

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041010**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.29

(51) Int. Cl. **C12P 7/56 (2006.01)**

(21) Номер заявки
201891956

(22) Дата подачи заявки
2017.04.10

(54) СПОСОБ ФЕРМЕНТАЦИИ С ПОЛУЧЕНИЕМ ЛАКТАТА МАГНИЯ

(31) **16164820.9**

(32) **2016.04.12**

(33) **EP**

(43) **2019.04.30**

(86) **PCT/EP2017/058547**

(87) **WO 2017/178426 2017.10.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ПУРАК БИОКЕМ БВ (NL)

(56) YONG WANG ET AL.: "Efficient magnesium lactate production with in situ product removal by crystallization", BIORESOURCE TECHNOLOGY, vol. 198, 26 September 2015 (2015-09-26), pages 658-663, XP055302252, GB ISSN: 0960-8524, DOI: 10.1016/j.biortech.2015.09.058 the whole document
EP-A1-2604696
WO-A1-2016016234
WO-A1-2016016233

(72) Изобретатель:
Калбасенка Алиаксей, Бокхове Ерун (NL)

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к способу ферментации для производства лактата магния из источника углерода, включающему стадии обеспечения ферментационной среды, содержащей ферментируемый источник углерода, в реакторе для ферментации, ферментации ферментационной среды с помощью микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту, в присутствии щелочной соли магния с получением ферментационного бульона, содержащего лактат магния, и извлечения твердого лактата магния из ферментационного бульона, содержащего лактат магния, при этом в течение по меньшей мере 40% рабочего времени процесса ферментации концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне поддерживается в диапазоне 5-40 об.% в пересчете на кристаллы твердого лактата магния относительно общей массы ферментационного бульона. Способ по изобретению обеспечивает стабильную работу при высокой производительности, а также эффективное разделение продукта.

041010 B1

041010 B1

Настоящее изобретение относится к производству лактата магния методом ферментации.

Лактат магния имеет множество применений, одним из которых является применение в качестве исходного материала при производстве молочной кислоты. Молочную кислоту можно использовать для различных применений, таких как консервация пищевых продуктов и получение биоразлагаемых полимеров. В некоторых из этих применений качество исходной молочной кислоты является фактором первостепенной важности. В частности, при производстве лактида и полимолочной кислоты желательно исходить из молочной кислоты, имеющей высокую стереохимическую чистоту. Кроме того, присутствие примесей в исходной молочной кислоте может приводить к нежелательной рацемизации фрагментов молочной кислоты, что приводит к получению лактида и полимолочной кислоты более низкого качества.

Возрастающие потребности в продуктах высокого качества, а также необходимость достижения уровня производственных затрат, соответствующего ситуации на рынке, делают важной возможность снижать стоимость исходных материалов для производства молочной кислоты, не снижая при этом качества.

Молочную кислоту часто производят методом ферментации углеводов с помощью микроорганизмов. Для поддержания значения pH реакционной среды на уровне, при котором хорошо растут микроорганизмы, в процессе ферментации часто добавляют щелочную соль для компенсации снижения pH, вызванного образованием молочной кислоты. Это приводит к образованию лактатной соли. Когда применяют щелочную магниевую соль, например, гидроксид или карбонат магния, образуется лактат магния.

Способы ферментации, в которых образуется лактат магния, также называемые ферментацией с получением лактата магния, хорошо известны в данной области техники.

Например, в NL288829 описан непрерывный способ ферментации для производства молочной кислоты, в котором в процессе ферментации добавляют соль магния или соль цинка для образования нерастворимого лактата магния или лактата цинка, который извлекают из ферментационной среды.

В US 2010/0323416 также описан способ ферментации для образования карбоновой кислоты с добавлением соли магния.

В WO 2013160352 описан способ ферментации для производства, помимо многих других продуктов, лактата магния. Способ включает стадию извлечения твердого продукта, включающую стадию разделения с помощью гидроциклона и жидкость-твердофазного разделения.

Yong Wang et al., Efficient magnesium lactate production with in situ product removal by crystallization, BioResource 15 Technology, Vol. 198, 26- September 2015, pp. 658-663, описывает ферментацию с получением лактата магния, в которой лактат магния извлекают во время ферментации. Указано, что извлечение твердого продукта во время ферментации нужно проводить при концентрации лактата магния 140 г/л. Концентрация лактата магния 140 г/л соответствует концентрации кристаллического вещества 5 об.% при температуре 42°C. На фиг. 3 указанного документа показано, что концентрация продукта в процессе ферментации поддерживается от 70 до 150 г/л во время ферментации (с первоначальным периодом 25 ч до достижения значения 70 г/л). Поскольку образование кристаллического вещества начинается при концентрации 110 г/л, это означает, что в течение существенной части процесса ферментации вообще не наблюдается присутствия твердого кристаллического вещества или оно присутствует, но лишь в небольших количествах.

Для достижения поставленной цели, состоящей в том, чтобы источник молочной кислоты обеспечивал снижение затрат без ухудшения качества продукта, в уровне техники необходим способ ферментации с получением лактата магния, который обеспечивает стабильную работу при высокой производительности, а также эффективное отделение продукта. В настоящем изобретении предложен такой способ.

Настоящее изобретение относится к способу ферментации для производства лактата магния из источника углерода, включающему стадии

обеспечения ферментационной среды, содержащей ферментируемый источник углерода, в реакторе ферментации,

ферментации ферментационной среды с помощью микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту, в присутствии щелочной соли магния с получением ферментационного бульона, содержащего лактат магния, и

извлечения твердого лактата магния из ферментационного бульона, содержащего лактат магния,

при этом в течение по меньшей мере 40% рабочего времени процесса ферментации концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне поддерживают в диапазоне 5-40 об.% в пересчете на кристаллы твердого лактата магния относительно общей массы ферментационного бульона.

Было обнаружено, что обеспечение того, что концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне поддерживают в диапазоне 5-40 об.% в течение по меньшей мере 40% рабочего времени, получают способ, в котором высокий выход сочетается со свойствами эффективного разделения продуктов. Свойствами эффективного разделения продуктов обусловлена хорошая стабильность способа, а также высокое качество продукта, поскольку обеспечивается хорошее отделение лактата магния от загрязняющих веществ.

Более конкретно, было обнаружено, что, когда концентрация твердого лактата магния слишком высока в течение значительной части способа, производительность способа снижается. Не желая ограничи-

ваться конкретной теорией, считают, что это может быть связано с присутствием продукта ферментации лактата магния, каким-либо образом влияющего на способ ферментации, например, путем воздействия на активность воды в системе и/или каким-либо образом влияя на микроорганизм. Это находится в противоречии с тем, что известно в уровне техники, в соответствии с которым твердые продукты ферментации не влияют на процесс ферментации.

С одной стороны, было обнаружено, что, если концентрация лактата магния слишком низкая в течение значительной части способа, выделение твердого лактата магния из ферментационного бульона становится более трудоемким.

Может быть предпочтительным, когда концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне составляет по меньшей мере 10 об.%, потому что было обнаружено, что более высокая концентрация твердого лактата магния приводит к продукту с улучшенными свойствами, включая улучшенные свойства фильтрации, что облегчает промывание продукта. Может быть предпочтительным, когда концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне находится в диапазоне 10-35 об.% во время заданной части рабочего времени, в частности, в диапазоне 10-30 об.%, в некоторых воплощениях в диапазоне 10-25 об.%. Может оказаться более предпочтительным, когда концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне находится в диапазоне 15-40 об.%, в частности 15-35 об.%, во время заданной части рабочего времени, более конкретно в диапазоне 15-30 об.%, в некоторых воплощениях в диапазоне 15-25 об.%. В некоторых воплощениях может оказаться предпочтительным, когда концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне находится в диапазоне 20-40 об.%, в частности 20-35 об.%, во время заданной части рабочего времени, более конкретно в диапазоне 20-30 об.%, в некоторых воплощениях в диапазоне 20-25 об.%.

Концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне определяют согласно следующей процедуре. Однородный образец объемом 1 мл отбирают из ферментационного бульона с помощью пробирки Эппендорфа (Eppendorf tube). Образец центрифугируют в течение 2 мин при 1300 оборотах в минуту. Объемную процентную долю слоя твердого вещества определяют визуально.

Этот слой твердого вещества содержит и твердый лактат магния, и биомассу. Для компенсации количества биомассы, количество биомассы можно определить отдельно с помощью способов, известных в уровне техники, например, путем определения оптической плотности (OD) образца ферментационного бульона при 600 нм, из которого были извлечены кристаллы, путем растворения его до 5 об.% в 0,5 н-ном растворе ЭДТА, доведенном до pH 8 с помощью КОН, и сравнения его с OD стандартных растворов биомассы при 600 нм.

Объемную процентную долю твердого лактата магния можно затем определить путем вычитания объемной процентной доли биомассы из процентной доли, полученной в процедуре центрифугирования, описанной выше.

Начальным моментом рабочего времени способа ферментации является момент времени, когда все компоненты среды добавлены в реактор, при этом ферментационная среда доведена до условий проведения ферментации, таких как выбранные pH и температура, причем микроорганизм тоже добавлен в реактор. В этот момент времени все условия соответствуют тому, чтобы началась ферментация.

Конечный момент рабочего времени способа ферментации - это момент времени, когда по существу завершено образование продукта, то есть когда производительность в г/лч ниже 10% максимальной величины производительности в г/лч в процессе способа. Это, как правило, происходит, когда израсходован источник углерода.

Общее рабочее время способа по настоящему изобретению может изменяться в широких пределах. Подходящее для коммерческого использования минимальное рабочее время составляет 10 ч. Если рабочее время меньше этой величины, период времени (в часах), во время которого концентрация лактата магния находится в пределах заданного диапазона, будет настолько коротким, что может оказаться затруднительным достичь коммерчески значимой работы. Может оказаться предпочтительным, когда общее рабочее время способа по изобретению составляет по меньшей мере 24 ч, в частности по меньшей мере 48 ч. Максимальное количество ч не является важным. Как описано в данной заявке, для осуществления непрерывного способа общее рабочее время может быть в принципе неопределенным. Значение 2 года может упоминаться в качестве обычного максимума.

Как правило, концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне не будет находиться в заданном диапазоне в об.% в течение всего рабочего времени. Например, в начале ферментации может быть так, что лактат магния отсутствует в среде. При запуске процесса ферментации образуется лактат магния, который сначала находится в растворенном состоянии. При образовании большего количества лактата магния ферментационная среда насыщается лактатом магния, и начинают формироваться кристаллы твердого лактата магния. Затем потребуется некоторое время на достижение значения 10 об.%.

С другой стороны, ближе к концу ферментации, когда прекращается подача источника углерода, может быть желательным продолжить ферментацию без дальнейшего извлечения продукта, что может привести к тому, что концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне станет выше 40 об.%. Кроме того, особенно, когда извлечение продукта происходит периодически, может оказаться, что

во время способа в некоторые моменты времени концентрация твердого лактата магния достигает значения выше 40 об. %.

Процентная доля рабочего времени, во время которого концентрацию твердого лактата магния поддерживают в указанном выше диапазоне, зависит, следовательно, от времени, затраченного на фазу запуска и заключительную фазу, описанные выше, относительно периода времени между запуском до заключительной фазой. Таким образом, чем дольше рабочее время, тем выше может быть процентная доля рабочего времени, во время которой концентрация твердого лактата магния находится в заданном диапазоне.

Предпочтительно, что в течение по меньшей мере 60% рабочего времени способа ферментации концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне поддерживают в заданном диапазоне, предпочтительно в течение по меньшей мере 70% рабочего времени, более предпочтительно в течение по меньшей мере 80% рабочего времени, в некоторых случаях в течение по меньшей мере 90% рабочего времени.

Способ по изобретению может представлять собой периодический способ, способ с периодической подачей или непрерывный способ.

В одном из воплощений способ ферментации по изобретению представляет собой периодический способ. В описании данной заявки периодический способ определяют как способ, в котором источник углерода подают в реактор ферментации в начале реакции и не подают (существенных порций) источника углерода в процессе способа.

В одном из воплощений способ ферментации по изобретению представляет собой способ с периодической подачей. В описании данной заявки способ с периодической подачей представляет собой способ, в котором по меньшей мере указанный источник углерода подают в реактор ферментации в начале реакции и во время реакции, при этом способ имеет заранее заданную конечную точку, после которой ферментация не может быть продолжена, вследствие, например, образования примесей.

В одном из воплощений способ ферментации по изобретению представляет собой непрерывный способ ферментации. В описании данной заявки непрерывный способ ферментации представляет собой способ, в котором по меньшей мере источник углерода подают в реактор ферментации в начале реакции и во время реакции, при этом способ не имеет заранее заданной конечной точки. Как правило, общий объем ферментационной среды сохраняется более или менее постоянным. Это означает, что, с точки зрения добавления источника углерода во время ферментации, в результате чего возрастает объем ферментационной среды, содержимое будет извлекаться во время ферментации, в данном случае в виде твердого лактата магния, возможно в сочетании с некоторым количеством жидкой ферментационной среды. В принципе, непрерывная ферментация может протекать бесконечно, хотя в какой-то момент времени она будет остановлена для обслуживания оборудования. Принципы периодической ферментации, ферментации с периодической подачей и непрерывной ферментации известны специалисту в данной области техники.

Обычно в процессах периодической ферментации и процессах ферментации с периодической подачей ферментацию продолжают, пока источник углерода не израсходуется в такой степени, что ферментация прекратится. Концентрацию лактата магния в ферментационном бульоне определяют по количеству источника углерода, причем она может возрасти до очень высоких значений, например, порядка 50 об. %, в пересчете на массу всего ферментационного бульона. Такие очень высокие концентрации можно получить, потому что лактат магния присутствует в твердом виде.

Однако в настоящем изобретении способ будут проводить таким образом, чтобы при соответствующем извлечении твердого лактата магния из ферментационного бульона поддерживать концентрацию твердого лактата магния в заданных диапазонах во время определенной части рабочего времени.

В одном из воплощений настоящего изобретения способ ферментации представляет собой непрерывный способ ферментации. В непрерывном способе ферментации источник углерода и другие вещества добавляют в процессе способа ферментации, так что способ можно, в принципе, проводить бесконечно. В непрерывных способах ферментации будет проводиться периодическое извлечение продукта для обеспечения достаточного места в реакционном сосуде для продолжения ферментации. В процессах ферментации с получением лактата магния, описанных в литературе, например, в NL288829, не приводится информации о концентрации лактата магния в ферментационном бульоне, при которой проводят извлечение продукта. С другой стороны, в настоящем изобретении обнаружили, что, вопреки ожиданиям, при поддержании концентрации твердого лактата магния в пределах специфического диапазона в течение специфической части рабочего времени получают способ ферментации, в котором продукт одновременно демонстрирует хорошие свойства разделения и высокую производительность по количеству. Применение непрерывной ферментации является предпочтительным воплощением настоящего изобретения, особенно, когда концентрацию твердого лактата магния поддерживают в заданном диапазоне в течение по меньшей мере 70% рабочего времени, более предпочтительно в течение по меньшей мере 80% рабочего времени, еще более предпочтительно в течение по меньшей мере 90% рабочего времени.

Концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне регулируют путем извлечения из него твердого лактата магния.

Извлечение твердого лактата магния будут проводить, как правило, в процессе способа. Это можно сделать способами, известными в уровне техники, например, с помощью стадий слива ферментационного бульона, содержащего твердый лактат магния, из реактора ферментации и удаления твердого лактата магния из ферментационного бульона. Удаление твердого лактата магния из ферментационного бульона можно осуществить способами, известными в уровне техники, например, путем фильтрования, центрифугирования, декантации или их сочетаний.

В одном из воплощений ферментационный бульон, из которого извлекли твердый лактат магния, частично или полностью подают рециклом в реактор ферментации. Это может оказаться полезным для возвращения биомассы из ферментационного бульона в реактор ферментации.

Удаление лактата магния можно проводить на отдельных стадиях периодическим образом, но также и непрерывным образом. Непрерывное удаление лактата магния считают предпочтительным, потому что это позволяет точно контролировать количество лактата магния, присутствующего в ферментационном бульоне. Его также можно эффективно интегрировать в непрерывный способ ферментации, который является предпочтительным воплощением настоящего изобретения.

Как правило, если проводят стадию, на которой ферментационный бульон, содержащий твердый лактат магния, сливают из реактора, объем ферментационного бульона, сливаемого за отдельную стадию, составляет не более 40 об.% ферментационной среды, присутствующей в реакторе. Более высокие процентные доли затруднят поддержание концентрации твердого лактата магния в пределах специфического диапазона. Может быть предпочтительным, когда объем ферментационного бульона, сливаемого за отдельную стадию, составляет не более 30 об.% ферментационной среды, присутствующей в реакторе, в частности не более 20 об.%, более конкретно не более 10 об.%.

Способ по изобретению также включает стадии обеспечения ферментационной среды, содержащей ферментируемый источник углерода, в реактор ферментации, и ферментацию ферментационной среды с помощью микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту, в присутствии щелочной соли магния для получения ферментационного бульона, содержащего лактат магния. Эти стадии, как правило, известны специалисту в данной области техники. Они будут освещены ниже по ходу изложения.

В способе по изобретению ферментационную среду, содержащую ферментируемый источник углерода, подают в реактор ферментации. Термин "ферментируемый источник углерода", используемый в данной заявке, относится к углеводам, которые можно ферментировать с помощью микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту. Примерами ферментируемых источников углерода являются C5 сахара, C6 сахара, их олигомеры (например, димерные C12 сахара) и/или их полимеры, а также соединения, подобные глицерину. Под C5 сахарами и C6 сахарами понимают сахараиды с 5 и 6 атомами углерода, соответственно, а под C12 сахарами понимают сахараиды с 12 атомами углерода (например, дисахарид). Тип ферментируемого источника углерода, который способен ферментировать специфический микроорганизм, может меняться и, как правило, зависит от используемого микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту. Примеры обычных сахаров, ферментируемых микроорганизмами, продуцирующими молочную кислоту, могут включать C5 сахара, такие как арабиноза, ксилоза и рибоза; C6 сахара, такие как глюкоза, фруктоза, галактоза, рамноза и манноза; и C12 сахара, такие как сахароза, мальтоза и изомальтоза. В пределах компетенции специалиста в данной области техники выбрать подходящее сочетание источника углерода и микроорганизма на основании общеизвестных знаний в данной области техники.

Концентрация источника углерода в реакционной среде будет зависеть от природы источника углерода, природы микроорганизма и других условий ферментации. В пределах компетенции специалиста в данной области техники выбрать подходящую соответствующую концентрацию.

Ферментационная среда может быть обеспечена путем объединения дополнительных питательных веществ с источником углерода и водой. Дополнительные питательные вещества можно добавлять в любом порядке и в твердом виде, в виде растворов или в виде суспензий (например, в воде).

Подходящие питательные вещества для применения в процессе ферментации для производства молочной кислоты или лактатных солей известны в данной области техники. Дополнительные питательные вещества можно выбрать из по меньшей мере одного вещества из, например, минеральных солей (например, источника минерального азота, фосфата, серы и микроэлементов, таких как цинк, магний, кальций, марганец, калий, натрий, бор, железо, кобальт, медь, молибден, никель, алюминий и т.д.) и источника органического азота (например, автолизатов и гидролизатов дрожжей, гидролизатов растительного белка, гидролизатов животного белка и растворимых побочных продуктов от замачивания пшеницы или маиса). Такие источники органического азота, как правило, обеспечивают азот в форме, например, свободных аминокислот, олигопептидов, пептидов, витаминов и следовых количеств кофакторов ферментов. Кроме того, такие источники органического азота можно также добавлять по отдельности и/или в чистом виде.

pH ферментационной среды перед посевом можно регулировать до pH, подходящего для процесса ферментации с помощью выбранного микроорганизма. Как правило, pH можно регулировать до pH от примерно 2,0 до примерно 8,0, в частности от примерно 4,0 до примерно 7,5. В зависимости от исходного pH ферментационной среды, регулирование pH можно осуществлять путем добавления основания (на-

пример, щелочной соли магния) или кислоты (например, H_2SO_4) Ферментационную среду ферментируют с помощью микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту, в присутствии щелочной соли магния для получения ферментационного бульона, содержащего лактат магния. Ферментацию, как правило, проводят путем термостатирования ферментационной среды с микроорганизмом при подходящей температуре в течение подходящего периода времени.

В процессе ферментации лактат магния будет осаждаться в твердом виде. Будет или не будет происходит осаждение лактата магния, зависит от концентрации ферментируемых углеводов в ферментационной среде, температуры ферментации, концентрации других составляющих ферментационной среды, концентрации лактата магния и коэффициента растворения добавленной щелочной соли магния.

Подходящие микроорганизмы, продуцирующие молочную кислоту, известны в уровне техники, могут включать бактерии, грибы и дрожжи и могут быть выбраны из микроорганизмов, которые являются (а) гомоферментативными продуцентами молочной кислоты или (b) гетероферментативными микроорганизмами, которые продуцируют молочную кислоту. Эти микроорганизмы могут быть генетически модифицированы для производства или сверхпроизводства молочной кислоты. Примеры таких микроорганизмов включают, не ограничиваясь указанным, виды бактерий родов *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Sporolactobacillus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Bacillus* (включая *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus smithii*, *Bacillus thermolactis* и *Bacillus thermoamylovorans*), *Geobacillus* (включая *Geobacillus stearothermophilus* и *Geobacillus thermoglucosidans*), *Caldicellulosiruptor* (включая *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*), *Clostridium* (включая *Clostridium thermocellum*), *Thermoanaerobacterium* (включая *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*), *Thermoanaerobacter* и *Escherichia* (включая *Escherichia coli*) и виды грибов и дрожжей из родов *Saccharomyces* (включая *Saccharomyces cerevisiae*), *Kluyveromyces* (включая *Kluyveromyces lactis* и *Kluyveromyces marxianus*), *Issatchenkia* (включая *Issatchenkia orientalis*), *Pichia* (включая *Pichia stipitis*), *Candida* (включая *Candida boidinii*, *Candida magnolia*, *Candida methanosorbosa*, *Candida sonorensis* и *Candida utilis*) и *Rhizopus* (включая *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus microspores* и *Rhizopus oryzae*).

Родами бактерий, представляющими особый интерес, являются *Lactobacillus*, *Bacillus* (включая *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus smithii*, *Bacillus thermolactis* и *Bacillus thermoamylovorans*), *Geobacillus* (включая *Geobacillus stearothermophilus* и *Geobacillus thermoglucosidans*) и *Escherichia* (включая *Escherichia coli*).

Дополнительно или альтернативно, предпочтительными видами бактерий являются такие, которые демонстрируют оптимальный рост при pH в диапазоне от примерно 6 до примерно 8.

Температура термостатирования может зависеть от используемого микроорганизма. Например, оптимальную температуру для использования можно установить путем анализа активности микроорганизма для ферментации в различных температурных условиях. Как правило, температура может находиться в пределах диапазона от примерно 20 до примерно 80°C, в частности в пределах диапазона от примерно 25 до примерно 70°C и более конкретно в пределах диапазона от примерно 30 до примерно 60°C.

Щелочную соль магния, добавляемую в ферментационную среду, применяют для нейтрализации молочной кислоты, выделяемой микроорганизмами в процессе ферментации, с образованием соли лактата магния. Понижение pH ниже критического значения, зависящего от применяемого в способе микроорганизма, может вызвать нарушение процесса метаболизма микроорганизма и привести к остановке процесса ферментации. Как правило, pH регулируют в процессе ферментации в диапазоне от примерно 2,0 до примерно 8,0, в частности от примерно 4,0 до примерно 7,5. Регулирование pH можно осуществлять путем регулирования pH ферментационной среды и путем добавления, при необходимости, соответствующих количеств основания. Основную соль магния можно выбрать из, в частности, по меньшей мере одного вещества из MgO , $Mg(OH)_2$, $MgCO_3$ и $Mg(HCO_3)_2$. Щелочная соль магния может содержать минорные количества других катионов.

Лактат магния, полученный способом по изобретению, может быть обработан, как описано в данной заявке. Его можно подвергнуть стадиям промежуточной очистки известными в данной области техники способами, например, путем перекристаллизации, в результате которой получают очищенный лактат магния.

Лактат магния можно, например, превратить в молочную кислоту. Это можно осуществить различными способами, включая способ ионного обмена, например, путем использования ионообменной колонки или электродиализа, или подкисления при использовании сильной неорганической кислоты (например, серной кислоты, HCl или HNO_3) с получением смеси молочной кислоты и соли магния в водной среде. Эту смесь можно затем подвергнуть стадии разделения молочной кислоты/соли магния, которая приводит к образованию молочной кислоты и отделению соли магния.

Стадию отделения можно проводить способами, известными в данной области техники. Если соль магния находится в твердом виде, например, когда на стадии подкисления используют серную кислоту, стадия разделения молочная кислота/соль магния может представлять собой стадию жидкостно-твердофазного разделения, на которой отделяют твердую соль магния, что приводит к образованию водного раствора молочной кислоты.

Если соль магния присутствует в смеси в виде растворенной соли, например, в случае хлорида маг-

ния, когда на стадии подкисления использовали HCl, выделение молочной кислоты из раствора соли магния можно проводить, например, путем экстракции молочной кислоты из раствора соли при использовании органического экстрагента, который не смешивается с водным раствором соли. Молочную кислоту можно после этого извлечь из экстрагента с помощью, например, удаления растворителя путем упаривания или путем экстракции молочной кислоты из экстрагента с помощью воды, что приводит к образованию водного раствора молочной кислоты.

Водные растворы молочной кислоты можно очищать способами, известными в уровне техники, например, путем обработки активированным углем. Их можно концентрировать путем удаления воды. Молочную кислоту можно очищать, например, путем перегонки с получением очищенной молочной кислоты. Молочную кислоту можно, при необходимости, кристаллизовать с образованием твердой кристаллической молочной кислоты. Ее также можно подвергнуть стадии олигомеризации посредством удаления воды с образованием олигомеров молочной кислоты.

Молочную кислоту, полученную способом по изобретению, можно превратить в лактид. Указанный лактид или собственно молочную кислоту можно превратить в полимолочную кислоту.

Различные способы обработки лактата магния с превращением его в молочную кислоту, дополнительная обработка молочной кислоты и производство лактида и полимолочной кислоты являются обычными и не требуют дальнейших пояснений.

Далее настоящее изобретение проиллюстрировано с помощью примеров, не ограничивающих данное изобретение каким-либо образом.

Пример.

Ферментацию лактата магния по настоящему изобретению проводили следующим образом. Сахарозу, используемую в качестве источника углерода, вносили в реактор ферментации, совместно с дополнительными питательными веществами и водой для образования ферментационной среды. Ферментационную среду доводили до условий, в которых проходит ферментация, включая установку pH и температуры. Указанную среду засеивали микроорганизмом, способным продуцировать молочную кислоту. В процессе ферментации pH ферментационной среды регулировали и поддерживали на выбранном уровне путем добавления суспензии гидроксида магния. Сахарозу в качестве субстрата непрерывно добавляли в ферментационную среду.

Периодическое удаление твердого лактата магния осуществляли таким образом, что концентрация твердого лактата магния находилась в диапазоне 10-40 об.% в течение всего технологического процесса и в диапазоне 15-30 об.% в течение примерно 50% рабочего времени. Это осуществляли путем удаления суспензии кристаллического вещества из нижней части реактора каждые 4-10 ч, удаляя из нее твердый лактат магния и возвращая жидкий фильтрат рециклом в реактор.

Оказалось, что применение способ по изобретению свыше периода времени, составляющего 50 ч (10 извлечений продукта), начиная отсчет от начала ферментации, привело к высокой средней производительности, выраженной в граммах лактата магния на литр в час.

Лактат магния, полученный в способе по изобретению, отделяли от суспензии кристаллического вещества путем фильтрования. Полученный фильтровальный кек имел содержание влаги от 26 до 32 мас.%. Это показывает, что свойства лактата магния при фильтрации таковы, что становится возможным эффективное отделение продукта. Когда концентрация твердого лактата магния составляет ниже 5 об.% слишком долго, будет получен фильтровальный кек с более высоким содержанием влаги, что осложнит выделение продукта.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ ферментации для производства лактата магния из источника углерода, включающий стадии

обеспечения ферментационной среды, содержащей ферментируемый источник углерода, в реакторе ферментации,

ферментации ферментационной среды с помощью микроорганизма, продуцирующего молочную кислоту, в присутствии щелочной соли магния с получением ферментационного бульона в реакторе ферментации, содержащего лактат магния, и

извлечения твердого лактата магния из ферментационного бульона, содержащего лактат магния,

при этом в течение по меньшей мере 40% рабочего времени процесса ферментации концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне в реакторе ферментации поддерживают в диапазоне 10-40 об.% в пересчете на кристаллы твердого лактата магния относительно общей массы ферментационного бульона в реакторе ферментации.

2. Способ по п.1, в котором концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне в реакторе ферментации находится в диапазоне 10-35 об.% в течение заданной части рабочего времени, в частности в диапазоне 10-30 об.%, в некоторых воплощениях в диапазоне 10-25 об.%.

3. Способ по п.1, в котором концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне в реакторе ферментации находится в диапазоне 15-40 об.%, в частности 15-35 об.%, в течение заданной

части рабочего времени, более конкретно в диапазоне 15-30 об.%, в некоторых воплощениях в диапазоне 15-25 об.%.
4. Способ по п.1, в котором концентрация твердого лактата магния в ферментационном бульоне в реакторе ферментации находится в диапазоне 20-40 об.%, в частности 20-35 об.% в течение заданной части рабочего времени, более конкретно в диапазоне 20-30 об.%, в некоторых воплощениях в диапазоне 20-25 об.%.
5. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне в реакторе для ферментации поддерживают в заданном диапазоне в течение по меньшей мере 60% рабочего времени процесса ферментации, предпочтительно в течение по меньшей мере 70% рабочего времени, более предпочтительно в течение по меньшей мере 80% рабочего времени, в некоторых случаях в течение по меньшей мере 90% рабочего времени.
6. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором способ представляет собой периодический способ, способ с периодической подачей или непрерывный способ.
7. Способ по п.6, в котором способ является непрерывным способом, где концентрацию твердого лактата магния в ферментационном бульоне в реакторе ферментации поддерживают в заданном диапазоне в течение по меньшей мере 70% рабочего времени, предпочтительно в течение по меньшей мере 80% рабочего времени, более предпочтительно в течение по меньшей мере 90% рабочего времени.
8. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором стадия извлечения лактата магния из ферментационного бульона включает стадии слива ферментационного бульона, содержащего твердый лактат магния, из реактора ферментации, и удаление твердого лактата магния из ферментационного бульона.
9. Способ по п.8, в котором ферментационный бульон, из которого удалили твердый лактат магния, возвращают рециклом в реактор ферментации.
10. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором стадию извлечения лактата магния из ферментационного бульона проводят в виде отдельных стадий периодически.
11. Способ по любому из пп.1-9, в котором стадию извлечения лактата магния из ферментационного бульона проводят в непрерывном режиме.
12. Способ по любому из пп.1-5, в котором способ ферментации является непрерывным способом ферментации, и в котором стадию извлечения лактата магния из ферментационного бульона проводят в непрерывном режиме, причем концентрацию твердого лактата магния предпочтительно поддерживают в заданном диапазоне в течение по меньшей мере 70% рабочего времени, предпочтительно в течение по меньшей мере 80% рабочего времени, более предпочтительно в течение по меньшей мере 90% рабочего времени.
13. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лактат магния подвергают стадии очистки, например стадии перекристаллизации, получая очищенный лактат магния.
14. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором лактат магния превращают в молочную кислоту, например, методом ионного обмена или путем подкисления, причем после подкисления проводят стадию разделения для отделения молочной кислоты от соли магния, образованной в процессе стадии подкисления, что приводит, например, к образованию водного раствора молочной кислоты, который можно, при необходимости, подвергнуть одной или более из стадий очистки или стадий концентрирования.
15. Способ по п.14, в котором молочную кислоту подвергают одной или более стадий очистки, например стадии перегонки, приводящей к образованию очищенной молочной кислоты, стадии кристаллизации, приводящей к образованию молочной кислоты в виде твердого кристаллического материала, или стадии олигомеризации, приводящей к образованию олигомеров молочной кислоты, или превращают ее в лактид или полимолочную кислоту, напрямую или через образование лактида.