

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.

C12P 7/18 (2006.01)

C07C 29/141 (2006.01)

B01D 3/00 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0052677

(43) 공개일자 2006년05월19일

(21) 출원번호 10-2005-7020976

(22) 출원일자 2005년11월04일

번역문 제출일자 2005년11월04일

(86) 국제출원번호 PCT/US2004/014043

(87) 국제공개번호 WO 2004/101479

국제출원일자 2004년05월05일

국제공개일자 2004년11월25일

(30) 우선권주장 60/468,231 2003년05월06일 미국(US)

(71) 출원인 이 아이 듀폰 디 네모아 앤드 캄파니
미합중국 델라웨어주 (우편번호 19898) 월빙톤시 마마켓트 스트리트 1007
테이트 앤드 라일 인그레디언츠 아메리카스, 인크.
미합중국 아이엘 62521 데카츄어 이스트 엘도라도스트리트 2200口

(72) 발명자 아드케슨, 테니스, 마이클
미국 62526 일리노이주 데카터 델 오크 드라이브 3316
알습, 알버트, 더블유.
미국 19803 델라웨어주 월빙턴 브래들리 드라이브 2
아메스, 타일러, 티
미국 19803 델라웨어주 월빙턴 허스트 로드 19
추, 루이스, 알베르토
미국 62535 일리노이주 포르시스 크리스토퍼 드라이브 750
디즈니, 제임스, 엠.
미국 62521 일리노이주 데카터 델우드 코트 27
드라비스, 브라이언, 씨.
미국 46038 인디애나주 피셔즈 스탠리 테라스 11945
피츠기본, 패트릭
미국 19707 델라웨어주 호케신 시그널 힐 드라이브 11
가디, 제임스, 엠.
미국 62521 일리노이주 데카터 니클라우스 4595
갈라거, 에프., 글렌
미국 19808 델라웨어주 월빙턴 페어힐 드라이브 216
렌하트, 윌리엄, 에프.
미국 61937 일리노이주 러빙턴 박스 225이 루얼 루트 #1 웨스트오커 레
인 16
리벤스, 제퍼슨, 씨.
미국 62535 일리노이주 포르시스 스티븐스 크릭 씨클 916
루이벤, 마이클, 엘.
미국 19806 델라웨어주 월빙턴 아파트먼트 4씨 길핀 애비뉴 1301
씨판, 메이스
미국 19250 펜실베이니아주 란덴버그, 발리 코트 912
트로터, 로버트, 이.
미국 19803 델라웨어주 월빙턴 김슨 애비뉴 102

웬트, 그레고리, 엠.
 미국 47905 인디애나주 라파예트 퍼싱 3823
 유, 유진, 케이.
 미국 25311 웨스트 버지니아주 찰스턴 버지니아 스트리트 웨스트1550

(74) 대리인 장수길
 김영

심사청구 : 없음

(54) 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올의 정제

요약

당으로부터 1,3-프로판디올을 합성하도록 유전자 조작된 배양된 에스케리치아 콜라이(E. coli)의 발효액으로부터 1,3-프로판디올을 정제하는 방법이 제공된다. 기본 방법은 발효액 생성물 스트림의 여과, 이온 교환 및 증류를 수반하고, 바람직하게는 증류 과정 동안 생성물의 화학 환원을 포함한다. 1,3-프로판디올의 고도로 정제된 조성물이 또한 제공된다.

색인어

1,3-프로판디올, 발효액, 정밀여과, 한외여과, 나노여과

명세서

기술분야

본 발명은 1,3-프로판디올을 합성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 실질적으로 정제된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배경기술

폴리올 1,3-프로판디올(PDO)은 폴리에스테르, 폴리우레탄, 폴리에테르 및 환상 화합물을 포함한 다양한 중합체의 생성에 유용한 단량체이다. 이들 중합체는 궁극적으로 섬유, 필름, 코팅제, 복합 물질, 용매, 동결방지제, 코폴리에스테르 및 기타 부가 가치 용도에 사용된다.

1,3-프로판디올은 합성적으로 또는 발효에 의해 생성될 수 있다. 1,3-프로판디올을 생성하는 다양한 화학적 경로가 공지되어 있다. 예를 들어, 1,3-프로판디올은 1) 포스핀, 물, 일산화탄소, 수소 및 산의 존재하에 촉매상에서 에틸렌 옥사이드로부터; 2) 아크롤레인의 접촉 용액상 수화 반응 후 환원에 의해; 또는 3) 원소 주기율표의 VIII족의 원자를 갖는 촉매상에서 일산화탄소 및 수소의 존재하에 반응하는 탄화수소(예: 클리세롤)로부터 생성될 수 있다.

미국 특허 제5,686,276호, 미국 특허 제6,358,716호 및 미국 특허 제6,136,576호에 포함된, 발효에 의해 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올이 공지되어 있는데, 이들 특허에는 글루코즈 또는 다른 당과 같은 저렴한 탄소원을 사용하여 발효하는 동안 1,3-프로판디올을 합성할 수 있는 재조합 가공된 세균을 사용하는 방법이 개시되어 있다.

1,3-프로판디올을 생성하기 위한 합성 및 발효 경로는 둘다, 이 단량체로부터 생성된 중합체의 품질을 손상시킬 수 있는 잔여 물질을 생성한다. 특히, 발효에 의해 생성된 1,3-프로판디올은 폴리올의 색 및 냄새 양상의 한 원인이 되는, 궁극적으로는 그로부터 제조된 중합체에, 잔여 유기 불순물을 함유한다.

피셔(Fisher) 등은 WO 00/24918호에서 폴리올-생성 미생물에 의해 생성된 배양물로부터 폴리올 생성물을 정제하는 방법을 개시하고 있다. 이 방법은 미생물을 죽이거나 파괴함이 없이 미생물 균체 분리 및 단백질성 물질의 제거 또는 불활성

화를 포함하는 전처리 공정을 사용한다. 후속 정제 단계는 부유 또는 응집에 이어서 흡수/흡착과 같은 방법을 사용하면서, 이온 교환 크로마토그래피, 활성 탄소 처리, 증발 농축, 침전 및 결정화를 포함한 추가의 처리에 의해, 단백질성 물질을 추가로 제거 또는 불활성화함을 포함한다. 피셔 방법론의 주 목적은 단백질성 오염물질을 무시할 수 있는 수준 미만으로 제거하여 정제된 폴리올이 식품 등급 제품에 사용하기에 적합하도록 하는 것이다.

조지(George) 등은 미국 특허 제5,034,134호에서 에틸렌 글리콜 생성물 스트림을 적합한 반투과성 막과 접촉시킴으로써, 에틸렌 글리콜 생성물 스트림으로부터 불순물, 특히 지방족 유기 산을 분리하는 방법을 개시하고 있다. 이 방법의 주 목적은 자외선(UV) 흡수 물질 및 UV 흡수 전구체를 제거하여 폴리에스테르의 제조에 적합한 정제된 에틸 글리콜 단량체를 제조하는 것이다.

작동 유체(예: 동결방지 용액, 열전이 유체, 제빙제, 윤활제, 유압 유액, 저지제, 용매 및 흡수제)를 역삼투압하에 반투과성 막과 접촉시킴으로써, 이들 유체로부터 저급 글리콜(예: 모노에틸렌 글리콜, 1,2-프로필렌 글리콜 및 1,3-프로판디올)을 재활용하는 방법이 조지 등에게 허여된 미국 특허 제5,194,159호에 개시되어 있다.

하스(Haas) 등에게 허여된 미국 특허 제5,334,778호에는 고정상 또는 현탁 수소화 촉매의 존재하에 3-히드록시프로피온 알데히드로부터 생성된 1,3-프로판디올을 생성하는 방법이 개시되어 있는데, 이때 정제된 1,3-프로판디올의 잔여 카르보닐 함량은 500ppm 미만인 것으로 개시되어 있다.

다가 알콜의 수용액을 처리하여 중금속 성분, 오일 및 유기 오염물질을 제거하는 방법이 와이시에시예스(Woyciesjes) 등에게 허여된 미국 특허 제5,510,036호에 개시되어 있는데, 이 방법은 수용액의 일련의 pH 조절 및 다양한 침전제, 응집제 또는 응결제의 첨가를 포함한다. 침전된 오염물질은 여과 수단을 사용한 후, 임의로는 이온 교환 단계를 사용하여 수용액으로부터 제거된다.

하스 등에게 허여된 미국 특허 제6,232,512 B1호는 알콜-함유 반응 혼합물내의 아세탈 또는 케탈의 함량을 감소시키는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 환상 아세탈 또는 케탈을 함유하는 반응 혼합물을 pH 약 6.5 내지 7.0의 점적상(trickle-bed) 반응기에서 Pd 및(또는) Ru 활성화된 탄소 촉매를 사용하여 1,3-디옥소 구조로 수소화함을 포함한다.

1,3-프로판디올-기재 폴리에스테르를 제조하는 방법은 켈세이(Kelsey) 등에게 허여된 미국 특허 제6,245,879 B1호에 개시되어 있다. 이 방법은 먼저 테레프탈산 및 몰과량의 1,3-프로판디올을 중합하여 폴리트리메틸렌 테레프탈레이트를 생성함을 수반하는데, 이때 pH 조절 및 추가의 증류에 의해 반응의 증류물로부터 과량의 1,3-프로판디올이 회수된다. 그 다음, 회수된 1,3-프로판디올을 테레프탈산과의 추가의 반응을 위해 원래의 중합 반응 스트림으로 재순환시킨다. 임의로는, 반응 스트림을 보로히드라이드로 추가로 처리할 수 있다.

앤더슨(Anderson) 등의 WO 01/25467 A1호에는 에너지원, 무기 질소원, 인산염 및 비오틴, 및 알칼리 금속, 알칼리 토금속 및 전이 금속중에서 선택되는 하나 이상의 금속을 함유하는 발효 배지가 개시되어 있다. 개시된 배지는 발효 방법에 의해 폴리카르복실산, 폴리올 및 폴리히드록시산의 합성을 지속하는 데 도움이 된다고 기술되어 있다.

서카(Sirkar, A. K.)에게 허여된 미국 특허 제4,380,678호에는 알도즈를 폴리올로 변환시키기 위한 다단계 방법이 개시되어 있다. 이 방법은 먼저 고풍성 니켈 촉매를 사용하면서 pH를 알칼리성 조건으로 조절하여 고정상 반응에서 알도즈를 접촉 수소화한다. 그 다음, 생성된 알디톨을 제2 단계 고정상 반응에서 접촉 수소화 분해한다. 반응 생성물을 분리 단계에서 회수하고, 변환되지 않은 중질 알디톨을 제2 단계 고정상 대역으로 재순환시켜 추가로 수소화 분해시킬 수 있다.

충분한 순도의 단량체가 생물학적 방법에 의해 얻을 수 있는 유용한 고품질의 중합체를 생성할 수 있도록, 발효액으로부터 고도로 정제된, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 효율적으로 또한 경제적으로 얻기 위한 방법이 당업계에 필요하다. 추가로, 식물 및 다른 용도에 사용되는 중합체로의 중합을 포함한, 디올의 임의의 최종 용도를 위하여, 생물학적 또는 화학적 공급원을 포함한 임의의 공급원으로부터 유도된 1,3-프로판디올의 고도로 정제된 조성물을 얻기 위한 방법이 당업계에 필요하다.

발명의 요약

본 발명은 a) 발효액을 여과에 적용시키는 단계; b) 단계 a)의 생성물을 음이온 및 양이온 분자가 제거되는 이온 교환 정제에 적용시키는 단계; c) 단계 b)의 생성물을 둘 이상의 증류 칼럼을 포함하는 증류 과정에 적용시켜, 증류 칼럼중 하나에서

1,3-프로판디올의 비점을 초과하는 비점을 갖는 분자를 제거하고, 증류 칼럼중 다른 하나에서 1,3-프로판디올의 비점 미만의 비점을 갖는 분자를 제거하는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법에 관한 것이다.

바람직한 방식에서, 본 발명은 a) 발효액을 세라믹 직교류(crossflow) 정밀여과에 적용시켜, 발효액으로부터 유기체의 세포 생물량(biomass)을 제거하는 단계; b) 단계 a)의 생성물을 한외여과에 적용시켜, 약 5000달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 단계; c) 단계 b)의 생성물을 나선형(spiral wound) 증합체막을 사용하는 나노여과에 적용시켜, 약 200달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 단계; d) 단계 c)의 생성물을, 단계 c)의 생성물을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 약염기 음이온 교환 수지에 노출시킴을 포함하는 연속된 두 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; e) 단계 d)의 생성물내 물의 양을 증발에 의해 감소시키는 단계; f) 단계 e)의 생성물을 강염기 음이온 교환 수지와 혼합된 강한 양이온 교환 수지를 포함하는 수지 조성물에 노출시킴으로써 혼합 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; g) 단계 f)의 생성물을 연속된 두 증류에 적용시켜, 하나의 증류 칼럼에서 1,3-프로판디올의 비점을 초과하는 비점을 갖는 화합물을 제거하고, 다른 하나의 증류 칼럼에서 1,3-프로판디올의 비점 미만의 비점을 갖는 화합물을 제거하는 단계; h) 단계 g)의 생성물을 수소화 반응에 적용시키는 단계; 및 i) 단계 h)의 생성물을 연속된 두 증류에 적용시켜, 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 화합물을 제거하고 다른 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 낮은 비점을 갖는 화합물을 제거하는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법에 관한 것이다.

본 발명의 또 하나의 양상은 조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 400ppm 미만, 바람직하게는 약 300ppm 미만, 가장 바람직하게는 약 150ppm 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 또 하나의 양상은 1) 220nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.200 미만이고, 250nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.075 미만이고, 275nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.075 미만이거나; 2) 조성물의 $L^*a^*b^*$ 색가가 약 0.15 미만이고 275nm에서의 흡광도가 약 0.075 미만이거나; 3) 과산화물 조성이 약 10ppm 미만이거나; 또는 4) 총 유기 불순물의 농도가 약 400ppm 미만인 특징중 하나 이상을 갖는 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 또 하나의 양상은 조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 400ppm 미만, 바람직하게는 300ppm 미만, 가장 바람직하게는 약 150ppm 미만인, 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물에 관한 것이다.

발명의 상세한 설명

본 개시내용에 인용된 모든 참조문헌은 전체로서 본원에 참조로 인용된다.

본 발명의 양상은 1,3-프로판디올을 합성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 정제된, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 얻는 방법을 제공한다. 이 방법은 다수의 단계를 포함하는데, 이들중 일부는 순차적으로 수행되어야 하고, 일부는 다양한 순서로 수행될 수도 있다. 본 출원에 사용되는 용어는 하기 정의에 따라야 한다.

1,3-프로판디올, 1,3-프로판 디올, 3G, 프로판디올, 폴리올 및 PDO란 용어는 모두 본 개시내용에서 호환적으로 사용된다.

본 발명의 방법에 의해 생성되는 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 기술하기 위하여 본 출원인에 의해 사용되는 "실질적으로 정제된"이란, 1) 220nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.200 미만이고, 250nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.075 미만이고, 275nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.075 미만이거나; 2) 조성물의 $L^*a^*b^*$ 색가가 약 0.15 미만이고 270nm에서의 흡광도가 약 0.075 미만이거나; 3) 과산화물 조성이 약 10ppm 미만이거나; 또는 4) 총 유기 불순물의 농도가 약 400ppm 미만인 특징중 하나 이상을 갖는 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물을 가리킨다.

"생물학적으로 생성된"이란, 1,3-프로판디올이 특히 세균, 효모, 진균 및 다른 미생물의 균주를 포함한, 살아있는 유기체의 하나 이상의 종 또는 균주에 의해 합성됨을 뜻한다. 본 발명의 정제 방법은, 예를 들어 미국 특허 제5,686,276호에 개시된 바와 같이, 출원인에 의해 이미 개시된, 유전학적으로 가공된 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*, *E. coli*)에 의해 생성된 발효액의 사용을 기본으로 하여 설명되었다. 그러나, 다른 단일 유기체, 또는 유기체들의 혼합물은 1,3-프로판디올을 생물학적으로 생성하도록 개발될 수 있고, 본원에 개시된 방법은 이러한 유기체의 발효액내로 생성된 1,3-프로판디올을 효과적으로 실질적으로 정제할 것으로 생각된다.

또한, 본 출원인에 의해 본원에 개시된 정제 방법은 1,3-프로판디올이 아닌 글리콜(특히 에틸렌 글리콜, 디에틸렌 글리콜, 트리에틸렌 글리콜, 1,2-프로필렌 글리콜, 디프로필렌 글리콜, 트리프로필렌 글리콜, 네오펜틸 글리콜 및 비스페놀 A 포함)을 효과적으로 정제할 수 있다고 생각된다.

"발효"란, 생축매의 사용에 의해 기질(들)과 기타 영양분의 생성물(들)로의 반응을 촉진하는 시스템을 가리킨다. 생축매는 효소적으로 활성있는 전 유기체, 단리된 효소, 또는 이들의 임의의 혼합물 또는 성분일 수 있다. "생축매"는 기질(들)과 기타 영양분의 생성물(들)로의 화학 반응의 속도를 개시하거나 변화시킨다.

"b*" 값은 CIE L*a*b* 측정법 ASTM D6290에 의해 규정된, 분광광도계에 의해 결정된 "옐로우 블루(Yellow Blue)" 측정 값이다.

달리 기술하지 않는 한, 모든 비율, 부, 비 등은 중량 기준이다. 상표명은 대문자로 나타낸다. 또한, 양, 농도 또는 다른 값 또는 변수가 범위, 바람직한 범위 또는 열거된 바람직한 상한치와 바람직한 하한치로서 주어지는 경우, 범위들이 개별적으로 개시되어 있더라도, 임의의 범위 상한 또는 바람직한 값과 임의의 범위 하한 또는 바람직한 값의 임의의 쌍으로부터 형성된 모든 범위를 구체적으로 개시하는 것으로 이해되어야 한다.

정제 방법의 일반적인 설명

일반적인 본 발명의 방법은 1,3-프로판디올을 상업적으로 실행가능한 수준으로 합성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터의 1,3-프로판디올의 정제에 관한 것이다. 본 발명의 개시를 위하여, 본 발명자들은 본 발명자들에 의해 개발된, 이미 개시된 유전학적으로 가공된 에스케리치아 콜라이를 사용하는, 프로판디올로의 글루코즈의 발효를 기술할 것이다.

일반적인 발효 방법은, 예를 들어 상업적인 옥수수 가루로부터 이용가능한 부분 가수분해된 옥수수 전분과 같은, 임의의 수의 상업적으로 입수가능한 탄수화물 기질을 사용할 수 있다. 유전학적으로 가공된 에스케리치아 콜라이는 이 기질을 생육, 대사 에너지 및 1,3-프로판디올의 생성을 위하여 대사할 수 있다. 발효 방법론은 당업계에 널리 공지되어 있으며, 배치식, 연속식 또는 반연속식으로 수행될 수 있다. 최종-주기(end-cycle)의 발효 내용물은, 미생물 생물량을 제거하고 디올 생성물을 추가로 정제하기 전에, 임의로는 외부 열교환기에서 가열하여 미생물을 죽인다.

본 발명자들의 일반적인 방법의 바람직한 변형을 이하에 기술한다.

1. 여과

여과는 발효 배지로부터 세포 생물량, 미립자 및 고분자량의 오염물질을 제거하기 위하여 본 발명자들의 방법에 사용되는 초기 단계이다. 많은 여과 방법들이 사용자에게 의해 사용될 수 있다. 본 발명자들에 의해 채택된 바람직한 방법은 다음과 같이 3단계의 여과 과정을 사용한다.

물질을 먼저, 예를 들어 세라믹 요소를 사용하여 정밀여과하여 생물량을 제거할 수 있다.

그 다음, 정밀여과된 발효액을 한외여과에 적용시켜 약 5000달톤을 초과하는 분자량을 갖는 화합물을 제거할 수 있다.

그 다음, 한외여과된 발효액을 또한 막 요소를 사용하는 나노여과에 적용시켜 약 200 내지 400달톤을 초과하는 화합물, 예를 들어 고분자량의 당 및 염을 제거할 수 있다.

상기 여과로부터 세척된 잔류물을 건조하여 매립할 수 있다.

2. 이온 교환

그 다음, 프로판디올 및 다른 발효 부산물을 함유하는 여과된 발효액을, 바람직하게는 연속된 별개의 이온 교환 정제 단계를 사용하는 이온 교환 정제에 적용시킨다. 먼저, 예를 들어 발효액을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 약염기 음이온 교환 수지에 노출시킬 수 있다. 이러한 연속 단계는 바람직하게는 1회 반복된다.

바람직한 실시양태에서, 배양액은 그안의 물의 양을 약 25% 미만으로 감소시키기 위하여 임의로는 증발 단계에 적용된다.

그 다음, 배양액은 강산 양이온 교환 수지 및 강염기 음이온 교환 수지를 포함하는 혼합 수지 조성물을 사용하는 혼합 이온 교환 과정에 노출시킬 수 있다.

3. 증류

다음으로, 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점 및 낮은 비점을 갖는 오염물질을 제거하기 위하여 정련 공정을 수행한다. 예를 들어, 4개의 칼럼을 사용하는 바람직한 증류 공정을 사용할 수 있다. 먼저, 증류 칼럼은 추가의 물을 제거하고, 오버헤드(overhead) 물 스트림이 제거되고, 칼럼의 저부는 제2 증류 칼럼으로 공급되어 중질 불순물, 주로 글리세롤 및 잔여 당이 제거된다.

본 발명의 하나의 특히 바람직한 실시양태에서, 이 제2 칼럼으로부터의 오버헤드는, 예를 들어 비점 근처의 불순물을 후속 증류 칼럼에서 분리될 수 있는 화합물로 변환시키는 수소화 반응기에 의해 임의로는 화학 환원에 적용될 수 있다. 또한, 디올의 최종 용도에 문제가 되는 특징을 갖는 유기 불순물이 덜 문제가 되는 종으로 환원된다.

그 다음, 제3 증류 칼럼은 경질 불순물 오버헤드를 제거할 수 있는데, 그로부터 저부는 마지막 제4 칼럼으로 보내지고, 이곳에서 정제된 생성물은 오버헤드에서 취하여 저장된다. 이 제4 칼럼으로부터의 저부는 임의로는 정련 행렬중 제2 칼럼으로 재순환시킬 수 있다.

4가지 모든 증류 칼럼은 원치 않는 반응 및 생성물 열화를 최소화하기 위하여 진공하에 작동되어 작동 온도를 떨어뜨릴 수 있다.

최종 증류 칼럼의 생성물은 정제된 1,3-프로판디올을 포함할 것이다.

이제 상기 각 단계들을 이하에 더 명확하게 기술하겠다.

정밀여과

배양액으로부터의 1,3-프로판디올의 분리시, 먼저 발효 물질로부터 생물량을 제거하는 것이 바람직하다. 액체 배지로부터 세포 생물량 및 미립자 물질과 같은 미립자 물질을 제거하기 위하여 몇몇 널리 공지된 방법, 예를 들어 원심분리 또는 여과 과정의 변법이 당업계에서 공지되어 있다. 바람직한 제1 단계는 정밀여과, 예를 들어 세라믹 요소를 사용한 직교류 정밀여과이다. 세라믹 요소 정밀여과는 발효액으로부터의 생물량 분리를 포함한 다수의 상업적 규모의 용도를 갖는 확립된 기술이다. 세라믹 요소 직교류 정밀여과는 상업적 환경에서 다수의 고유의 이점을 제공한다.

바람직한 정밀여과 시스템은 바람직하게는 스테인레스강 하우징(housing)에 수용된 세라믹 요소로 이루어진다. 이 요소는 몇개의 막 층으로 코팅된 거친 다공성의 세라믹 지지체로 이루어진다. 실제 여과를 달성하는 바람직한 최종 막 층은 세라믹 요소내 통로의 표면에 적용되는 얇은 세라믹 층(두께 약 0.5 내지 2.0미크론)이다. 이들 막은, 예를 들어 독일 알렌에 본사가 있는 멤브라플로우 코포레이션(Membraflow Corporation)으로부터 상업적으로 입수가능하다. 막 지지체는 매우 투과성인 다공성 구조를 갖는 알파 알루미나로 이루어지고 매우 강하다. 지지체는 여과되는 액체가 고속으로 흐르는 평행 통로를 갖는다. 여액 또는 투과액은 이들 통로의 표면층인 막을 통해 흐른다. 그 다음, 투과액은 지지체를 통하여 요소를 제자리에 고정시키는 하우징내로 흐른다. 투과액은 하우징으로부터 헤더(header) 시스템내로 모여서 수확 탱크내로 흐른다. 임의로는, 여과된 고체를 함유하는 스트림(잔류물)은 통로로부터 나와 공급물과 혼합될 수 있는 헤더내로 통과하여 재순환된다.

정밀여과 유속에 대한 온도의 영향은 중요한 것으로 밝혀졌다. 10°F 정도의 작은 차이가 시스템 유속에 영향을 주었고 온도가 더 높아지면 유속이 증가하였다. 온도는 165°F 이상으로 유지되어야 한다. 상한 최대값은 설비의 한계 및 배양액에 대한 색의 기여도에 의존한다.

정밀여과 여과기를 제조자가 권장하는 대로 또한 사용자의 개별 공정 변수에 따라 청소하는 것이 필요할 것이다.

환의여과

생물량 및 세포 파편의 제거에 이어서, 여액의 나노여과 이전의 중간 여과 단계가 바람직할 수 있다. 이 단계의 목적은 나노여과 단계가 효율적이고 효과적일도록 매우 높은 분자량의 오염물질을 제거하는 것이다. 많은 중간 여과 방법이 이용 가능하지만, 본 출원인에 의해 선택된 한외여과의 바람직한 시스템은 약 60psi의 압력하에 약 5000달톤의 분자량 분리점(cutoff)을 갖는 막 여과를 포함한다.

나노여과

발효액의 정밀여과 및 한외여과가 완료되면, 발효액은 본질적으로 불용성 물질이 없다. 추가의 정제 및 증류 이전에 불순물을 실제적인 만큼 제거하는 것이 나노여과 공정의 목적이다. 이 시점의 주된 불순물은 잔여 사카라이드, 단백질, 배지염, 및 유기 산의 암모니아 염, 글리세롤, 1,2,4-부탄트리올 및 UV 흡수제를 포함한, 발효에 의해 생성된 성분들이다. 이들 불순물의 대부분을 제거하기 위한 본 출원인의 바람직한 방법은 나권형 막을 사용하는 나노여과이다. 본 출원인의 바람직한 나노여과는 그 성분들을 분리하기 위한 방법으로서 강하게 하전된 분자를 거부하는 크기 선택성 중합체 막을 사용한다. 현 유기체에 대한 본 출원인의 자료에 근거하여, 나노여과 투과액으로부터 잔여 사카라이드 및 단백질의 거의 100%가 제거될 수 있고, 460nm(가시 범위)에서의 UV 흡수제는 막에 의해 93% 거부되고, 이온 성분은 총 40 내지 60% 거부될 수 있는데, 이때 2가 양이온은 90% 거부되고, 약한 유기 산은 약 33% 거부된다. 순 전하가 거의 없거나 전혀 없는 더 작은 분자량의 성분(예: 프로판디올 및 글리세롤)은 막을 완전히 통과한다. 이러한 분리를 달성하기 위하여, 막을 통한 압력 차이는 염 농도 차이에 의해 발휘되는 삼투압보다 커야 한다. 본 출원인들은 이러한 압력 차이가 200psi 내지 600psi일 수 있고 압력 차이가 더 커지면 유속이 더 커지지만, 일반적으로 오염이 빨리 일어남을 발견하였다.

본 출원인에 의해 바람직한 중합체성 막은 작동 성능에 있어서 긍정적인 면과 부정적인 면을 갖는다. 긍정적인 면으로, 막은 손상없이 pH를 광범위하게 다룰 수 있다. 그러나, 분자량 분리점(그 이상인 분자가 거부되는 평균 크기)은 pH에 따라 변할 것임을 알아야 한다. 생성물 스트림이 더 산성일수록, 분자량 분리점은 더 작아진다. 다른 긍정적인 양상은 막이 세라믹에 비하여 상대적으로 저렴하다는 것이다. 이는 막의 더 짧은 수명(5-10년에 비하여 6개월)에 의해 다소 상쇄된다. 중합체성 막의 상부 온도 한계는 전형적인 상한이 150°F인 세라믹 요소보다 상당히 낮다. 이 한계는 제조사에 따라 달라지며 더 낮아질 수 있다. 중합체성 막은 염화물(예: 표백제) 또는 다른 산화제에 노출될 수 없다. 또한, 막은 철과 같은 용해된 금속에 의하여 비가역적으로 오염된다. 오염은, 공정 스트림보다는 세정수에 철이 존재하는 경우, 더욱 더 일반적으로 일어난다.

요소(elements)는, 예를 들어 오스모틱스 데살(Osmotics Desal)로부터 상업적으로 입수가 가능하다. 바람직하게는, 이 단계에 사용되는 요소는 분자량 분리점이 약 200 내지 400달톤이다.

이온 교환

여과 단계(들) 후에, 배양액 내의 주된 잔여 비프로판디올 성분은 글리세롤, 1,2,4-부탄트리올, 약한 이온, 및 UV 흡수제이다. 이온 교환은 이들 오염물질을 더 제거하기 위하여 본 출원인의 발명에 사용되는 그 다음 단계이다. 몇몇 일반적인 이온 교환 방법론은 정제 분야에 널리 공지되어 있다. 이온 및 UV 흡수제를 제거하기 위하여 본 출원인에 의해 사용되는 바람직한 기술은 스티렌-디비닐벤젠계 수지를 사용하는 이온 교환이다. 본 출원인은 열 스트레스에 적용될 때 염의 제거가 생성물의 색 안정성을 증진시킨다고 생각한다.

증류 이전에 나노여과된 배양액으로부터 불순물을 실제적인 만큼 제거하는 것이 이온 교환 공정의 목적이다. 주된 목표 불순물은 나노여과에 의해 제거되지 않는 약한 이온 및 가능한 많은 잔여 UV 흡수제이다. 이를 달성하기 위하여, 비드의 표면에 결합된 수소 이온과 배양액내의 양이온을 교환하고 수산화물 이온과 배양액내의 음이온을 교환하는 이온 교환 수지가 사용된다. 이는 수소와 수산화물 이온이, 배양액내 더 강한 전하의 이온을 선호하는 수지에 의해 매우 약하게 고정되어 있기 때문에 일어난다. 수지의 이온 교환 능력에 더하여, 수지의 기공은 임의의 크기 범위의 분자를 흡수하고 보유한다. 나노여과 후에 배양액내에 존재하는 UV 흡수제의 대부분은 이 범위에 속한다.

당업계에 널리 공지된 바와 같이, 일단 수지상의 모든 이용가능한 부위가 이온 교환되면, 수지는 다소 모되고 "재생"되어야 한다. 이는 양이온 상을 통해 산을 그리고 음이온 베드를 통해 부식제를 펌핑(pumping)함으로써 이루어진다. 산의 고농도의 수소 이온은 더 고도로 하전된 이온에 대한 인력을 압도하여 이들이 방출되도록 한다. 이들 양이온은 산 음이온의 염(이 경우에는 염화물)으로서 배출된다. 음이온 수지의 경우에도 그러한데, 배양액 음이온을 수산화물로 대체하고 이들을 나트륨 염으로 배출한다. 교환 부위를 재활성화하는 것 이외에, 수지에 의해 흡수된 분자는 재생물로 대체되고 염 폐액과 함께 배출된다. 주기적으로, 수지는 교차 재생에 의해 확장되어 흡수된 성분의 퍼징(purging)을 돕는다. 교차 재생은 정상적인 재생 이전에 화합물을 거꾸로 바꿈으로써(양이온의 경우 부식제 및 음이온의 경우 산) 이루어진다.

수지는 상당한 부위가 비가역적으로 오염되어 능력이 허용가능한 한계 아래로 감소될 때까지 계속하여 재활용될 수 있다. 소비된 수지는 새 수지로 대체하고 주기가 다시 시작된다. 수지 수명은 종종 주기 수에 의해 기술되고, 이는 개별 용도에 따라 변한다. 상업적으로 쉽게 이용가능한 수지에는 사용자 규격표가 동반될 것이다.

프로판디올 정제를 달성하는 것으로 밝혀진 가장 효과적이고 비용 민감성인 방법은 다음의 순서로 배열된, 연속된 이온 교환 칼럼을 수반한다: 강산 양이온(SAC), 약염기 음이온(WBA), 강산 양이온(SAC), 약염기 음이온(WBA), 및 강산 양이온과 강염기 음이온(SBA)의 혼합물로 이루어진 "혼합 상"(이후 기술됨). 이를 혼합 상 폴리시(polish)를 갖는 CACA 배열이라고 부른다. 증발 단계(이후 기술됨)는 임의로는 배양액을 이 혼합 상에 첨가하기 전에 일어난다.

바람직하게는, 강한 양이온/약한 음이온 칼럼의 제1 "쌍"은 불순물 제거의 대부분에 가장 효율적으로 영향을 끼칠 것이다. 양이온 수지에 의해 수소 이온이 방출되기 때문에, 배양액은 양이온 칼럼을 통과함에 따라 매우 산성이 된다. 공급물의 이온 하중(load)이 본 발명의 발효액과 같이 높은 경우, 배양액은 재생 조건과 유사한 정도로 산성이 되고, 생성물이 1회 양이온 통과로부터 얼마나 순수하게 얻어질 수 있는지를 제한한다. 배양액이 제1 음이온 칼럼을 통과함에 따라, 방출된 수산화물은 물을 생성하는 양이온 칼럼으로부터의 수소 이온을 중화한다. 이는 제1 음이온 칼럼이 염 분리(splitting)를 더 많이 하도록 하는데, 이는 재생 조건과 그렇게 빨리 유사해지지 않기 때문이다. 제1 음이온으로부터의 방출은 강한 염기성이어야 한다. 제1쌍의 자기-제한 성질 때문에, 매우 순수한 생성물을 얻기 위한 제2쌍이 바람직하다. 또한, 두 쌍을 연속배열 시킴으로써, 제1쌍은 재생 전에 그의 모든 능력을 사용하게 된다. 제1쌍이 다 소모되면, 공급물을 제2쌍에게 전환시키고 재생된 쌍은 연속배열의 다음 단계로서 밸브 조작된다.

증발

발효로부터 얻은 1,3-프로판디올의 정제에 관한 바람직한 실시양태에서, 생성물 스트림은 증류 이전에 수분 약 90%로부터 수분 약 20%로 농축된다. 비용때문에, 이 농축 단계를 최종 이온 교환 혼합 상 단계 이전에 수행하는 것이 특히 바람직하다. 제거되는 물은 발효, 정밀여과 투석여과, 나노여과 투석여과, 이온 교환 산성 완화, 및 상류 시스템을 세정하기 위해 도입된 임의의 물에서 생긴다. 액체내 수분 함량을 감소시키는 다수의 방법이 공지되어 있다. 하나의 바람직한 기술은 기계적 재압축(MR) 증발기이다.

본 출원인들은 증류를 위한 최상의 공급물중 하나는 UV 흡광도 및 가시 색 프로필에 의해 측정되는 저온 증발에 의해 생성됨을 알았다. 정제 공정 초기에, 비교적 높은 수준의 UV 흡광도를 갖는 증발 생성물에는 뚜렷한 갈색이 있을 것이다. 증발 진공 시스템의 개선은 더 높은 진공 및 감소된 증발 시간을 갖는 증발기에서 온도를 낮춤으로써 460nm에서의 흡광도를 0으로 낮출 수 있다.

상업적으로 효과적인 증발 시스템의 설계에 대한 하나의 중요 인자는 생성물이 도달하도록 허용되는 최대 온도이다. 본 출원인들의 자료는 155°F의 최대 온도가 안전하고, 장시간 동안(24시간 이하) 유지되더라도 260nm에서의 UV 흡광도를 거의 증가시키지 않을 것을 나타낸다. 그러나, 본 출원인들의 자료는 또한 유의적인 UV 흡광도가 장시간에 걸쳐 190°F의 온도에서 생성됨을 나타낸다.

시간-온도 문제를 더 복잡하게 만드는 것은, 증발 후의 증류 공정이 상당한 시간 동안 훨씬 더 높은 온도(230-300°F)에서 작동된다는 것이다. 증류 공급물 품질을 개선하더라도 최종 생성물 품질에 무의미할 수 있다. 따라서, 증발 설비의 설계는 최종 생성물 품질에 대한 순 영향을 근거로 하여야 한다. 약 190°F의 더 높은 온도 한계가 바람직하지만, 이 값은 여러가지 최종 생성물 품질 규격을 달성하기 위하여 사용자에게 의해 변경될 수 있다.

기계적 재압축 증발기의 원리는 큰 취입기 또는 송풍기를 사용하여 플래쉬(flash) 분리기에서 나오는 증기를 (진공하에 또는 약한 압력하에) 재압축하는 것이다. 증기를 재압축함으로써 증기의 온도가 상승한다. 이러한 더 고온의 증기를 추가의 증발을 위한 구동력으로서 스팀 대신에 사용한다. 시스템은 매우 에너지 효율적이어서, 종종 증발된 물의 파운드당 75BTU 정도의 에너지 이용률을 달성한다(마력 및 예열 스팀 합계).

바람직한 경우에서, 진공 시스템이 선택될 것이고, 2단계 응축 최종 단계(two-stage condenser off the last stage)가 사용될 것이다. 제1 응축기는 비등된 임의의 PDO를 회수하고 재생하도록 설계된다. 제2 응축기는 잔여 증기를 응축한다. 증발기를 나오는 응축물로부터의 열은 열 재활용 열교환기로 회수되거나 또는 고온수가 필요한 경우에 사용된다.

혼합 이온 교환을 갖는 폴리시

발효액을, 예를 들어 전술한 바와 같은 CACA 시스템의 4가지 이온 교환 칼럼을 사용하여 이온 교환시키고, 임의로는 증발시킨 후, 추가로 강한 염기 음이온에 적용시키는 것이 최대 정제를 위하여 바람직하다. 따라서, 강한 염기 혼합 상 폴리시 칼럼을 추가함으로써, 본 발명자들은 낮은 운전 비용의 공정을 유지하면서도 가능한 최상의 품질을 얻는다. 혼합 상 칼럼은 그 이름이 암시하는 바와 같다. 양이온 및 음이온 수지는 이들의 개별 교환 능력에 맞는 비율로 혼합된다. 상기 수지를 혼합함으로써, 상을 통해 흐르는 생성물의 pH는 칼럼의 길이에 걸쳐 중성인 채로 남는다. 이는 최대 교환을 가능하게 할 뿐만 아니라, 극한적 pH에 의해 초래되는 화학 반응의 가능성을 감소시킨다. 이러한 반응은 일반적으로 UV 흡수제를 생성하고, 혼합 상 칼럼은 증발 및 증류 이전에 최종 폴리시 장치(polisher)로서 작용한다. 혼합 상의 재생은 먼저 물로 산성 완화된 후 화합물을 도입하기 전에 수지가 분리되어야 한다는 점에서 독특하다. 재생은 바람직하게는 수지 상을 물로 상향 유동시켜 더 경질의 음이온 수지를 칼럼의 상부로 이동시킴으로써 이루어질 수 있다. 일단 분리되면, 부식제를 칼럼의 상부로 펌핑하고 산을 저부로 펌핑한다. 폐 염 스트림은 칼럼의 중간에서 합쳐지고 중앙 헤더를 통해 추출된다. 수지를 화합물과 같은 방향에서 행군 다음, 칼럼의 저부로부터 공기를 버블링시킴으로써 재혼합한다. 그러면 칼럼은 다시 생산 준비가 된다. 혼합 상 폴리시는 바람직하게는 불순물을 농축시키는 증발 단계 후에 위치되어, 제거 가능성을 증가시킬 수 있다. 또한, 증발에 의해 생성된 UV 흡수제는 증류 이전에 수지에 의해 부분적으로 제거될 수 있다.

이온 교환 시스템의 사이즈 결정(sizing)은 일반적으로 2가지, 압력 강하 및 바람직한 주기 시간에 기초한다. 공급물 유속 및 점도는 단면적 및 칼럼이 목표 한계 미만의 공급물 압력(약 50psig)을 유지하기 위하여 필요한 허용가능한 상 깊이를 결정할 것이다. 수지의 주기 시간은 적당한 산성 완화, 재생 및 행군에 충분한 시간을 허용하여야 한다. 생성물에 따라, 물, 생성물 및 화합물이 주기내 개별 단계동안 수지 베드 내외로 이동하는데 약간의 시간이 걸린다. 이러한 시간 한계는 수지 제조사에 의해 규정된다. 다양한 규격을 갖는 이온 교환 수지는 다수의 공급원으로부터 상업적으로 입수가능하다.

증류

증류는 본 출원인의 방법에서 마지막 단계이다. 증류 기술의 다수의 변법 및 방법론은 당업계에 널리 공지되어 있다. 본 출원인의 바람직한 시스템은 발효로부터 부분적으로 정제된 생성물을 정련하기 위한 4개의 칼럼 및 생물학적으로 생성된 PDO 공정의 중간 분리 단계로 이루어지는 증류 행렬을 포함한다. 증류의 특성은 잘 알려져 있고, 생성물의 비점 차이로 인해 불순물을 제거함으로써 생성물을 정제하는 데 사용되는 쉽게 이용가능한 기술이다. 증류 행렬 이전에, PDO 생성물 공급물에는 물, 글리세롤, 텍스트로즈 및 임의의 경질 비등물 및 중질 비등물을 포함한 다수의 불순물이 있을 것이다. 이들 불순물중 일부는 고온에서 분해되거나 반응하고, 중합된 최종 생성물에서 색 문제를 일으킬 수 있다. 증류는 더 낮은 온도에서 생성물로부터 이들 불순물을 분리시키고, 칼럼에서 발생하는 바람직하지 않은 반응을 최소화한다. 또한, 바람직한 실시양태에서, 최고 순도의 1,3-프로판디올을 생성하기 위하여, 수소화 단계(이하 참조)와 같은 화학 환원이 최종 증류 칼럼(들) 이전에 임의로 삽입된다. 본 출원인들의 가장 바람직한 계획은 칼럼 2와 칼럼 3 사이에서 화학적 환원, 바람직하게는 수소화가 일어나는, 4개의 증류 칼럼을 포함한다. 예를 들어, 이 계획에서, 칼럼 2 오버헤드는 수소화 반응기 시스템으로 보내져, 색 불순물이 NI/실리카-알루미나 촉매상에서 수소와 반응하고, 경질 불순물(예: 알콜)로 변환된다. 그 다음, 이들 불순물을 칼럼 3 오버헤드로서 정련 행렬로부터 제거한다. 수소화에 있어서, 사용자는 더 높은 저부 온도 및 더 낮은 퍼징에서 칼럼 2를 작동시킬 수 있는데, 불순물을 제거하기 위하여 칼럼 2 퍼징 대신에 수소화 반응기에 의존할 수 있기 때문이다. 바람직한 화학 환원 또는 수소화 단계는, 본원에 전체로서 참조로 인용된, "발효에 의해 생성된 1,3-프로판디올의 수소화(Hydrogenation of Fermentatively-Produced 1,3-propanediol)"이라는 명칭의, 본 출원인에 의해 공동 소유되고 동시 출원된, 별개의 미국 특허출원 제60/468,212호의 주제이다.

일반적으로, 본 출원인의 바람직한 증류 행렬은 4개의 진공 증류 칼럼 및 칼럼 2와 칼럼 3 사이의 수소화 반응기 시스템으로 이루어진다. 증류 행렬의 목적은 이전의 이온 교환 단계로부터의 조생성물로부터 규격에 맞는 PDO를 증류해내는 것이다. 증발 단계가 사용되는 경우 물 약 20%를 함유하는 조생성물은 공급 탱크에 저장되고, 거기서 칼럼 1로 펌핑된다. 조생성물내의 물은 칼럼 1에서 오버헤드로서 제거된다. 칼럼 2에서, 글리세롤, 당 및 다른 고 비등물이 PDO로부터 분리되어, 칼럼 2 저부로서 시스템 밖으로 퍼징된다. 칼럼 2로부터의 증류물을 화학 환원 단계, 예컨대 색-형성 불순물이 더 쉽게 분리되는 저 비등물로 변환될 수 있는 수소화 반응기 시스템을 통해 처리한다. 그 다음, 칼럼 3은 칼럼 1 및 칼럼들의 부반응으로부터 생기는 저 비등물 및 잔여 물(water)을 제거한다. 칼럼 3의 저부 생성물을 칼럼 4로 공급하여, 최종 정류가 일어나 증류물의 UV 값을 감소시켜, 개별 사용자의 제품 규격을 충족시킨다.

칼럼 1(물 칼럼)

칼럼 1은 충전된 증류 칼럼으로서, 그의 목적은 공급물로부터 물을 오버헤드로서 제거하고, 저부에서 물을 1000ppm 미만으로 감소시키는 것이다. 칼럼은 바람직하게는 진공하에 작동하고, 상부의 압력은 약 55mmHg A로 유지시켜 오버헤드 물을 냉각탑 물로 응축시킬 수 있다. 오버헤드 증기는 칼럼 1 응축기의 튜브 쪽에서 응축되고, 냉각수는 셸(shell)쪽에서 순

환된다. 응축물(주로 물)은 중력에 의해 환류 드럼으로 보내질 수 있다. 저부의 온도를 가능한 낮게 유지시키기 위하여 칼럼을 가로질러 낮은 압력 강하를 갖는 것이 바람직하다. 낙하(falling) 필름 재비동기를 사용하여 재비동기에서의 정체 시간을 최소화할 수 있으며, 따라서 칼럼의 저부에서의 바람직하지 않은 반응을 최소화할 수 있다. 증기(200psig)가 재비동기로 공급되어 필요한 비등을 제공할 수 있고, 칼럼의 저부에서 온도를 약 145°C로 조절할 수 있다. 칼럼의 저부를 칼럼 2로 펌핑한다.

칼럼 2(중질 칼럼)

칼럼 2도 또한 충전된 칼럼으로서, 그의 목적은 발효로부터 생기거나 칼럼내 바람직하지 않은 반응에 의해 생성된 중질 불순물, 주로 글리세롤, 당 및 다른 불순물을 제거하는 것이다. 칼럼 1에서와 같이, 저부에서의 온도 및 액체 정체량(hold-up)을 가능한 낮게 유지시켜 열화 및 부반응을 감소시키는 것이 중요하다. 낙하 필름 재비동기를 또한 여기에 사용할 수 있다. 저부에서의 온도는 약 165°C로 조절된다. 글리세롤, PDO 및 중질 비등물로 이루어지는 칼럼 저부를 저장 탱크로 퍼징한다. 99% 초과 PDO를 함유하는 오버헤드 증기가 응축되고 환류 드럼에 모아진다. 칼럼으로 재환류되지 않은 오버헤드는 수소화 반응기 시스템으로 보내질 수 있다. 칼럼은 상부에서 20mmHg A 및 약 120°C에서 작동된다. 이 칼럼은 또한 조질의 공급물을 사용하는 경우에 생기는 황의 약 85%를 제거할 수 있다.

화학 환원

PDO 스트림에 남아 있는 오염물질의 화학 환원은, 특히 증류의 마지막 단계 이전에 일어나는 경우, 최종 불순물을 제거하기에 유용하다. 화학 환원 방법은 생성물 스트림내 PDO 분자내에 남아 있는 이중 결합을 제거할 수 있는 임의의 방법을 포함한다. 수소화 및 나트륨 보로히드라이드 방법은, 예를 들어 당업계에 특히 널리 공지되어 있다.

본 발명자들의 바람직한 방법인 접촉 수소화는 촉매의 존재하의 화합물과 수소의 반응이다. 이 반응은 잔여 유기 화합물을 감소시키고, 광범위한 적용성 및 실험의 단순성의 이점을 제공하므로, 많은 화학 방법에 사용된다. 예를 들어, 수소화는 크라프트 펄프(kraft pulp) 분쇄 공정(고레이시(Ghoreishi) 등의 문헌[Characterization and Reduction of Chromophores in Pulp Mill Effluents. *Sci. Iran.* 4(3):131-138(1997)])의 폐수 스트림으로부터의 특정 생성물의 제조에 있어서 색-유발 화합물을 제거하는 데 사용되었다. 다양한 물질이 수소화 촉매의 독인데, 가장 일반적으로 발견되는 것은 수은, 2가 황 화합물, 및 덜 일반적으로 아민(하우스(H. O. House)의 문헌[*Modern Synthetic Reactions*, Second ed., W. A. Benjamin: Menlo Park, CA., pp.1-15(1972)])이다.

이 공정은 촉매의 존재하에 PDO-함유 혼합물을 수소 기체와 접촉시킴을 수반하는데, 이는 폴리올의 색을 개선시키고, 혼합물의 pH를 상승시키고, 황을 감소시킬 것이다. 이러한 변화는 광범위한 용도에서 PDO의 성능을 개선시킨다.

1,3-프로판디올을 발효적으로 생성한 후 수소화 단계를 도입하는 이점은 색-형성체를 제거함으로써 최종 중합체의 고유 점도(IV) 및 "색" 지수에 대한 더 우수한 제어성을 얻는 것이다. 처리된 1,3-프로판디올 및 그의 올리고머가 "무색" 속성을 나타낼 뿐만 아니라, 하나 이상의 상기 단량체 반복단위를 갖는 그러한 물질로부터 제조된 중합체 물질은 감소된 '황변지수' 또는 감소된 색을 나타낸다. 가장 바람직한 방식에서, 생물계 PDO 및(또는) 올리고머의 경우 수소화 단계를 최종 증류 단계와 결합한다.

"색" 및 "색체(color body)"이란 용어는, 가시광선 범위에서 분광비색계를 사용하고, 약 400 내지 800nm의 파장을 사용하여, 순수한 물과 비교함으로써 정량될 수 있는 가시 색의 존재를 뜻한다. PDO내 색 전구체는 이 범위에서는 볼 수 없으나, 중합 후의 PDO의 색에 기여한다. 중합 조건은 색 발현의 특성에 중요한 영향을 끼칠 수 있다. 관련 조건의 예로는 사용되는 온도, 촉매 및 촉매량이 있다. 이론에 결부시키려는 것은 아니지만, 본 발명자들은 색 전구체가 올레핀 결합, 아세탈 및 기타 카르보닐 화합물, 과산화물 등을 포함하는 미량의 불순물을 포함한다고 생각한다. 이들 불순물중 적어도 일부는 UV 분광법 또는 과산화물 적정법과 같은 방법에 의해 검출될 수 있다.

"색 지수"란, 물질 또는 화합물의 전자기선-흡수 특성의 분석 치수를 가리킨다.

"수소화 반응기"란, 진탕 시험관, 배치식 고압솥, 슬러리 반응기, 상향류 충전 상, 점적류 충전 상 반응기를 포함한(이에 제한되지 않음), 문헌에 공지된 임의의 공지된 화학 반응기를 가리킨다.

수소화는 상승된 온도 및 압력에서 촉매의 존재하에 PDO를 수소와 접촉시킴으로써 달성될 수 있다. 촉매는 원소 주기율표의 VIII족 원소로 이루어질 수 있다. 더 구체적으로, 다양한 촉진제의 존재 또는 부재하의 Ni, Co, Ru, Rh, Pd, Ir 및 Pt중

임의의 금속이 또한 이러한 목적에 효과적인 촉매이다. 구리 크로메이트와 같은 다양한 혼합 산화물이 색 제거에 효과적인 촉매이다. 수소화 촉매는 당업계에 공지되어 있으며, 문헌["*Handbook of Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis*" by S. Nishimuru, John Wiley(2001)]에 광범위하게 다루어져 있다.

촉매는 다공성 금속 구조이거나 또는 기체상에 지지되어 있다. 촉매 지지체는 탄소, 알루미늄, 실리카, 티타니아, 실리카-알루미늄, 실리카-티타니아, 티타니아-알루미늄, 점토, 알루미늄노실리케이트, 갈슘의 수불용성 염, 바륨, 황산바륨, 탄산갈슘, 탄산스트론튬, 이들의 화합물, 및 이들의 혼합물과 같은, 당업계에 공지된 임의의 지지체 물질로부터 선택될 수 있다.

촉매는 미분으로부터 과립, 정제, 펠렛, 압출물 또는 다른 구조의 지지체에 이르기까지 다양한 모양 또는 크기를 가질 수 있다. 금속 촉매 및 지지체는 탄소상 팔라듐, 탄산칼슘상 팔라듐, 황산바륨상 팔라듐, 알루미늄상 팔라듐, 티타니아상 팔라듐, 탄소상 백금, 알루미늄상 백금, 실리카상 백금, 실리카상 이리듐, 탄소상 이리듐, 알루미늄상 이리듐, 탄소상 로듐, 실리카상 로듐, 알루미늄상 로듐, 탄소상 니켈, 알루미늄상 니켈, 실리카상 니켈, 탄소상 레늄, 실리카상 레늄, 알루미늄상 레늄, 탄소상 루테튬, 알루미늄상 루테튬 및 실리카상 루테튬으로 이루어진 군에서 선택된다. 바람직한 촉매의 예는 니켈인데, 이는 레이니(RANEY) 촉매(다른 접촉 활성 금속으로 도핑(doping)될 수 있는) 또는 실리카/알루미늄상에 지지된 압출물의 형태일 수 있다.

수소화는 당업계에 공지된 다양한 기체/액체/고체 접촉 반응기에서 수행될 수 있다. 이들 반응기는 배치식, 반배치식 및 유동(flow) 식으로 작동할 수 있다. 산업적으로 유리한 반응기는 액체 및 기체가 상향류 또는 하향류(점적상) 방식의 작동에서 병류적으로 또는 역류적으로 흐르는 촉매의 충전 상을 사용한다.

수소화 공정에서, 색 화합물 및 그의 전구체의 변환은 촉매와의 접촉 시간에 의존한다. 접촉 시간은 배치 공정에서의 체류 시간 및 유동 반응기의 공간 속도(LHSV=액체 시간 공간 속도)에 의해 표현된다.

온도는 또한 색 또는 색-전구체 화합물의 변환에 영향을 끼친다. 변환율은 아레니우스(Arrhenius)의 법칙에 따라 온도에 대하여 기하급수적으로 증가한다. 그러나, 색은 다양한 발색단의 효과의 조합의 척도이고, 색은 UV선의 흡수에 의해 측정되고 농도의 대수 함수로서 표현되기 때문에, 온도에 대한 색의 전체적인 의존성은 일반적인 아레니우스 식으로부터 벗어나 선형 관계에 접근한다. 접촉 시간 및 온도를 적당히 조합하면, 25°C 정도의 온도에서 바람직한 색 개선을 달성할 수 있다. 25 내지 200°C의 온도는 색을 감소시킬 수 있다. 그러나, 더 높은 온도에서, 폴리올(특히 1,3-프로판디올)의 수소화분해는 더 경질의 알콜(에탄올 및 프로판) 및 디옥산을 생성하기 시작하여 폴리올의 수득량이 감소한다. 140 내지 150°C보다 높은 온도에서, 수득량 손실이 커진다. 효과적인 색 감소는 25 내지 200°C의 범위에서 달성될 수 있고, 바람직한 온도 범위는 80 내지 130°C이다.

수소 소비량은 일반적으로 매우 낮고 조질의 폴리올내에 존재하는 불순물의 수준에 의존한다. 일반적으로 수소 소비량은 조질의 액체에서의 수소 용해도의 범위내이다. 온도 및 접촉 시간을 적당히 선택할 때, 대기압보다 약간 높은 압력에서 적절한 변환이 달성될 수 있다. 이 수준보다 높으면, 압력의 추가의 증가가 색 제거 정도에 최소의 영향을 끼친다. 색 감소는 주위 압력 내지 1000psig의 압력에서 달성될 수 있고, 200 내지 400psig가 바람직한 압력 범위이다.

수소 대 폴리올 공급속도의 비는 수소의 화학양론적으로 필요한 수준보다 높은 수준에서 변환율에 유의적인 효과를 나타내지 않는다. 효과적인 색 감소는 조질의 PDO g당 0.05 내지 100scc에서 달성될 수 있다. 바람직한 범위는 0.5 내지 2scc/g이다.

조질의 PDO 용액의 UV 스펙트럼의 변화성은 PDO를 생성한 공정, 및 생성 후 및 수소화 단계 전에 사용된 정제 단계의 효율성에 의존한다. 색 감소 정도는 조질의 PDO 용액의 초기 색 수준에 의존한다. 조질의 PDO 용액내 주어진 색 수준에 있어서, 바람직한 색 감소는 수소화에 적합한 작동 조건을 선택함으로써 달성될 수 있다.

최종 증류

바람직하게는, 수소화와 같은 화학 환원 후에, 추가의 불순물을 더 제거하기 위하여 생성물 스트림을 최종 증류시킬 수 있다.

증류 칼럼 3(중간 칼럼)

본 출원인의 가장 바람직한 실시양태에서 칼럼 3의 목적은 PDO 생성물로부터 물 및 추가의 경질 불순물을 증류 제거하는 것이다. 경질 불순물 및 물은 칼럼 1 저부로부터, 칼럼 2의 부반응으로부터 또한 화학 환원 과정으로부터 생긴다. 경질 불

순물 및 물은 PDO와 함께 칼럼 오버헤드로서 저장 탱크로 퍼징되어 소각에 의해 폐기된다. 칼럼 저부는 칼럼 4로 보내진다. 칼럼 3은 바람직하게는 상부에서는 약 35mmHg A 및 저부에서는 약 145°C에서 작동한다. 칼럼 3의 상부 온도는 바람직하게는 약 130°C인데, 물 및 경질 불순물의 농도에 의존한다.

증류 칼럼 4(생성물 칼럼)

이 최종 칼럼의 목적은 최종 정류를 제공하여, 특히 PDO 생성물을 생성하는 것이다. 칼럼 3에서 경질 불순물이 제거된 후, 남아 있는 중질 불순물은 칼럼 4의 저부에서 제거된다. 오버헤드 증기는 응축되어 재환류 드럼에서 모아진다. 재환류 드럼 펌프는 응축물의 일부를 재환류로서 다시 칼럼으로 펌핑하고, 나머지는 최종 생성물로서 열교환기를 통해 보내져 칼럼 1 공급물을 가열한다. 그 다음, 생성물은 생성물 저장 탱크로 보내질 수 있다. 증류물의 UV 흡광도는 온라인 UV 분석기에 의해 연속적으로 모니터링될 수 있다. 중질 불순물을 함유하는 저부를 칼럼 2의 저부 부분으로 재순환시킬 수 있다. 칼럼은 바람직하게는 상부에서는 약 45mmHg A에서 그리고 저부에서는 약 145°C에서 작동한다.

진공 시스템

모든 증류 칼럼의 경우에 바람직하게는 일반적인 진공 시스템을 사용할 수 있다. 추후 응축기(after condenser)를 갖는 증기 분사기(steam jet), 및 액체 고리(liquid ring) 진공 펌프로 이루어지는 제2 단계로 구성되는 2단계 시스템이 사용될 수 있다. 사용자에게는 선택된 진공 시스템에 관하여 몇몇 사양이 존재한다. 2단계가 사용될 수 있는데, 제1 단계는 증기 분사기 대신에 공기 배출기 또는 취입기일 수 있고, 제2 단계는 액체 고리 대신에 건식 나사(dry screw) 펌프일 수 있다. 진공 시스템으로부터의 비응축성 증기는 공기 방출 규정을 만족시키기 위하여 대기로 방출되기 전에 통기 스크러버(vent scrubber)로 보내질 수 있다. 액체 폐액을 모아서 폐기할 수 있다.

최종 생성물 품질은 증류 칼럼의 분리 성능은 물론 칼럼내에서 일어나는 다수의 화학 반응에 의해 영향받으며, 이들 반응은 완전히 이해되거나 특징화되거나 정량화되지 않는다. 원칙상, 이들 반응을 제어하는 3가지 인자는 화학 농도, 온도 및 액체 체적(또는 체류 시간)이다. 화학 농도는 칼럼 자체의 조건 및 분리 부분에 의해 생성된 조질의 공급물 품질에 의해 좌우된다(따라서 조질의 공급물 품질에 대한 규격 필요). 온도는 칼럼내의 농도 및 압력에 의해 좌우되므로, 칼럼 압력은 온도를 가능한 낮게 유지시키도록 선택되었다(15-55mmHg). 온도가 최고점인, 특히 칼럼 기부에서의 액체 정체량은 중요한 설계 변수이고, 작동성 및 외란제거를 희생하지 않는 상태에서 가능한 한 최소화되어야 한다(예를 들어, 칼럼 재비동기 펌프는 칼럼 공급물 등의 갑작스러운 손실 후에도 여전히 기능하여야 하는 것 등). 기부 액체 정체량을 감소시키는 하나의 방법은 최대 칼럼 직경으로부터 좁히는 것이다. 이를 수행하는 방법에 관계없이, 칼럼 기부 액위 측정은 기부 체적의 단지 일부분이 아니라 전 범위의 기부 체적을 커버하여야 한다는 것이 중요하다.

1.3-프로판디올의 순도 특징화

본 출원인의 방법으로부터 생성된 정제된 생성물은 고도로 정제된 1,3-프로판디올일 것이다. 순도의 수준은 다수의 상이한 방식으로 특징화될 수 있다. 예를 들어, 오염성 유기 불순물의 잔여 수준을 측정하는 것이 하나의 유용한 방법이다. 본 출원인의 방법은 총 유기 오염물질 약 400ppm 미만; 바람직하게는 약 300ppm 미만, 가장 바람직하게는 약 150ppm 미만의 순도 수준을 달성할 수 있다. 총 유기 순도 ppm이란 용어는 기체 크로마토그래피에 의해 측정된, 탄소-함유 화합물(1,3-프로판디올이 아닌)의 백만부당 부 수준을 가리킨다.

정제된 생성물은 또한 다양한 파장에서의 자외선 흡광도와 같은 다수의 다른 변수를 사용하여 특징화될 수 있다. 220nm, 240nm 및 270nm의 파장이 조성물의 순도 수준을 결정하는 데 유용한 것으로 밝혀졌다. 본 출원인의 방법은 220nm에서의 UV 흡광도가 약 0.200 미만이고, 240nm에서의 흡광도가 약 0.075 미만이고, 270nm에서의 흡광도가 약 0.075 미만인 순도 수준을 달성할 수 있다.

정제된 1,3-프로판디올의 약 0.15 미만의 b^* 색가(CIE $L^*a^*b^*$)도 또한 본 출원인의 방법에 의해 성취된다.

마지막으로, 1,3-프로판디올 조성물의 순도는 과산화물의 수준을 측정함으로써 의미 있는 방식으로 평가될 수 있는 것이 밝혀졌다. 본 출원인의 방법은 약 10ppm 미만의 과산화물 농도를 갖는 정제된 1,3-프로판디올의 조성물을 달성한다.

본 출원인은 본 발명의 방법이 그의 바람직한 방식에서 생물학적으로 생성된 조성물 및 화학적으로 생성된 조성물을 포함한 임의의 공급원으로부터 고도로 정제된 1,3-프로판디올 조성물을 생성할 것으로 생각한다.

실시예

본 발명은 하기의 실시예에서 추가로 규정된다. 이들 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 지적하지만, 오직 예시용으로만 제공된다. 상기 논의 및 이들 실시예로부터, 당업자라면 본 발명의 본질적인 특징을 확인할 수 있고, 본 발명의 요지 및 범주로부터 벗어남이 없이, 본 발명을 다양하게 변화 및 변경시켜 이를 다양한 용도 및 조건에 적합화시킬 수 있다.

실시예 #1

통기성 유가식(aerobic fed-batch) 발효에 의한 1,3-프로판디올의 생성

유전학적으로 조작된 에스케리치아 콜라이 생성 유기체(미국 특허 제5,686,276호 참조)를 함유하는 동결된 바이알을 영양분이 풍부한 한천 평판상에 도말하여 단리하였다. 도말 평판으로부터 단리된 작은 콜로니를 선택하고, 2YT 배지 500ml를 함유하는 2ℓ들이 배플 진탕 플라스크에 넣었다. 그 다음, 플라스크를 34℃, 350rpm에서 10시간 동안 배양하여 0.3gDCW/ℓ의 생물량 농도(건조 균체량)를 얻었다. 종(seed) 플라스크를 사용하여 종 발효기에 접종하였다.

종 발효기는 총 체적이 1500ℓ인, 스테인레스강, ASME 완전 진공 등급의, 공기 스파징(sparging)되는 압력 용기이다. 종 플라스크를 수도물 및 배지 성분들로 채워 초기 체적 685ℓ로 만들었다(종 발효기 배지 제조법에 대하여는 하기 표 1 참조). 배지가 혼합되면, 종 발효기를 직접 증기 분사에 의해 동일 위치내 멸균한다. 배지는 121℃에서 60분 동안 멸균된다. 멸균 후 발효기를 실행 조건이 되게 한다: pH 6.8, 33℃, 5psig 반대압, 및 초기 텍스트로즈 농도 25g/ℓ. 발효기가 실행 조건이 되면, DI수 1ℓ에 용해된 스펙티노마이신 디히드로클로라이드(시그마 알드리치(Sigma Aldrich)로부터 구입함) 50g을 0.22μ 등급 멸균 막 필터를 통해 필터 멸균하여 종 발효기에 넣었다.

스펙티노마이신 디히드로클로라이드를 첨가한 후, 발효기를 이 단원의 초기에 언급했던 진탕 플라스크로 접종하였다. 접종 사이클 전체에 걸쳐, pH는 무수 암모니아를 첨가하여 6.8로 유지시키고, 용존 산소(DO)를 포화에 대하여 15%로 유지시키고, 온도는 33℃로 유지시킨다. 발효기내의 텍스트로즈 농도가 10g/ℓ에 도달하면, 탄수화물 공급을 시작하여 텍스트로즈 농도를 5 내지 10g/ℓ로 유지시킨다. 종 발효기가 6gDCW/ℓ에 도달하면, 이를 생성 탱크로 옮긴다.

[표 1]

종 발효기 및 생성 발효기 배지 제조법

배지 성분	초기 농도(g/ℓ)
황산	0.55
인산, 85%	1.34
KH ₂ PO ₄ ***	1.4
시트르산 일수화물	1.02
MgSO ₄ *7H ₂ O	0.6
FeSO ₄ *7H ₂ O	0.400
CaCl ₂ *2H ₂ O	0.1
대두 단백질 4950	0.5
시그마 204 소포제	0.40
MnSO ₄ H ₂ O	0.015
NaCl	0.005
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0.0005
CuSO ₄ *5H ₂ O	0.00005
H ₃ B ₃	0.00005
NaMoO ₄ *2H ₂ O	0.00005

생성 발효기는 총 체적이 13,000ℓ인, 스테인레스 강, ASME 완전 진공 등급의, 공기 스파징되는 압력 용기이다. 생성 발효기에 수도물 5645ℓ의 초기 체적으로 채우고, 배지 제조법은 종 발효기와 동일하고, 상기 표 1에 언급되어 있다. 생성 발효기 배지는 직접 증기 분사에 의해 동일 위치내 멸균되고, 121℃에서 60분 동안 유지시킨다. 멸균 후, 발효기를 다음 실행 조건이 되게 한다: pH 6.8, 33℃, 5psig 반대압, 및 초기 텍스트로즈 농도 10g/ℓ. 발효기가 실행 조건으로 되면, DI수 2ℓ에 용해된 스펙티노마이신 디히드로클로라이드(시그마 알드리치로부터 구입함) 250g을 0.22μ 등급 멸균 막 필터를 통해 필터 멸균하여 생성 발효기에 넣었다.

항생물질을 첨가한 후, 공기압을 사용하여 종 발효액을 생성 발효기내로 취입한다. 접종 직후, 탄수화물 공급을 시작하여 생성 발효기내 텍스트로즈 농도가 5 내지 15g/ℓ로 유지되도록 조절한다. 생성 사이클 전체에 걸쳐, pH는 무수 암모니아를 사용하여 6.8로 유지시키고, DO를 포화에 대하여 10%로 조절하고, 온도는 33℃로 유지시킨다.

접종하고 1시간 후, DI수 10ℓ에 용해된 결정질 비타민 B₁₂(로슈 비타민스 인코포레이티드(Roche Vitamins Inc.)에 의해 공급되는)의 1g 덩어리를 0.22μ 등급 멸균 막 필터를 통해 멸균하여 생성 발효기내로 넣었다. B₁₂ 용액을 20ℓ들이 스테인레스강 압력 정격 용기에 첨가한다. 그 다음, 스테인레스강 용기를 공기로 가압함으로써 용액을 멸균 필터를 통하여 밀어 넣는다. 생물량 농도가 4.5gDCW/ℓ에 도달하면, 상기와 같이 제조된, 두번째 비타민 B₁₂ 11g의 덩어리를 생성 발효기에 투입한다.

생성 발효 주기는 접종후 40 내지 45시간 이내에 완료된다. 생성 주기가 완료된 후, 생축매는 임의로 발효기내로의 생 증기 주입(live steam injection)에 의해 불활시킬 수 있다. 발효기의 온도는 75℃에서 45분 동안 유지되어 살아있는 유기체에 log-6 감소를 확보할 수 있다. 임의의 불활 단계 후에, 발효액을 여과 단계로 보내어 조질의 PDO 정련 공정을 시작한다.

발효 주기에 걸쳐, YSI(등록상표) 2700 실렉트 바이오케미스트리 어널라이저>Select Biochemistry Analyzer)를 사용하여 발효액의 순간 샘플(grab sample)내 텍스트로즈 농도를 측정한다. 생물량 농도는 발효 전체에 걸쳐 써모스펙트로닉 스펙트로닉(ThermoSpectronic Spectronic) 20D+ 분광광도계를 사용하여 측정한다. 배양액내 PDO 농도는 발효 전체에 걸쳐 HPLC를 사용하여 측정할 수 있다.

실시에 #2

발효액의 정밀여과

정밀여과 장치는 유가식으로 작동되는 단일 단계, 직렬 2모듈 여과 장치이다. 예를 들어, 실시에 #1로부터의 발효액을 정밀여과 공급 탱크로부터 스킨드(skid)로 펌핑한 다음, 막 루프내에서 재순환시킨다. 투과물을 중간 저장 탱크를 향해 연속적으로 보내고, 잔류물을 정밀여과 공급 탱크로 다시 재순환시킨다. 설치된 막 모듈은 50nm의 기공 크기, 4mm의 루멘(lumen) 멤브라플로 세라믹 요소(모델 #22M374R-50, 각각 10.34m²)이다. PDO 발효액을 165°F에서 스킨드로 공급하고, 65psi의 시스템 압력으로 유지시켰다(38-45psi TMP 모듈 #1, 27-37psi TMP 모듈 #2). 농도 편향층을 최소화하기 위하여, 세라믹 막을 가로지르는 재순환 흐름을 5m/sec의 직교류 속도(~900gpm)로 유지시켰다. 잔류물 회수 라인의 흐름 제어 밸브는 정밀여과 공급 탱크로 다시 돌아가는 농축물의 흐름을 10gpm으로 제한하여, 시스템에 반대압을 생성시킨다. 유입구 공급물 라인 및 출구 투과물 라인의 유량 합산기 사이의 차이를 사용하여, 목표로 하는 12배의 체적 농도 비(VCR)를 모니터링하고 조절하였다. 정밀여과는 PDO 발효액으로부터 더 큰 생물량 및 불용성 물질을 분리하여, 용액에 부유하는 더 큰 거대분자의 생성물 스트림을 정화한다. 하기 표 2는 정밀여과 공정을 나타낸다.

[표 2]
정밀여과 공정

	광학 밀도	세포 농도 (g/ℓ)	체적 농도 비	유속 (ℓ/m ² /hr)
정밀여과로의 공급물	44.3	13.29	1	194.3
최종 잔류물	N/A	159.48	12	19.7
평균				108

현재의 PDO-생성 유기체는 정밀여과를 통해 108LMH의 평균 유속 및 15 내지 20%의 표준편차(18-20LMH)를 나타내었다. 배양액 농축의 초기 단계에서 정밀여과를 통해 유속이 급격하게 강하하고, 초기 배양액의 농도가 2배가 됨에 따라 유속이 50% 감소한다. 이러한 유속의 급격한 감소는 목표로 하는 12배의 VCR이 달성되고 전체 농도에 걸쳐 유속의 85 내지 90% 손실이 일정하게 관찰됨에 따라 탬퍼 오프한다(tamper off). VCR-유속 프로파일 자료의 일관성은 정밀여과 유속이 막 표면에 집중된 겔층에 의해 제어됨을 나타낸다(표 3).

[표 3]
정밀여과 - VCR 대 유속 관계

VCR	유속(ℓ / m ² / hr)
1.1	170.4
1.3	194.3
1.8	197.4
2.9	138.2
4.7	74.6
6.4	37.3
7.1	24.1
7.3	23.0
8.6	21.5
11.5	19.7

실시예 #3

한외여과

이 실시예에서, 단계마다 하나씩 코흐(Koch) 3838 HFK328-VYT(5,000 NMWCO) 한외여과 막(각각 5.4m²)이 장착된 연속 3단계 GEA 여과(모델 U 시험 설비) 장치를 사용하여, 예를 들어 실시예 #2에서 생성된 PDO 정밀여과 투과물을 한외여과하였다. 한외여과 장치에 일정한 압력(60psi)에서 공급하고, 15배로 농축하였다. 농도는 최종 막 단계 다음에 위치한 유동 제어 밸브에 의해 조절되고, 유입구 공급물 흐름을 분배하였다. 농도 비를 유입구 공급물 흐름의 6.67%로 유지시켜 15배 잔류량을 달성하였다. 유입구 열교환기 및 3개의 단계내 냉각기를 사용하여, 시스템 온도를 140°F로 조절하였다. 각각의 요소에 걸친 경막(transmembrane) 압력은 재순환 단계 펌프에 의해 65psi로 유지되었다. 투과물 흐름은 각각의 개별 단계 후에 측정되어 유속을 결정하고, 투과물 품질은 HPLC, GPC 및 질소 분석(안텍(Antek))으로 결정하였다. 하기 표 4는 개별 여과 단계 및 전체 여과의 작동 성능을 나타낸다. 하기 표 5는 한외여과막에 걸친 PDO 배양액의 분리를 나타낸다.

[표 4]
한외여과 공정

		단계 #1	단계 #2	단계 #3	단계 #4
초기	농도 계수	1.49	2.94	15.83	15.83
	유속(ℓ / m ² / hr)	38.96	38.96	32.74	36.9
최종	농도 계수	1.52	3.16	16.10	16.1
	유속(ℓ / m ² / hr)	22.80	22.80	17.41	21
평균	농도 계수	1.56	3.27	15.08	15.08
	유속(ℓ / m ² / hr)	29.01	27.35	21.14	25.8

[표 5]
분리 특징

	총 당 제거 (g/ℓ)	PDO (g/ℓ)	질소 (ppm)	암모니아 (ppm)	비암모니아 질소 (ppm)
한외여과로의 공급물	8.7	107.9	993.0	1048.0	133.6
투과물	8.1	116.4	817.1	951.0	37.3
잔류물	23.0	109.3	2729.9	1459.1	1533.4
제거율	7%	0%	18%	9%	72%

다수의 단계는 더 낮은 배양액 농도에서 더 우수한 유속 이용을 허용한다. PDO 한외여과 공급물이 시스템에 의해 농축됨에 따라, 유속은 농도 증가와 함께 감소된다. 스킴을 떠나는 최종 농축물은 원래 공급물보다 약 15배 더 농축되지만, 전체 유속 성능은 그의 최저 유속 농도로 지시된다기 보다는 3개 단계에 걸쳐 평균된다. 한외여과는 나노여과의 사전여과 단계로 작용한다. 단백질은 나노여과 막의 비가역적인 오염제이므로, 조단백질(단백질 및 아미노산)의 72%를 제거하는 한외여과를 사용하는 경우 그 이후의 하류는 덜 제한받고 작동하게 된다. 한외여과 잔류물의 분자량 분석 결과, 보유된 단백질(들)의 평균 분자량은 약 12,000달톤이고, 막에 의한 그의 제거는 완벽한 것으로 나타났다. 다른 배양액 성분들은 의미 있게 제거되지 않는다.

실시예 #4

나노여과

이 실시예에서, 단계마다 하나씩 코호 TFC3838 SR3(180 NMWCO) 나노여과 막(각각 4.8m²)이 장착된 연속 3단계 GEA 여과 장치(모델 U 시험 설비)를 사용하여, 예를 들어 실시예 #3에서 생성된 PDO 한외여과 투과물을 나노여과하였다. 나노여과 스킴으로의 공급은 일정하게 유지시키고(200psi), 시스템의 농도는 20배로 조절하였다. 유입구 공급 흐름의 5%로 분배된 농축물 유량 제어 밸브에 의해 잔류물 흐름을 분배하였다. 유입구 열교환기 및 3개의 단계내 냉각기를 사용하여 온도를 120°F로 일정하게 유지시켰다. 각각의 개별 요소에 걸친 경막 압력은 재순환 단계 펌프에 의해 205psi로 유지되었다. 투과물 흐름은 각각의 개별 단계 후에 측정되어 유속을 결정하고, 투과물 품질은 HPLC, UV/Vis 및 IPC(유도 결합된 플라즈마 광학 방출 분광법) 기법으로 분석적으로 결정되었다. 하기 표 6은 전체 및 개별 여과 단계의 작동 성능을 나타낸다. 하기 표 7은 나노여과막에 걸친 PDO 배양액의 분리를 나타낸다.

[표 6]

	단계 #1	단계 #2	단계 #3	총
농도 계수	1.72	4.3	20.2	20.2
유속 (ℓ / m ² / hr)	68.1	56.8	30.3	51.7

[표 7]
나노여과 분리 특징

	총 당 (g/ℓ)	PDO (g/ℓ)	2가 양이온 (Ca+Mg) (ppm)	1가 양이온 (Na+K) (ppm)	황산염 제거 (ppm)	인산염 제거 (ppm)	UV_270nm
나노여과로의 공급물	7.31	111.84	31.03	247.62	150	650	2.875
투과물	2.17	112.92	14.54	198.46	52	550	1.7628
잔류물	78.63	106.57	152.04	821.33	1480	2060	

제거율	70%	0%	53%	20%	65%	15%	39%
-----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----

나노여과 단계에서 나오는 최종 농축물은 초기 공급물보다 20배 더 농축되었고, 전체 유속 성능은 개별 단계의 평균이다. 한외여과 전처리의 존재하에, 나노여과 막은 개별 단계의 유속 및 농도 계수가 실험에 걸쳐 일정하게 유지됨에 따라 오염되지 않은 것으로 나타났다.

투과물 스트림내 가지 색의 90% 감소 이외에, PDO 공정의 확인되고 특징화되지 않은 주된 불순물은 모두 나노여과를 통하여 제거된다. 당 및 염의 감소는 이온 교환 하중을 감소시켰고, UV의 감소는 증류량을 줄이고 최종 생성물 품질을 개선시키는 것으로 나타났다.

실시에 #5

이온 교환

이 실시예에서, 예를 들어 실시예 #4의 나노여과 투과된 PDO 배양액을 양이온-음이온, 양이온-음이온 배열된 이온 교환을 통하여 배치 처리한다. 각각의 양이온 셀(cell)은 6ft³의 도웁스(Dowex) 88 강산 양이온 수지가 적재된 직경 1.5ft×높이 8ft의 칼럼으로 이루어지고, 각각의 음이온 셀은 2개의 직경 1.5ft×높이 8ft의 칼럼을 포함하고, 12ft³(칼럼당 6ft³)의 도웁스 77 약염기 음이온 수지가 적재된다. 나노여과된 배양액(34meq/l)을 115°F에서 4.5gpm으로 이온 교환에 공급하고, 10시간 후에 휴지(breakthrough)하였다. 하기 표 8은 이온 교환 공정을 설명하고, 하기 표 9는 일반적인 성분 프로파일 을 나타낸다. 이온 교환의 마지막 공정 스트림을 pH, 전도성, UV/Vis 및 굴절률에 의해 분석하고, 생성물 샘플은 HPLC 및 IPC(유도 결합된 플라즈마 광학 방출 분광법)로 분석하였다.

[표 8]
이온 교환 공정

	UV_270nm	전도성 (uS/cm)	건조 고체(%)	pH
이온 교환으로의 공급	1.373	3400	90.0	7.59
공정 샘플 채취	0.062	94.8	89.0	10.27
공정 샘플 채취	0.074	88.5	89.3	9.72
공정 샘플 채취	0.099	75.1	86.6	9.88
공정 샘플 채취	0.120	68	90.3	9.78
공정 샘플 채취	0.133	114.3	89.1	9.81
공정 샘플 채취	0.131	256	88.1	10.25
공정 샘플 채취	0.143	44.9	89.5	10.45
공정 샘플 채취	0.170	36.2	87.4	
공정 샘플 채취	0.288	23	93.6	9.9
공정 샘플 채취	1.047	21.4	94.8	9.4
복합 이온 교환 생성물	0.069	95.7	92.7	10.22

[표 9]
이온 교환 성분 프로파일

	유기 산 ppm (현재; as is)	2가 양이온 (Ca+Mg) ppm (현재)	1가 양이온 (Na+K) ppm (현재)	염화물 ppm (현재)	인산염 ppm (현재)	암모니아 ppm (현재)
이온 교환으로의 공급물	2826	8.05	176.5	55	405	702.3
이온 교환 생성물	38	4.25	27.38	2	2	2.3

250uS/cm보다 큰 전도성 또는 0.5ABU보다 큰 UV 흡광도(270nm에서)를 갖는 생성물의 통과시 휴지한다. 이 실시예에 있어서, 휴지는 제2조의 음이온 칼럼으로부터 용출하는 UV 성분의 결과로서 일어난다. 이온 교환 셀은 전체 이온 종이 98% 제거됨에 따라 이온 제거에 충분한 크기를 갖는다. 이온 교환능은 UV 기여체(들)를 흡수하는 수지 능력에 의해 나타난다. 휴지시, UV/Vis 색 및 전도성은 모두 95%보다 많이 감소되었다. UV 성분 및 무기 종의 제거는 더 하류로 보내지는 오염 물질 및 오염제를 감소시킨다.

실시예 #6

증발

예를 들어, 실시예 #5에서와 같이 CACA 이온 교환을 나오는 생성물 스트림은 10 내지 13%의 건조 고체 함량으로 나오고 80%까지 추가의 농축을 필요로 한다. 이 실시예에서, 이온 교환 생성물은 유가식 증발에서 건조 고체 함량 11%로부터 85%까지 증발된다. 공급물은 외부 공급 탱크로부터 증발기로 보내지고, 증발 장치의 재순환 루프내로 펌핑된다. 재순환 루프는 판 및 프레임(frame) 열교환기를 통해 1000# 스팀/hr로 공급된 다음, 27mmHg의 진공 및 170°F의 증기 온도 하에 높이 설치된(elevated) 기체-액체 분리기로 공급된다. 분리기를 높이 설치하여 증발기 공급 탱크로 증발 생성물을 다시 돌려보내기에 충분한 헤드(head)를 제공한다. 증발기 공급물 탱크내 물질의 건조 고체 함량을 목표 농도가 얻어질 때까지 증발기를 통해 재순환시킨다. 증발된 스트림의 동일 위치내 샘플 채취는 보정된 굴절률 측정을 통해 수행하고, 칼 피셔(Karl Fischer) 수분 분석 및 UV/Vis에 의해 추후 분석을 수행한다. 하기 표 10은 증발이 일어남에 따른 PDO 생성물 분석을 나타낸다. 모든 UV/Vis 분석은 일반적인 5% 건조 고체에서 수행되었다. 수분을 칼 피셔 분석에 의해 결정한 다음, 기준 농도로 희석하였다.

**[표 10]
증발 결과**

DS(%)	UV-270nm
25.22	0.224
29.12	0.230
38.33	0.234
59.86	0.245
82.91	0.214
복합물	
85	0.264

이 실시예의 전체 증발은 끝날 때까지 16시간이 걸렸고, 이 시간 동안 생성물 스트림은 물 색으로부터 진한 카라멜 색으로 변화하였다. 증발 결과는 장기 체류 증발 동안 부반응이 일어나지 않았고, 그 결과 단위 조작(오직 초기 공급 원료의 농축) 동안 추가의 UV 또는 가시 색이 생성되지 않았다.

실시예 #7

혼합 이온 교환

이 실시예에서, 혼합 상 폴리싱(polishing)은, 예를 들어 실시예 #6에 따라 생성된 83% 건조 고체 증발기 생성물 스트림에서 수행된다. 증발은 추가의 색을 생성하지 않지만, 여전히 제거를 필요로 하는 잔여 색 성분을 농축시킨다. 증발된 PDO 생성물 스트림(200겔론)을 강산 양이온 교환 수지(도웁스 88)와 강염기 음이온 수지(도웁스 22)의 40-60 혼합물에 공급하여 잔여 염 및 색을 제거하였다. 혼합 상은 냉각(80°F) 증발된 3G 스트림에 의해 1.5gpm으로 공급되는 혼합 상 수지 6ft³를 함유하는 직경 1ft×높이 5ft의 칼럼이다. 하기 표 11 및 표 12는 혼합 상의 폴리싱 성능을 나타낸다.

[표 11]
혼합 상 폴리싱 색 제거

	흡광도 (nm)					
	210	230	250	270	290	310
혼합 상 공급물	2.529	1.810	1.063	0.957	0.587	0.296
복합 혼합 상 생성물	1.634	1.191	0.457	0.373	0.231	0.085

[표 12]
혼합 상 폴리싱 이온 교환

	전도성 (uS/cm)	pH
혼합 상 공급물	23.7	7.73
복합 혼합 상 생성물	0	8.38

CACA 이온 교환과 같이, 혼합 상은 증발된 생성물 스트림의 색 성분을 흡수하는 능력을 갖는다. 가지 색은 진한 카라멜 색 으로부터 물 색에 가까운 용액으로 매우 개선되고, UV 기여체도 또한 상당히 제거된다. 칼럼의 이온 교환능은 공급물의 이 온 하중을 훨씬 초과하므로, 혼합 상을 나오는 생성물은 측정가능한 전도성을 나타내지 않고, 생성물의 pH에 약간의 염기 성 변이가 있다.

실시예 #8

수소화

화학 환원의 주요 목적은 생(bio)-PDO로부터 제조된 중합체, 구체적으로 PDO 중합체내의 색을 감소시키는 것이다. 중합 체 색은 L*a*b* 척도에 의해 결정된다. b*가 1 미만인 중합체는 대부분의 중합체 용도에 허용가능한 색을 갖는 것으로 여겨 진다. PDO의 품질을 중합체 색에 관련시키는 기준이 개발되었다. 270nm에서의 UV 흡광도는 PDO 품질 및 최종 중합체의 색의 적당한 지표인 것으로 확인되었다. UV 스펙트럼은 일반적으로 1:5의 희석비로 모아지고, 희석 수(dilution number) 로서 보고된다. 0.1 미만의 270nm UV의 비색정량(color metric)이면 허용가능한 PDO 중합체 품질을 달성할 것이다.

PDO내 색은 정련 공정에 제공되는 공급물의 조성 및 정련 공정내 처리 조건에 관련되는 것으로 보인다. 정련 공정에 제공 되는 공급물은 물, 글리세롤 및 다른 중질물(예: 당)을 함유한다. 하기 표 13은 대표적인 증발된 발효액의 당 조성을 나타낸 다. 나노여과 단계를 포함한, 현재의 분리 계획에 의해 상당량의 당이 제거되지만, 당의 일부는 배양액에 남아서 정련 행렬 에 들어갈 수 있다.

[표 13]
경질 증발 발효액내 발효되지 않은 당(HPAE-PAD에 의한 탄수화물)

샘플 번호	설명	이소-고등체 (iso-highers) (DP2-DP12)	이소말토즈	파노즈	말토즈 Ug/ml	말토트리오즈	말토테트라오즈	덱스트로즈	프럭토즈
73061	경질 증발 생성물	6650	6470	4880	1050	500	250	145	110
73329	경질 증발 생성물	6160	6340	4410	1010	505	190	240	140

이들 당은 열처리동안 색 형성을 일으키는 것으로 생각된다. 질소 환경에서 1% 말토스로 도핑된 "화학적으로 생성된" 베셀링(Wesseling) PDO의 열처리에서, 생성물내 색 수준은 130°C 미만의 온도에서 낮은 것으로 관찰되었다. 그러나, 150°C보다 높은 온도에서, 230nm 근처의 UV 및 270 내지 290nm의 UV에서 광역 밴드가 관찰된다. 이들 색 화합물의 대부분은 PDO보다 먼저 또는 PDO와 함께 증류된다. 색의 증가는 처리된 생성물의 pH의 부수적인 감소를 수반한다.

본 발명의 증류 정련 공정은 열처리를 필요로 한다. 4개의 증류 칼럼 공정이 바람직하다. 칼럼 1은 주로 물의 감소를 목표로 하는데, 물은 오버헤드에서 제거된다. 칼럼 2는 PDO로부터 글리세롤 및 당과 같은 중질 성분을 분리한다. 칼럼 3 및 4는 잔여 경질 및 중질 화합물을 제거하고, 필요한 특성을 갖는 생성물을 생성한다. 본 출원인은 색 형성제가 알데히드, 케톤 및 푸란 유도체 때문인 것으로 생각한다. 이러한 생각 때문에 색을 감소시키기 위한 몇몇 기술을 평가하였다. 상이한 기법이 시험되었다. 탄소상 흡착 및 수소화는 가장 유망한 대안이었다. 모든 다른 기법은 부분적으로 효과적이었지만(이들은 초기에 색을 감소시켰음), 추가로 처리하면 더 바람직하지 않은 불순물을 생성하였다.

일반적으로, 수소화를 위한 물질 및 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 하기 실시예에서, 진탕 시험관, 고압솥 및 상향류 고정상 관형 반응기가 사용되었는데, 이들은 미분, 과립 및 압출물 촉매를 사용하는 배치식, 반배치식, 및 유가식으로 작동되었다.

PDO 색 품질은 UV/Vis 분광광도계에 의해 측정되었다. 모든 UV 분석은 물로 20% 희석시켜 HP 83453 UV/Vis 분광광도계를 사용하여 수행하였고, 그렇게 보고되었다. PDO내 불순물은 기체 크로마토그래피로 측정하였다. 모든 GC 분석은 7673 시리즈 자동 주사기, 5973N 질량 선택적 검출기, 에이치피-이노와스(HP-INNOWax) 폴리에틸렌글리콜 모세칼럼 (길이 30m, 직경 250 μ m, 필름 두께 0.25 μ m)을 사용하여 에이질런트(Agilent) 6890 기체 크로마토그래프로 수행하였다. 초기 온도는 100°C이고, 10°C/min으로 193°C까지 상승시킨 다음, 40°C/min으로 250°C까지 상승시키고, 12분 동안 유지시켰다.

황은 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer) 3300RL 유도 결합 플라즈마(ICP) 분석기에 의해 분석하였다. 폴리올의 산도는 베크만(Beckman) 모델 350 pH 계측기로 분석하였다. pH는 2가지 방식으로 측정된다(순수하게 또한 물로 50/50 희석하여).

일반적인 프로토콜

이전에 정제된 1,3-프로판디올(PDO)을 출발 물질로서 사용하였다. PDO는 텍스트로즈로부터 출발하는 발효 공정에서 제조되었고, 정밀여과, 나노여과, 이온 교환, 증발, 분무-건조, 탄소 흡착, 크로마토그래피 분리 및 다양한 증류 단계를 포함한(이에 제한되지 않음) 다양한 단계에서 정제되었다. 각각의 경우에서 사용된 발효 공정의 요소 및 특정 정제 단계에 의존하여, 하기 실시예에 사용되는 조질의 PDO 용액은 다양한 불순물을 함유하였다. 각각의 실시예 세트는 발효 및(또는) 사전 세정 공정의 상이한 혼합 공정에 의해 제조된 PDO를 사용하고, 경우 A, B 및 C로서 명명한다.

경우 A: 수성 혼합물의 4단계 증류 후 수소화 단계의 사용

실시예 (8)(1-9)의 시리즈에서, 여과, 흡착, 이온 교환 및 증발 후 4단계 증류의 다양한 단계에서 정제된 PDO 용액을 수소화에 대한 공급물로서 사용하였다. 이 공급물의 GC 분석은 면적의 0.13%를 차지하는 22가지가 넘는 미지의 불순물을 나타내었다. 조질의 공급물의 UV/Vis 스펙트럼은 200, 220 및 270-280nm 근처에서 최대를 나타내는 3개의 넓은 흡수 밴드를 나타내었다.

실시예 #(8)1-(8)8

이들 실시예에서, 경우 A에 기술된 PDO를 표 1에 요약된 다양한 작동 조건에서 레이니 2400 니켈 슬러리 촉매(Cr 및 Fe 촉진된 Ni)와 함께 진탕 시험관에서 수소화하였다. 모든 경우에서, PDO 200g을 400ml 스테인레스강 진탕 시험기에 적당한 양의 촉매와 함께 넣었다. 진탕 시험관을 질소로 퍼징하고, 지시된 온도까지 가열하고, 지정된 압력까지 수소로 가압하였다. 반응기를 지시된 시간 동안 진탕한 다음, 냉각하고 가압하였다. 수소화된 생성물의 품질은 전술한 바와 같이 GC 및 UV/Vis로 결정하였다. 하기 표 14는 280nm에서의 UV 흡광도 감소를 나타낸다.

[표 14]

실시예 8(1)-8(8)의 조건 및 결과

실시예#	온도	압력	촉매	시간	UV-280
	℃	psia	중량%	hr	A.U.
공급물					1.58
1	80	400	0.05	1	0.64
2	100	400	0.05	1	0.65
3	80	800	0.05	1	0.99
4	100	800	0.05	2	0.46
5	100	100	0.125	0.25	1.28
6	100	100	0.125	1	1.08
7	120	400	0.125	1	0.53
8	140	400	0.125	1	0.42

색 제거는 온도, 접촉 시간 및 촉매량에 따라 개선된다. 실시예 (8)1에서, 수소화는 조질 PDO 용액내 22가지 불순물중 9가지를 완전히 제거하였고, 5가지의 농도를 감소시켰고, 6가지의 새 화합물을 형성하였고, 3가지의 기존 불순물의 농도를 증가시켰다. 형성된 불순물은 PDO보다 훨씬 가볍거나 훨씬 무거우므로, 증류에 의해 쉽게 제거될 수 있었다. 지정된 체류 시간을 갖는 이러한 화합물을 하기 표 15에 나타낸다. 실시예 8(2) 내지 8(8)에서, 동일한 정도로는 아니지만, 작동 조건의 엄격함에 따라 불순물의 유사한 변화가 관찰되었다.

[표 15]

수소화시 PDO의 불순물의 변화, 실시예(8)1: 수소화시 조성 변화

체류 시간	변화
1.282	사라짐
1.306	형성됨
1.439	형성됨
2.246	사라짐
3.253	사라짐
4.191	사라짐
4.270	형성됨
5.285	사라짐
5.674	변화되지 않음
5.760	증가됨
5.902	감소됨
6.104	변화되지 않음
6.900	변화되지 않음
7.333	변화되지 않음
7.490	형성됨
8.058	사라짐
8.567	사라짐
8.828	사라짐
9.206	변화되지 않음
9.278	변화되지 않음
9.616	형성됨
9.743	감소됨
9.847	변화되지 않음
10.257	증가됨
10.386	변화되지 않음
10.620	형성됨
10.669	감소됨
10.827	증가됨
11.395	사라짐

실시예 # (8)9

실시예 (8)1-(8)8의 진탕 시험관 시험 후, 실시예 8(1)로부터의 PDO 용액 11.8kg을 5갤론들이 고압솔 반응기에 레이니 2400 니켈 슬러리 촉매 24g과 함께 투입하였다. 이 혼합물을 400psig 및 120℃에서 4시간 동안 수소화하였다. 이 공정을 3회 반복하고, 생성물을 합하여 2개의 시험 규모의 증류 칼럼에서 증류하여 경질물 및 중질물을 제거하였다. 최종 생성물은 0.3AU 미만의 UV-270을 나타내었다. 정제된 PDO를 중합하여 b-색이 0.33인 분명히 무색인 폴리-트리메틸렌-테레프탈레이트를 형성하였다. 이 수소화 및 증류 공정의 부재하의 PDO는 b-색이 1.2가 넘는 중합체를 생성하였다. 수소화 전의 PDO의 pH는 4.6이었고, 수소화 후의 pH는 6.8로 증가하였다.

경우 B. 조질의 1,3-프로판디올(증류 전)에 대한 본 발명의 용도

단순화된 공정으로서, 더 조질의 1,3-프로판디올을 제2 시리즈의 시험에 사용하였다. 이 1,3-프로판디올도 또한 텍스트 로즈로부터 출발하여 전술된 발효 공정에서 제조되고, 여과, 이온 교환 및 증발의 다양한 단계에서 정제되었고, 단 4개의 증류 칼럼이 아니라 2개의 증류 칼럼에서 증류되었다. 이 공급물의 GC 분석은 면적의 약 1%를 차지하는 40가지가 넘는 미지의 불순물을 나타내었다. UV/Vis 흡수는 꽤 강하여, 20%로 희석한 후 그의 UV-270 흡광도는 3.4AU이었다.

실시예 # (8)10

상기 경우 B에 기술된 조질의 PDO 용액 12.5kg을 5갤론들이 고압솔 반응기에 레이니 니켈 슬러리 촉매 52g과 함께 투입하였다. 이 혼합물을 400psig, 120℃에서 1시간 동안 수소화한 후, 130℃에서 4시간 동안 수소화하였다. 3가지의 추가의 배치를 유사하게 수소화하고, 생성물을 합하여 2개의 시험 규모의 증류 칼럼에서 증류시켜 경질물 및 중질물을 제거하였다. 최종 생성물은 0.1AU 미만의 UV-270을 나타내었다. 이 정제된 1,3-프로판디올을 중합하여 b-색이 0.88인 분명하게 무색인 폴리-트리메틸렌-테레프탈레이트를 형성하였다. 수소화 전의 PDO의 pH는 4.7이었고, 수소화 후의 pH는 6.6으로 증가하였다.

경우 C. 변형되고 개선된 사전정제에 의한, 1,3-프로판디올에 대한 본 발명의 용도

발효 및 정제 공정 조건의 변화에 의해, 개선된 품질을 갖는 몇몇 조질의 PDO 용액이 얻어졌다. 이들 PDO 용액은 다양한 조건하에 상향류 충전 상 반응기에서 수소화되었다. 반응기는 직경 3/4인치 및 길이 20인치의 스테인레스강 자켓 설치된 반응기이었다. 자켓내에 흐르는 고온 오일은 반응기의 온도를 일정하게 유지시켰다. 반응기를 불활성 충전물의 두 층 사이에 지지된 바람직한 길이의 촉매로 충전하였다. PDO 및 수소는 바람직한 압력에서 저부로부터 반응기내로 들어갔다. 이들은 상향류 방식으로 반응기를 통과하여, 반응기의 분리기 하류에서 분리되었다. 상업적인 과립 레이니 니켈(Cr 및 Fe 촉진된 Ni) 및 Ni 50 내지 60%를 함유하는 실리카/알루미나 촉매상의 상업적 니켈(알루미나/실리카상에 지지된 니켈 촉매 사용)을 포함한 다양한 촉매를 시험하였다.

실시예 # (8)11-(8)20

이들 실시예에서, 경우 C로서 기술된 PDO를 다양한 작동 조건에서 3가지의 상업적인 촉매로 수소화하였다. 각 실시예의 작동 조건 및 결과를 하기 표 16에 나타낸다. 색 제거율은 온도 및 접촉 시간 증가 또는 공간 속도 감소에 따라 개선된다. 압력은 색 제거율에 최소의 효과를 나타낸다. 황은 측정된 모든 경우에서 완전히 제거되고, 생성물의 pH는 산성으로부터 더 중성인 범위로 증가하였다.

[표 16]

실시예	촉매	LHSV, 1/h	H ₂ /PDO, scc/g	온도 ℃	압력 psig	생성물 UV	S ppm	pH
공급물						1.52	13	5.7
11	레이니 Ni	4	21.3	120	400	0.35		
12	레이니 Ni	4	21.3	120	650	0.32		
13	Ru/C	4	21.3	120	400	0.33		
14	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	4	21.3	80	400	0.55		

15	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	4	21.3	100	400	0.47		
16	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	4	21.3	60	400	0.74		
17	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	4	21.3	40	400	0.87		
18	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	3.8	22.4	120	400	0.32		
19	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	1.9	22.4	120	400	0.35	0	7.5
20	Ni/SiO ₂ -Al ₂ O ₃	1.27	22.4	120	400	0.15	0	6.7

실시예 #9

순도 특징화

하기 표에서, 본 발명의 방법에 의해 정제된 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을, 몇몇 순도 양상에서, 2가지의 별개의 화학적으로 생성된 1,3-프로판디올의 상업적으로 얻어진 제제와 비교한다.

[표 17]

전체 유기 불순물	단위	공급원 A	공급원 B	생-PD0
	ppm	570	695	80
생-PD0				
UV 흡광도@220nm	AU	0.25	1.15	0.12
UV 흡광도@250nm	AU	0.123	0.427	0.017
UV 흡광도@275nm	AU	0.068	0.151	0.036
UV 흡광도@350nm	AU	0.013	0.007	0.001
과산화물	ppm	67	43	2
CIE L*a*b* ASTM D6290	b*	.411	.03	.1
카르보닐	ppm	147	175	1

순도 양상의 전형적인 프로파일은 본 발명의 방법에 의해 정제된 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올의 샘플에 대하여 이하에 제공된다.

[표 18]

	단위	단위
1,3-프로판디올	GC 면적%	99.992
pH, 니트(neat)	pH	8.22
UV 흡광도@270nm, 1:5 희석	AU	0.01
색 APHA		3
색(공정 측정) L*a*b*	b*	0.10
물	ppm	115
UV 흡광도@220nm 니트	AU	0.144
UV 흡광도@250nm 니트	AU	0.017
UV 흡광도@275nm 니트	AU	0.036
UV 흡광도@350nm 니트	AU	0.001
과산화물	ppm	2
금속	ppm	<1
황	ppm	<1
카르보닐	ppm	1

총 유기 불순물의 단위 ppm은 화염 이온화 검출기를 갖는 기체 크로마토그래피에 의해 측정된, 1,3-프로판디올이 아닌, 최종 제제내 총 유기 화합물의 백만부당 부를 뜻한다. 결과는 피크의 면적으로 보고된다. 화염 이온화 검출기는 물의 영향을 받지 않으므로, 총 순도는 모든 비-1,3-프로판디올 유기 피크의 합(면적%)을 모든 면적%의 합(1,3-프로판디올 포함)으로 나눈 것이다. "유기 물질" 또는 "유기 불순물"이란 용어는 탄소를 함유하는 오염물질을 가리킨다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

(a) 발효액을 여과에 적용시키는 단계; (b) 단계 (a)의 생성물을 음이온 및 양이온 분자가 제거되는 이온 교환 정제에 적용시키는 단계; 및 (c) 단계 (b)의 생성물을 증류 칼럼중 하나에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 분자를 제거하고, 증류 칼럼중 다른 하나에서 1,3-프로판디올의 비점보다 낮은 비점을 갖는 분자를 제거하는 둘 이상의 증류 칼럼을 포함하는 증류 과정에 적용시키는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법.

청구항 2.

제1항에 있어서, 단계 (b)의 생성물을 화학 환원에 적용시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 3.

제2항에 있어서, 화학 환원이 수소화 및 히드로붕소화로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

청구항 4.

제3항에 있어서, 화학 환원이 수소화인 방법.

청구항 5.

제1항에 있어서, 발효액을 증발 단계에 적용시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 6.

제5항에 있어서, 증발 단계가 단계 (b)동안 수행되는 방법.

청구항 7.

제1항에 있어서, 단계 (a)의 여과 공정이 하나보다 많은 별개의 여과 과정을 포함하는 방법.

청구항 8.

제7항에 있어서, 단계 (a)의 여과 공정이 제1 및 제2 여과 과정을 포함하고, 제1 여과 과정이 발효액을 0.2미크론보다 큰 크기를 갖는 분자를 제거하는 것을 포함하는 정밀여과에 적용시키는 단계를 포함하고, 제2 여과 과정이 약 200달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 9.

제7항에 있어서, 단계 (a)의 여과 공정이 제1, 제2 및 제3 여과 과정을 포함하고, 제1 여과 과정이 발효액을 0.2미크론보다 큰 크기를 갖는 분자를 제거하는 것을 포함하는 정밀여과에 적용시키는 단계를 포함하고, 제2 여과 과정이 발효액을 약 5000달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 것을 포함하는 한외여과에 적용시키는 단계를 포함하고, 제3 여과 과정이 발효액을 약 200 내지 400달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 것을 포함하는 나노여과에 적용시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 10.

제1항에 있어서, 단계 (b)의 이온 교환 공정이 하나보다 많은 별개의 이온 교환 과정을 포함하는 방법.

청구항 11.

제10항에 있어서, 단계 (b)의 이온 교환 공정이 단계 (a)의 생성물을 하나보다 많은 연속된 이온 교환 과정에 적용함을 포함하고, 연속된 과정이 각각 생성물을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 약 이온 교환 수지에 노출시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 12.

제10항에 있어서, 단계 (b)의 이온 교환 공정이 단계 (a)의 생성물을 연속된 두 이온 교환 과정에 적용하는 것을 포함하고, 각각의 연속 과정이 생성물을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 생성물을 약 이온 교환 수지에 노출시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 13.

제12항에 있어서, 단계 (b)의 이온 교환 공정이 생성물을 강산 양이온 교환 수지 및 강염기 음이온 교환 수지의 혼합물을 포함하는 혼합 이온 교환 수지 조성물에 적용시키는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 14.

제1항에 있어서, 단계 (b)가 단계 (a)의 생성물을 연속된 두 이온 교환 과정에 적용시키는 단계를 포함하고, 각각의 연속 과정이 생성물을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 생성물을 약 이온 교환 수지에 노출시키고, 그 후 증발 단계에 적용시킨 후, 생성물을 강산 양이온 교환 수지 및 강염기 음이온 교환 수지의 혼합물을 포함하는 혼합 이온 교환 수지 조성물에 적용시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 15.

(a) 발효액을 여과에 적용시키는 단계; (b) 단계 (a)의 생성물을 음이온 및 양이온 분자가 제거되는 이온 교환 정제에 적용시키는 단계; (c) 단계 (b)의 생성물을 화학 환원 과정에 적용시키는 단계; (d) 단계 (c)의 생성물을 하나의 증류에서 1,3-

프로판디올의 비점보다 낮은 비점을 갖는 화합물을 제거하고, 다른 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 분자를 제거하는 둘 이상의 증류에 적용시키는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법.

청구항 16.

제15항에 있어서, 단계 (c)의 화학 환원 과정이 히드로붕소화 및 수소화에 대한 노출로 이루어진 군에서 선택되는 방법.

청구항 17.

제16항에 있어서, 화학 환원 과정이 수소화인 방법.

청구항 18.

(a) 발효액으로부터 유기체의 세포 생물량이 제거되는 정밀여과에 발효액을 적용시키는 단계; (b) 단계 (a)의 생성물을 약 200 내지 400달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자가 제거되는 나노여과에 적용시키는 단계; (c) 단계 (b)의 생성물을, 단계 (c)의 생성물을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 약염기 음이온 교환 수지에 노출시키는 것을 각각 포함하는 연속된 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; (d) 단계 (c)의 생성물을, 강염기 음이온 교환 수지와 혼합된 강 양이온 교환 수지를 포함하는 수지 조성물에 노출시킴으로써 혼합 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; (e) 단계 (d)의 생성물을 화학 환원 과정에 적용시키는 단계; 및 (f) 단계 (e)의 생성물을, 1,3-프로판디올의 비점보다 낮은 비점 및 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는, 단계 (e)의 생성물에 남아 있는 화합물이 제거되는 연속된 증류에 적용시키는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법.

청구항 19.

(a) 발효액으로부터 유기체의 세포 생물량이 제거되는 정밀여과에 발효액을 적용시키는 단계; (b) 단계 (a)의 생성물을 약 5000달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자가 제거되는 한외여과에 적용시키는 단계; (c) 단계 (b)의 생성물을 약 200 내지 400 달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자가 제거되는 나노여과에 적용시키는 단계; (d) 단계 (c)의 생성물을, 단계 (c)의 생성물을 강산 양이온 교환 수지에 노출시킨 후 약염기 음이온 교환 수지에 노출시키는 것을 각각 포함하는 연속된 두 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; (e) 단계 (d)의 생성물내 물의 양을 증발에 의해 감소시키는 단계; (f) 단계 (e)의 생성물을 강염기 음이온 교환 수지와 혼합된 강한 양이온 교환 수지를 포함하는 수지 조성물에 노출시킴으로써 혼합 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; (g) 단계 (f)의 생성물을, 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 화합물을 제거하고 다른 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 낮은 비점을 갖는 화합물을 제거하는 두 증류에 적용시키는 단계; (h) 단계 (g)의 생성물을 화학 환원에 적용시키는 단계; 및 (i) 단계 (h)의 생성물을, 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 화합물을 제거하고 다른 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 낮은 비점을 갖는 화합물을 제거하는 두 증류에 적용시키는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법.

청구항 20.

(a) 발효액을 세라믹 직교류(crossflow) 정밀여과에 적용시켜, 발효액으로부터 유기체의 세포 생물량을 제거하는 단계; (b) 단계 (a)의 생성물을 한외여과에 적용시켜, 약 5000달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 단계; (c) 단계 (b)의 생성물을 나선형(spiral wound) 증합체 막을 사용하는 나노여과에 적용시켜, 약 200 내지 400달톤보다 큰 분자량을 갖는 분자를 제거하는 단계; (d) 단계 (c)의 생성물을, 단계 (c)의 생성물을 강산 양이온 교환에 노출시킨 후 약염기 음이온 교환 수지에 노출시키는 것을 각각 포함하는 연속된 두 이온 교환 과정에 적용시키는 단계; (e) 단계 (d)의 생성물내 물의 양을 감소시키는 단계; (f) 단계 (e)의 생성물을 강염기 음이온 수지와 혼합된 강한 양이온 교환 수지를 포함하는 수지 조성물에 노출시킴으로써 혼합 이온 교환 과정에 노출시키는 단계; (g) 단계 (f)의 생성물을 두 증류에 적용시켜, 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 화합물을 제거하고, 다른 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 낮

은 비점을 갖는 화합물을 제거하는 단계; (h) 단계 (g)의 생성물을 수소화 반응에 적용시키는 단계; 및 (i) 단계 (h)의 생성물을 두 증류에 적용시켜, 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 높은 비점을 갖는 화합물을 제거하고, 다른 하나의 증류에서 1,3-프로판디올의 비점보다 낮은 비점을 갖는 화합물을 제거하는 단계를 포함하는, 1,3-프로판디올을 생성할 수 있는 유기체의 발효액으로부터 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 정제하는 방법.

청구항 21.

제2항 내지 제20항중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된 조성물.

청구항 22.

220nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.200 미만이고, 250nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.075 미만이고, 275nm에서의 자외선 흡광도가 약 0.075 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 23.

"b" 색가가 약 0.15 미만이고, 275nm에서의 흡광도가 약 0.050 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 24.

과산화물 농도가 약 10ppm 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 25.

조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 400ppm 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 26.

조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 300ppm 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 27.

조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 150ppm 미만인, 생물학적으로 생성된 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 28.

조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 400ppm 미만인 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 29.

조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 300ppm 미만인 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 30.

조성물내 총 유기 불순물의 농도가 약 150ppm 미만인 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 31.

약 10ppm 미만의 과산화물의 농도를 갖는 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.

청구항 32.

약 10ppm 미만의 카르보닐 기의 농도를 갖는 1,3-프로판디올을 포함하는 조성물.