10 bis 35 Gew.-%igen Lösung, ergänzt, sodaß wiederum ein pH-Wert zwischen 7 und 9 eingestellt wird.

Eventuell vorhandenes Ammoniumformiat stört die Enzymreaktion nicht.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren wird L-Asparaginsäure in einer Ausbeute von über
20 80%, bis zu 95 % und einem Gehalt von über 99,5 % erhalten.

Beispiel 1:

Von 900 ml (955 g) L-Asparaginsäure-Reaktionslösung, (DSM-Chemie Linz) enthaltend 240,6 g
25 (1,80 mol) L-Asparaginsäure, hergestellt durch Reaktion aus 210 g (1,8 mol) Fumarsäure 406 ml 25 Gew.-%ige Ammoniak-Lösung (366 g) in 420 ml H₂O in Gegenwart von 0,15 ml Aspartase-Lösung (1000 IU/ml), wurden am Rotavapor bei 75°C und 150 mbar 526 g NH₄OH abdestilliert. Der Sumpf wurde auf 955 g mit dest. H₂O verdünnt, Enzymreste abgesaugt und 82,8 g (1,8 mol) Ameisensäure bei 85°C zugegeben (pH 5,5). Nach 15 Minuten wurde der ausgefallene
30 Niederschlag bei 85 °C von der überstehenden Lösung abgetrennt.

Es wurden 251,9 g Feststoff (F1) und 744 g Mutterlauge 1 (Mula 1) erhalten. Die Mutterlauge (Mula 1) wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, und von dem dabei ausfallenden Feststoff abgetrennt.

Dabei wurden 51,7 g Feststoff (F 1.1) und 678,5 g Mutterlauge (Mula 1.1) erhalten.

Die beiden Feststoffmengen wurden vereinigt, mit 250 ml H₂O dest. vereinigt, auf Rückfluß
35 erhitzt auf Raumtemperatur abgekühlt und der ausgefallene Feststoff von der Mutterlauge abgetrennt.

Mula 2: 191 g

F2: 288,0 g (mit 30,1 % H₂O)

40 F2 wurde wiederum mit 250 ml H₂O dest. versetzt, erneut auf Rückflußtemperatur erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt.

Mula 3: 244 g

F3: 286,3 (mit 33,4 % H₂O)

45 F3 wurde bei 70°C und Vollvakuum getrocknet, wodurch 195,2 g (= 81,5 % d. Th.) L-Asparaginsäure (mit 0,1 % H₂O) erhalten wurden.

Zur Aufarbeitung der Mutterlaugen wurden sämtliche Chargen (Mula 1, 1.1,2 und 3) vereint (1130 g, 1060 ml) und am Rotavapor bei 70°C und ca. 150 mbar 525 ml H₂O abdestilliert. Der Sumpf (565 g) wurde mit 210 g (1,8 mol) Fumarsäure versetzt und auf Siedetemperatur (102°C) erhitzt, wodurch sämtlicher Feststoff gelöst wurde.

50 Anschließend wurde eine Vakuumdestillation bei 100 mbar und einem Rücklaufverhältnis von 5 : 1 durchgeführt.

Destillat 1: 100 g Sumpftemperatur 48,5 °C

Kopftemperatur 46,8 °C

Destillat 2: 102 g Sumpftemperatur 48,5 °C

55 Kopftemperatur 48,8 °C

Bei totaler Abnahme wurde weiterdestilliert.

Es wurden 1823 g Destillat insgesamt erhalten.

Der verbleibende Sumpf wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und der ausgefallene Feststoff abgesaut.

5 Mula 4: 543,8 g

F4: 360 g (18 % H₂O)

F4 (entspricht 2,1 mol Fumarsäure) wurden sodann in 441 g H₂O dest. gelöst, mit 353,5 g (2,1 mol) Ammoniak 25 %ig (pH 9,3), versetzt und in Gegenwart von 0,15 g Aspartase 24 Stunden bei 50°C im Trockenschrank reagieren gelassen.

10 Dabei wurde ein Umsatz von 99,1 % erzielt.

Beispiel 2:

Reaktionszyklus 1:

15 Der 1. Zyklus wurde analog Beispiel 1 durchgeführt.

Es wurden wiederum 195 g L-Asparaginsäure (0,1 % H₂O) erhalten (81,5 % d. Th.)

Der Gehalt an Ameisensäure betrug 0,1 %, der Gehalt an Fumarsäure 0,3 %; zur Aufarbeitung der Mutterlaugen wurden wiederum alle Chargen vereint und bei 70°C und ca. 150 mbar 525 g abdestilliert.

20 565 g Sumpf wurden wiederum mit 210 g (1,8 mol) Fumarsäure versetzt, auf Siedetemperatur (102°C) erhitzt, auf 10°C gekühlt und der ausgefallene Niederschlag abgetrennt.

369 g Mula 4 wurden erhalten. Der Feststoff (F4) wurde mit 100 ml H₂O dest. auf der Nutsche nachgewaschen.

F4: 367,8 g (32,6 % H₂O)

25 Waschwasser (W4): 115 g

Reaktionszyklus 2:

367,8 g F4 wurden mit 450 g H₂O dest. und 238,2 g (3,4 mol) Ammoniakwasser 25 %ig versetzt und in Gegenwart von 0,13 g Aspartase bei pH 8,7 und 50°C 72 Stunden im Trockenschrank reagieren gelassen.

30 Anschließend wurde die so erhaltene Reaktionslösung (1050 g, 945 ml) bei 70°C und ca. 150 mbar etwa zur Hälfte eingengt.

587,5 g Destillat

450 g Sumpf (Enzymreste wurden abfiltriert, pH 5,4).

35 Der Sumpf wurde auf 80°C erwärmt und so rasch als möglich mit Mischung aus Mula 4 und W4 aus Reaktionszyklus 1 und 14 g (17 %) Ameisensäure frisch zugegeben (pH 5,3).

Dabei wurde auf 10 °C gekühlt. Anschließend wurde der ausgefallene Feststoff (F5) abzentrifugiert und mit 200 ml H₂O (W5) nachgewaschen.

Mula 5: 606 g

W5: 203 g

40 F5: 262,4 g (40,4 % H₂O)

F5 wurde bei 75 °C und im Vakuum getrocknet.

Es wurden 154,2 g (64,6 % d. Th.) L-Asparaginsäure erhalten (Gehalt Ameisensäure 0,1 %, Gehalt Fumarsäure 0,3 %).

Mula 5 und W5 (791 g) wurden vereinigt und bei 70°C und ca. 150 mbar eingengt.

45 Der verbleibende Sumpf (500 g) wurde auf 80°C erhitzt und langsam mit 210 g (1,8 mol) Fumarsäure versetzt, auf Rückfluß erhitzt (105 °C) mit 300 ml H₂O dest. verdünnt, sodaß eine Lösung entstand (T 101°C), und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Der ausgefallene Feststoff (F6) wurde abzentrifugiert und gewaschen.

Mula 6: 634 g

50 W6: 104 g

F6: 296 g (12,3 % H₂O)

Reaktionszyklus 3:

F6 aus Reaktionszyklus 2 wurde mit 587 g Ammoniakdestillat aus Reaktionszyklus 2 und 177 g (2,52 mol) Ammoniak frisch versetzt und in Gegenwart von 0,2 ml Enzym bei 50°C 24 Stunden im Trockenschrank reagieren gelassen. (98,4 % Umsatz). Die so erhaltene Reaktionslösung (1015 g)

55

wurde bei 70°C und ca 150 mbar etwa zur Hälfte eingeeengt. (Destillat: 481 g)

Der verbleibende Sumpf (526 g) wurde nach Abfiltrieren von Enzymresten, auf 65°C erwärmt und langsam mit 738 g einer Mischung aus Mula 6 und W6 versetzt.

Anschließend wurde 2 Stunden bei 65°C gerührt, auf 10°C gekühlt, der ausgefallene Feststoff (F7) abzentrifugiert und mit 200 ml H₂O (W7) nachgewaschen.

Mula 7: 1019 g

W7: 200 g

F7: 168g (7,7 % H₂O)

F7 wurde bei 75°C im Vakuum getrocknet.

Es wurden 154,2 g (64,4 % d.Th.) L-Asparaginsäure erhalten.

Mula 7 und W7 wurden vereinigt und bei 70°C und 150 mbar eingeeengt.

504,6 g Sumpf wurden sodann auf 70°C erwärmt mit 210 g (1,8 mol) Fumarsäure und 100 ml H₂O versetzt, 2 h gerührt, auf Raumtemperatur gekühlt und der ausgefallene Feststoff (F8) abzentrifugiert und gewaschen (W8)

Mula 8: 337 g

W8: 196,4g

F8: 404 g (18,5 % H₂O)

Reaktionszyklus 4:

404 g F8 wurde mit 481 g Ammoniakdestillat aus Zyklus 3 und 177 g frischem Ammoniak versetzt und mit 0,2 ml Enzym bei pH 8,7 und 50°C 24 h reagieren gelassen (98,7 % Umsatz).

Die Aufarbeitungsschritte erfolgten analog den Zyklen 1 - 3.

Es wurden 315 g (131,8 % d. Th) an L-Asparaginsäure erhalten.

Abschließend wurde analog den Reaktionszyklen 1 - 4 ein fünfter Zyklus durchgeführt.

Die Mengenbilanz der 5 Zyklen ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1:

	FS	NH ₄ -FS	NH ₃	AS	L-Asp.	L-asp.	pH-L-Asp.-
	(mol)	(mol)	(mol)	(mol)	(mol)	(Ausbeute %)	Fällung
1. Zyklus:	1,80	1,80	4,32	1,80	1,46	81,50	5,5
2. Zyklus:	1,80	1,85	3,40	0,30	1,15	64,40	5,3
3. Zyklus:	1,80	1,95	2,50	0,00	1,10	62,60	5,0
4. Zyklus:	1,80	2,47	3,00	1,80	2,36	131,80	4,4
5. Zyklus:	1,80	1,84	3,00	0,00	1,81	100,80	4,4
Summe	9,00	9,91	16,22	3,90	7,89	88,58	

FS: Fumarsäure

NH₄FS: Ammoniumfumarat

AS: Ameisensäure

L-Asp: L-Asparaginsäure

PATENTANSPRÜCHE:

1. Verfahren zur Herstellung von L-Asparaginsäure durch enzymkatalysierte Umsetzung von Fumarsäure mit Ammoniak, dadurch gekennzeichnet, daß

a) Fumarsäure in einem inerten Verdünnungsmittel in Gegenwart von Aspartase oder Aspartase-produzierenden Mikroorganismen mit Ammoniak zu Ammonium-L-Aspartat umgesetzt, anschließend

b) Ammoniak aus dem Reaktionsgemisch entfernt und

c) aus dem verbleibenden Reaktionsgemisch L-Asparaginsäure durch Zugabe von Ameisensäure oder Essigsäure ausgefällt, dann abgetrennt, gewaschen und getrocknet wird, sowie

d) aus der mit dem Waschwasser vereinigten, Ammoniumformiat bzw. -acetat

- hältigen Mutterlauge unter Zugabe von Fumarsäure Ameisensäure bzw. Essigsäure freigesetzt,
- 5 e) nach Filtration der so erhaltenen Ammoniumfumarat-hältigen Lösung das Filtrat gegebenenfalls zusammen mit frischer Ameisensäure bzw. Essigsäure wiederum in Schritt c) zur Ausfällung von L-Asparaginsäure und
- f) das verbleibende Ammoniumfumarat mit dem Ammoniak aus Schritt b) vermengt und als Edukt in Schritt a) zugesetzt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Verdünnungsmittel in Schritt a) Wasser, Wasser/Ethanol- oder Wasser/Aceton-Gemisch verwendet werden.
- 10 3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Schritt a) bei einem pH-Wert zwischen 7 und 9 durchgeführt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in Schritt b) bei Temperaturen zwischen 30 und 110°C und bei Normaldruck oder bei reduziertem Druck abdestilliert wird.
- 15 5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in Schritt b) Ammoniak mittels Stripper, Kurzweg- oder Dünnschichtverdampfer abdestilliert wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Schritt c) bei einem pH-Wert zwischen 4 und 6 durchgeführt wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Schritt c) bei einer Temperatur zwischen 0 und 95°C durchgeführt wird.
- 20 8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in Schritt d) die Zugabe der Fumarsäure bei maximal 100°C, bevorzugt bei maximal 70°C erfolgt.
9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das in Schritt f) erhaltene Gemisch aus Ammoniumfumarat und Ammoniak aus Schritt b) mit Ammoniak bis zum Erreichen eines pH-Wertes zwischen 7 und 9 ergänzt und als Edukt in Schritt a) eingesetzt wird.
- 25

HIEZU 1 BLATT ZEICHNUNGEN

30

35

40

45

50

55

Figur 1:

