



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0026870

(51)⁷ C07C 227/08; C07C 51/363; C12P 7/54; (13) B
C07C 53/19; C12P 7/52; C07C 229/08;
C07C 53/16

(21) 1-2017-03049

(22) 17/02/2016

(86) PCT/FR2016/050364 17/02/2016

(87) WO 2016/135397 A1 01/09/2016

(30) 1551673 27/02/2015 FR

(45) 25/12/2020 393

(43) 25/12/2017 357A

(73) AFYREN (FR)

Biopole Clermont Limagne, 63360 Saint Beuzire, France

(72) NOUAILLE, Régis (FR); PESSIOT, Jérémy (FR); THIEULIN, Marie (FR).

(74) Công ty TNHH Quốc tế D & N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT AXIT AMIN TỪ CÁC TIỀN CHẤT THU ĐƯỢC BẰNG CÁCH LÊN MEN KỶ KHÍ TỪ SINH KHỐI CÓ THỂ LÊN MEN ĐƯỢC

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế các axit amin từ các phân tử axit béo dễ bay hơi (volatile fatty acid-VFA), được gọi là các tiền chất, được điều chế bằng cách lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men được, quy trình này ít nhất bao gồm các bước sau:

a) chiết các phân tử axit béo dễ bay hơi (VFA), mà không cần dừng quá trình lên men, bằng tác nhân chiết được chọn từ các tác nhân mà ít nhất không hòa tan được trong môi trường lên men,

b) thu gom các phân tử axit béo dễ bay hơi (VFA) khi chúng được chiết ở bên ngoài thùng lên men,

c) tổng hợp axit α -halo xác định, bằng cách halogen hóa, sử dụng loại axit béo dễ bay hơi (VFA) được chọn từ các axit béo dễ bay hơi thu được ở bước b) và được xác định theo loại axit amin mong muốn,

d) tổng hợp axit amin định trước từ axit α -halo này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất axit amin từ các tiền chất thu được bằng cách lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men được.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Axit amin là các hợp chất tạo nên peptit và vì vậy tạo nên cả protein. Chúng được sử dụng, trong số nhiều mục đích sử dụng, làm các chất phụ gia trong thức ăn chăn nuôi (ví dụ lysin, methionin hoặc threonin), làm các chất tăng hương vị trong thực phẩm dùng cho người, như glutamat, serin hoặc axit aspartic, làm các chất dinh dưỡng riêng trong lĩnh vực y học, hoặc được sử dụng trong lĩnh vực mỹ phẩm. Ví dụ như, glyxin, alanin, norvalin và norleuxin là các axit amin được dùng trong lĩnh vực dược phẩm, mỹ phẩm và hóa công nghiệp. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, có một số tài liệu đã đề cập đến quy trình điều chế axit amin từ axit được halogen hóa như đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 4377638 A, các tài liệu phi sáng chế như Harry H. Sisler et al: “Studies in ammonolysis II. Ammonolysis of [alpha]-Halogen acids in liquid ammonia 1”, Tạp chí Hóa học hữu cơ, tập 06, số 4, 1 juillet 1941 (1941-07-01), trang 467-478, XP055238701, Mỹ. ISSN: 0022-3263, DOI: 10.1021/jo01204a001, và W. H. Perkin et al: “Ueber die Einwirkung des Broms auf Essigsäure”, Justus Liebigs Annalen Der Chemie, tập 108, số 1, 1 janvier 1858 (1858-01-01), trang 106-113, XP055238694, Weinheim; Đức. ISSN: 0075-4617, DOI: 10.1002/jlac. 18581080121.

Quy trình sản xuất axit amin bằng cách tổng hợp hóa học hoặc bằng cách chuyển hóa nhờ enzym là đã biết. Mặc dù có thể dễ dàng điều chỉnh và kiểm soát tối ưu các thông số của quy trình sản xuất, nhưng các quy trình như vậy là phức tạp và tốn nhiều chi phí để thực hiện.

Để giảm thiểu chi phí sản xuất, các quy trình hiện nay, ví dụ, để sản xuất axit amin đều thông qua con đường vi sinh vật. Các axit amin là các chất chuyển hóa chủ yếu được tổng hợp bởi vi sinh vật trong quá trình lên men. Mặc dù các quy trình như vậy có thể sản xuất một lượng lớn các axit amin mà có thể tiêu hóa được trực tiếp bởi

cơ thể, nhưng loại quy trình này vẫn chỉ được áp dụng để sản xuất một loại axit amin. Sáng chế được tạo ra để khắc phục các mặt hạn chế này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình tổng hợp axit amin mà có thể tổng hợp được nhiều loại axit amin, đặc biệt là các axit amin không tạo nên protein, một cách dễ dàng mà không cần các điều kiện ràng buộc có liên quan đến các phương pháp tổng hợp đã biết trong giải pháp kỹ thuật đã biết.

Để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất axit amin từ các phân tử axit béo dễ bay hơi (volatile fatty acid-VFA), được gọi là các tiền chất, được tổng hợp bằng cách lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men được, khác biệt ở chỗ quy trình này ít nhất bao gồm các bước sau:

a) chiết các phân tử axit béo dễ bay hơi (VFA), mà không làm gián đoạn quá trình lên men, nhờ các tác nhân chiết được chọn từ các tác nhân mà ít nhất không hòa tan được trong môi trường lên men,

b) thu gom các phân tử axit béo dễ bay hơi (VFA) khi chúng được chiết ở bên ngoài thùng lên men,

c) tổng hợp axit α -halo xác định, bằng cách halogen hóa, sử dụng loại axit béo dễ bay hơi (VFA) được chọn từ các axit béo dễ bay hơi thu được ở bước b) và được xác định theo loại axit amin mong muốn,

d) tổng hợp axit amin định trước từ axit α -halo này.

Do đó, quy trình này có thể kết hợp pha tổng hợp liên tục các tiền chất nhờ vi sinh vật với pha tổng hợp được thực hiện bên ngoài quy trình lên men, quy trình này cho phép kiểm soát dễ dàng các thông số khác nhau, đồng thời cho phép sự đa dạng lớn hơn về loại axit amin được tổng hợp.

Quy trình này có thể tổng hợp liên tục các tiền chất, tức là axit béo dễ bay hơi, đồng thời duy trì được khả năng sản xuất của vi sinh vật có mặt trong bình phản ứng sinh học.

Mô tả chi tiết sáng chế

Cụ thể là, các bước chiết và thu gom a) và b) không chỉ có thể chiết và thu gom liên tục các phân tử axit béo dễ bay hơi được tổng hợp trong thùng lên men, mà còn duy trì các vi sinh vật tham gia thực hiện quy trình tổng hợp này. Cụ thể là, quy trình chiết, và thu gom, diễn ra trong các điều kiện mà ít nhất không làm chết toàn bộ vi sinh vật, tức là trong các điều kiện chiết và thu gom tương thích sinh học, vì quy trình chiết phải duy trì được hoạt tính của vi sinh vật và quy trình thu gom diễn ra bên ngoài thùng lên men.

Theo cách này, các vấn đề có liên quan đến sự tích lũy các chất chuyển hóa trong thùng lên men được khắc phục, ví dụ vấn đề axit hóa môi trường lên men do sự tích lũy các axit béo dễ bay hơi được tổng hợp, mà gây hại đối với vi sinh vật. Lượng và hoạt tính của vi sinh vật được duy trì ở mức cao, gần bằng mức ban đầu, suốt chu trình lên men.

Bằng cách tạo ra quy trình sản xuất VFA chuẩn và liên tục, đã tạo ra nguồn các tiền chất khác nhau có thể sử dụng nhanh và dễ dàng. Trong quy trình theo sáng chế, việc sử dụng này diễn ra ở bước c), bằng cách tổng hợp hóa học và trong các điều kiện có thể dễ dàng thay đổi và kiểm soát, đã thu được sự đa dạng lớn hơn về loại phân tử được tổng hợp. Cụ thể là, trong bước c), tùy thuộc vào VFA được chọn để tiến hành halogen hóa, một loại axit α -halo xác định được tổng hợp và nhờ vậy, sau đó, một loại α -axit amin xác định được tổng hợp.

Quy trình như vậy có thể sử dụng sinh khối có thể lên men được trong suốt giai đoạn lên men kỵ khí. Thuật ngữ "sinh khối có thể lên men được" ở đây được dùng để chỉ cơ chất hữu cơ, mà thuận lợi là không phải loại thực phẩm, thu được từ chất thải, sản phẩm phụ và các đồng sản phẩm được tạo thành từ nguyên liệu hữu cơ, tức là từ sinh khối, thu được từ các hoạt động của con người, dù là các hoạt động trong gia đình, trong công nghiệp, nông nghiệp, lâm nghiệp, thủy sản, công nông nghiệp, thu được từ việc chăn nuôi gia súc hoặc hoạt động tương tự. Ví dụ không giới hạn về các cơ chất hữu cơ mà có thể được đề cập bao gồm phân bón, phân có thể lên men được của rác thải sinh hoạt, các đồng sản phẩm từ lò mổ, bã có thành phần chính là xenluloza hoặc lignoxenluloza có nguồn gốc từ ngành công-nông nghiệp, như bã thu được từ quá trình chế biến cây mía (bã mía), cây hướng dương hoặc cây đậu tương.

Thuật ngữ "lên men kỵ khí" có nghĩa là quy trình lên men diễn ra trong các điều kiện kỵ khí nhờ các vi sinh vật có nhân điển hình hoặc vi sinh vật nhân sơ, như vi khuẩn, nấm, tảo hoặc nấm men.

Theo các khía cạnh có lợi nhưng không bắt buộc của sáng chế, quy trình này có thể bao gồm một hoặc nhiều đặc điểm sau:

- trong bước c), hợp chất halogen được sử dụng là dibrom.
- trong bước c), hợp chất halogen được sử dụng không phải là dibrom.
- trong bước c), anhydrit axetic được sử dụng với lượng phần trăm mol so với axit béo dễ bay hơi là khoảng 12%.
- trong bước c), anhydrit tương ứng với axit béo dễ bay hơi (VFA) được halogen hóa được sử dụng.
- trong bước c), nhiệt độ tại đó phản ứng brom hóa diễn ra là nằm trong khoảng từ 20°C đến 40°C dưới nhiệt độ sôi của axit béo dễ bay hơi.
- trong bước d), quy trình tổng hợp diễn ra bằng phản ứng với lượng dư amoniac so với hệ số tỷ lệ lượng phản ứng,
- trong bước d), quy trình tổng hợp diễn ra bằng phản ứng với amin,
- trong bước d), nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 20°C đến 50°C,
- trong bước d), ít nhất một đồng sản phẩm được xác định là imino diaxit và/hoặc nitrilo triaxit được tổng hợp.

Hiện đã có một vài loại axit amin được quan tâm trong công nghiệp, mỹ phẩm, y học, thực phẩm hoặc các mục đích sử dụng khác. Ví dụ về các axit amin này có thể được đề cập bao gồm các axit amin không tạo protein, như homoalanin, norvalin và norleuxin, mà mong muốn được dùng để tổng hợp các phân tử trong ngành dược phẩm.

Thuật ngữ "axit amin" ở đây có nghĩa là axit chứa ít nhất một nhóm chức amin bậc một, bậc hai, hoặc bậc ba.

Hơn thế nữa, bằng cách sử dụng quy trình theo sáng chế, có thể tổng hợp được một vài loại axit amin, như, nhưng không ngoại trừ, các axit amin nêu trên, theo cách

chuẩn và kiểm soát được, từ cơ chất có nguồn gốc sinh học bằng cách kết hợp quy trình sản xuất sinh học với quy trình sản xuất hóa học.

Sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn và các ưu điểm khác của sáng chế sẽ trở nên rõ hơn khi đọc phần mô tả một vài phương án của sáng chế, mà được đưa ra bằng cách ví dụ không giới hạn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các bước khác nhau của quy trình được mô tả ở đây có viện dẫn đến một vài phương án, cần hiểu rằng các bước này là đã biết không được mô tả chi tiết.

Trước tiên, thuận lợi là cơ chất được sử dụng không được xử lý, tức là cơ chất này không trải qua quá trình xử lý sơ bộ bằng enzym hoặc bằng biện pháp lý hóa bất kỳ. Cơ chất này là thành phần cấu tạo chủ yếu của sinh khối có thể lên men. Giống như các ví dụ không giới hạn khác, được đề cập là chất thải nông nghiệp hoặc có thành phần chính là thực vật (rom, bã mía, bã từ quá trình chưng cất ngô, cỏ, gỗ, đồng rom rạ), giấy lộn (bìa cứng, giấy), chất thải từ nông sản thực phẩm, chất thải từ lò mổ, phần có thể lên men được của rác thải sinh hoạt, chất thải từ chăn nuôi gia súc (phân, phân chuồng lỏng, phân thú), tảo, chất thải từ nuôi trồng thủy sản, chất thải từ hoạt động lâm nghiệp hoặc các đồng sản phẩm có thể lên men từ công nghiệp mỹ phẩm. Các cơ chất nhất định chứa các phân tử hữu cơ, như axit hữu cơ, mà ít hoặc không tác động đến quy trình lên men. Mặt khác, các phân tử này được tìm thấy trong môi trường lên men và có thể tham gia vào, chẳng hạn quá trình tổng hợp các phân tử hữu cơ cuối cùng được xác định.

Như một lời nhắc nhở và theo cách đã biết, cơ chất này được đưa vào thùng lên men, mà là đã biết và được định kích thước cho quy trình tổng hợp mong muốn, cho dù là quy trình tổng hợp này diễn ra ở quy mô trong phòng thí nghiệm để tiến hành các thử nghiệm hay là ở quy mô công nghiệp trong trường hợp sản xuất. Nói cách khác, thùng lên men hay thùng phản ứng sinh học có thể tích nằm trong khoảng từ một vài lít đến vài trăm mét khối, tùy thuộc vào nhu cầu.

Đầu tiên, thuận lợi là vi sinh vật được đưa vào thùng lên men, với lượng đủ để bắt đầu quá trình lên men. Thuận lợi là, vi sinh vật được cấy truyền ở dạng tổ hợp. Thuật ngữ "tổ hợp" có nghĩa là hỗn hợp của các vi sinh vật nhân thực hoặc nhân sơ, dù

chúng là vi khuẩn, nấm men, nấm hay tảo. Các vi sinh vật khác nhau này chủ yếu có nguồn gốc từ các hệ sinh thái tự nhiên, thuận lợi là, nhưng không loại trừ, từ các hệ sinh thái kỵ khí như, các ví dụ không giới hạn, tầng kỵ khí của môi trường nước như tầng thiếu oxy của các hồ, đất, đầm lầy, cặn tinh chế, dạ cỏ của các động vật nhai lại hoặc ruột của con mồi nhất định. Cũng cần hiểu rằng sự phân bố về mặt số lượng và chất lượng của nhiều loại và loài vi sinh vật khác nhau trong tổ hợp này không được biết chính xác và có thể khác nhau trong khoảng tỷ lệ lớn. Ngạc nhiên nhận thấy là sự đa dạng về mặt số lượng và chất lượng tạo ra tình trạng mạnh và khả năng thích ứng của các vi sinh vật, mà có thể đảm bảo việc sử dụng tối ưu các cơ chất, bất kể thành phần của các cơ chất và các điều kiện lên men có thể thay đổi.

Hơn thế nữa, do thực tế là cơ chất được sử dụng ở dạng không bị biến đổi, tức là nó không được vô trùng hay, nói chung hơn nữa là, nó chứa các vi sinh vật trước khi được đưa vào thùng phản ứng sinh học, đã nhận thấy rằng các vi sinh vật đặc hữu với cơ chất, thực tế được đưa vào tổ hợp hoặc ít nhất được kết hợp với tổ hợp trong bình phản ứng sinh học.

Hơn thế nữa, quy trình lên men diễn ra trong các điều kiện kỵ khí, chính xác hơn là khi điện thế oxy hóa khử nhỏ hơn -300mV, thuận lợi là nằm trong khoảng từ -550mV đến -400mV và khi độ pH nhỏ hơn 8, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 4 đến 7. Thuận lợi là quy trình lên men được giới hạn ở việc tổng hợp các “tiền” chất chuyển hóa lên men, đó là axit béo dễ bay hơi hay VFA có từ hai đến tám nguyên tử cacbon, tốt hơn là từ hai đến sáu nguyên tử cacbon. Vì thế, một phản ứng tương tự với hiện tượng nhiễm axit được bắt gặp ở động vật nhai lại được gây ra đồng thời có mức tổng hợp metan gần bằng 0. Thông thường, metan là một trong số các chất chuyển hóa cuối cùng của quy trình lên men thu được ở quy trình lên men kỵ khí bởi các vi sinh vật thu được từ các hệ sinh thái tự nhiên.

Ở giai đoạn đầu, quy trình lên men tạo ra axit béo dễ bay hơi chủ yếu có từ hai đến bốn nguyên tử cacbon, ví dụ axit axetic, axit propionic và axit butyric. Axit béo dễ bay hơi mạch dài, tới mức dài hơn bốn nguyên tử cacbon, như axit valeric, axit caproic, axit heptanoic hoặc axit octanoic, cũng được tạo ra, với lượng nhỏ hơn. Bằng cách tiếp tục lên men và/hoặc bằng cách làm tăng lượng vi sinh vật trong thùng phản ứng sinh học, nếu cần với các vi sinh vật chọn lọc, có thể thúc đẩy quá trình tổng hợp

VFA mạch cacbon dài, tới mức dài hơn bốn nguyên tử cacbon.

Nói cách khác, axit béo dễ bay hơi được tổng hợp với lượng trong quá trình lên men chủ yếu là axit béo dễ bay hơi có hai đến sáu nguyên tử cacbon.

Trong mọi trường hợp, quy trình lên men diễn ra để đảm bảo tổng hợp VFA, trong pha lỏng. Thông thường, thời gian lên men nằm trong khoảng từ 1 đến 7 ngày, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 4 ngày. Nồng độ của các chất chuyển hóa thu được trong môi trường lên men ở cuối giai đoạn này là khác nhau, nhưng với các axit béo dễ bay hơi thường nằm trong khoảng từ 10 đến 20g/L, tùy thuộc vào các axit béo dễ bay hơi, cần hiểu rằng trong các điều kiện nhất định, lượng axit béo dễ bay hơi có thể lớn hơn 35g/L, ví dụ khoảng 50g/L. Cuối bước lên men, môi trường lên men ở độ pH axit, thường nằm trong khoảng từ 4 đến 6, do sự có mặt của các axit béo dễ bay hơi trong môi trường lên men.

Khi quá trình tổng hợp VFA đạt đến lượng xác định, thường ở giai đoạn ổn định của quy trình lên men, bước a) chiết các phân tử được bắt đầu. Tốt hơn là, nhưng không bắt buộc, lượng xác định của VFA này tương ứng với sự chậm sinh trưởng của vi sinh vật, đến mức nằm trong khoảng ngưỡng ức chế vi sinh vật.

Tác nhân chiết được chọn từ tác nhân chiết lỏng hoặc rắn, mà ít nhất không hòa tan được trong môi trường lên men. Nếu tác nhân chiết là chất lỏng, thì khi đó nó là một dung môi, tốt hơn là, tỷ trọng của dung môi là nhỏ hơn tỷ trọng của môi trường lên men.

Chính xác hơn, quá trình chiết được tiến hành bằng tác nhân chiết rắn hoặc lỏng, các điều kiện hoạt động của quá trình chiết có thể duy trì hoạt động và/hoặc sự sinh trưởng của vi sinh vật trong các điều kiện lên men phổ biến trong bình phản ứng sinh học và được xác định để tiến hành lên men. Tốt hơn là các phân tử VFA được chiết bằng các hợp phân tử và sau đó thuận lợi là được tách riêng rẽ bằng các kỹ thuật đã biết.

Nếu các phân tử như axit béo dễ bay hơi được chiết từ môi trường lên men, trên thực tế việc axit hóa môi trường lên men bởi các axit này được làm giảm. Do đó, quy trình lên men và sự tổng hợp các chất chuyển hóa như vậy, tiếp tục diễn ra trong các điều kiện tương tự với các điều kiện ban đầu, môi trường lên men vẫn hơi có tính axit.

Thuận lợi là, quy trình chiết diễn ra liên tục hoặc ít nhất liên tục, ví dụ chiết mỗi 12 giờ. Nói cách khác, có thể tiếp tục lên men đồng thời chiết các chất chuyển hóa được tổng hợp, hoặc từ từ khi chúng được tổng hợp hoặc đều đặn.

Chiết trong pha lỏng-lỏng bằng các dung môi hữu cơ làm tác nhân chiết là phương pháp chiết được ưu tiên, nhưng không phải phương pháp duy nhất được sử dụng.

Theo một phương án, quá trình chiết không được tiến hành trong bộ phận tách riêng với thùng lên men, mà trực tiếp trong thùng này. Dung môi được đưa vào, ví dụ, thông qua một thiết bị kiểu sục khí được bố trí ở đáy của thùng. Theo một phương án khác, bộ phận chiết được nối với thùng nối thông với môi trường lên men được lắp đặt.

Kết thúc quá trình chiết, bước thu gom b) được tiến hành. Trong bước này, các VFA được thu gom từ pha hữu cơ bằng các kỹ thuật mà đã biết, như kỹ thuật chưng cất hoặc bay hơi.

Quá trình thu gom được tiến hành dưới dạng hỗn hợp các VFA hoặc theo loại VFA. Rõ ràng là việc chọn VFA hay hỗn hợp các VFA được xác định bởi loại (các) phân tử cuối cùng mong muốn. Vì điều này, các điều kiện thu gom, thường là các thông số chưng cất hoặc bay hơi được điều chỉnh.

Khi bước thu gom này được tiến hành, thì bước c) dưới đây được tiến hành. Thuận lợi là, nhưng không loại trừ, bước này được tiến hành sau bước thu gom. Theo một phương án khác, bước này được tiến hành ở thời điểm khác và/hoặc vị trí khác, các VFA được tổng hợp được vận chuyển và/hoặc được lưu trữ, theo các kỹ thuật đã biết.

Bước halogen hóa này bao gồm cho halogen phản ứng với VFA để tổng hợp axit α -halo, mà là loại phân tử có khả năng phản ứng cao và do đó đặc biệt thuận lợi để tổng hợp các phân tử khác. Phản ứng như vậy, mà đã biết được tiến hành bằng cách bổ sung brom, được ưu tiên, cần hiểu rằng các halogen khác cũng có thể được sử dụng, đó là clo, flo hoặc iot hoặc các phân tử được halogen hóa như phospho trihalogenua, axit halo hoặc axyl halogenua.

Dibrom được chọn vì axit α -halo được brom hóa có khả năng phản ứng tốt hơn so với axit α -halo được clo hóa tương ứng, liên kết cacbon-brom dễ phá vỡ hơn so với liên kết cacbon-clo. Hơn nữa, dibrom dễ xử lý hơn nhờ dạng lỏng của nó.

Để tiến hành tổng hợp axit α -bromo, con đường sử dụng anhydrit, trong trường hợp này là anhydrit axetic, và pyridin được chấp nhận. Rõ ràng là các con đường tổng hợp khác, ví dụ bằng axit polyphosphoric hoặc phospho trihalogenua là đã biết. Các thử nghiệm với axit polyphosphoric được tiến hành, nhưng các kết quả bị bỏ lửng, không kể các lý do khác là do độ nhớt của hợp chất này cao khiến cho nó khó xử lý.

Các thử nghiệm clo hóa cũng được tiến hành bởi người nộp đơn để tổng hợp axit α -cloro, ví dụ bằng axit trichloroisoxyanuric. Các kết quả thu được là kém hơn, về hiệu suất và mức độ dễ thực hiện, so với các kết quả thu được với dibrom.

Con đường tổng hợp sử dụng anhydrit tương ứng với axit béo dễ bay hơi mà được mong muốn để halogen hóa là thuận lợi và có thể thu được axit α -halo, trong trường hợp này là axit α -bromo thuộc loại xác định. Việc sử dụng anhydrit axetic với các VFA khác và/hoặc với hỗn hợp các VFA có từ hai đến sáu nguyên tử cacbon làm cho có thể thu được hỗn hợp của các axit α -halo có từ hai đến sáu nguyên tử cacbon.

Các thử nghiệm sử dụng axit axetic (VFA có hai nguyên tử cacbon), axit propionic (VFA có ba nguyên tử cacbon), axit butyric (VFA có bốn nguyên tử cacbon), axit caproic (VFA có sáu nguyên tử cacbon) và cả hỗn hợp của các VFA có từ hai đến sáu nguyên tử cacbon được tiến hành bằng cách thay đổi lượng của anhydrit axetic và cả các thông số khác như nhiệt độ.

Trong các thử nghiệm khác nhau, quy trình thực hiện được coi trọng. Quy trình này bao gồm, ở giai đoạn đầu, gia nhiệt đến hồi lưu hỗn hợp ban đầu của VFA, anhydrit axetic và pyridin. Tiếp theo, trong quá trình brom hóa thực, dibrom được bổ sung từ từ, trong vài giờ, ở nhiệt độ dưới nhiệt độ sôi của hỗn hợp, và, khi dibrom đã được bổ sung, hỗn hợp lại được hồi lưu trước khi được làm nguội. Ở cuối phản ứng, thuận lợi là, nước được bổ sung để phá hủy anhydrit có mặt. Sau đó, axit α -bromo được chiết bằng nhiều phương pháp khác nhau, tùy thuộc vào axit. Các phương pháp này là, chưng cất hoặc chiết tách chẳng hạn.

Nhiệt độ ban đầu, để hồi lưu hỗn hợp, là nằm trong khoảng từ 120°C, đối với

VFA có hai nguyên tử cacbon, đến 200°C, đối với VFA có sáu nguyên tử cacbon. Nhiệt độ brom hóa nằm trong khoảng từ 80°C đến 180°C, tùy thuộc vào việc liệu VFA có từ hai đến sáu nguyên tử cacbon hay không. Thời gian của phản ứng brom hóa, và trên thực tế là thời gian bổ sung dibrom, chênh nhau từ một giờ đối với VFA có sáu nguyên tử cacbon đến bốn giờ đối với VFA có hai nguyên tử cacbon.

Các thử nghiệm brom hóa axit béo dễ bay hơi có hai, ba, bốn hoặc sáu nguyên tử cacbon được tiến hành, cùng với thử nghiệm trên hỗn hợp của các axit béo dễ bay hơi:

axit axetic (C2): 0,53 mol

axit propionic (C3): 0,53 mol

axit butyric (C4): 0,53 mol

axit caproic (C6): 0,24 mol

hỗn hợp của các VFA có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon: 0,54 mol.

Lượng dibrom được bổ sung là 0,21 mol hoặc 0,11 mol sao cho axit béo dễ bay hơi dư. Thuận lợi là, người nộp đơn đã nhận thấy rằng tỷ lệ mol bằng 2:1 nghiêng về VFA là tối ưu.

Lượng anhydrit được bổ sung là, đối với mỗi axit, 0,06 mol đối với một thử nghiệm và 0,03 mol đối với thử nghiệm khác.

Hỗn hợp VFA bao gồm axit axetic (C2), axit propionic (C3), axit butyric (C4), axit valeric (C5) và axit caproic (C6).

Nhiệt độ hồi lưu, ở giai đoạn đầu, khác nhau theo VFA: 120°C đối với axit axetic; 120°C và 140°C đối với các thử nghiệm với axit propionic; 150°C và 160°C đối với axit butyric; 200°C đối với axit caproic và 180°C đối với hỗn hợp.

Nhiệt độ brom hóa đối với các thử nghiệm khác nhau với mỗi axit là nằm trong khoảng từ 10°C đến 50°C và thuận lợi là nằm trong khoảng từ 20°C đến 40°C dưới nhiệt độ hồi lưu và vì thế dưới cả nhiệt độ sôi của axit béo dễ bay hơi.

Hiệu suất và độ tinh khiết của các axit α -bromo thu được cuối các thử nghiệm khác nhau được thể hiện dưới đây trong bảng 1, trong đó để đơn giản các VFA được

ký hiệu bằng số nguyên tử cacbon.

Bảng 1

Axit	Lượng anhydrit (mol)	Thời gian brom hóa (giờ)	Nhiệt độ hồi lưu (°C)	Nhiệt độ brom hóa (°C)	Hiệu suất (%)	Độ tinh khiết (%)
C2	0,06	2,2	120	100	87	98
C2	0,03	4	120	90	80	93
C3	0,06	3	120	80 đến 110	77	80
C3	0,03	3	140	125	100	93
C4	0,06	1,25	160	140	80	95
C4	0,03	3	150	110 đến 140	100	96
C6	0,03	0,92	200	150	100	NC
Hỗn hợp	0,06	1,5	180	130	100	NC

Phân tích và tính toán hiệu suất được tiến hành bằng các kỹ thuật phân tích đã biết, đó là kỹ thuật cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance-NMR) và bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography-HPLC). Hiệu suất được xác định so với với lượng VFA được tiêu thụ.

Người nộp đơn đã nhận thấy rằng tốc độ phản ứng, được minh họa bằng sự khử màu của hỗn hợp phản ứng sau khi bổ sung dibrom, là nhanh hơn nếu lượng anhydrit lớn hơn, độ tinh khiết bị ảnh hưởng một chút. Tuy nhiên, thích hợp là nhiệt độ của hai bước, bước ban đầu và bước brom hóa, là tối ưu.

Vì lý do này, người nộp đơn lưu ý rằng nhiệt độ brom hóa thấp hơn nhiệt độ sôi của axit béo dễ bay hơi là cần thiết, mà không quá xa nhiệt độ này.

Nhiều thử nghiệm khác nhau được tiến hành có thể xác định được rằng nhiệt độ brom hóa nằm trong khoảng từ 10°C đến 50°C thấp hơn nhiệt độ sôi của axit béo dễ bay hơi, thuận lợi là dưới 20°C, ở tất cả các điều kiện khác tương đương, có thể thu được hiệu suất tối ưu, thường nằm trong khoảng từ 60% đến 100% với thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 1 giờ đến 4 giờ.

Đối với vai trò của anhydrit axetic, dựa vào các kết quả thu được trong bảng này, dường như là phần trăm mol của anhydrit so với VFA phải là khoảng 12% để phản ứng brom hóa được tối ưu, cần hiểu rằng phần trăm nằm trong khoảng từ 5% đến 20% là có thể chấp nhận được.

Sử dụng các axit α -bromo thu được, hoặc chính xác hơn sử dụng axit α -bromo xác định, quy trình tổng hợp α -axit amin xác định được thực hiện sau đó ở bước d). Để thực hiện quy trình này, amoniac ở dạng khí hoặc dung dịch được bổ sung. Theo một phương án khác, amoniac được thay thế bằng amin bậc một hoặc bậc hai.

Các thử nghiệm được tiến hành bởi người nộp đơn bằng cách cho amoniac phản ứng với axit α -bromo có từ hai đến sáu nguyên tử cacbon, cụ thể là axit bromoaxetic, axit α -bromopropionic, axit α -bromobutyric, axit α -bromovaleric và axit α -bromocaproic. Phản ứng như vậy có thể tạo các α -axit amin có mạch cacbon, tương ứng, gồm hai, ba, bốn, năm hoặc sáu nguyên tử cacbon, tức là glyxin, alanin, homoalanin, norvalin và norleuxin.

Trong số các axit amin, các α -axit amin này được sử dụng nhiều nhất làm các chất tạo nên sản phẩm thực phẩm hoặc mỹ phẩm, kể cả trong thức ăn chăn nuôi hay thực phẩm cho người, hoặc làm các chất trung gian phản ứng trong lĩnh vực hóa học và dược phẩm. Dễ dàng được hiểu rằng quy trình theo sáng chế cho phép tổng hợp nhiều loại axit amin khác.

Đối với các thử nghiệm khác nhau, quy trình thực hiện này bao gồm cho amoniac phản ứng với axit α -bromo ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng, tức là 20°C, đến 50°C. Phản ứng được tiến hành trong khoảng thời gian khác nhau, nằm trong khoảng từ 30 phút đến 72 giờ tùy thuộc vào loại axit α -bromo và tùy thuộc vào nhiệt độ. Axit α -bromo mạch dài, tức là axit có ít nhất bốn nguyên tử cacbon, đòi hỏi thời gian phản ứng dài, thông thường là hơn 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng, nhưng dưới 12 giờ ở nhiệt độ 50°C.

Người nộp đơn đã ngạc nhiên nhận thấy là nhiệt độ phản ứng cao khoảng 50°C có thể làm giảm thời gian phản ứng.

Người nộp đơn đã nhận thấy rằng nếu amoniac được sử dụng với lượng dư, đó là tỷ lệ mol khoảng 1:10, thì mức chuyển hóa thành axit amin được tối ưu.

Bảng 2 dưới đây thể hiện tóm tắt các kết quả thu được.

Phân tích và tính toán hiệu suất và mức chuyển hóa được tiến hành nhờ các kỹ thuật phân tích cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance-NMR) và sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography-HPLC). Mức chuyển hóa được tính toán từ lượng axit amin được tổng hợp trong môi trường phản ứng so với lượng axit α -bromo ban đầu. Hiệu suất được xác định bằng phân tích định tính và định lượng sản phẩm, được thu hồi sau khi chiết và tái kết tinh từ metanol.

Bảng 2

Axit	Tỷ lệ Axit:NH ₃	T (°C)	Mức tiêu thụ axit α -bromo (%) – thời gian (giờ)	Mức chuyển hóa thành AA (%)	Hiệu suất sau khi chiết (%)
C2	1:10	(nhiệt độ trong phòng)	99% - 5 giờ	46	24
C3	1:5	(nhiệt độ trong phòng)	95% - 5 giờ	65	44
C3	1:10	(nhiệt độ trong phòng)	98% - 5 giờ	66	52
C3	1:10	50	99% - 1 giờ	64	40
C4	1:5	(nhiệt độ trong phòng)	96% - 24 giờ	55	39
C4	1:10	(nhiệt độ trong phòng)	99% - 24 giờ	76	54
C4	1:10	50	99% - 2 giờ	58	48
C6	NH ₃ dư	(nhiệt độ trong phòng)	99% - 72 giờ	/	43

Do đó quy trình sản xuất axit amin từ nguồn sinh học được tạo ra, với các điều kiện sản xuất dễ thực hiện và dễ kiểm soát.

Ngoài ra, vì mức chuyển hóa thành axit amin thấp hơn mức tiêu thụ axit α -

bromo, nên rõ ràng là ít nhất một đồng sản phẩm được xác định là các imino diaxit và/hoặc nitrilo triaxit được tổng hợp. Theo các ví dụ không giới hạn, để tổng hợp glyxin, các đồng sản phẩm là, không kể các sản phẩm khác, axit iminodioxetic và axit nitrilotriaxetic, và, để tổng hợp alanin, các đồng sản phẩm là, không kể các sản phẩm khác, axit α,α' -iminodipropionic và axit α,α',α'' -nitrilotripropionic.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất các axit amin từ các phân tử axit béo dễ bay hơi (volatile fatty acid-VFA), được gọi là các tiền chất, được sản xuất bằng cách lên men kỵ khí từ sinh khối có thể lên men được, khác biệt ở chỗ, quy trình này ít nhất bao gồm các bước sau:

a) chiết các phân tử axit béo dễ bay hơi (volatile fatty acid - VFA), mà không làm gián đoạn quá trình lên men, sử dụng tác nhân chiết được chọn từ các tác nhân mà ít nhất không hòa tan được trong môi trường lên men,

b) thu gom các phân tử axit béo dễ bay hơi (VFA) khi chúng được chiết ở bên ngoài thùng lên men,

c) tổng hợp axit α -halo xác định, bằng cách halogen hóa, sử dụng loại axit béo dễ bay hơi (VFA) được chọn từ các axit béo dễ bay hơi thu được ở bước b) và được xác định theo loại axit amin mong muốn,

d) tổng hợp axit amin định trước từ axit α -halo này.

2. Quy trình theo điểm 1, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước c), hợp chất halogen được sử dụng là dibrom.

3. Quy trình theo điểm 1, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước c), hợp chất halogen được sử dụng không phải là dibrom.

4. Quy trình theo điểm 1 hoặc 2, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước c), anhydrit axetic được sử dụng với lượng phần trăm mol so với axit béo dễ bay hơi là khoảng 12%.

5. Quy trình theo điểm 1 hoặc 2, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước c), anhydrit tương ứng với axit béo dễ bay hơi (VFA) được halogen hóa được sử dụng.

6. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước c), nhiệt độ mà tại đó phản ứng brom hóa diễn ra là từ 20°C đến 40°C thấp hơn nhiệt độ sôi của axit béo dễ bay hơi.

7. Quy trình theo một trong số các điểm nêu trên, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước d), quy trình tổng hợp diễn ra bằng phản ứng với lượng dư amoniac so với lượng của hệ số tỷ lệ phản ứng.

8. Quy trình theo một trong số các điểm từ 1 đến 6, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước d), quy trình tổng hợp diễn ra bằng phản ứng với amin.
9. Quy trình theo điểm 7 hoặc 8, quy trình này khác biệt ở chỗ, trong bước d), nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 20°C đến 50°C.
10. Quy trình theo một trong số các điểm nêu trên, khác biệt ở chỗ, trong bước d), ít nhất một đồng sản phẩm được xác định là imino diaxit và/hoặc nitrilo triaxit được tổng hợp.