



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102952008 A

(43) 申请公布日 2013. 03. 06

(21) 申请号 201110248720. 6

(22) 申请日 2011. 08. 26

(71) 申请人 中国石油化工股份有限公司

地址 210048 江苏省南京市六合区大厂新华路 777 号

申请人 中国石化扬子石油化工有限公司

(72) 发明人 刘经伟 陈韶辉 李泽壮 李晓强

杨爱武 柏基业 刘丽娟

(74) 专利代理机构 南京知识律师事务所 32207

代理人 韩朝晖

(51) Int. Cl.

C07C 55/10 (2006. 01)

C07C 51/42 (2006. 01)

C07C 51/02 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

一种从厌氧发酵液中提取丁二酸的方法

(57) 摘要

本发明提供一种从厌氧发酵液中提纯丁二酸的方法,与现有技术相比,本发明所述的方法采用绿色无毒的双氧水作为氧化脱色剂,在脱色过程中自身分解为水和氧气,不会与丁二酸形成过氧化酸降低丁二酸的收率,而且也不存在活性炭脱色对丁二酸的吸附和废弃脱色剂的处理问题。

1. 一种从厌氧发酵液中提取丁二酸的方法,包括以下步骤:
 - 1) 将丁二酸盐厌氧发酵液脱除菌体和大颗粒悬浮物得到发酵上清液;
 - 2) 取发酵上清液进行超滤去除生物大分子,收集超滤后的发酵液;
 - 3) 在收集超滤后的发酵液中加入双氧水,得到澄清的脱色液;
 - 4) 将澄清脱色液进行减压浓缩,得到浓缩液;
 - 5) 浓缩液在酸性条件下结晶、过滤、干燥得到丁二酸产品。
2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述超滤采用截留分子量为2000~6000道尔顿的超滤膜,操作压力为0.12~0.40MPa,操作温度为10~40℃。
3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述的超滤后发酵液与加入的双氧水质量比例为20~100:1,双氧水浓度为10~50%。
4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述的超滤后发酵液与双氧水的反应温度为20~50℃。
5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述的减压浓缩是在温度为110~145℃,绝对压力为0.02~0.09MPa的条件下进行,浓缩倍数为4~9倍。
6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:所述的酸性条件下结晶是在脱色后液体中加入酸调节pH值至1.2~4.5,结晶析出丁二酸晶体。
7. 根据权利要求6所述的方法,其特征在于:所述的酸性条件下结晶pH值为2.5~3.2。

一种从厌氧发酵液中提取丁二酸的方法

[0001] 一、技术领域

本发明属于生物化工分离技术领域,具体涉及的是一种从丁二酸盐厌氧发酵液中提取丁二酸的方法。

[0002] 二、背景技术

丁二酸 (Succinic Acid), 又称琥珀酸, 是生物炼制产品工程中最为重要的碳四平台化合物, 在聚酯、橡胶、制药、食品工业、防护涂料、染料和精细化学品等产业中有着广阔的应用前景。截至 2009 年底, 世界上丁二酸的总产量为 3 万吨, 预期到 2015 年丁二酸产量有望大幅增加达到 18 万吨。目前, 丁二酸的工业合成主要采用丁烷经顺丁烯二酐的化学电解法, 这种方法污染大, 成本高, 严重阻碍了丁二酸的规模化生产。与化学电解法相比, 利用廉价可再生资源 (如玉米、木薯和乳清等) 作为原料的厌氧生物发酵法每生产 1 吨丁二酸可固定 0.37 吨的二氧化碳, 该工艺具有原子经济性高、过程绿色环保和可实现低碳减排等特点, 受到了美国、日本、韩国和中国等国家学术与工业界的广泛关注。其中, 美国能源部已于 2004 年将丁二酸列为 12 种最具有发展潜力的化合物首位。

[0003] 在厌氧发酵工艺过程中, 为了获得高纯度的丁二酸产品必须要将发酵液中的大量菌体、不溶颗粒、蛋白质和色素进行有效的脱除。针对丁二酸的分离和纯化在诸多专利和文献中都有所报道, 主要包括钙盐法、电渗析法、铵盐结晶法、离子交换法和膜分离法, 这些方法可以单独或联合使用从而达到令人满意的分离提纯效果。

[0004] 美国专利 US5168055 报道了在发酵液中直接加入钙盐, 与丁二酸根离子形成丁二酸钙沉淀, 而后过滤沉淀、采用硫酸酸化、结晶析出的方式获得丁二酸产品的方法。在专利所披露的过程中, 由于丁二酸钙在发酵液中有较高的溶解度, 一次沉淀并不能获得较高的丁二酸收率, 需要采用高温浓缩的方式进一步析出丁二酸钙; 为了脱除丁二酸中的蛋白、色素和金属离子杂质还采用了酸性和弱碱性两类离子交换柱, 这些离子交换柱存在着交换容量有限, 再生困难等问题。除此之外, 分离过程中加入的钙盐和硫酸也无法实现回用, 造成了大量的原料浪费。US5143834、JP2283289 和 JP2944157 采用电解方法分离获得丁二酸, 具体是将低浓度的丁二酸盐溶液进行电分解, 使之成为丁二酸的过饱和溶液和碱液。其中, 分离出的碱液可以返回到发酵池中中和丁二酸实现回用。然而, 该电解工艺初期投资和运行费用较高, 并且只适合电解丁二酸的一价盐发酵液, 对丁二酸二价盐发酵液并不适用。Yun Suk Huh 等采用昂贵的三辛胺 - 正辛醇溶液络合萃取丁二酸, 该工艺采用毒性较大的三辛胺可能会影响丁二酸的品质, 而且回收的溶剂再次使用前需脱除其中的蛋白、色素 (Process Biochemistry, 2006 年第 41 卷 1461 - 1465 页)。US5958744 公开了在发酵液中加入氨水和硫酸调节酸碱度, 后续进行粗结晶和甲醇重结晶获得丁二酸的方法。该专利中, 氨水和硫酸反应生成的硫酸铵在 300°C 高温条件下热分解可将氨水和硫酸循环使用, 但在重结晶过程中使用有毒的甲醇对环境不友好。US20090234160 报道了从包含碱金属的丁二酸盐溶液中获得丁二酸的方法。该工艺利用碱金属硫酸盐与丁二酸溶解度随温度变化趋势不同的特点, 在碱金属丁二酸盐溶液中加入硫酸, 高温结晶沉淀分离出部分碱金属硫酸盐, 而后低温沉淀脱除丁二酸结晶粗品, 最后丁二酸粗品溶解、活性炭脱色、再结晶和干燥获得

丁二酸产品。然而,该专利中披露的步骤较为繁琐,碱金属硫酸盐可能会影响丁二酸产品的品质。CN100445257 报道了从厌氧发酵液中分离获得丁二酸的方法,包括微滤膜过滤、超滤膜超滤脱蛋白,活性炭脱色、酸化、蒸发浓缩和结晶等步骤。在蒸发浓缩过程中,由于先经酸化处理蒸出水中会有大量的甲酸、乙酸存在,这部分水无法回收使用,只能作为废水排出,排污量较大。在活性炭脱色过程中,活性炭在脱除色素的同时,也会吸附丁二酸,造成丁二酸的损失。除此之外,废弃活性炭的处理也是无法回避的问题。

[0005] 综上这些专利和文献技术可以发现,从发酵液中提取丁二酸存在着投资成本高、分离步骤繁琐、产品杂质多和对环境不利等问题,影响了生物法丁二酸的工业化进程。

[0006] 三、发明内容

本发明的目的是提供一种从丁二酸盐厌氧发酵液提取丁二酸的方法。

[0007] 一种从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,包括以下步骤:

- 1) 将丁二酸盐厌氧发酵液脱除菌体和大颗粒悬浮物得到发酵上清液;
- 2) 取发酵上清液进行超滤去除生物大分子,收集超滤后的发酵液;
- 3) 在收集超滤后的发酵液中加入双氧水发生氧化反应,得到澄清的脱色液;
- 4) 将得到的澄清脱色液进行减压浓缩,得到浓缩液;
- 5) 浓缩液在酸性条件下结晶、过滤、干燥得到丁二酸产品。

[0008] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中超滤采用截留分子量为 2000~6000 道尔顿的超滤膜,操作压力为 0.12~0.40MPa,操作温度为 10~40℃。

[0009] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中超滤后发酵液与加入的双氧水质量比例为 20~100:1,双氧水浓度为 10~50%。

[0010] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中超滤后发酵液与双氧水的反应温度为 20~50℃。

[0011] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中的减压浓缩是在温度为 110~145℃,绝对压力为 0.02~0.09MPa 的条件下进行,浓缩倍数为 4~9 倍。

[0012] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中的酸性条件下结晶是在脱色后液体中加入酸调节 pH 值至 1.2~4.5,结晶析出丁二酸晶体。

[0013] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中的酸性条件下结晶优选 pH 值为 2.5~3.2。

[0014] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中用于调节脱色液体 pH 的酸为无机酸,比如盐酸、硫酸,优选盐酸。

[0015] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中的酸性条件下结晶是在温度为 0~6℃析出丁二酸晶体。

[0016] 所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中的干燥是在温度为 50~90℃条件下进行。

[0017] 本发明所述的丁二酸发酵液由产丁二酸的菌株在 pH 值为 6~7.5、厌氧条件下发酵生产,丁二酸在发酵液中浓度为 36.0~90.0g/L。

[0018] 本发明所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,工艺条件温和,不加入任何有机溶剂及其他有机化合物。与现有技术相比,本发明所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法采用绿色无毒的双氧水作为氧化脱色剂,在脱色过程中自身分解为水和氧气,不会与丁二

酸形成过氧化酸降低丁二酸的收率,而且也不存在活性炭脱色对丁二酸的吸附和废弃脱色剂的处理问题。除了以上优点以外,本发明所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,其中减压浓缩前的发酵液体 pH 值为 6~7.5,在减压浓缩过程中的蒸出水不含甲酸、乙酸等酸性组分,可以直接返回到发酵单元作为溶剂或分离单元作为洗涤用水,实现大量水不需要处理而直接回用。

[0019] 本发明所述的从厌氧发酵液提取丁二酸的方法,结晶、过滤和干燥后得到的丁二酸样品,一次结晶丁二酸收率最高可达 84%,丁二酸纯度最高可达 99.5%,氮含量低于 200ppm,透光率高于 99.0%。

[0020] 本发明中丁二酸的纯度采用高效液相色谱法分析(参考 Process Biochemistry, 2006 年 41 卷 1461~1465 页);氮含量采用荧光硫氮分析仪检测(ASTM D4629 标准);产品的色度丁二酸的色度检测是将本发明制备的丁二酸配制成 10g/L 的溶液,在 430nm 波数下以纯水为参比,用分光光度计检测(参考中华人民共和国药典 2000 版二部 364 页 L-2-氨基-3-苯丙酸检测方法)。

具体实施方式

[0021] 用以下的实施例对本发明作进一步说明,但有必要指出以下实施例只用于对发明内容的进一步说明,并不构成对本发明保护范围的限制。

[0022] 实施例 1

取浓度为 36.0g/L 的丁二酸厌氧发酵液 4.0L,在离心机上离心脱除菌体及大颗粒悬浮物得到离心上清液。离心上清液在操作压力为 0.40MPa 和温度为 40°C 的条件下通过截留分子量为 6000 道尔顿的超滤膜,得到超滤后液体 4.0L。超滤后液体加入浓度为 50% 的双氧水 0.4L,在温度为 20°C 的条件下反应 6 小时,得到澄清脱色液。澄清脱色液在温度 110°C、压力为 0.02MPa 的条件下浓缩,得到浓缩后液体 0.44L。在浓缩后液体中加入盐酸调节 pH 至 1.2,在温度为 0°C 条件下,冷却结晶 10 小时,析出针状晶体。晶体经 50°C 烘干至恒重,重量为 116 g,收率为 80.6%。丁二酸提取过程检测结果见表 1。

[0023] 表 1 丁二酸提取过程分析检测结果

分析检测项目	离心液	超滤液	脱色液	浓缩液	产品
氮含量(ppm)	1433	366	308	583	228
430nm 透光率(%)	40.1	61.8	99.6	99.3	99.0
丁二酸浓度(g/L)	36.0	36.0	32.6	326.5	99.1% (纯度)

实施例 2

取丁二酸浓度为 43.6g/L 的厌氧发酵液 4.0L,在离心机上离心脱除菌体及大颗粒悬浮物得到离心上清液。离心上清液在操作压力为 0.12MPa 和温度为 40°C 的条件下通过截留分子量为 2000 道尔顿的超滤膜,得到超滤后液体 4.0L。超滤后液体加入浓度为 50% 的双氧水 0.04L,在温度为 50°C 的条件下反应 4 小时,得到澄清脱色液。澄清脱色液在温度 145°C、压力为 0.09MPa 的条件下浓缩,得到浓缩后液体 0.8L。在浓缩后液体中加入盐酸调节 pH 至 4.5,在温度为 5°C 条件下,冷却结晶 12 小时,析出晶体。晶体经 90°C 烘干至恒重,重量为 123 g,收率为 70.5%。丁二酸提取过程分析检测结果见表 2。

[0024] 表 2 丁二酸提取过程分析检测结果

分析检测项目	离心液	超滤液	脱色液	浓缩液	产品
--------	-----	-----	-----	-----	----

氮含量(ppm)	1243	198	182	360	170
430nm 透光率(%)	46.7	72.4	99.7	99.2	99.1
丁二酸浓度(g/L)	43.6	43.6	43.0	217.5	99.6% (纯度)

实施例 3

取丁二酸浓度为 59.8g/L 的厌氧发酵液 4.0L, 在离心机上离心脱除菌体及大颗粒悬浮物得到离心上清液。离心上清液在操作压力为 0.2MPa 和温度为 20°C 的条件下通过截留分子量为 2000 道尔顿的超滤膜, 得到超滤后液体 4.0L。超滤后液体加入浓度为 30% 的双氧水 0.8L, 在温度为 30°C 的条件下反应 6 小时, 得到澄清脱色液。澄清脱色液在温度 110°C、压力为 0.02MPa 的条件下浓缩, 得到浓缩后液体 0.6L。在浓缩后液体中加入盐酸调节 pH 至 3.0, 在温度为 1°C 条件下, 冷却结晶 10 小时, 析出晶体。晶体经 70°C 烘干至恒重, 重量为 196 g, 收率为 81.9%。丁二酸提取过程检测结果见表 3。

[0025] 表 3 丁二酸提取过程分析检测结果

分析检测项目	离心液	超滤液	脱色液	浓缩液	产品
氮含量(ppm)	1187	237	197	389	193
430nm 透光率(%)	44.8	69.3	99.8	99.5	99.2
丁二酸浓度(g/L)	59.8	59.6	49.5	396.8	99.7% (纯度)

实施例 4

取丁二酸浓度为 90.0g/L 的厌氧发酵液 4.0L, 在离心机上离心脱除菌体及大颗粒悬浮物得到离心上清液。离心上清液在操作压力为 0.12MPa 和温度为 10°C 的条件下通过截留分子量为 5000 道尔顿的超滤膜, 得到超滤后液体 4.0L。超滤后液体加入浓度为 40% 的双氧水 0.3L, 在温度为 40°C 的条件下反应 3 小时, 得到澄清脱色液。澄清脱色液在温度 140°C、压力为 0.06MPa 的条件下浓缩, 得到浓缩后液体 1.0L。在浓缩后液体中加入硫酸调节 pH 至 2.9, 在温度为 4°C 条件下, 冷却结晶 12 小时, 析出晶体。晶体经 60°C 烘干至恒重, 重量为 291 g, 收率为 80.8%。丁二酸提取过程检测结果见表 4。

[0026] 表 4 丁二酸提取过程分析检测结果

分析检测项目	离心液	超滤液	脱色液	浓缩液	产品
氮含量(ppm)	1592	364	331	369	190
430nm 透光率(%)	41.4	60.8	99.8	99.3	99.1
丁二酸浓度(g/L)	90.0	89.5	194.5	359.2	99.8% (纯度)

实施例 5

取丁二酸浓度为 90.0g/L 的厌氧发酵液 4.0L, 在离心机上离心脱除菌体及大颗粒悬浮物得到离心上清液。离心上清液在操作压力为 0.12MPa 和温度为 10°C 的条件下通过截留分子量为 2000 道尔顿的超滤膜, 得到超滤后液体 4.0L。超滤后液体加入浓度为 30% 的双氧水 0.4L, 在温度为 30°C 的条件下反应 6 小时, 得到澄清脱色液。澄清脱色液在温度 140°C、压力为 0.02MPa 的条件下浓缩, 得到浓缩后液体 0.85L。在浓缩后液体中加入盐酸调节 pH 至 2.5, 在温度为 1°C 条件下, 冷却结晶 12 小时, 析出晶体。晶体经 70°C 烘干至恒重, 重量为 305 g, 收率为 84.7%。丁二酸提取过程检测结果见表 5。

[0027] 表 5 丁二酸提取过程分析检测结果

分析检测项目	离心液	超滤液	脱色液	浓缩液	产品
氮含量(ppm)	1592	178	151	298	137
430nm 透光率(%)	41.4	70.5	99.8	99.5	99.1
丁二酸浓度(g/L)	90.0	89.2	194.5	422.1	99.8% (纯度)