

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 792 824**

51 Int. Cl.:

C07C 51/43 (2006.01)

C07C 55/10 (2006.01)

C12P 7/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.03.2011 PCT/JP2011/056103**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.09.2011 WO11115136**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2011 E 11756321 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020 EP 2551256**

54 Título: **Método para producir ácido succínico**

30 Prioridad:

11.08.2010 JP 2010179896

07.04.2010 JP 2010089048

01.04.2010 JP 2010085561

17.03.2010 JP 2010060674

16.03.2010 JP 2010059578

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.11.2020

73 Titular/es:

MITSUBISHI CHEMICAL CORPORATION (100.0%)
1-1, Marunouchi 1-chome, Chiyoda-ku
Tokyo 100-8251, JP

72 Inventor/es:

MORI YOSHIKI;
TAKAHASHI GO;
SUDA HIDEKI y
YOSHIDA SHUJI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 792 824 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para producir ácido succínico

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a procesos para producir ácido succínico industrialmente, que es útil como aditivo alimentario, material de partida para medicamentos, material de partida para resinas.

10 Antecedentes de la técnica

El ácido succínico se usa ampliamente en la industria como aditivo alimentario, material de partida para medicamentos, material de partida para resinas, etc.

15 Hasta el momento, el ácido succínico se ha obtenido reduciendo el anhídrido maleico derivado del petróleo o el ácido maleico. Recientemente, sin embargo, se ha indicado que se produce ácido succínico, con un alto rendimiento de carbono, a partir de una amplia gama de materiales de partida derivados de biomasa mediante una operación de fermentación que utiliza microorganismos. Especialmente cuando el ácido succínico se va a utilizar como material de partida para polímeros, se requiere ácido succínico de alta pureza para mantener los grados de polimerización de los polímeros, evitando que los polímeros tomen un color.

20 Como un proceso para producir ácido succínico se conoce, por ejemplo, un proceso en el que el anhídrido maleico o el ácido maleico, cada uno derivado de un material de partida petroquímico, se reduce a ácido succínico en una solución acuosa y la solución acuosa resultante se enfría para provocar la cristalización y, por lo tanto, obtener el ácido succínico como partículas de cristal (por ejemplo, documento de patente 1). Sin embargo, el documento de patente 1 no incluye ninguna declaración sobre ningún método para cristalizar el ácido succínico.

30 Como procesos para producir ácido succínico por fermentación se conocen, por ejemplo, un proceso en el que la sal de calcio del ácido succínico se descompone con ácido sulfúrico (por ejemplo, documento de patente 2), un proceso en el que se utiliza una resina de intercambio iónico (por ejemplo, documentos de patente 3 y 4), un proceso en el que se añade hidrogenosulfato de amonio y/o ácido sulfúrico a la sal de amonio del ácido succínico para producir ácido succínico y sulfato de amonio (por ejemplo, el documento de patente 5) y un proceso en el que se usa electrodiálisis (por ejemplo, documento de patente 6). Sin embargo, ninguno de los documentos de patente 2 a 6 incluye una declaración sobre un método de cristalización detallado para recuperar cristales de ácido succínico.

35 Con respecto a las operaciones de cristalización, las técnicas conocidas incluyen un método en el que el diámetro de partícula y la distribución del tamaño de partícula del ácido succínico se regulan regulando las condiciones de agitación y el grado de sobresaturación (por ejemplo, documento de patente 7) y un método en el que el diámetro de partícula y la distribución del tamaño de partícula del ácido succínico se regulan mediante el uso de cristales semilla (por ejemplo, documento no patentado 1). Sin embargo, cada uno de estos métodos se refiere a la regulación del diámetro de partícula y la distribución del tamaño de partícula, y no hay ninguna declaración en relación con la pureza del ácido succínico.

40 En paralelo, es importante, para la recuperación de ácido succínico a través de la cristalización, regular el diámetro de partícula y la distribución del tamaño de partícula de los cristales, y se han hecho varios intentos (por ejemplo, documentos de patente 8 y 9).

45 Por ejemplo, el documento de patente 8 describe una técnica para obtener ácido succínico purificado a partir de un caldo de fermentación que contiene ácido succínico producido por un método de fermentación, incluyendo la técnica añadir un ácido inorgánico al caldo de fermentación, del cual se han retirado las células del microorganismo de antemano, para ajustar el pH del caldo de fermentación a 4,0 o menos y así precipitar temporalmente el ácido succínico, posteriormente calentar el líquido para disolver parcialmente y fundir el ácido succínico, luego enfriar la mezcla con agitación para precipitar cristales y separar los cristales [de la página (2), columna superior izquierda, línea 14 a la misma página, columna superior derecha, línea 3]. Es importante que el caldo de fermentación que se ha sometido al tratamiento de precipitación ácida se someta a un tratamiento térmico como se ha descrito anteriormente. En caso de que se omita el tratamiento térmico, la cristalización produce cristales finos y escamosos. Por el contrario, cuando se realiza el tratamiento térmico, se obtienen cristales granulares y grandes mediante cristalización [página (3), columna superior izquierda, líneas 6-9].

60 El documento de patente 9 incluye una declaración en el sentido de que en un método para cristalizar ácido succínico a partir de una solución que contiene ácido succínico, los cristales que tienen un diámetro de partícula grande y una distribución de diámetro de partícula estrecha se pueden obtener regulando la relación de potencia de agitación requerida (P_v) a $70\text{-}350\text{ W/m}^3$ y el grado no dimensional de sobresaturación (Sc) a $1\text{-}1.3$ (reivindicación 1 y párrafo 0009).

65 En el documento de patente 8 y el documento de patente 9, la cristalización del ácido succínico se realiza mediante un tratamiento discontinuo. El documento no patentado 2 informa sobre el crecimiento y la disolución de cristales de

ácido succínico en un cristizador agitado discontinuas que implica el uso de cristales semilla a diferentes temperaturas, velocidades de agitación y tamaños de semillas.

Documentos de la técnica anterior

5

Documentos de Patentes

Documento de patente 1: JP-B-44-292466

10 Documento de patente 2: JP-A-3-030685

Documento de patente 3: JP-T-2002-505310 (el término "JP-T" como se usa en el presente documento significa una traducción japonesa publicada de una solicitud de patente de patente PCT)

15 Documento de patente 4: Publicación internacional N.º WO 05/030973

Documento de patente 5: JP-T-2001-514900

20 Documento de patente 6: JP-A-2005-333886

Documento de patente 7: JP-A-2005-82498

Documento de patente 8: JP-A-56-11797

25 Documento de patente 9: JP-A-2005-082498 Documento no patente

Documento no patente 1: Crystal Growth & Design (EE. UU.), (2002), 2, pág. 449-452

Documento no patente 2: AIChE Journal, mayo de 1990, Vol. 36, n.º 5, págs. 665-676

30 Sumario de la invención

Problemas que ha de resolver la invención

35 Un objeto de la invención es proporcionar un proceso para producir de manera eficiente y estable ácido succínico de alta pureza a partir de un líquido que contiene ácido succínico o un líquido que contiene ácido succínico mediante cristalización. Existe la necesidad de un método para regular el diámetro de partícula y la distribución del tamaño de partícula de los cristales en un tratamiento de cristalización de ácido succínico y un objeto de la invención es proporcionar un proceso para producir ácido succínico que tenga una distribución estrecha del tamaño de partícula y excelente manejabilidad.

40

Medios para resolver los problemas

Las presentes invenciones investigaron diligentemente para lograr el objeto. Como resultado, los inventores han descubierto que el objeto se puede lograr con los procesos que se describen a continuación. Concretamente, los 45 puntos esenciales de la invención residen en lo siguiente.

1. Un proceso para producir ácido succínico que comprende una etapa de cristalización para producir ácido succínico sólido a partir de un líquido que contiene ácido succínico en un tanque de cristalización equipado con un agitador, en el que la cristalización se realiza continuamente y en el que el proceso comprende: descargar el ácido succínico cristalizado de forma continua o intermitente desde el tanque de cristalización; alimentar un líquido que contiene ácido succínico de manera continua o intermitente al tanque de cristalización para mantener el nivel del líquido del tanque de cristalización para que esté dentro de un intervalo dado; y realizar una operación, durante al menos una parte de la etapa de cristalización, en una condición de agitación de una potencia requerida para agitar por unidad de volumen del líquido que contiene ácido succínico de 0,4-3 kW/m³, en el que el líquido que contiene ácido succínico tiene una concentración de ácido succínico de 10-45 % en peso, y en donde, en la etapa de cristalización, los cristales semilla de ácido succínico se introducen de manera continua o intermitente en el tanque de cristalización, y los cristales semilla comprenden cristales obtenidos pulverizando al menos una parte del ácido succínico que se ha descargado del tanque de cristalización.
2. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con el punto 1, en el que se realiza una operación para que el líquido que contiene ácido succínico en el tanque de cristalización tenga una temperatura de 25-60 °C.
3. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con el punto 2, en el que durante la cristalización, una diferencia entre una temperatura del líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque de cristalización y una temperatura a la cual el líquido que contiene ácido succínico introducido en el tanque de cristalización se convierte en una solución saturada de ácido succínico, es de 10-45 °C.
4. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 3, en el que el

60

65

líquido que contiene ácido succínico tiene un tiempo de residencia promedio en el tanque de cristalización de 1-5 horas.

5. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 3, que comprende una etapa de reducción de presión para reducir una presión interna del tanque de cristalización, durante la operación de cristalización, a un valor inferior a la presión de la atmósfera ambiental.

6. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con el punto 5, en el que la presión interna del tanque de cristalización es 0,5-20 kPa.

7. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 6, en el que la pulverización se realiza con un pulverizador húmedo.

8. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 7, en el que la pulverización se lleva a cabo con al menos uno seleccionado entre una unidad de circulación para descargar una suspensión de ácido succínico presente en el tanque de cristalización y devolver la suspensión al interior del tanque de cristalización y una bomba dispuesta en una unidad para alimentar un líquido que contiene ácido succínico al tanque de cristalización.

9. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 9 1 a 8, en el que los cristales semilla tienen un diámetro de partícula promedio en volumen de 200 μm o menos y una cantidad de los cristales semilla es 0,001-20 % en peso de la cantidad de ácido succínico recuperado.

10. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 9, en el que el líquido que contiene ácido succínico incluye un disolvente, siendo el disolvente un líquido seleccionado de entre disolventes cetónicos, disolventes que contienen nitrógeno, disolventes de ácido carboxílico, disolventes alcohólicos y agua.

11. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 10, en el que cuando se realiza la cristalización, el líquido que contiene ácido succínico se enfría al menos 10 °C desde la temperatura que tenía el líquido que contenía ácido succínico cuando se introdujo en el tanque de cristalización.

12. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 11, en el que el líquido que contiene ácido succínico se alimenta a una fase líquida presente en el tanque de cristalización.

13. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 12, en el que el líquido presente en el tanque de cristalización tiene una temperatura que es más baja que la temperatura de la superficie de la pared del tanque de cristalización.

Efectos de la invención

De acuerdo con los procesos de la invención, el ácido succínico de alta pureza se puede producir a partir de líquido que contiene ácido succínico mediante cristalización. De acuerdo con los procesos de la invención, el ácido succínico que es altamente uniforme en el diámetro de partícula y tiene una excelente manejabilidad del polvo y que tiene una alta pureza puede producirse de manera estable de manera altamente eficiente. Además, de acuerdo con los procesos de la invención, el ácido succínico que tiene una distribución del tamaño de partícula que es estrecha e imparte una excelente manejabilidad al ácido succínico se puede obtener cristalizando ácido succínico de forma continua y estable.

Breve descripción de los dibujos

[Fig. 1] La figura 1 es un dibujo que muestra el cristizador usado en los ejemplos 1-1 a 1-3.

[Fig. 2] La figura 2 es una fotomicrografía de los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo 1-1.

[Fig. 3] La figura 3 es una fotomicrografía de los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo 1-2.

[Fig. 4] La figura 4 es una fotomicrografía de los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo 1-3.

[Fig. 5] La figura 5 es un dibujo que muestra la pala de tipo ancla usada en el Ejemplo comparativo 1-1.

[Fig. 6] La figura 6 es un dibujo que muestra el cristizador usado en el Ejemplo Comparativo 1-1.

[Fig. 7] La figura 7 es una fotomicrografía de los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo comparativo 1-1.

[Fig. 8] La figura 8 es un dibujo que muestra el cristizador usado en los ejemplos 2-1 y 2-2, los ejemplos comparativos 2-1 y 2-2, los ejemplos 3-1 a 3-3, y los ejemplos comparativos 3-1 a 3-3.

[Fig. 9] La figura 9 es un dibujo que muestra el cristizador usado en el ejemplo 2-3.

[Fig. 10] La figura 10 muestra la distribución del diámetro de partícula de las partículas de ácido succínico obtenidas en cada uno de los ejemplos 2-1 a 2-3 y los ejemplos comparativos 2-1 a 2-4.

[Fig. 11] La figura 11 es un dibujo que muestra el cristizador usado en el ejemplo 4-1 y el ejemplo comparativo 4-1.

[Fig. 12] La figura 12 es un dibujo que muestra el cristizador usado en el Ejemplo Comparativo 4-2.

Fig. 13] La figura 13 (a) y (b) son diagramas de vistas transversales de un cristizador para su uso en un proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una realización.

[Fig. 14] La figura 14 es un diagrama de flujo que ilustra el proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una realización.

[Fig. 15] La figura 15 es un diagrama de flujo para ilustrar el proceso para producir ácido succínico de acuerdo con otra realización.

Los ejemplos 1-1 a 1-3, 2-1 a 2-3, 3-1 a 3-3 y 4-1 mencionados anteriormente se proporcionan como ejemplos de

referencia.

Modos para realizar la invención

- 5 Las realizaciones de la invención se explicarán a continuación con detalle. En la invención, la expresión "% en peso" tiene el mismo significado que "% en masa".

<Líquido que contiene ácido succínico>

- 10 En los procesos de producción de la invención, la expresión "líquido que contiene ácido succínico" tiene el mismo significado que "fluido que contiene ácido succínico" y "solución que contiene ácido succínico". El líquido que contiene ácido succínico a someter a cristalización puede tener cualquier configuración siempre que el líquido contenga ácido succínico.

- 15 El líquido que contiene ácido succínico puede ser una solución que contiene ácido succínico disuelto en el mismo o puede ser una solución en la que se ha disuelto ácido succínico en forma de sal. Como alternativa, el líquido que contiene ácido succínico puede ser una suspensión en la que el ácido succínico sólido o una sal sólida de ácido succínico coexiste con cualquiera de esas soluciones, o puede ser una suspensión en la que una sustancia sólida que no es ácido succínico coexiste con cualquiera de dichas soluciones.

- 20 Se puede usar cualquier disolvente en el líquido que contiene ácido succínico siempre que el ácido succínico o la sal del ácido succínico sea soluble en el mismo y el disolvente sea líquido en las condiciones que se utilizarán para la operación de cristalización.

- 25 Desde el punto de vista de recuperar eficientemente el ácido succínico y/o la sal del ácido succínico durante la cristalización, se prefieren los disolventes que tienen una gran dependencia de la solubilidad de la temperatura. De estos son preferentes los disolventes que tienen una permitividad relativa de 10 o superior. Más preferentes son los disolventes que tienen una permitividad relativa de 20 o superior. Especialmente preferentes son los disolventes que tienen una permitividad relativa de 50 o superior.

- 30 Los ejemplos más específicos de los mismos incluyen disolventes cetónicos, tales como acetona, disolventes que contienen nitrógeno, tales como acetonitrilo y N, N-dimetilformamida, disolventes de ácido carboxílico, tales como ácido fórmico, disolventes alcohólicos, tales como etanol, metanol y 1-propanol, y agua.

- 35 Los ejemplos de la solución que contiene ácido succínico disuelto en ella incluyen: una solución acuosa de ácido succínico obtenida hidrotando anhídrido maleico o ácido maleico en una solución acuosa del mismo en presencia de un catalizador metálico, por ejemplo, paladio; y una solución acuosa de ácido succínico o una sal de ácido succínico, cada una obtenida de un material de partida derivado de biomasa.

- 40 El líquido que contiene ácido succínico no está particularmente limitado y puede ser un líquido que contiene ácido succínico obtenido mediante la hidrogenación de un material de partida petroquímico, por ejemplo, anhídrido maleico, o puede ser un líquido que contiene ácido succínico que deriva de un material de partida derivado de biomasa. En los últimos años, el ácido succínico se puede producir a partir de una amplia gama de materiales de partida derivados de la biomasa mediante una operación de fermentación en un alto rendimiento de carbono utilizando microorganismos. En consecuencia, cuando la carga ambiental, etc. se tienen en cuenta, se prefiere un líquido que contenga ácido succínico obtenido de un material de partida derivado de biomasa.

- 45 La expresión "líquido que contiene ácido succínico obtenido de un material de partida derivado de biomasa" significa un líquido que contiene ácido succínico inducido a partir de un material de partida derivado de biomasa. Los ejemplos del material de partida derivado de biomasa incluyen madera, paja de arroz, cáscara de arroz, salvado de arroz, arroz almacenado durante mucho tiempo, maíz, caña de azúcar, yuca dulce, palmas de sagú, residuos de tofu, mazorcas de maíz, residuos de tapioca, bagazo, residuos de aceite vegetal, patatas, trigo sarraceno, soja, aceites y grasas, periódicos viejos, residuos de fabricación de papel, residuos de productos acuáticos, excreciones de ganado, cieno de las cloacas y residuos de alimentos.

- 50 Son preferentes los recursos vegetales, tales como madera, paja de arroz, cáscara de arroz, salvado de arroz, arroz almacenado durante mucho tiempo, maíz, caña de azúcar, yuca dulce, palmas de sagú, residuos de tofu, mazorcas de maíz, residuos de tapioca, bagazo, residuos de aceite vegetal, patatas, trigo sarraceno, soja, aceites y grasas, periódicos viejos y residuos de fabricación de papel. Son más preferentes madera, paja de arroz, cáscara de arroz, arroz almacenado durante mucho tiempo, maíz, caña de azúcar, yuca dulce, palmas de sagú, patatas, aceites y grasas, periódicos viejos y residuos de fabricación de papel. Los más preferentes son maíz, caña de azúcar, yuca y palmas de sagú.

- 65 Estos materiales de partida derivados de biomasa generalmente contienen elementos de nitrógeno o muchos metales alcalinos y metales alcalinotérreos, incluidos Na, K, Mg y Ca.

Estos materiales de partida derivados de biomasa son inducidos a fuentes de carbono a través de etapas conocidas para el pretratamiento/sacarificación, tal como, por ejemplo, un tratamiento químico con un ácido, álcali, un tratamiento biológico con un microorganismo y un tratamiento físico, sin limitaciones particulares.

5 Dichas etapas no están particularmente limitadas y ejemplos de las mismas incluyen una etapa de reducción de tamaño en la que un material de partida derivado de biomasa se reduce a un tamaño pequeño por astillado, afeitado o macerado. Los ejemplos de las mismas incluyen adicionalmente una etapa de pulverización en la que el material de partida se trata con un triturador o un molino. El material de partida derivado de biomasa que, por lo tanto, se ha reducido de tamaño, se somete adicionalmente a etapas de pretratamiento/sacarificación y, por lo tanto, se induce a una fuente de carbono.

15 Los ejemplos específicos de métodos para las etapas de pretratamiento/sacarificación incluyen: métodos químicos, tal como un tratamiento ácido con un ácido fuerte, por ejemplo, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido clorhídrico o ácido fosfórico, un tratamiento alcalino, congelación con amoníaco/explosión de vapor, extracción con disolvente, tratamiento con un fluido supercrítico y tratamiento con un agente oxidante; métodos físicos, tales como pulverización, explosión de vapor, tratamiento con microondas e irradiación con haces de electrones; y tratamientos biológicos, tales como hidrólisis mediante un tratamiento con un microorganismo o enzima.

20 Los ejemplos de las fuentes de carbono inducidas a partir de esos materiales de partida derivados de biomasa incluyen disacáridos y polisacáridos, tales como hexosas, por ejemplo, glucosa, manosa, galactosa, fructosa, sorbosa y tagatosa, pentosas, por ejemplo, arabinosa, xilosa, ribosa, xilulosa y ribulosa, maltosa, sacarosa, lactosa, trehalosa, almidón y celulosa, ácidos grasos, tales como ácido butírico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido monocutina, ácido araquídico, ácido eicosanoico, ácido araquidónico, ácido behénico, ácido erúxico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido lignocérico y ácido selacoleico y azúcares fermentables de polialcoholes, tales como glicerol, manitol, xilitol y ribitol. Los preferidos de estos son glucosa, maltosa, fructosa, sacarosa, lactosa, trehalosa y celulosa.

30 El ácido succínico se sintetiza a partir de esas fuentes de carbono mediante un método de fermentación basado en una conversión microbiana, un método de conversión química que incluye una etapa de reacción, tal como hidrólisis, reacción de deshidratación, reacción de hidratación, reacción de oxidación, o reacción de reducción, o una combinación del método de fermentación y el método de conversión química. El preferido de estos es un método de fermentación basado en una conversión microbiana por un microorganismo que tiene la capacidad de producir ácido succínico.

35 El microorganismo que tiene la capacidad de producir ácido succínico no está particularmente limitado siempre que el microorganismo tenga la capacidad de producir ácido succínico. Los ejemplos de los mismos incluyen bacterias entéricas, tales como *Escherichia coli*, bacterias que pertenecen al género *Bacillus* y bacterias corineformes. Se prefiere usar un microorganismo aeróbico, un microorganismo anaeróbico facultativo, o un microorganismo microaerofílico entre esos microorganismos.

45 Los ejemplos del microorganismo aeróbico incluyen las bacterias corineformes, bacterias pertenecientes al género *Bacillus*, bacterias pertenecientes al género *Rhizobium*, bacterias pertenecientes al género *Arthrobacter*, bacterias pertenecientes al género *Mycobacterium*, bacterias pertenecientes al género *Rhodococcus*, bacterias pertenecientes al género *Nocardia* y bacterias pertenecientes al género *Streptomyces*. Son más preferentes de estas las bacterias corineformes.

50 Las bacterias corineformes no están particularmente limitadas siempre que las bacterias estén clasificadas como el grupo. Los ejemplos de los mismos incluyen bacterias que pertenecen al género *Corynebacterium*, bacterias pertenecientes al género *Brevibacterium* y bacterias pertenecientes al género *Arthrobacter*.

55 Son preferentes las bacterias que pertenecen al género *Corynebacterium* o *Brevibacterium*. Más preferentes son las bacterias clasificadas como *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium flavum*, *Brevibacterium ammoniagenes* y *Brevibacterium lactofermentum*.

Además, se prefiere emplear una cepa que tenga una actividad mejorada de piruvato carboxilasa y una actividad reducida de lactato deshidrogenasa, como en los ejemplos que se darán más adelante.

60 Las condiciones de reacción para la conversión microbiana, tal como la temperatura de reacción y la presión, dependerán de la actividad del microorganismo a seleccionar, tales como células o moho, por ejemplo. Las condiciones adecuadas para obtener ácido succínico se pueden seleccionar de acuerdo con cada caso.

65 En las conversiones microbianas, a medida que disminuye el pH, los microorganismos disminuyen en la actividad metabólica o se vuelven inactivos, dando como resultado un rendimiento deficiente del producto o la muerte de los microorganismos. En consecuencia, generalmente se usa un neutralizador.

Normalmente, el pH del sistema se mide con un sensor de pH y el pH se regula de modo que esté dentro de un intervalo de pH dado añadiendo un neutralizador. El valor de pH está regulado para que esté dentro de un intervalo donde la actividad del microorganismo utilizado, por ejemplo, células o moho, se exhibe más efectivamente, de acuerdo con el tipo de microorganismo. Los métodos para añadir un neutralizador no están particularmente limitados y puede usarse la adición continua o la adición intermitente.

Los ejemplos del neutralizador incluyen amoníaco, carbonato de amonio, urea, los hidróxidos de metales alcalinos, los hidróxidos de metales alcalinotérreos, los carbonatos de metales alcalinos y los carbonatos de metales alcalinotérreos. Los preferidos de estos son amoniaco, carbonato de amonio y urea.

Los ejemplos de los hidróxidos de metales alcalinos (alcalinotérreos) incluyen NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{Mg}(\text{OH})_2$ y mezclas de los mismos. Los ejemplos de los carbonatos de metales alcalinos (alcalinotérreos) incluyen Na_2CO_3 , K_2CO_3 , CaCO_3 , MgCO_3 , NaKCO_3 y mezclas de los mismos.

Se prefiere que el caldo de fermentación obtenido mediante una conversión microbiana se use después de que el microorganismo se haya retirado del mismo. Aunque los métodos para eliminar el microorganismo no están particularmente limitados, se puede hacer uso, por ejemplo, de separación por sedimentación, separación centrífuga, separación por filtración o un método que incluye una combinación de estos. Industrialmente, el microorganismo se elimina mediante un método, tal como separación centrífuga o separación por filtración de membrana.

En la separación centrífuga, se puede hacer uso de sedimentación centrífuga o filtración centrífuga, por ejemplo. Las condiciones de operación que se utilizarán para la separación centrífuga no están particularmente limitadas. Sin embargo, generalmente se prefiere realizar la separación a una fuerza centrífuga de 100-100.000 G. La operación puede ser continua o discontinua.

En la separación por filtración de membrana, se pueden usar, por ejemplo, microfiltración y/o ultrafiltración. El material de la membrana no está particularmente limitado y ejemplos del mismo incluyen membranas orgánicas, tales como poliolefinas, polisulfinas, poliacrilonitrilo y poli(fluoruro de vinilideno) y membranas hechas de materiales inorgánicos tales como cerámica.

Como modo de operación, se puede usar el tipo sin salida o el tipo de flujo cruzado. En la separación por filtración de membrana, con frecuencia hay casos en los que la membrana está obstruida con el microorganismo. Por lo tanto, se puede hacer uso, por ejemplo, de un método en el que el microorganismo se elimina de forma aproximada mediante separación centrífuga u otra técnica antes de realizar la filtración por membrana.

Además, el caldo de fermentación del cual se ha eliminado el microorganismo puede concentrarse adecuadamente desde el punto de vista de la operación y la eficiencia de la etapa de purificación que se realizará más adelante. Aunque los métodos para la concentración no están particularmente limitados, los ejemplos de los mismos incluyen un método en el que se hace pasar un gas inerte, un método en el que el agua se destila calentando, un método en el que el agua se destila a presión reducida y un método en el que estas técnicas se realizan en combinación. La operación de concentración puede ser una operación discontinua o una operación continua.

(Protonación)

En el caso en que se utilizó un neutralizador en la etapa de fermentación como se ha descrito anteriormente, se obtiene una sal de ácido succínico. Cuando la sal de ácido succínico obtenida está presente en la solución acuosa, esta sal está presente de forma estable en el agua. Por lo tanto, se prefiere convertir la sal en ácido succínico.

Concretamente, se añade un ácido a la sal de ácido succínico para llevar a cabo el intercambio de sal y así convertir la sal en ácido succínico. Esta conversión en adelante a menudo se denomina protonación y esta etapa en adelante se denomina etapa de protonación.

El ácido que se utilizará en la etapa de protonación suele ser un ácido más fuerte que el ácido succínico., porque se requiere que este ácido experimente intercambio de sal con la sal de ácido succínico. Concretamente, se usa un ácido que tiene un pKa constante de disociación ácida más baja que el ácido succínico, y generalmente se usa un ácido que tiene un pKa menor que 4. Además, se prefiere un ácido inorgánico a un ácido orgánico, como el ácido que se va a utilizar.

La adición de un ácido inorgánico a la sal de ácido succínico da como resultado la formación de una sal inorgánica como subproducto. Por ejemplo, cuando se usó amoniaco como neutralizador en la operación de fermentación, el ácido succínico está presente como una sal de amonio. En este caso, cuando se usa ácido sulfúrico en esta etapa, el sulfato de amonio se genera como subproducto de sal.

La cantidad de ácido que se va a utilizar depende de la acidez del ácido. Sin embargo, generalmente se prefiere añadir un ácido en una cantidad de aproximadamente 0,1-5 equivalentes a la cantidad del catión como componente de la sal de ácido succínico.

Por lo general, se prefiere regular la adición de un ácido en términos de pH. Se prefiere ajustar el pH a un valor que sea igual o inferior al pKa de acidez del ácido succínico, aunque el valor del pH depende del pKa. Normalmente, se prefiere realizar la operación a un pH de 4 o menos.

5 En paralelo, incluso cuando se añade un ácido en exceso, la disminución del pH gradualmente se vuelve más pequeña y el exceso de ácido no sufre intercambio de sal con la sal de ácido succínico sino que permanece en forma ácida en el sistema. El exceso de ácido requiere un tratamiento de neutralización que hace que la etapa sea ineficiente. Por lo tanto, se prefiere regular habitualmente el pH a 1 o más,

10 (Tratamiento de concentración)

Dado que el líquido que contiene ácido succínico obtenido de un material de partida derivado de biomasa generalmente tiene una baja concentración de ácido succínico, normalmente es necesaria una operación de concentración.

15 Se prefiere que el concentrado final tenga una solubilidad de ácido succínico que no sea superior a la solubilidad de saturación y esté lo más cerca posible de la solubilidad de saturación.

20 La concentración de ácido succínico del líquido que contiene ácido succínico que se va a alimentar al tanque de cristalización es del 10-45 % en peso, preferentemente de 15-40 % en peso, más preferiblemente 20-35 % en peso.

25 Regulando la concentración de ácido succínico del líquido que contiene ácido succínico al 10 % en peso o más, se logra un alto rendimiento de ácido succínico en la operación de cristalización y la operación se vuelve eficiente. Cuando la concentración de ácido succínico del mismo se ha regulado al 45 % en peso o menos, la disolución del ácido succínico y la manipulación de la solución resultante no requieren una temperatura alta y la manipulación es fácil.

30 La temperatura del líquido que contiene ácido succínico no está particularmente limitada siempre que las condiciones sean capaces de dar como resultado una diferencia de temperatura que permita recuperar el ácido succínico en la etapa de cristalización. Desde el punto de vista de la recuperación del ácido succínico, la pureza del ácido succínico a obtener, la diferencia entre la temperatura del líquido que se está introduciendo en el tanque de cristalización y la temperatura del líquido durante la cristalización suele ser preferentemente de 10-90 °C, más preferentemente 20-80 °C, incluso más preferentemente 30-70 °C, aunque esa diferencia depende de la concentración de ácido succínico.

35 Al regular la diferencia de temperatura a 10 °C o más, se logra un aumento en la recuperación del ácido succínico para que la operación sea eficiente. Cuando la diferencia de temperatura es de 90 °C o menos, la suspensión resultante no tiene una concentración demasiado alta y es fácil de manipular. Como resultado, las partículas de ácido succínico obtenidas pueden tener una uniformidad mejorada y una pureza mejorada de ácido succínico.

<Tanque de cristalización>

45 El tanque de cristalización que se va a usar en la invención no está particularmente limitado en su estructura siempre que el tanque sea un recipiente equipado con un agitador. Aunque se puede usar un recipiente que tenga un agitador conocido, se prefiere un recipiente cilíndrico que tenga un fondo. Se prefiere disponer deflectores en el tanque para cortar eficazmente el líquido que contiene ácido succínico. Además, también es posible utilizar un recipiente que tenga una guía cilíndrica, por ejemplo, una guía llamada tubo de tiro, para regular el flujo dentro del tanque de cristalización.

50 La forma del recipiente no está particularmente limitada. Sin embargo, desde el punto de vista de hacer que la suspensión sea más uniforme en el dispositivo y cortar eficientemente la suspensión, la relación entre el diámetro y la altura del recipiente (L/D) suele ser, preferentemente, de 0,5-3, más preferentemente 0,7-2,5, aún más preferentemente 1-2.

55 <Agitador>

El agitador que se va a utilizar en la invención es un agitador que está equipado con una o más palas agitadoras.

60 Las palas agitadoras no tienen que ser palas especiales y se pueden usar palas agitadoras conocidas. Los ejemplos de los mismos incluyen palas de corte, tales como palas de paleta y palas de turbina, palas en flecha y palas de descarga, tales como impulsores Pfaudler, pala Maxblend (marca registrada de Sumitomo Heavy Industries, Ltd.) y pala Fullzone (marca registrada de Shinko-Pantec Co., Ltd.). En la invención, sin embargo, se prefiere usar palas de corte, tales como palas de paleta y palas de turbina para transferir eficientemente la potencia.

65 Con respecto a la distinción entre palas de corte y palas de descarga, las palas pueden evaluarse, por ejemplo, en

términos de la relación entre el número de potencia N_p y el número de cantidad de descarga N_{qd} , es decir, N_p/N_{qd} (véase, por ejemplo, Bessatu Kagaku Kogyo 23-2, Sekkei/Sosa Shirizu No. 1, Kaitei Kakuhan Sochi, pp.21-25 y 38-39). En el presente documento, se prefiere seleccionar las palas de entre palas que satisfacen $N_p/N_{qd} \geq 1,7$, preferentemente entre palas que satisfacen $N_p/N_{qd} \geq 2$.

5 El tamaño de las palas agitadoras tampoco está particularmente limitado. En la invención, otro agitador, tal como un agitador para hacer circular el líquido que contiene ácido succínico, se puede usar además del agitador equipado con palas agitadoras. Como el otro agitador, se pueden usar, por ejemplo, un dispositivo mediante el cual se hace circular el líquido que contiene ácido succínico que ha sido conducido fuera del tanque de cristalización al tanque de cristalización por medio de una bomba para la transferencia de fluido, por ejemplo, una bomba centrífuga.

<Agitación>

15 En la invención, el líquido que contiene ácido succínico en el tanque de cristalización se somete a cristalización en condiciones de agitación tales que la potencia requerida para agitar por unidad de volumen del líquido que contiene ácido succínico (en adelante, a menudo denominado P_v) es de $0,4-3 \text{ kW/m}^3$.

20 Regulando el P_v a $0,4 \text{ kW/m}^3$ o superior, los cristales de ácido succínico pueden tener una pureza mejorada. La razón por la cual el uso de un P_v regulado a $0,4 \text{ kW/m}^3$ o superior produce una mejora en la pureza de los cristales de ácido succínico es que el contenido del tanque está suficientemente agitado y, por lo tanto, se evita que los cristales se agreguen mientras toman parte del licor madre.

25 Por otro lado, regulando el P_v a 3 kW/m^3 o menos, se evita que la energía se desperdicie en la cristalización y se evita que los cristales de ácido succínico se obtengan como cristales demasiado pequeños y que afecten negativamente a la posterior etapa de separación sólido-líquido. Además, en el caso en el que la cristalización se realiza a presión ordinaria, es posible evitar el problema de que el gas introducido en el líquido desde la fase gaseosa por la agitación se adhiere al ácido succínico y este ácido succínico sube a la superficie del líquido para constituir un obstáculo para la operación de cristalización.

30 <Cristalización>

La cristalización en la invención es una operación en la que la solubilidad del ácido succínico cambia al hacer que el líquido que contiene ácido succínico sufra algún cambio y los cristales de ácido succínico se precipitan de ese modo del líquido que contiene ácido succínico. Esta cristalización puede realizarse por cualquier método siempre que la operación sea capaz de precipitar el ácido succínico como cristales del líquido que contiene ácido succínico.

35 Más específicamente, los ejemplos de métodos de cristalización incluyen: un método de cristalización de enfriamiento en el que la presión interna del tanque de cristalización se reduce para cambiar de ese modo la temperatura del líquido que contiene ácido succínico y precipitar el ácido succínico mientras se utiliza la dependencia de la temperatura de la solubilidad del ácido succínico en el disolvente; un método de cristalización por concentración en el que el disolvente se volatiliza de la solución, por ejemplo, calentando y reduciendo la presión para aumentar la concentración de ácido succínico del líquido que contiene ácido succínico y precipitar así el ácido succínico; un método de cristalización de disolvente pobre en el que se añade un tercer ingrediente (disolvente pobre) que disminuye la solubilidad del ácido succínico al líquido que contiene ácido succínico para precipitar el ácido succínico; y un método que incluye una combinación de estos.

40 En el caso en el que el líquido que contiene ácido succínico contiene una sal de ácido succínico, se puede añadir un ácido fuerte como ácido sulfúrico o ácido clorhídrico al líquido que contiene ácido succínico. Por tanto, la sal de ácido succínico puede convertirse en ácido succínico en forma no disociada, y los cristales del ácido succínico pueden precipitarse utilizando esta técnica en combinación con cualquiera de los métodos, incluidos enfriamiento, concentración y adición de disolvente pobre descrito anteriormente.

45 Con respecto a la cristalización por enfriamiento, los ejemplos de métodos de enfriamiento para su uso incluyen un método en el que el líquido que contiene ácido succínico se enfría haciendo circular el líquido a través de un intercambiador de calor externo, un método en el que se introduce un tubo para pasar un refrigerante a través del mismo (bobina interna) en el líquido que contiene ácido succínico y un método en el que se reduce la presión interna del aparato para volatilizar así el disolvente contenido en la solución y enfriar el líquido mediante el calor de vaporización del disolvente.

50 De estos es preferente el método en el que se reduce la presión interna del aparato para volatilizar de este modo el disolvente contenido en la solución y enfriar el líquido mediante el calor de vaporización del disolvente. Esto se debe a que se puede evitar que el ácido succínico precipite en la interfaz de intercambio de calor y, por lo tanto, inhiba la transferencia térmica. Además, dicho método se prefiere también desde el punto de vista del rendimiento de cristalización porque el enfriamiento se acompaña con la concentración del ácido succínico contenido en la solución.

65 La temperatura del líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque de cristalización durante la

cristalización (en adelante, esa temperatura a menudo se denomina temperatura de cristalización) se establece a una temperatura que permite que los cristales de ácido succínico se separen del líquido que contiene ácido succínico.

- 5 La temperatura de cristalización es, normalmente, preferentemente de 25-60 °C, más preferentemente 30-50 °C, desde el punto de vista de que la recuperación del ácido succínico puede aumentarse y que cuando el ácido succínico se usa como material de partida para un polímero, se puede inhibir que el polímero tome un color. Además, se prefiere que la diferencia entre la temperatura de cristalización y la temperatura a la que la solución que contiene ácido succínico introducida en el tanque de cristalización se convierta en una solución saturada de ácido
10 succínico sea de 10-45 °C.

Regulando la temperatura de cristalización a 25 °C o más, se puede inhibir que el polímero obtenido usando el ácido succínico recuperado como material de partida del mismo tome un color.

- 15 Regulando la temperatura de cristalización a 60 °C o menos, se evita que el uso del ácido succínico recuperado como material de partida para un polímero plantee el problema de que el polímero tome un color. Además, la recuperación del ácido succínico en la etapa de cristalización se mejora y el ácido succínico se puede producir de manera eficiente.

- 20 En paralelo, en el método en el que el líquido que contiene ácido succínico se enfría haciendo pasar un refrigerante a través de una camisa o una bobina interna, la diferencia de temperatura entre la suspensión de ácido succínico presente en la superficie de transferencia de calor y el refrigerante se evita que sea demasiado grande y se puede evitar una incrustación considerable.

- 25 Existe una clara correlación entre la temperatura de cristalización y el grado de coloración del polímero obtenido usando el ácido succínico recuperado como material de partida; el mismo. Se cree que queda algo de impureza en el ácido succínico como resultado de una disminución de la temperatura de cristalización y sirve como causa de coloración durante la polimerización. Sin embargo, la sustancia causal es desconocida en la actualidad.

- 30 En el método en el que el líquido que contiene ácido succínico se enfría haciendo pasar un refrigerante a través de una camisa o una bobina interna, la diferencia de temperatura entre la suspensión de ácido succínico presente en la superficie de transferencia de calor y el refrigerante es usualmente, preferentemente, de 20 °C o menos, más preferentemente 10 °C o menos, desde el punto de vista de prevenir la incrustación.

- 35 Se prefiere que la temperatura de la superficie de la pared del tanque de cristalización se mantenga más alta que la temperatura de cristalización. Regulando la temperatura de la superficie de la pared del tanque de cristalización para que sea más alta que la temperatura de cristalización, se evita que el ácido succínico se deposite en la superficie de la pared de cristalización, haciendo posible operar el aparato de manera estable y continua. Por lo tanto, es posible evitar el problema de que el ácido succínico que se ha depositado en la superficie de la pared se desprende
40 periódicamente y cae en el tanque de cristalización y, por lo tanto, hace que la pureza del ácido succínico sea inestable o reducida.

- Se prefiere que la presión interna del tanque de cristalización durante la cristalización se mantenga más baja que la presión de la atmósfera ambiente. Regulando la presión interna del tanque de cristalización para que sea inferior a la
45 presión de la atmósfera ambiente, el disolvente en la solución puede volatilizarse para aumentar la concentración de ácido succínico y el líquido que contiene ácido succínico puede enfriarse mediante el calor de vaporización del disolvente. El ácido succínico puede, así, cristalizarse.

- Además, regulando la presión interna del tanque de cristalización para que sea inferior a la presión de la atmósfera
50 ambiente, la inhibición de la transferencia de calor debido a la deposición de ácido succínico en la interfaz de intercambio de calor se puede prevenir en comparación, por ejemplo, con el método en el que el líquido que contiene ácido succínico se enfría por intercambio de calor. Además, es posible evitar que el ácido succínico que se ha depositado en la interfaz de intercambio de calor tome una impureza contenida en el líquido que contiene ácido succínico y controlar la velocidad a la que precipita el ácido succínico sólido. También es posible controlar la
55 agregación del sólido precipitado. Por tanto, es posible obtener ácido succínico sólido que se evita que incluya cualquier impureza contenida en el líquido que contiene ácido succínico y se hace posible la producción de ácido succínico que tiene una pureza más alta.

- Regulando la presión interna del tanque de cristalización para que sea inferior a la presión de la atmósfera ambiente,
60 se puede usar cualquier método siempre que la presión interna del tanque de cristalización se pueda regular para que sea menor que la presión de la atmósfera ambiente cuando precipitan cristales de ácido succínico del líquido que contiene ácido succínico. Por ejemplo, se puede utilizar un dispositivo de vacío.

- La presión interna del tanque de cristalización en el método en el que se realiza la cristalización a una presión
65 reducida está determinada por la temperatura de cristalización deseada. La presión interna del mismo es, normalmente, preferentemente de 0,5-20 kPa, más preferentemente 1-20 kPa, incluso más preferentemente 1-15

kPa, especialmente preferentemente 1,5-10 kPa.

En el caso en el que el disolvente es, por ejemplo, agua, la presión interna del tanque de cristalización suele ser preferentemente de 3-20 kPa, más preferentemente 4-15 kPa, especialmente preferentemente 5-10 kPa.

5 Regulando su presión del mismo a 0,5 kPa o más, se evita que la suspensión en el tanque de cristalización tenga una concentración demasiado alta dependiendo de la concentración del líquido que contiene ácido succínico que se alimenta, facilitando la manipulación de la suspensión. Además, el control de presión es fácil. Además, no hay limitaciones en el equipo para la reducción de presión y generalmente se puede lograr una reducción en el coste del equipo. El uso de esa presión interna, por lo tanto, se prefiere desde el punto de vista de la rentabilidad. Por ejemplo, en el caso en el que se emplean eyectores de vapor para reducir la presión, un aumento en el grado de vacío da como resultado un aumento en el coste del equipo, por ejemplo, debido a la necesidad de un aumento en el número de etapas de los eyectores de vapor.

15 Por otro lado, regulando la presión para que sea menor que la presión de la atmósfera ambiental, se inhibe el aumento de la temperatura interna del tanque de cristalización. Además, se evita que la suspensión en el tanque de cristalización tenga una concentración demasiado baja, dando como resultado una mejora en la eficiencia.

20 El dispositivo de vacío se puede seleccionar de entre técnicas conocidas teniendo en cuenta la presión deseada, si hay o no un disolvente que se vaporice junto con el agua, el tipo de disolvente. Las técnicas conocidas incluyen las técnicas enumeradas, por ejemplo, en Sekkei/Sosa Shirizu No.3, Kaitei Shoseki (Kagaku Kogaku Sha) pp. 292-293. Los ejemplos de los mismos incluyen eyectores de agua o vapor, bombas de vacío rotatorias selladas con aceite.

25 En la operación de cristalización, se prefiere regular la nucleación y el crecimiento de cristales del ácido succínico para regular la distribución del tamaño de partícula de los cristales de ácido succínico. La nucleación y el crecimiento de cristales del ácido succínico se regulan habitualmente regulando el grado de sobresaturación con ácido succínico dentro del tanque. Para alcanzar esta regulación, por lo general, se utiliza un método en el que se regula el período de cristalización. El período de cristalización se regula habitualmente preferentemente a 0,5-10 horas, más preferentemente a 1-5 horas.

30 Regulando el período de cristalización para que no sea más corto que el límite inferior, se evita que el grado de sobresaturación con ácido succínico dentro del tanque sea demasiado alto y se inhibe la generación de cristales finos. Además, es posible prevenir, por ejemplo, el problema de que la suspensión en el estado de tener todavía un grado de sobresaturación se descarga desde el tanque de cristalización y, por lo tanto, provoca incrustaciones en las etapas siguientes. Cuando el período de cristalización está regulado para que no sea más largo que el límite superior, se evita el uso de un tanque de cristalización innecesariamente grande y la operación es eficiente.

40 La cristalización se realiza de forma continua alimentando de forma continua o intermitente el líquido que contiene ácido succínico para no hacer que el tanque de cristalización se vacíe, cristalizando el ácido succínico en el tanque de cristalización y descargando continua o intermitentemente del tanque de cristalización la suspensión de ácido succínico que incluye tanto el ácido succínico producido como un líquido que contiene ácido succínico.

45 El líquido que contiene ácido succínico puede alimentarse al tanque de cristalización en cualquier cantidad deseada en cualquier momento deseado siempre que el tanque de cristalización no se vacíe. Sin embargo, la velocidad de alimentación está regulada de modo que la cantidad de contenido no exceda la capacidad efectiva del tanque de cristalización. A diferencia de las operaciones discontinuas, que tienen limitaciones con respecto a la escala, dicha operación continua es una operación que es necesaria e indispensable para las operaciones de cristalización a gran escala e industrial requeridas para lograr una alta eficiencia de producción.

50 No existen limitaciones particulares en los métodos para alimentar el líquido que contiene ácido succínico. Los ejemplos de los métodos incluyen un método en el que el líquido que contiene ácido succínico se envía con una bomba de alimentación de líquido y un método en el que el líquido que contiene ácido succínico se envía por medio de presión.

55 Con respecto a la velocidad de alimentación del líquido que contiene ácido succínico, se prefiere alimentar el líquido que contiene ácido succínico de modo que el líquido que contiene ácido succínico tenga un tiempo de residencia promedio en el tanque de cristalización de 1-5 horas.

60 Regulando el tiempo de residencia promedio del mismo para que no sea inferior al límite inferior, se evita que el grado de sobresaturación con ácido succínico dentro del tanque sea demasiado alto y se inhibe la generación de cristales finos. Además, es posible prevenir, por ejemplo, el problema de que la suspensión en el estado de que todavía tiene un grado de sobresaturación se descarga del tanque de cristalización para causar incrustación en las etapas siguientes. Cuando el tiempo de residencia promedio del mismo se regula para que no sea más largo que el límite superior, se evita el uso de un tanque de cristalización innecesariamente grande y la operación es eficiente.

65 Se prefiere que el líquido que contiene ácido succínico se alimente a la parte de fase líquida dentro del tanque de

cristalización, estando la parte en fase líquida constituida por una suspensión. Alimentando el líquido que contiene ácido succínico a la parte de la fase líquida dentro del tanque de cristalización, se puede evitar que los cristales finos de ácido succínico generen en gran cantidad y problemas, tales como, por ejemplo, se puede evitar que se obstruya los tubos.

5

(Descarga de la suspensión de ácido succínico)

10 Cuando el ácido succínico obtenido se va a descargar del tanque de cristalización durante la cristalización realizada en el modo continuo, el ácido succínico se puede descargar como una suspensión junto con un líquido que contiene ácido succínico. La descarga puede realizarse en cualquier cantidad deseada en cualquier momento deseado a menos que el tanque de cristalización se vacíe. Esta descarga se realiza, por ejemplo, mediante un método en el que la suspensión se descarga de forma continua o intermitente, por ejemplo, con bomba de suspensión o mediante envío de presión, en el que se envía la suspensión, por medio de una diferencia de presión, a un tanque receptor que tiene una presión menor que el tanque de cristalización, mientras compara adecuadamente la cantidad de 15 descarga con la cantidad del líquido que contiene ácido succínico alimentado para que el tanque de cristalización no se vacíe.

20 Los ejemplos de métodos para alimentar el líquido que contiene ácido succínico al tanque de cristalización y descargar una suspensión del tanque de cristalización para que el tanque de cristalización no se vacíe incluyen: un método en el cual la velocidad de alimentación y la velocidad de descarga están reguladas para ser las mismas; y un método en el que se repite una operación en la que el líquido que contiene ácido succínico se alimenta cuando el nivel del líquido dentro del tanque de cristalización ha disminuido a o por debajo de un nivel dado y se descarga una suspensión cuando el nivel del líquido ha aumentado a o por encima de un nivel dado, con la ayuda de un sensor de niveles de líquido o similar.

25

<Separación sólido-líquido>

30 El ácido succínico descargado del tanque de cristalización generalmente se extrae como una mezcla del mismo con un líquido que contiene ácido succínico. En consecuencia, el ácido succínico generalmente se separa del líquido que contiene ácido succínico en una etapa de separación sólido-líquido. En la etapa de separación sólido-líquido, la mezcla se somete a separación sólido-líquido mediante un método convencionalmente conocido para separar la mezcla en los cristales de ácido succínico y el licor madre.

35 El método para la separación sólido-líquido no está particularmente limitado, por lo que el método es capaz de separar el ácido succínico del líquido que contiene ácido succínico. Los ejemplos de los mismos incluyen separación por filtración, separación por sedimentación y separación centrífuga. La operación puede ser discontinua o continua. Los ejemplos de separadores eficientes sólido-líquido incluyen separadores centrífugos continuos y sedimentadores centrífugos, tales como decantadores.

40 También se prefiere, desde el punto de vista de aumentar la pureza del ácido succínico a obtener, que la materia sólida separada por la operación de separación sólido-líquido se enjuague con, por ejemplo, agua fría para eliminar el líquido que contiene ácido succínico adherido a su superficie.

45 <Secado>

Dado que un líquido que contiene ácido succínico suele adherirse a la superficie del ácido succínico obtenido en la etapa de separación sólido-líquido, el ácido succínico se enjuaga con, por ejemplo, agua fría según la necesidad y luego se seca. Por tanto, se obtiene ácido succínico. Los métodos para el secado no están particularmente limitados y los ejemplos incluyen secadores de tipo convectivo de transferencia de calor tales como secadores de banda y 50 secadores de lecho fluidizado y secadores de tipo conductivo de transferencia de calor tales como secadores de tambor.

Especialmente preferido es un secador de lecho fluidizado que es capaz de un tratamiento continuo en grandes cantidades y que es menos propenso a causar la rotura de cristales o similares durante el secado. Cuando se usa un 55 secador de lecho fluidizado, se prefiere secar el ácido succínico mientras se suministra nitrógeno al mismo y regular la atmósfera para tener una concentración de oxígeno del 12 % o menos, desde el punto de vista de evitar que el ácido succínico cause una explosión de polvo.

60 Con respecto a la temperatura del ácido succínico durante el secado, el ácido succínico se seca de modo que su temperatura sea preferentemente de 100 °C o menor, más preferentemente 90 °C o menor, incluso más preferentemente 80 °C o menor, porque existe la posibilidad de que se genere anhídrido succínico como resultado de la deshidratación intramolecular.

65 El ácido succínico obtenido por los procesos de producción de la invención tiene una distribución de diámetro de partícula basada en peso que, cuando se aproxima por la distribución Rosin-Rammler, tiene un número de uniformidad n preferentemente de 3,0 o mayor, más preferentemente 3,0-6,0, especialmente preferentemente 3,2-

5,0. El diámetro promedio de partícula del mismo es, preferentemente, de 400 μm o menos, más preferentemente 100-300 μm . El término "diámetro de partícula promedio" en el presente documento significa una mediana del diámetro en función del peso obtenido mediante clasificación con tamiz.

5 <Ejemplo de proceso para producir ácido succínico por cristalización por vaporización>

Un ejemplo de procesos para producir ácido succínico por cristalización por vaporización se explica a continuación con referencia a la figura 13 y la figura 14. La figura 13(a) es una vista esquemática en sección de un cristizador para su uso en un proceso para la producción de ácido succínico según una realización, y la figura 13 (b) es una vista en sección horizontal tomada en la línea BB de la figura 13 (a). La figura 14 es un diagrama de flujo para ilustrar un ejemplo del proceso para la producción de ácido succínico según una realización.

(Cristizador)

15 El cristizador que se va a usar en la invención no está particularmente limitado en su estructura siempre que el cristizador sea un recipiente equipado con un agitador. Aunque se puede usar un recipiente que tenga un agitador conocido, se prefiere un recipiente cilíndrico que tenga un fondo. Se prefiere disponer deflectores en el tanque para cortar eficientemente la suspensión. Además, también es posible utilizar un recipiente que tenga una guía cilíndrica, por ejemplo, una guía llamada tubo de tiro, para regular el flujo dentro del tanque de cristalización.

20 La forma del recipiente no está particularmente limitada. Sin embargo, desde el punto de vista de hacer que la suspensión sea más uniforme en el aparato y cortar la suspensión eficientemente, generalmente se usa un recipiente en el que la relación entre el diámetro y la altura del recipiente (L/D) es, preferentemente, de 0,5-3, más preferentemente 0,7-2,5, especialmente preferentemente 1-2.

25 Como el tanque de cristalización, se puede hacer uso de un reactor en el que la composición del líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque es igual a la composición del líquido que contiene ácido succínico que se está descargando del mismo, es decir, un reactor de tipo tanque de agitación completo (en adelante abreviado a menudo como tipo CSTR). Como alternativa, se puede usar un cristizador que tiene una función de clasificación, que es un cristizador ampliamente utilizado. En el presente documento, se da una explicación sobre un cristizador de doble hélice (en adelante abreviado a menudo como tipo DP), que es un cristizador ampliamente utilizado, por referencia a la figura 13.

35 Este cristizador de tipo DP 10 tiene, principalmente, un tanque 1 al que se alimenta un líquido a tratar, un tubo de aspiración 2 dispuesto en el tanque 1, y palas giratorias 3 y 4 dispuestas dentro y fuera del tubo de aspiración 2.

40 El tanque 1 tiene: una parte superior 1 a, que tiene una forma aproximadamente cilíndrica; una parte media 1b, que tiene una forma aproximadamente cilíndrica que tiene un diámetro mayor que la parte superior 1a y en el que se ha encerrado la mitad inferior de la parte superior 1a; y una parte inferior 1c, que se extiende desde el extremo inferior de la parte media 1b. Esa porción de la parte superior 1a que se ha encerrado en la parte media 1b sirve como placa deflectora 5. La parte inferior 1c está compuesta por una parte de cono, en el que su diámetro disminuye hacia abajo desde el extremo inferior de la parte media 1b y una parte inferior, que cierra el extremo inferior de la parte del cono. Un puerto de alimentación de líquido bruto 1d y un puerto de descarga de la suspensión 1e se han dispuesto en la parte del cono de la parte inferior 1c y un puerto de descarga 1h se ha dispuesto en la parte inferior de la parte inferior 1c. Una salida del licor madre clarificado si se ha dispuesto en la parte media 1b y una salida de vapor 1g se ha dispuesto en una parte del panel que cubre el extremo superior de la parte superior 1a.

50 El extremo superior del tubo de aspiración 2 se encuentra por encima del extremo superior de la salida de licor madre clarificado 1f, y el extremo inferior del tubo de aspiración 2 se encuentra a una altura correspondiente al centro de la parte inferior 1c. Este tubo de aspiración 2 está compuesto por un tubo de aspiración superior 2a y un tubo de aspiración inferior 2b, y las palas giratorias 3 y 4 se han dispuesto de forma segura en las superficies circunferenciales interior y exterior del tubo de aspiración superior 2a. Un eje giratorio 6 se ha dispuesto de forma segura en el centro de las palas giratorias internas 3. El tanque 1 se ha configurado para que las palas giratorias 3 y 4 puedan girar, junto con el tubo de aspiración superior 2a, girando el eje giratorio 6 por medio de un motor 7. Las palas giratorias 3 y 4 se han dispuesto en la placa deflectora 5.

60 Sin embargo, el tubo de aspiración 2 puede dividirse en tres porciones, es decir, una parte superior, una parte media y una parte inferior, y las palas giratorias 3 y 4 pueden disponerse en la parte media, tal como se muestra en la figura 14. Como alternativa, se puede emplear un tubo de aspiración 2 que tiene una estructura integral.

Durante la cristalización, el nivel de líquido L se encuentra por encima del extremo superior de la parte media 1b y por encima del extremo superior del tubo de aspiración 2, y esa parte de la parte superior 1a que se encuentra por encima del nivel de líquido L sirve como cámara de vaporización 8, como se muestra en la figura 13 (a).

65 Un ejemplo de las especificaciones principales del cristizador de tipo DP 10 es como se muestra a continuación.

Dimensión principal, diámetro interno de (parte media 1b): $\Phi 350$
 Capacidad: 230 l
 Velocidad de rotación: 93-375 rpm
 Potencia: 2,2 kW, 200 V
 5 Materiales: SUS316

Por otra parte, se puede usar, por ejemplo, la configuración del cristizador no debe interpretarse como limitada al cristizador de tipo DP 10 y los cristizadores descritos en los documentos JP-B-43-1985I y JP-A-2004-154618.

10 (Ejemplos de producción por cristalización por vaporización)

Un ejemplo de producción de ácido succínico por cristalización por vaporización se explica a continuación con referencia a la figura 14.

15 (1) Líquido bruto

Un líquido que contiene ácido succínico que tiene una concentración dada se almacena en un tanque 20 de materia prima con camisa. La concentración de ácido succínico suele ser del 10-50 % en peso, aunque su concentración depende de la temperatura a la que se disolvió el ácido succínico. La temperatura a la que se disuelve el ácido succínico no está particularmente limitada siempre que el ácido succínico se disuelva. Sin embargo, el ácido se disuelve generalmente a una temperatura en el intervalo de 30-90 °C.

(2) Introducción de líquido en el Cristizador 10,

25 El líquido que contiene ácido succínico se descarga desde el tanque 20 haciendo funcionar una bomba de alimentación de líquido bruto P_1 y se alimenta a un cristizador 10 después de haber sido diluido añadiendo agua corriente al mismo. La concentración de ácido succínico de este líquido bruto diluido no está particularmente limitada siempre que la concentración no provoque precipitación en el cristizador 10. Por ejemplo, su concentración es del 5-40 % en peso.

30 La alimentación del líquido que contiene ácido succínico al cristizador 10 se lleva a cabo hasta que el nivel de líquido L en el cristizador 10 esté por encima del extremo superior del tubo de aspiración 2 como se muestra en la figura 13 (a). A continuación, las palas giratorias 3 y 4 se hacen girar a una velocidad de rotación de agitación dada (por ejemplo, 100-350 rpm). Por tanto, como se muestra en la figura 13(a), el líquido que contiene ácido succínico que se ha alimentado al tubo de aspiración 2 a través del puerto de alimentación de líquido bruto L_d asciende por la acción de la fuerza de rotación de las palas giratorias 3, fluye a través del extremo superior del tubo de aspiración 2, posteriormente desciende, por la acción de la fuerza de rotación de las palas giratorias 4, entre el tubo de aspiración 2 y la placa deflectora 5, y fluye nuevamente en el tubo de aspiración 2 a través del extremo inferior del tubo de aspiración 2. Por tanto, el líquido que contiene ácido succínico circula por el interior y el exterior del tubo de aspiración 2.

45 Según la necesidad, se opera una bomba de circulación de suspensión P_2 para iniciar la circulación externa del líquido que contiene ácido succínico. Se prefiere que esta bomba P_2 sea una bomba que rompa al menos algunos de los cristales de ácido succínico que se han separado por cristalización y los ejemplos de los mismos incluyen bombas centrífugas para suspensiones. El caudal no está particularmente limitado siempre que los cristales fluyan uniformemente dentro del tubo. Aunque el caudal depende del tamaño de los cristales, el caudal generalmente se establece en 0,2-5 m/s en términos de velocidad lineal. La presión de descarga generalmente es de 0,01-0,5 MPa, aunque determinada por la bomba, el tamaño del tubo o caudal. Se puede pasar un refrigerante a través de un intercambiador de calor de suspensión 21 o no se puede pasar refrigerante a través del mismo. Se puede pasar un medio de calentamiento a través del mismo.

(3) Reducción de la presión interna del cristizador 10 y concentración

55 La presión interna del cristizador 10 se reduce gradualmente para vaporizar el disolvente, concentrando así el líquido que contiene ácido succínico y simultáneamente bajando la temperatura del líquido por medio del calor latente de vaporización. Se inicia así la cristalización del ácido succínico. La temperatura de cristalización no está particularmente limitada y generalmente es de 5-50 °C. En el presente documento, las presiones excesivamente reducidas no son deseables porque el disolvente que se ha vaporizado es difícil de condensar. Por el contrario, presiones demasiado altas resultan en una recuperación demasiado baja de ácido succínico y, por lo tanto, en una eficiencia deteriorada. En el caso en que el líquido que contiene ácido succínico circula externamente, la concentración del líquido que contiene ácido succínico se acelera haciendo pasar un medio de calentamiento a través del intercambiador de calor de suspensión 21.

65 El vapor que se ha acumulado en la cámara de vaporización 8 como resultado de la vaporización que acompañó a la reducción de presión se descarga a través de una salida de vapor de 1 g. El vapor descargado se condensa en un condensador 22 y se somete a separación gas-líquido en un separador 23. El disolvente resultante se almacena en

un tanque 24. En paralelo, se alimenta el líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque 20, sin ser diluido, en el cristalizador 10 de manera intermitente o continua. Esta alimentación se realiza a una velocidad tal que el nivel de líquido L en el tanque 1 se mantiene por encima del extremo superior del tubo de aspiración 2. Por ejemplo, la velocidad de alimentación es de aproximadamente 20-200 l/h. El líquido que contiene ácido succínico en el cristalizador 10 se concentra de la manera descrita anteriormente.

(4) Descarga de ácido succínico

Después de que la suspensión que contiene ácido succínico en el cristalizador 10 ha alcanzado una concentración de suspensión determinada (por ejemplo, 20-40 % en peso), la velocidad de alimentación del líquido que contiene ácido succínico al cristalizador 10 desde el tanque 20 se cambia según la necesidad. La velocidad de alimentación es, por ejemplo, de aproximadamente 20-200 l/h. Esta alimentación del líquido que contiene ácido succínico puede ser alimentación intermitente o alimentación continua. Sin embargo, la alimentación continua permite que el ácido succínico se produzca de manera más estable. Por lo tanto, se prefiere que cuando el líquido que contiene ácido succínico se alimenta de forma intermitente en (3) anterior, la alimentación debe cambiarse a alimentación continua.

La suspensión en el cristalizador 10 se descarga de forma continua o intermitente a través de un puerto de descarga de suspensión 1h mientras se regula el nivel de líquido L. Se prefiere que la velocidad de descarga de la suspensión sea de 20-200 l/h, en particular, 30-150 l/h. En el caso de descarga intermitente, se prefiere que la frecuencia de la descarga de la suspensión sea de aproximadamente 5-30 minutos cada una, en particular, aproximadamente de 10-20 minutos cada una. En esta operación, se debe tener cuidado de mantener el nivel de líquido L por encima de la superficie superior del tubo de aspiración 2 dentro del cristalizador 10.

Con respecto a la descarga de la suspensión, la suspensión se puede descargar de manera intermitente a través de una válvula de fondo del tanque de cristalización mediante una diferencia de presión a un tanque de descarga de suspensión regulado para tener una presión menor que el tanque de cristalización o la suspensión se puede descargar continuamente con una bomba de suspensión. En el caso en que hace circular la suspensión, parte de la suspensión que está circulando se puede descargar de forma continua o intermitente. Se puede seleccionar una bomba teniendo en cuenta el caudal, la altura de elevación, el tamaño deseado de las partículas de ácido succínico.

Las bombas se clasifican aproximadamente como turbobombas en las que un impulsor gira a alta velocidad dentro de la carcasa para aplicar energía al líquido, las bombas de desplazamiento positivo en las que el líquido presente en un volumen espacial dado cambia de volumen mediante un movimiento alternativo o un movimiento giratorio para aplicar energía al líquido, bombas especiales. Las bombas se seleccionan de acuerdo con los fines, teniendo en cuenta el grado de rotura de las partículas de ácido succínico, además del caudal y la altura de elevación. Para romper activamente las partículas de ácido succínico con una bomba, se utiliza una turbobomba en la que se aplica energía al líquido que contiene ácido succínico por medio del impulsor que gira a alta velocidad. Por el contrario, en el caso en que se desea minimizar la rotura de las partículas de ácido succínico, se utiliza una bomba de desplazamiento positivo. Es deseable que una bomba de desplazamiento positivo capaz de minimizar la rotura de las partículas de ácido succínico, tal como, por ejemplo, una bomba snake, se use para descargar la suspensión.

La suspensión descargada se somete a separación sólido-líquido con un separador centrífugo 23 de tipo cesta para separar la suspensión en una torta húmeda y un licor madre. La torta húmeda recuperada se seca en un secador de vacío (no mostrado) (por ejemplo, a 80 °C y 50 Torr). Por tanto, se producen partículas de ácido succínico.

Por otra parte, un licor madre clarificado que tiene un bajo contenido de partículas de ácido succínico se estanca entre la placa deflectora 5 y la parte media 1b del tanque de cristalización 1. Este licor madre clarificado se puede descargar de forma continua o intermitente a través de una salida de licor madre clarificado 1f usando una bomba P₃. El licor madre clarificado descargado se almacena en un tanque 25 de licor madre clarificado con camisa y se envía de regreso al tanque 20 de líquido bruto con camisa con una bomba P₄ según sea necesario.

Los cristales semilla de ácido succínico se introducen en el cristalizador 10. Por tanto, las partículas de ácido succínico que tienen una distribución de tamaño de partícula que es estrecha e imparte una excelente manejabilidad a las partículas pueden cristalizarse. Se prefiere que los cristales semilla tengan un diámetro de partícula promedio en volumen de 200 μm o menos, en particular, 50-150 μm. La cantidad de cristales semilla a añadir es, preferentemente, de 0,001-20 % en peso, en particular, 0,01-10 % en peso, en términos de la cantidad de ácido succínico recuperado fuera del sistema.

Los métodos para añadir los cristales semilla no están particularmente limitados. Por ejemplo, los cristales semilla de ácido succínico pueden introducirse en el cristalizador 10 desde una recipiente 26 para alimentar la suspensión de cristales de semillas. En el caso en que la bomba de circulación de la suspensión P₂ funciona para hacer circular externamente el líquido que contiene ácido succínico, se puede utilizar un método en el que las partículas de ácido succínico contenidas en el líquido que circulan se rompen con la bomba de circulación de la suspensión P₂ y las partículas rotas se hacen actuar como cristales semilla. En este caso, se puede pasar un refrigerante o un medio de calentamiento a través del intercambiador de calor de suspensión 21, o no se puede pasar ningún medio a través del mismo. En el caso en que no pase ni refrigerante ni medio de calentamiento, el líquido que contiene ácido succínico

puede pasar a través de una línea de derivación (no mostrada) para el intercambiador de calor de suspensión 21.

La bomba de circulación de suspensión que se utilizará en el presente documento puede seleccionarse de bombas clasificadas aproximadamente como turbobombas en las que se gira un impulsor a alta velocidad dentro de la carcasa para aplicar energía al líquido, las bombas de desplazamiento positivo en las que el líquido presente en un volumen espacial dado cambia de volumen mediante un movimiento alternativo o un movimiento giratorio para aplicar energía al líquido, bombas especiales, de acuerdo con los fines, teniendo en cuenta el grado de rotura de las partículas de ácido succínico, además del caudal y la altura de elevación.

Para romper activamente las partículas de ácido succínico con una bomba, Es deseable utilizar una turbobomba en la que se aplica energía al líquido que contiene ácido succínico por medio del impulsor que gira a alta velocidad. Por el contrario, en el caso en que se desea minimizar la rotura de las partículas de ácido succínico, es deseable utilizar una bomba de desplazamiento positivo.

Las turbobombas para romper activamente las partículas de ácido succínico por medio de un impulsor que gira a alta velocidad se clasifican además como bombas centrífugas en las que el líquido que contiene ácido succínico que se descarga del impulsor se encuentra principalmente en un plano que es perpendicular al eje principal, bombas de flujo mixto en las que el líquido que contiene ácido succínico que se descarga del impulsor se encuentra en una superficie cónica, cuyo eje es el mismo que el eje del eje principal, y bombas de flujo axial en las que el líquido que contiene ácido succínico que se descarga del impulsor se encuentra en una superficie cilíndrica que es coaxial con el eje principal. El tipo de bomba se selecciona adecuadamente de acuerdo con las aplicaciones, teniendo en cuenta no solo el caudal y la altura de elevación, sino también el grado de rotura de las partículas de ácido succínico. En el caso en que las partículas de ácido succínico se rompan de manera especialmente eficiente, por lo general, es deseable seleccionar una bomba centrífuga. Las bombas centrífugas y las bombas de flujo mixto pueden clasificarse aún más mediante forma de pala, es decir, si existe o no un faldón de impulsor, como impulsores abiertos, impulsores cerrados, etc. Desde el punto de vista del efecto de romper las partículas de ácido succínico, se considera que los impulsores cerrados son eficientes. Sin embargo, los impulsores abiertos generalmente se emplean porque existe la posibilidad de que se produzcan obstrucciones dentro de las bombas cuando se manipula una suspensión.

(Ejemplo de método de cristalización por enfriamiento)

La figura 15 es un diagrama de flujo que ilustra un ejemplo del método de cristalización por enfriamiento. Las especificaciones del cristizador que se muestran en este ejemplo incluyen: dimensión principal, $\Phi 350$; capacidad, 63 l; velocidad de rotación de agitación, 10-120 rpm; potencia, 0,75 kW (200 V); y material, acero inoxidable SUS316 (JIS). En este ejemplo también, un líquido que contiene ácido succínico que tiene una concentración dada (por ejemplo, 10-50 % en peso) y una temperatura dada (por ejemplo, 30-90 °C) se almacena en un tanque de materia prima con camisa (no mostrado).

Este líquido que contiene ácido succínico se alimenta en una cantidad dada (por ejemplo, 10-50 l) en un tanque de cristalización 30 a través de un tubo 31 de alimentación de líquido bruto. Posteriormente, los contenidos comienzan a agitarse con un agitador 30a a una velocidad de rotación de agitación dada (por ejemplo, 10-100 rpm) y, simultáneamente, el líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque de cristalización 30 se hace circular a un intercambiador de calor 33 a través de un tubo 32 de circulación equipada con una bomba 32a. La velocidad de esta circulación es, por ejemplo, de aproximadamente 0,5-5 m³/h.

Posteriormente, el caudal del refrigerante del intercambiador de calor 33 se regula utilizando un controlador de temperatura (TIC) para reducir de ese modo la temperatura del líquido presente en el tanque de cristalización 30 a una temperatura dada (por ejemplo, 10-40 °C) durante un período determinado (por ejemplo, 1-5 horas). A continuación, la temperatura del líquido en el tanque de cristalización 30 se mantiene a esa temperatura dada para envejecer el líquido durante un período dado. Este período de envejecimiento es, preferentemente, de aproximadamente 1-5 horas.

Posteriormente, el líquido que contiene ácido succínico se alimenta de manera intermitente o continua a través del tubo 31 de alimentación de líquido bruto y, simultáneamente, la suspensión en el tanque de cristalización 30 se descarga de manera intermitente o continua mientras se regula el nivel del líquido. Por ejemplo, una línea de descarga 34a equipada con una válvula electromagnética 34 está dispuesta de antemano en algún lugar del tubo 32 de circulación y la válvula electromagnética 34 se abre a una frecuencia dada por medio del control del temporizador para descargar así la suspensión presente en el tanque de cristalización 30 mientras regula el nivel líquido. La velocidad de alimentación a través del tubo 31 de alimentación de líquido bruto es, preferentemente, de aproximadamente 10-100 l/h, y la frecuencia dada a la que se descarga la suspensión a través de la línea de descarga 34a es, preferentemente, de aproximadamente 5-30 minutos cada una.

La suspensión descargada se somete a separación de sólido-líquido con un separador centrífugo tipo cesta y se separa en una torta húmeda y un licor madre, como en el caso de la figura 14. La torta húmeda recuperada se seca en un secador de vacío. Por tanto, se producen partículas de ácido succínico.

[Ejemplos]

La invención se explicará a continuación haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

5 <Determinación de la distribución del diámetro de partícula>

La distribución del diámetro de partícula del ácido succínico obtenido se determinó tamizando el ácido succínico mediante un método de acuerdo con la norma JIS Z8815 usando tamices de alambre estándar según lo dispuesto en la norma JIS Z8801, que tenía un diámetro interno de 200 mm, una profundidad de 45 mm y tamaños de abertura de 850 µm, 710 µm, 500 µm, 300 µm y 150 µm, y además usando una bandeja receptora y una tapa. El tamizado se realizó agitando los tamices durante 15 minutos usando un agitador de tamices giratorio y de golpeo (F2-0003 tipo S-2, fabricado por Teraoka Corp.) que tiene una frecuencia de oscilación de 300 rpm y una frecuencia de golpeo de 150 golpes por minuto.

15 Para calcular una mediana del diámetro (en adelante, a menudo denominado d50), el diámetro de partícula se representó como la abscisa (logarítmico) y el contenido de tamiz negativo en peso se representó como ordenada. El diámetro de partícula correspondiente a un contenido de tamiz negativo en peso del 50 % se calculó por interpolación. De la misma manera, se calculó el diámetro correspondiente a un contenido de tamiz negativo en peso del 20 % (en adelante, a menudo denominado d20) y el diámetro correspondiente a un contenido de tamiz negativo en peso del 80 % (en adelante, a menudo denominado d80).

<Determinación de cantidades de ácido succínico y ácido fumárico>

25 Columna: ULTRON PS-80H, fabricada por Shinwa Chemical Industries Ltd.; 8,0 mm (diámetro interno) x 30 cm
Eluyente: agua (que contiene ácido perclórico) (1,8 ml de solución acuosa de ácido perclórico al 60 %/1 l de H₂O)
Temperatura: 60 °C

<Determinación de la cantidad de iones de amonio>

30 El análisis cuantitativo para los iones de amonio en los ejemplos se realizó por cromatografía iónica en las siguientes condiciones.

35 Columna: GL-IC-C75 (4,6 mm (DI) x 150 mm)
Eluyente: 3,5 mmol/l de ácido sulfúrico
Temperatura de la columna: 40 °C

<Examen de cristales de ácido succínico>

40 Los cristales de ácido succínico obtenidos por los ejemplos se examinaron y SE fotografiaron usando un microscopio digital VH-8000, fabricado por Keyence Corp.

<Tanque de cristalización>

45 En los ejemplos, se usó como tanque de cristalización un matraz extraíble con camisa de vidrio y con una capacidad de 1 l o 7 l o un tanque de agitación hecho de acero inoxidable y con una capacidad de 63 l o 230 l. La potencia requerida para agitar en el tanque de cristalización que tiene una capacidad de 1 l o 7 l se midió de acuerdo con el siguiente método.

<Medición de la potencia requerida para la agitación>

50 La potencia requerida para agitar en el tanque de cristalización que tiene una capacidad de 1 l o 7 l se midió de la siguiente manera. Las palas agitadoras se conectaron a un agitador equipado con un convertidor de par y capaz de medir el par (Three-One Motor BL600Te, fabricado por Shinto Scientific Co., Ltd.) y el contenido se agitó mientras se medía continuamente el par. El par se introdujo continuamente en un registrador de datos (GL800, fabricado por Graphtec Corp.) a intervalos de 20 segundos a lo largo de la operación de cristalización y el Pv se calculó a partir del par T utilizando la siguiente ecuación.

$$P_v = T_x(2n\pi/60)/V$$

60 Pv: potencia requerida para agitar por unidad de volumen [kW/m³]
T: par de agitación [N·m]
n: velocidad de rotación de agitación [rpm]
V: volumen de líquido que contiene ácido succínico [m³]

65 <Producción de poliéster y evaluación del polímero>

[Preparación del catalizador de policondensación]

En un matraz de tipo berenjena de 500 cm³ hecho de vidrio y equipado con un agitador se introdujeron 62,0 g de tetrahidrato de acetato de magnesio. A esto se añadieron 250 g de etanol anhidro (pureza, 99 % en peso o mayor),
 5 seguido de 35,8 g de fosfato de ácido etílico (relación de mezcla monoéster/diéster en peso, 45:55). Los contenidos se agitaron a 23 °C. A los 15 minutos a continuación, se comprobó que el acetato de magnesio se había disuelto completamente. A continuación, se añadieron 75,0 g de titanato de tetra-n-butilo. La agitación continuó durante 10 minutos más para obtener una solución de mezcla homogénea. Esta solución de mezcla se transfirió a un matraz de tipo berenjena de 1.000 cm³ y la solución se concentró a presión reducida en un baño de aceite a 60 °C usando un
 10 evaporador. Una hora después, la mayor parte del etanol se había destilado y quedaba un líquido viscoso translúcido.

La temperatura del baño de aceite se elevó adicionalmente a 80 °C y la concentración se realizó adicionalmente a una presión reducida de 5 Torr. El líquido viscoso gradualmente se convirtió en polvo de la superficie del mismo y se transformó completamente en un polvo a las dos horas. Posteriormente, la presión se devolvió a la presión ordinaria usando nitrógeno y los contenidos se enfriaron hasta la temperatura ambiente. Por tanto, se obtuvieron 108 g de un polvo amarillo claro. El catalizador obtenido proporcionó los siguientes datos sobre el análisis de elementos metálicos: contenido de átomos de titanio, 10,3 % en peso; contenido de átomos de magnesio, 6,8 % en peso; contenido de átomos de fósforo, 7,8 % en peso; Relación molar T/P, 0,77; y relación molar M/P, 1,0. Además, el catalizador en polvo se disolvió en 1,4-butanodiol para preparar una solución de modo que la solución tuviera una concentración de átomos de titanio de 34.000 ppm.

[Producción de poliéster alifático]

25 En un recipiente de reacción equipado con un agitador, un puerto para la introducción de nitrógeno, un calentador, un termómetro y un puerto de evacuación para reducción de presión se introdujeron 100 partes en peso de ácido succínico, 99,2 partes en peso de 1,4-butanodiol de calidad industrial fabricado por Mitsubishi Chemical Corp., y 0,38 partes en peso de ácido málico (cantidad total de ácido málico, 0,33 % en moles basado en el ácido succínico) como materiales de partida. La atmósfera en el sistema se convirtió en una atmósfera de nitrógeno por desplazamiento de
 30 reducción de presión de nitrógeno.

Posteriormente, la mezcla en el sistema se calentó a 230 °C durante 1 hora y se hizo reaccionar a esta temperatura durante 1 hora, con agitación de la mezcla. A continuación, la solución de catalizador se añadió a la misma en una cantidad tal que la cantidad de átomos de titanio era de 50 ppm del poliéster a obtener. La temperatura de reacción se elevó gradualmente a 250 °C y, simultáneamente, la presión se redujo a 0,06X10³ Pa durante 2 horas. La mezcla se hizo reaccionar adicionalmente durante 2,5 horas a este grado de vacío para completar la polimerización. Por tanto, se obtuvo un poliéster.

(Evaluación del polímero)

40 • Amarillez (en adelante, a menudo denominado YI)

La YI del poliéster obtenido se determinó de la siguiente manera. De acuerdo con el método proporcionado en la norma JIS K7105, se usó el medidor de color ZE-6000, fabricado por Nippon Denshoku Kogyo K.K., y se colocó un chip del polímero en la celda y se examinó cuatro veces mediante el método de reflexión. El valor promedio de los mismos se tomó como la YI.

• Viscosidad reducida del poliéster

50 El poliéster obtenido se disolvió en fenol/tetracloroetano (1/1 (en masa) de líquido mezclado) para dar como resultado una concentración de 0,5 g/dl, y se midió el tiempo t (s) requerido para que la solución caiga a través de un tubo de viscosímetro en un baño termostático a 30 °C. También se midió el tiempo t₀ (s) requerido para que el disolvente solo cayera a través del mismo. Se calculó la viscosidad reducida η_{sp}/C ($= (t-t_0)/t_0 \cdot C$) a 30 °C (C es la concentración de la solución).

55 • Cantidad de grupos carboxilo terminales en el poliéster

La cantidad es un valor obtenido disolviendo el poliéster obtenido en alcohol bencílico y titulando la solución con NaOH 0,1 N. La cantidad se da en términos de la cantidad equivalente de grupos carboxilo por 1X10⁶ g.

60 <Producción de líquido que contiene ácido succínico (líquido de alimentación de cristalización)>

• Producción de cepa mejorada con piruvato carboxilasa (PC)

65 (A) Extracción del ADN del genoma de la cepa MJ233 de *Brevibacterium flavum*

Brevibacterium flavum MJ233 se depositó, con el número de registro FERM P-3068, en el Instituto Nacional de Biociencia y Tecnología Humana, Agencia de Ciencia y Tecnología Industrial, Ministerio de Comercio Internacional e Industria (actualmente, Depositario internacional de organismos patentados, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada) (Central 6, 1-1, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566, Japón) el 28 de abril de 1975, y fue transferido al depósito internacional conforme al Tratado de Budapest el 1 de mayo de 1981 y recibió el número de registro FERM BP-1497.

Se cultivó una cepa MJ233 de *Brevibacterium flavum*, al estadio tardío de la fase logarítmica, en 10 ml de medio de cultivo A [2 g de urea, 7 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g de KH_2PO_4 , 0,5 g de K_2HPO_4 , 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 6 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 6 mg de $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{-}5\text{H}_2\text{O}$, 200 μg de biotina, 100 μg de tiamina, 1 g de extracto de levadura, 1 g de ácido Casamino y 20 g de glucosa, todo disuelto en 1 l de agua destilada]. Las células se recogieron mediante separación centrífuga (10.000 g, 5 minutos). Las células obtenidas se suspendieron en 0,15 ml de una solución tampón de NaCl 10 mM/Tris 20 mM (pH 8,0)/EDTA2Na 1 mM que contenía lisozima en una concentración de 10 mg/ml.

Posteriormente, se añadió proteinasa K a la suspensión hasta una concentración final de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y esta suspensión se mantuvo a 37 °C durante 1 hora. Además, se añadió dodecil sulfato de sodio a la misma a una concentración final de 0,5 % y esta suspensión se mantuvo a 50 °C durante 6 horas para causar bacteriolisis. Al líquido que había sufrido bacteriolisis se le añadió la misma cantidad de una solución de fenol/cloroformo. Esta mezcla se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se sometió por completo a separación centrífuga (5.000 G; 20 minutos; 10-12 °C). Se extrajo la fracción de sobrenadante y se añadió acetato de sodio a la misma para dar como resultado una concentración de 0,3 M. Posteriormente, se añadió una cantidad de 2 veces de etanol y se mezcló con la fracción. Se recuperó un precipitado mediante separación centrífuga (15.000 G, 2 minutos), se lavó con etanol al 70 % y luego se secó al aire. Al ADN obtenido se añadieron 5 ml de una solución de tampón Tris 10 mM (pH 7,5)/EDTA2Na 1 mM. La mezcla resultante se dejó en reposo a 4 °C durante la noche y se usó como molde de ADN para PCR más tarde.

(B) Construcción del plásmido para la sustitución del promotor génico de PC

Se adquirieron fragmentos de ADN de las regiones del extremo N de un gen de piruvato carboxilasa derivado de una cepa MJ233 de *Brevibacterium flavum*, mediante PCR utilizando como molde el ADN preparado en (A) anterior y utilizando ADN sintéticos (secuencia n.º 1 y secuencia n.º 2) diseñados sobre la base de la secuencia de ese gen de una cepa de *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 (n.º de registro en la base de datos GenBank BA000036, Cg10689), cuya secuencia genómica completa se ha publicado. Por otra parte, el ADN de la secuencia N.º 1 era un ADN en el que el extremo 5' había sido fosforilado.

Composición de la mezcla de reacción: 1 μl del molde de ADN, 0,2 μl de ADN polimerasa Pfx (fabricado por Invitrogen Corp.), se mezclaron el tampón fijado (concentración x1), 0,3 μM de cada cebador, 1 mM de MgSO_4 y 0,25 μM de dNTP y la cantidad total se ajustó a 20 μl .

Condiciones de temperatura de reacción: Se usó el termociclador de ADN PTC-200 (fabricado por MJ Research) para repetir un ciclo 35 veces, estando el ciclo compuesto por retención a 94 °C durante 20 segundos, retención a 60 °C durante 20 segundos y retención a 72 °C durante 1 minuto. Sin embargo, la retención de 94 °C en el primer ciclo se realizó durante 1 minuto y 20 segundos y la retención a 72 °C en el ciclo final se realizó durante 4 minutos.

El producto de amplificación se determinó sometiendo la mezcla de reacción a separación por electroforesis en gel usando agarosa al 0,75 % (agarosa SeaKem GTG; fabricado por FMC BioProducts) y, a continuación, a visualización mediante tinción con bromuro de etidio. Como resultado, se detectaron aproximadamente 0,9 kb de fragmentos. Los fragmentos de ADN deseados se recuperaron del gel usando QIAQuick Gel Extraction Kit (fabricado por QIAGEN) y estos fragmentos se usaron como fragmentos del extremo N del gen de PC.

Por otro lado, los fragmentos del promotor TZ4 que se derivaron de una cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233 y que mostraron una expresión constitutivamente alta se prepararon por PCR usando el plásmido pMJPC1 (documento JP-A-2005-95169) como molde y usando los ADN sintéticos descritos en la secuencia N.º 3 y secuencia N.º 4. Por otra parte, el ADN de la secuencia N.º 4 era un ADN en el que el extremo 5' había sido fosforilado.

Composición de la mezcla de reacción: 1 μl del molde de ADN, 0,2 μl de ADN polimerasa Pfx (fabricado por Invitrogen Corp.), el tampón fijado (concentración x1), 0,3 μM de cada cebador, Se mezclaron 1 mM de MgSO_4 y 0,25 μM de dNTP, y la cantidad total se ajustó a 20 μl .

Condiciones de temperatura de reacción: Se usó el termociclador de ADN PTC-200 (fabricado por MJ Research) para repetir un ciclo 25 veces, estando el ciclo compuesto por retención a 94 °C durante 20 segundos, retención a 60 °C durante 20 segundos y retención a 72 °C durante 30 segundos. Sin embargo, la retención de 94 °C en el primer ciclo se realizó durante 1 minuto y 20 segundos y la retención a 72 °C en el ciclo final se realizó durante 3 minutos.

ES 2 792 824 T3

- El producto de amplificación se determinó sometiendo la mezcla de reacción a separación por electroforesis en gel usando agarosa al 1,0 % (agarosa SeaKem GTG; fabricado por FMC BioProducts) y, a continuación, a visualización mediante tinción con bromuro de etidio. Como resultado, se detectaron aproximadamente 0,5 kb de fragmentos. Los fragmentos de ADN deseados se recuperaron del gel usando el kit QIAQuick Gel Extraction (fabricado por QIAGEN) y estos fragmentos se usaron como fragmentos promotores de TZ4.
- Los fragmentos del extremo N del gen PC y los fragmentos promotores TZ4 preparados anteriormente se mezclaron y ligaron usando el kit Ligation Kit versión 2 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.). A continuación, los fragmentos ligados se escindieron con la enzima de restricción Pst I y se separaron por electroforesis en gel usando agarosa al 1,0 % (agarosa SeaKem GTG; fabricado por FMC BioProducts). Se recuperaron aproximadamente 1,0 kb de fragmentos de ADN usando el kit QIAQuick Gel Extraction (fabricado por QIAGEN) y estos fragmentos se usaron como promotor TZ4 // fragmentos del extremo N del gen de PC. Estos fragmentos de ADN se mezclaron con un ADN preparado escindiendo el plásmido de *Escherichia coli* pHSG299 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) con Pst I, y se ligaron en el mismo usando el kit Ligation Kit versión 2 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.).
- El ADN plasmídico obtenido se utilizó para transformar *Escherichia coli* (cepa DH5 α). La *Escherichia coli* recombinante obtenida de este modo se aplicó a un medio de agar LB que contenía 50 μ g/ml de kanamicina y 50 μ g/ml de X-Gal. El clon que formó una colonia blanca en el medio se cultivó en un líquido de una manera ordinaria. A continuación, el ADN plasmídico se purificó. El ADN plasmídico obtenido se escindió con la enzima de restricción Pst I. Como resultado, se observaron aproximadamente 1,0 kb de fragmentos del inserto. Estos fragmentos se denominaron pMJPC17.1.
- Se adquirieron fragmentos de ADN de las regiones 5' corriente arriba de un gen de piruvato carboxilasa derivado de una cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233, mediante PCR utilizando como molde el ADN preparado en (A) anterior y utilizando ADN sintéticos (secuencia n.º 5 y secuencia n.º 6) diseñados sobre la base de la secuencia de ese gen de una cepa de *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 (n.º de registro en la base de datos GenBank BA000036), cuya secuencia genómica completa se ha publicado.
- Composición de la mezcla de reacción: 1 μ l del molde de ADN, 0,2 μ l de ADN polimerasa Pfx (fabricado por Invitrogen Corp.), el tampón fijado (concentración x1), 0,3 μ M de cada cebador, Se mezclaron 1 mM de MgSO $_4$ y 0,25 μ M de dNTP, y la cantidad total se ajustó a 20 μ l.
- Condiciones de temperatura de reacción: Se usó el termociclador de ADN PTC-200 (fabricado por MJ Research) para repetir un ciclo 35 veces, estando el ciclo compuesto por retención a 94 °C durante 20 segundos, retención a 60 °C durante 20 segundos y retención a 72 °C durante 30 segundos. Sin embargo, la retención de 94 °C en el primer ciclo se realizó durante 1 minuto y 20 segundos y la retención a 72 °C en el ciclo final se realizó durante 5 minutos.
- El producto de amplificación se determinó sometiendo la mezcla de reacción a separación por electroforesis en gel usando agarosa al 1,0 % (agarosa SeaKem GTG; fabricado por FMC BioProducts) y, a continuación, a visualización mediante tinción con bromuro de etidio. Como resultado, se detectaron aproximadamente 0,7 kb de fragmentos. Los fragmentos de ADN deseados se recuperaron del gel usando el kit QIAQuick Gel Extraction (fabricado por QIAGEN).
- Los extremos 5' de los fragmentos de ADN recuperados se fosforilaron con polinucleótido quinasa T4 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.). A continuación, los fragmentos de ADN se ligaron al sitio Sma I del vector de *Escherichia coli* pUC119 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.) usando el kit Ligation Kit versión 2 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.). El ADN plasmídico obtenido se utilizó para transformar *Escherichia coli* (cepa DH5 α). La *Escherichia coli* recombinante obtenida de este modo se aplicó a un medio de agar LB que contiene 50 μ g/ml de ampicilina y 50 μ g/ml de X-Gal. El clon que formó una colonia blanca en el medio se cultivó en un líquido de una manera ordinaria. A continuación, el ADN plasmídico se purificó.
- El ADN plasmídico obtenido se sometió a una reacción de PCR en la que los ADN sintéticos representados por la secuencia N.º 7 y la secuencia N.º 6 se usaron como cebadores. Composición de la mezcla de reacción: Se mezclaron 1 ng del plásmido, 0,2 μ l de ADN-polimerasa Ex-Taq (fabricada por Takara Shuzo Co., Ltd.), el tampón fijado (concentración x1), 0,2 μ M de cada cebador y 0,25 μ M de dNTP, y la cantidad total se ajustó a 20 μ l. Condiciones de temperatura de reacción: Se usó el termociclador de ADN PTC-200 (fabricado por MJ Research) para repetir un ciclo 20 veces, estando el ciclo compuesto por retención a 94 °C durante 20 segundos, retención a 60 °C durante 20 segundos y retención a 72 °C durante 50 segundos. Sin embargo, la retención de 94 °C en el primer ciclo se realizó durante 1 minuto y 20 segundos y la retención a 72 °C en el ciclo final se realizó durante 5 minutos. Por lo tanto, se determinó si los fragmentos de ADN de inserción estaban presentes o no. Como resultado, se seleccionó un plásmido que daba aproximadamente 0,7 kb de un producto de amplificación y se denominó pMJPC5.1.
- Posteriormente, el pMJPC17.1 y el pMJPC5.1 se escindieron cada uno con la enzima de restricción Xba I y, a continuación, se mezclaron y ligaron usando el kit Ligation Kit versión 2 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.). Los

- fragmentos ligados se escindieron con la enzima de restricción Sac I y la enzima de restricción Sph I, y los fragmentos de ADN resultantes se separaron por electroforesis en gel usando agarosa al 0,75 % (agarosa SeaKem GTG; fabricado por FMC BioProducts). Se recuperaron aproximadamente 1,75 kb de fragmentos de ADN usando el kit de extracción QIAQuick Gel Extraction Kit (fabricado por QIAGEN). Los fragmentos de ADN obtenidos mediante la inserción de un promotor TZ4 entre la región 5' corriente arriba y la región del extremo N del gen de PC se mezclaron con un ADN preparado mediante la escisión del plásmido pKMB1 que contiene un gen *sacB* (JP-A-2005-95169) con Sac I y Sph I y se ligaron a ellos usando el kit Ligation Kit versión 2 (fabricado por Takara Shuzo Co., Ltd.).
- El ADN plasmídico obtenido se utilizó para transformar *Escherichia coli* (cepa DH5 α). La *Escherichia coli* recombinante obtenida de este modo se aplicó a un medio de agar LB que contiene 50 μ g/ml de kanamicina y 50 μ g/ml de X-Gal. El clon que formó una colonia blanca en el medio se cultivó en un líquido de una manera ordinaria. A continuación, el ADN plasmídico se purificó. El ADN plasmídico obtenido se escindió con las enzimas de restricción Sac I y Sph I. Como resultado, se observaron aproximadamente 1,75 kb de fragmentos del inserto. Estos fragmentos se denominaron pMJPC17.2.

(C) Producción de cepa mejorada con PC

- Un ADN plasmídico que se utilizará para transformar *Brevibacterium flavum* MJ233/ Δ LDH (cepa de disrupción génica de lactato deshidrogenasa: JP-A-2005-95169) se preparó a partir de una cepa de *Escherichia coli* JM110 que se había transformado usando el ADN plasmídico de pMJPC17.2 por el método del cloruro de calcio (Journal of Molecular Biology, 53, 159, 1970). La transformación de la cepa e *Brevibacterium flavum* MJ233/ Δ LDH se realizó mediante el método de pulso eléctrico (Res. Microbiol., Vol.144, págs. 181-185, 1993). El transformante obtenido se aplicó a un medio de agar LBG [10 g de triptona, 5 g de extracto de levadura, 5 g de NaCl, 20 g de glucosa y 15 g de agar se disolvieron en 1 l de agua destilada] que contenía kanamicina en una concentración de 25 μ g/ml. La cepa que creció en el medio fue un plásmido en el que pMJPC17.2 no pudo duplicarse en las células de la cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233. En consecuencia, la recombinación homóloga debería haber ocurrido entre el gen de PC del plásmido y el mismo gen presente en el genoma de la cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233 y, como resultado, un gen resistente a la kanamicina y un gen *sacB* ambos derivados de ese plásmido deberían haberse insertado en el genoma.

- Posteriormente, la cepa recombinante homóloga se cultivó en un medio LBG líquido que contenía kanamicina en una concentración de 25 μ g/ml. Se aplicó una porción de este medio de cultivo que correspondía a varias células de aproximadamente 1.000.000 a un medio LBG que contenía 10 % de sacarosa. Como resultado, se obtuvieron varias decenas de cepas que se pensó que habían sufrido una segunda recombinación homóloga y la eliminación resultante del gen *sacB* y, por lo tanto, no se volvieron sensibles a la sacarosa. Las cepas obtenidas de este modo incluyen aquellas en las que se ha insertado un promotor TZ4 derivado de pMJPC17.2 corriente arriba del gen de PC y otras que han retornado al tipo salvaje. Se puede determinar fácilmente si un gen de PC es del tipo sustituido por el promotor o del tipo salvaje sometiendo directamente las células obtenidas por cultivo líquido en un medio LBG a una reacción de PCR y luego a la detección del gen de PC. Cuando se analiza con un promotor TZ4 y cebadores (secuencia N.º 8 y secuencia N.º 9) para la amplificación por PCR de genes de PC, un gen de PC del tipo sustituido por promotor debería dar un fragmento de ADN de 678 pb.

- Se analizaron las cepas que no se habían vuelto sensibles a la sacarosa por el método descrito anteriormente. Como resultado, se seleccionó una cepa en la que se había insertado un promotor TZ4 y se denominó *Brevibacterium flavum* MJ233/PC-4/ Δ LDH.

(D) Determinación de la actividad de la enzima piruvato carboxilasa

- La cepa transformada obtenida en (C) anterior, es decir, la cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233/PC-4/ Δ LDH, se cultivó durante la noche en 100 ml de medio A que contenía 2 % de glucosa y 25 mg/l de kanamicina. Se recogieron las células obtenidas, se aclararon con 50 ml de tampón de fosfato de potasio 50 mM (pH 7,5) y se suspendieron nuevamente en 20 ml de un tampón con la misma composición. Esta suspensión se rompió con SONIFIER 350 (fabricado por BRANSON) y se centrifugó, y el sobrenadante resultante se recuperó como un extracto libre de células.

- El extracto libre de células obtenido se usó y se examinó para determinar la actividad de piruvato carboxilasa. La actividad enzimática se examinó haciendo reaccionar el extracto a 25 °C en un líquido de reacción que contenía tampón Tris/HCl 100 mM (pH 7,5), 0,1 mg/10 ml de biotina, cloruro de magnesio 5 mM, hidrogenocarbonato de sodio 50 mM, piruvato sódico 5 mM, trifosfato de adenosina sódica 5 mM, NADH 0,32-mM, 20 unidades/1,5 ml de ácido málico deshidrogenasa (fabricado por WAKO; derivado de levadura) y la enzima. La cantidad de enzima requerida para catalizar una disminución de NADH de 1 μ mol por minuto se expresó en 1 U. El extracto libre de células que se había hecho para mostrar una expresión mejorada de piruvato carboxilasa tenía una actividad específica de 0,1 U/mg de proteína. Por otra parte, las células obtenidas también cultivando una cepa MJ233/ Δ LDH, que era una cepa parental, dio un valor que estaba por debajo del límite de detección para este método para la determinación de la actividad.

La cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233/PC-4/ Δ LDH se usó a continuación como microorganismo productor de ácido orgánico en cultivo para preparar células y en una reacción para la producción de ácido orgánico.

- 5 • Preparación de medio de cultivo que contiene sal de ácido succínico

(Cultivo de siembra)

10 En un matraz Erlenmeyer de 500 ml se introdujeron 100 ml de un medio de cultivo obtenido mezclando 4 g de urea, 14 g de sulfato de amonio, 0,5 g de fosfato monopotásico, 0,5 g de fosfato dipotásico, 0,5 g de sulfato de magnesio heptahidratado, 20 mg de sulfato ferroso heptahidratado, 20 mg de sulfato de manganeso hidratado, 200 μ g de D-biotina, 200 μ g de clorhidrato de tiamina, 5 g de extracto de levadura, 5 g de ácido casamino y 1.000 ml de agua destilada. El medio de cultivo se esterilizó calentando a 120 °C durante 20 minutos. Este medio de cultivo se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron 4 ml de solución acuosa de glucosa al 50 % que se había esterilizado previamente. La cepa de *Brevibacterium flavum* MJ233/PC-4/ Δ LDH construido anteriormente se inoculó y el cultivo de semillas se realizó a 30 °C durante 24 horas.

(Cultivo principal)

20 En un fermentador de 1 l se introdujeron 400 ml de un medio de cultivo obtenido mezclando 1,0 g de sulfato de amonio, 1,5 g de fosfato monopotásico, 1,5 g de fosfato dipotásico, 1,67 g de cloruro potásico, 0,5 g de sulfato de magnesio heptahidratado, 40 mg de sulfato ferroso heptahidratado, 40 mg de sulfato de manganeso hidratado, 1,0 mg de D-biotina, 1,0 mg de clorhidrato de tiamina, 10 g de extracto de levadura, 1,0 g de un agente antiespumante (CE457, fabricado por Nippon Oil & Fats Co., Ltd.) y 1.000 ml de agua destilada. El medio de cultivo se esterilizó calentando a 120 °C durante 20 minutos. Este medio de cultivo se enfrió a temperatura ambiente. A continuación, se añadieron 20 ml de solución de glucosa acuosa al 72 % que se había esterilizado previamente. Al mismo se añadieron veinte mililitros del medio de cultivo de semillas descrito anteriormente y la mezcla se mantuvo a 30 °C. El cultivo principal se realizó durante 24 horas en condiciones de aireación y agitación de 300 ml/min y 600 rpm, respectivamente, mientras se mantiene el pH por encima de 7,0 usando 9,3 % de agua amoniacal.

30 La concentración de oxígeno disuelto comenzó a disminuir gradualmente inmediatamente después del inicio del cultivo y se volvió sustancialmente 0 a las 4 horas después del inicio del cultivo. A las 15 horas después del inicio del cultivo, la concentración de oxígeno disuelto aumentó. En consecuencia, se añadieron al mismo 380 μ l de solución acuosa de glucosa al 72 % que se había esterilizado previamente. Como resultado, la concentración de oxígeno disuelto disminuyó rápidamente de nuevo y se volvió sustancialmente 0. Aproximadamente 13 minutos después, también se observó un aumento en la concentración de oxígeno disuelto. En consecuencia, se añadieron 380 μ l de solución acuosa de glucosa al 72 % que se había esterilizado previamente para reducir la concentración de oxígeno disuelto nuevamente. A continuación, se observó el mismo aumento a intervalos de aproximadamente 13 minutos y la concentración de oxígeno disuelto se redujo cada vez de la misma manera. Después de que el cultivo se realizó durante 24 horas, el valor de la DO₆₆₀ fue 87,3.

(Cultivo de producción de ácido orgánico)

45 En un matraz Erlenmeyer de 500 ml se introdujo un medio de cultivo obtenido mezclando 84,4 mg de fosfato monoamónico, 75,8 mg de fosfato de diamonio, 149,1 mg de cloruro potásico, 0,2 g de sulfato de magnesio heptahidratado, 8 mg de sulfato ferroso heptahidratado, 8 mg de sulfato de manganeso hidratado, 80 μ g de D-biotina, 80 μ g de clorhidrato de tiamina y 200 ml de agua destilada. El medio de cultivo se esterilizó calentando a 120 °C durante 20 minutos. El medio de cultivo se enfrió a temperatura ambiente y luego se introdujo en un frasco fermentador de 1 litro. A 200 ml de esta suspensión se añadieron 90 ml del medio de cultivo obtenido por el cultivo principal descrito anteriormente, 40 ml de una solución de glucosa al 72 % que se había esterilizado previamente y 125 ml de agua destilada. Los ingredientes se mezclaron entre sí y la mezcla se mantuvo a 35 °C. Se llevó a cabo una reacción para la producción de ácido orgánico mientras se agitaba la mezcla a 200 rpm y se mantenía el pH a 7,6 usando una solución acuosa obtenida mezclando 154 g de carbonato de amonio, 239 ml de agua con 28 % de amoníaco y 650 ml de agua destilada. A las 21 horas del inicio de la reacción, la concentración del ácido succínico producido fue de 34,8 g/l y este caldo de fermentación contenía una pequeña cantidad de ácido fumárico.

El caldo de fermentación de ácido succínico preparado de este modo se centrifugó (10.000 G, 10 minutos) para obtener una solución acuosa que contenía el succinato de amonio obtenido.

- 60 • Preparación de líquido de flujo que contiene ácido succínico (líquido de alimentación de cristalización)

La solución acuosa de succinato de amonio obtenida mediante el cultivo se concentró con calentamiento a presión reducida. Mientras se agitaba el medio de cultivo concentrado, se dejó caer ácido sulfúrico al 47 % en el medio de cultivo para ajustar el pH de la solución a 2. Se añadió metiletilcetona (en adelante abreviado a menudo como MEK) como disolvente orgánico al medio de cultivo al que se había añadido ácido sulfúrico, la cantidad en volumen de MEK es igual a la del medio de cultivo y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante aproximadamente 30 minutos.

El líquido obtenido de este modo se dejó en reposo y luego se separó en una capa orgánica y una capa acuosa. Se añadió MEK a la capa acuosa separada en una cantidad de la mitad en volumen de la cantidad de la capa acuosa y la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 30 minutos. Se dejó el líquido en reposo y después se separó en una capa orgánica y una capa acuosa de la misma manera. La misma operación se repitió adicionalmente tres veces y todas las capas orgánicas se unieron. La capa orgánica resultante se analizó mediante cromatografía líquida (LC). Como resultado, se descubrió que el 97,9 % del ácido succínico contenido en el caldo se había extraído e incorporado a la capa orgánica.

Posteriormente, la capa orgánica obtenida por extracción con MEK se concentró por destilación del MEK del extracto de MEK resultante a 70 °C mientras se regulaba el grado de vacío de 400 mmHg a 100 mmHg. A continuación, la temperatura de la solución obtenida se redujo de 70 °C a 40 °C durante 30 minutos, y esta solución se agitó a 40 °C durante 1 hora. Los cristales que habían precipitado se extrajeron por filtración y luego se enjuagaron con agua fría para obtener cristales brutos. Por otro lado, el filtrado se enfrió adicionalmente de 40 °C a 10 °C durante 30 minutos y se agitó a 10 °C durante 1 hora. Los cristales que habían precipitado se extrajeron por filtración y se enjuagaron con agua fría para obtener cristales brutos. Estos cristales brutos obtenidos se mezclaron uniformemente con los cristales brutos obtenidos primero, y la mezcla se sometió a la siguiente etapa.

A los cristales brutos obtenidos se añadió agua pura en una cantidad tal que dio como resultado un líquido que contenía 30 % en peso del ácido succínico bruto. Los cristales brutos se disolvieron a 80 °C. Después, carbón activado en polvo (DIAHOPE 8ED, fabricado por Calgon Mitsubishi Chemical Corp.) en una cantidad de 0,3 % en peso según el ácido succínico. Se realizó un tratamiento con el carbón activado durante 3 horas utilizando un agitador termostático mantenido a 80 °C. A continuación, el carbón activado se filtró a 80 °C.

Además, el líquido que contiene ácido succínico obtenido se introdujo en un autoclave de agitación por inducción de 500 ml hecho de SUS316 y se hidrotató a una presión de 5 % de Pd/C (Catálogo Wako 326-81672; cantidad de catalizador, 0,06 % en peso según el ácido succínico) en condiciones de presión de hidrógeno de 0,8 MPa, una temperatura de reacción de 80 °C y un tiempo de reacción de 3 horas. Como resultado, el ácido fumárico que había estado contenido en el ácido succínico bruto en una cantidad de 1,8 % en peso según el ácido succínico se indujo completamente a ácido succínico. Tras completarse la reacción, el catalizador se retiró por filtración. El líquido que contiene ácido succínico obtenido de este modo se sometió a los siguientes ejemplos y ejemplos comparativos. Este líquido que contiene ácido succínico tenía una concentración de ácido succínico del 32 % en peso y una concentración de iones de amonio de 30 ppm (94 ppm del ácido succínico). La solución acuosa de ácido succínico al 32 % en peso tenía una temperatura de saturación de 70 °C. La solución que contiene ácido succínico obtenida de este modo se sometió a los siguientes ejemplos y ejemplos comparativos.

Ejemplo 1-1 (ejemplo de referencia)

Se introdujeron quinientos mililitros (540 g) del líquido que contiene ácido succínico en un cristizador, tal como la mostrada en la figura 1, que estaba constituido por un matraz extraíble con camisa que tenía un diámetro interno de 86 mm que estaba equipado con cuatro deflectores que tenían una anchura de 10 mm y con un agitador que tenía impulsores de cuatro palas que se habían dispuesto en dos etapas y tenían un diámetro de 50 mm y en el que cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientado hacia abajo a 45°. El contenido se mantuvo a 80 °C haciendo pasar agua caliente a través de la camisa mientras se agitaba el contenido a 500 rpm. Posteriormente, la temperatura del agua que pasaba a través de la camisa se redujo a 20 °C durante 1 hora a una velocidad de 1 °C/min, y los contenidos se mantuvieron enfriados durante 1 hora más para que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 20 °C. Después de completar la cristalización, la potencia Pv requerida para la agitación por unidad de volumen se calculó a partir del par T. Como resultado, se descubrió que la Pv era de 1 kW/m³.

A continuación, la suspensión de ácido succínico se filtró y de ese modo se separó en 155 g de una torta húmeda de ácido succínico y 380 g de un licor madre. La torta húmeda de ácido succínico obtenida en una cantidad de 155 g se introdujo en un vaso de precipitados de 1 litro junto con 700 g de agua pura y se lavó con suspensión en el mismo, y la suspensión se filtró. La torta húmeda obtenida se secó al vacío a 70 °C durante 12 horas para obtener ácido succínico que era blanco e inodoro. Los cristales obtenidos se examinaron con un microscopio. Como resultado, se descubrió que se habían obtenido cristales que tienen una superficie lisa, tal como se muestra en la figura 2. Además, se examinó el ácido succínico para determinar el contenido de iones NH₄⁺ en el mismo. Como resultado, se observó que su contenido era de 0.2 ppm.

Ejemplo 1-2 (ejemplo de referencia)

Se realizó una operación de cristalización de la misma manera que en el Ejemplo 1-1, excepto que la temperatura del agua que pasaba a través de la camisa se redujo a 20 °C durante 2,5 horas a una velocidad de 0,4 °C/min y los contenidos se mantuvieron enfriados durante 1 hora más para que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 20 °C. La potencia Pv requerida para la agitación por unidad de volumen fue de 1,0 kW/m³. Los cristales obtenidos se examinaron con un microscopio. Como resultado, se descubrió que se habían obtenido cristales que tienen una superficie lisa, tal como se muestra en la figura 3. Además, se examinó el ácido succínico

para determinar el contenido de iones NH_4^+ en el mismo. Como resultado, se observó que su contenido era de 0.2 ppm.

Ejemplo 1-3 (ejemplo de referencia)

5 Se realizó una operación de cristalización de la misma manera que en el Ejemplo 1-1, excepto que la velocidad de rotación de agitación se cambió a 400 rpm. La potencia Pv requerida para agitar por unidad de volumen fue de 0,5 kW/m^3 . Los cristales obtenidos se examinaron con un microscopio. Como resultado, se descubrió que se habían obtenido cristales que tienen una superficie lisa, tal como se muestra en la figura 4. Además, se examinó el ácido succínico para determinar el contenido de iones NH_4^+ en el mismo. Como resultado, se observó que su contenido era de 0.2 ppm.

Ejemplo comparativo 1-1

15 Se introdujeron cinco litros (5.400 g) del líquido que contiene ácido succínico en un cristizador, tal como se muestra en la figura 6, que estaba constituido por un matraz extraíble con camisa que tenía un diámetro interno de 150 mm que estaba equipado con un agitador que tenía una pala de ancla que tenía un diámetro de 120 mm, una altura de 50 mm y una anchura de 15 mm, tal como el mostrado en la figura 5. El contenido se mantuvo a 80 °C haciendo pasar agua caliente a través de la camisa mientras se agitaba el contenido a 300 rpm.

20 A continuación, la temperatura del agua que pasaba a través de la camisa se redujo a 20 °C durante 2,5 horas a una velocidad de 0,4 ° C/min, y, después, los contenidos se mantuvieron enfriados durante 1 hora más para que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 20 °C. Después de completar la cristalización, la potencia Pv por unidad de volumen se calculó a partir del par T. Además, se calculó el promedio de la potencia Pv requerida para la agitación durante la operación de cristalización y se descubrió que era 0,3 kW/m^3 . La suspensión de ácido succínico obtenida mediante la cristalización se filtró y, por lo tanto, se separó en 1.500 g de una torta húmeda de ácido succínico y 3.900 g de un licor madre. La torta húmeda de ácido succínico obtenida en una cantidad de 1.500 g se introdujo en un recipiente de polietileno de 10 litros junto con 7.000 g de agua pura y se lavó con suspensión en el mismo y la suspensión se filtró. La torta húmeda obtenida se secó al vacío a 70 °C durante 12 horas para obtener ácido succínico que era blanco e inodoro. Los cristales obtenidos se examinaron con un microscopio. Como resultado, se descubrió que cada uno de los cristales tenía muchos huecos y protuberancias que se suponía que se habían formado como resultado de la agregación de varios cristales, tal como se muestra en la figura 7. Se analizó el ácido succínico para determinar el contenido de iones NH_4^+ en el mismo. Como resultado, se observó que su contenido era de 1.0 ppm.

Ejemplo 2-1 (ejemplo de referencia)

40 El líquido que contiene ácido succínico se alimentó a un cristizador, tal como se muestra en la figura 8, que estaba constituido por un matraz extraíble con camisa que tenía un diámetro interno de 86 mm que estaba equipado con cuatro deflectores que tenían una anchura de 10 mm y con un agitador que tenía impulsores de cuatro palas inclinadas que se habían dispuesto en dos etapas y tenían un diámetro de 50 mm y en el que cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientado hacia abajo a 45°. El líquido que contiene ácido succínico se alimentó al cristizador para que el interior del cristizador no se vaciara y se realizó cristalización con enfriamiento.

45 Se introdujeron quinientos mililitros del líquido que contiene ácido succínico en el tanque de agitación en el que se pasó agua caliente a 80 °C a través de la camisa. Los impulsores de palas se hicieron girar a 500 rpm para disolver completamente el ácido succínico contenido en el líquido que contiene ácido succínico para llevar el líquido que contiene ácido succínico a un estado en el que no se observó materia sólida.

50 Después de que se determinó que el ácido succínico se había disuelto, la temperatura del agua caliente que se suministra a la camisa se redujo a 20 °C durante aproximadamente 1 hora para disminuir la temperatura interna del tanque de cristalización a 20 °C. Después de que la temperatura interna llegó a 20 °C, los contenidos se agitaron continuamente durante 1 hora más mientras se mantenía esa temperatura.

55 A continuación, el líquido que contenía ácido succínico se alimentó continuamente a 250 ml/min mientras se regulaba la temperatura del agua fría que pasaba a través de la camisa para que la temperatura interna del tanque de cristalización se pudiera mantener a 20 °C. Simultáneamente, una suspensión que contenía ácido succínico sólido se descargó intermitentemente a un tanque de descarga de suspensión a intervalos de aproximadamente 15 minutos, de modo que el volumen de la suspensión de ácido succínico en el tanque de cristalización era sustancialmente constante. La suspensión que contenía ácido succínico descargada se filtró al vacío y de ese modo se separó en una torta húmeda de ácido succínico y un licor madre cada vez.

65 Esta operación de cristalización continua se continuó durante 7 horas mientras se regulaba la temperatura del agua fría que se suministraba a la camisa de modo que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 20 °C. A continuación, se interrumpió la alimentación continua del líquido que contenía ácido succínico y la descarga intermitente de la suspensión de ácido succínico y el contenido se agitó continuamente durante 1 hora más mientras

se mantenía la temperatura de 20 °C.

La potencia promedio Pv requerida para agitar por unidad de volumen durante la operación de cristalización fue de 1,0 kW/m³ y la cantidad de tortas húmedas de ácido succínico obtenidas en el período desde el momento en que pasaron 6 horas desde el inicio de la operación de cristalización continua hasta el tiempo en que habían transcurrido 7 horas desde su inicio fue de 76 g. Estas tortas húmedas de ácido succínico se lavaron en suspensión con 350 g de agua fría, y la suspensión resultante se filtró al vacío. La torta húmeda obtenida de este modo se secó al vacío a 80 °C para recuperar 55 g del ácido succínico.

10 El ácido succínico seco se examinó para la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro de partícula descrito anteriormente. Los resultados del mismo se muestran en la Tabla 1 que se expone a continuación. Se determinó la cantidad de iones de amonio. Como resultado, se descubrió que la cantidad del mismo era de 0,2 ppm.

15 [Tabla 1]

Tabla 1 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (µm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
> 850	0,0	100,0
850-710	0,1	99,9
710-500	24,7	75,2
500-300	57,5	17,7
300-150	15,8	1,9
150>	1,9	0,0
d20 [µm]		306
d50 [µm]		400
d80 [µm]		535
(d80-d20)/d50		0,57

Ejemplo 2-2 (ejemplo de referencia)

20 El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 2-1, excepto que la velocidad de rotación de agitación se cambió a 400 rpm. La potencia promedio Pv requerida para la agitación por unidad de volumen en este caso fue de 0,5 kW/m³. El ácido succínico obtenido se examinó para determinar la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro descrito anteriormente y los resultados de los mismos se muestran en la Tabla 2 a continuación. Se determinó la cantidad de iones de amonio y se observó que era 0,3 ppm.

25

[Tabla 2]

30

Tabla 2 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (µm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
>850	0,3	99,7
850-710	3,7	96,0
710-500	49,2	46,8
500-300	33,4	13,4
300-150	12,4	1,0
150>	1,0	0,0
d20 [µm]		332
d50 [µm]		512
d80 [µm]		634
(d80-d20)/d50		0,59

Ejemplo 2-3 (ejemplo de referencia)

35 El líquido que contiene ácido succínico se alimentó a un cristalizador, tal como se muestra en la figura 9, que estaba constituido por un matraz extraíble con camisa que tenía un diámetro interno de 86 mm que estaba equipado con cuatro deflectores que tenían una anchura de 10 mm y con un agitador que tenía impulsores de cuatro palas inclinadas que se habían dispuesto en dos etapas y tenían un diámetro de 50 mm y en el que cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientado hacia abajo a 45°. El líquido que contenía ácido succínico se alimentó al cristalizador para que el interior del cristalizador no se vacíe y la cristalización por enfriamiento al vacío se realizó de la siguiente manera.

40

Se introdujeron quinientos mililitros del líquido que contiene ácido succínico en el tanque de agitación en el que se pasó agua caliente a 80 °C a través de la camisa. Los impulsores de palas se hicieron girar a 500 rpm para disolver completamente el ácido succínico contenido en el líquido que contiene ácido succínico para llevar el líquido que
5 contiene ácido succínico a un estado en el que no se observó materia sólida.

Después de que se determinó que el ácido succínico se había disuelto, se interrumpió el suministro de agua caliente a la camisa y la presión interna del tanque de agitación se redujo gradualmente de la presión atmosférica para enfriar el interior del tanque. El vapor que se había vaporizado como resultado de la reducción de presión se
10 introdujo en un condensador, a través de la cual pasaban 5 °C de agua fría y de ese modo se condensaba y recuperaba. La presión se redujo a 2 kPa durante aproximadamente 1 hora para reducir de este modo la temperatura interna del tanque de cristalización a 20 °C. A continuación, los contenidos se agitaron continuamente durante 1 hora más mientras se mantenían la presión y la temperatura.

A continuación, la solución acuosa de ácido succínico se alimentó continuamente a una velocidad de 300 ml/min manteniendo la presión interna y la temperatura del tanque de cristalización a 2 kPa y 20 °C, respectivamente. Simultáneamente, una suspensión de ácido succínico se descargó intermitentemente desde el tanque de agitación a un tanque de descarga de la suspensión a intervalos de aproximadamente 15 minutos para que el nivel de líquido en
20 el tanque de cristalización se mantuviera constante.

Esta operación de cristalización continua se continuó durante 7 horas mientras se regulaba la presión para que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 20 °C. A continuación, se interrumpió la alimentación continua del líquido que contenía ácido succínico y la descarga intermitente de la suspensión de ácido succínico y la presión volvió a la presión atmosférica. Posteriormente, el contenido se agitó continuamente durante 1
25 hora mientras se mantenía la temperatura interna del tanque de cristalización a 20 °C haciendo pasar agua fría a través de la camisa.

La potencia promedio P_v requerida para la agitación por unidad de volumen durante la operación de cristalización fue de 1,0 kW/m³. Las tortas húmedas de ácido succínico obtenidas en el período desde el momento en que habían pasado 6 horas desde el inicio de la operación de cristalización continua hasta el momento en que habían pasado 7 horas desde el inicio de las mismas se lavaron en suspensión con agua fría y la suspensión resultante se filtró al vacío. La torta húmeda obtenida de este modo se secó al vacío a 80 °C para recuperar el ácido succínico.
30

El ácido succínico seco se examinó para la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro de partícula descrito anteriormente. Los resultados del mismo se muestran en la Tabla 3 que se expone a continuación. Se determinó la cantidad de iones de amonio y se observó que era 0,3 ppm.
35

[Tabla 3]

40

Tabla 3 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (µm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
> 850	0,1	99,9
850-710	0,7	99,2
710-500	19,8	79,4
500-300	65,7	13,7
300-150	12,5	1,2
150>	1,2	0,0
d20 [µm]		315
d50 [µm]		398
d80 [µm]		506
(d80-d20)/d50		0,48

Ejemplo comparativo 2-1

El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 2-1, excepto que la velocidad de rotación de agitación se cambió a 300 rpm. La potencia promedio P_v requerida para la agitación por unidad de volumen en este caso fue de 0,2 kW/m³. El ácido succínico obtenido se examinó para la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro de partícula descrito anteriormente y los resultados del mismo se muestran en la Tabla 4 a continuación. Tal como se muestra en la Tabla
50 4, el ácido succínico obtenido tenía una distribución de diámetro de partícula amplia y los cristales de ácido succínico obtenidos eran inferiores en uniformidad a los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo. Se determinó la cantidad de iones de amonio y se observó que era 0,4 ppm.

[Tabla 4]

Tabla 4 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (μm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
> 850	17,2	82,8
850-710	8,3	74,5
710-500	33,6	40,9
500-300	34,8	6,1
300-150	5,8	0,3
150>	0,3	0,0
d20 [μm]		368
d50 [μm]		550
d80 [μm]		800
(d80-d20)/d50		0,79

5 Ejemplo comparativo 2-2

El ácido succínico se cristalizó y se recuperó de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 2-1, excepto que se utilizó Three-One Motor BL1200 (Shinto Scientific Co., Ltd.) en lugar del Three-One Motor BL600Te, fabricado por Shinto Scientific Co., Ltd., utilizado en el Ejemplo 2-1 y que la velocidad de rotación de agitación se cambió a 800 rpm. Sin embargo, dado que la potencia requerida para agitar generalmente satisface que (potencia requerida para agitación, P_v) \propto (velocidad de rotación de agitación, n)³, la P_v se consideró como $P_v = 1 \times (800/500)^3 = 4 \text{ kW/m}^3$.

El contenido del tanque de cristalización, en estado de agitación, aparentemente era uniforme. Sin embargo, una vez detenida la agitación, se descubrió que una gran cantidad de burbujas se habían adherido a los cristales de ácido succínico y los cristales de ácido succínico flotaban sustancialmente. Incluso cuando se intentó descargar intermitentemente los cristales, era imposible descargar de manera estable los cristales porque la suspensión estaba en un estado inestable.

El ácido succínico obtenido se examinó para la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro de partícula descrito anteriormente y los resultados del mismo se muestran en la Tabla 5 a continuación. Tal como se muestra en la Tabla 5, el ácido succínico obtenido tenía una distribución de diámetro de partícula amplia y los cristales de ácido succínico obtenidos eran inferiores en uniformidad a los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo. El contenido de iones amonio fue de 0,3 ppm.

25 [Tabla 5]

Tabla 5 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (μm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
> 850	0,9	99,1
850-710	0,8	98,3
710-500	8,6	89,7
500-300	54,4	35,3
300-150	32,9	2,4
150>	2,4	0,0
d20 [μm]		217
d50 [μm]		344
d80 [μm]		456
(d80-d20)/d50		0,69

30 **Ejemplo comparativo 2-3**

El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 2-1, excepto que se usó una pala Maxblend que tenía un diámetro interno de 63 mm (sin deflector) para llevar a cabo la agitación a 300 rpm. La potencia promedio P_v requerida para la agitación por unidad de volumen en este caso fue de $0,3 \text{ kW/m}^3$. El ácido succínico obtenido se examinó para la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro de partícula descrito anteriormente y los resultados del mismo se muestran en la Tabla 6 a continuación. Tal como se muestra en la Tabla 6, el ácido succínico obtenido tenía una distribución de diámetro de partícula amplia e incluyó partículas gruesas en gran cantidad y los cristales de ácido succínico obtenidos eran inferiores en uniformidad a los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo.

[Tabla 6]

Tabla 6 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (μm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
> 850	11,0	89,0
850-710	13,4	75,6
710-500	14,4	61,2
500-300	57,1	4,1
300-150	3,6	0,5
150>	0,5	0,0
d20 [μm]		345
d50 [μm]		456
d80 [μm]		753
(d80-d20)/d50		0,89

5 Ejemplo comparativo 2-4

El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 2-1, excepto que se insertó un tubo de aspiración que tenía un diámetro interno de 60 mm en el tanque de cristalización y que la agitación se realizó a 500 rpm con los impulsores de cuatro palas inclinadas en las que cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientadas hacia abajo a 45°. La potencia promedio Pv requerida para la agitación por unidad de volumen en este caso fue de 0,2 kW/m³. El ácido succínico obtenido se examinó para la distribución del diámetro de partícula mediante el método para la determinación de la distribución del diámetro de partícula descrito anteriormente y los resultados del mismo se muestran en la Tabla 7 a continuación. Tal como se muestra en la Tabla 7, el ácido succínico obtenido tenía una distribución de diámetro de partícula amplia e incluyó partículas gruesas en gran cantidad y los cristales de ácido succínico obtenidos eran inferiores en uniformidad a los cristales de ácido succínico obtenidos en el Ejemplo.

[Tabla 7]

20

Tabla 7 Distribución del diámetro de partícula del ácido succínico seco

Tamaño de abertura nominal (μm)	Contenido [% en peso]	Contenido de tamiz negativo en peso [% en peso]
> 650	19,2	80,8
850-710	14,8	66,0
710-500	5,8	60,2
500-300	50,3	9,9
300-150	9,8	0,1
150>	0,1	0,0
d20 [μm]		332
d50 [μm]		451
d80 [μm]		842
(d80-d20)/d50		1,13

Como se ha mostrado anteriormente, el ácido succínico producido de forma continua mediante los procesos de producción de la invención tenía una excelente uniformidad en el diámetro de partícula y tenía una pureza elevada.

25 Ejemplo 3-1

La solución que contenía ácido succínico se sometió a cristalización por enfriamiento usando un matraz extraíble con camisa, tal como se muestra en la figura 8, que tenía un diámetro interno de 86 mm y estaba equipado con cuatro deflectores con una anchura de 10 mm y con impulsores de cuatro palas inclinadas que se habían dispuesto en dos etapas y tenían un diámetro de 50 mm y en el que cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientadas hacia abajo a 45°. La cristalización por enfriamiento se realizó de modo que el interior del matraz no quedara vacío.

Se introdujeron quinientos mililitros de la solución que contenía 32 % en peso de ácido succínico en el tanque de agitación en el que se pasó agua caliente a 80 °C a través de la camisa. Los impulsores de palas se hicieron girar a 500 rpm para disolver completamente el ácido succínico contenido en la solución que contenía ácido succínico para llevar la solución a un estado en el que no se observó materia sólida.

Después de que se determinó que el ácido succínico se había disuelto, la temperatura del agua caliente que se suministra a la camisa se redujo a 40 °C durante aproximadamente 1 hora para disminuir la temperatura interna del

tanque de cristalización a 40 °C. Después de que la temperatura interna llegó a 40 °C, los contenidos se agitaron continuamente durante 1 hora más mientras se mantenía esa temperatura.

5 A continuación, la solución que contenía ácido succínico se alimentó continuamente a 250 ml/min mientras se regulaba la temperatura del agua fría que pasaba a través de la camisa para que la temperatura interna del tanque de cristalización se pudiera mantener a 40 °C. Simultáneamente, una suspensión que contenía ácido succínico sólido se descargó intermitentemente a un tanque de descarga de la suspensión a intervalos de aproximadamente 15 minutos para que el volumen de la suspensión de ácido succínico en el tanque de cristalización fuera sustancialmente constante. La suspensión que contenía ácido succínico descargada se filtró al vacío y se separó de
10 ese modo en una torta húmeda de ácido succínico y un licor madre cada vez.

Esta operación de cristalización continua se continuó durante 7 horas mientras se regulaba la temperatura del agua fría que se suministraba a la camisa de modo que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 40 °C. A continuación, se interrumpió la alimentación continua de la solución que contenía ácido succínico y la
15 descarga intermitente de la suspensión de ácido succínico y el contenido se agitó continuamente durante 1 hora más mientras se mantenía la temperatura de 40 °C.

Las tortas húmedas de ácido succínico obtenidas en una cantidad de 124 g en el período desde el momento en que habían pasado 5 horas desde el inicio de la operación de cristalización continua hasta el momento en que habían pasado 7 horas desde el inicio de las mismas se lavaron en suspensión con 600 g de agua fría. A continuación, la suspensión resultante se filtró al vacío. La torta húmeda obtenida se secó al vacío a 80 °C para recuperar 80 g de
20 ácido succínico.

El ácido succínico obtenido se utilizó como material de partida para producir un poliéster de acuerdo con la [Producción de poliéster alifático] y se evaluó el polímero obtenido. Como resultado, se descubrió que el polímero tenía una YI de 3, una viscosidad reducida (η_{sp}/c) de 2,3, y una cantidad de grupos carboxilo terminales de 24 equivalentes por tonelada.
25

Ejemplo 3-2 (ejemplo de referencia)

30 El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 3-1, excepto que la temperatura de cristalización se cambió a 30 °C. Además, el ácido succínico obtenido se usó para producir un poliéster y se evaluó este polímero. Como resultado, se descubrió que el polímero tenía una YI de 5, una viscosidad reducida (η_{sp}/c) de 2,2, y una cantidad de grupos carboxilo terminales de 24 equivalentes por tonelada.
35

Ejemplo 3-3 (ejemplo de referencia)

El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 3-2, excepto que la velocidad de alimentación de la solución que contenía ácido succínico al tanque de cristalización se cambió a 167 ml/min. Además, el ácido succínico obtenido se usó para producir un poliéster y se evaluó este polímero. Como resultado, se descubrió que el polímero tenía una YI de 5, una viscosidad reducida (η_{sp}/c) de 2,2, y una cantidad de grupos carboxilo terminales de 24 equivalentes por tonelada.
40

Ejemplo comparativo 3-1

45 El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo 3-1, excepto que la temperatura de cristalización se cambió a 20 °C. Además, el ácido succínico obtenido se usó para producir un poliéster y se evaluó este polímero. Como resultado, se descubrió que el polímero tenía una YI de 10, una viscosidad reducida (η_{sp}/c) de 2,3, y una cantidad de grupos carboxilo terminales de 24 equivalentes por tonelada.
50

Ejemplo comparativo 3-2

Se introdujeron quinientos mililitros (540 g) de la solución que contiene ácido succínico en el mismo matraz extraíble con camisa que en el Ejemplo 3-1, que tenía un diámetro interno de 86 mm y estaba equipado con cuatro deflectores que tenían una anchura de 10 mm y con impulsores de cuatro palas que se habían dispuesto en dos etapas y tenían un diámetro de 50 mm y en el que cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientadas hacia abajo a 45°. El contenido se mantuvo a 80 °C haciendo pasar agua caliente a través de la camisa mientras se agitaba el contenido a 500 rpm. A continuación, la temperatura del agua que pasaba a través de la camisa se redujo a 20 °C durante 1 hora a una velocidad de 1 °C/min, y los contenidos se mantuvieron enfriados durante 1 hora más para que
60 la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera 20 °C. Por tanto, el ácido succínico se cristalizó.

La suspensión de ácido succínico obtenida se filtró y de ese modo se separó en 155 g de una torta húmeda de ácido succínico y 380 g de un licor madre. La torta húmeda de ácido succínico obtenida en una cantidad de 155 g se introdujo en un vaso de precipitados de 1 litro junto con 700 g de agua pura y se lavó con suspensión en el mismo, y
65 la suspensión se filtró. La torta húmeda obtenida se secó al vacío para recuperar 110 g de ácido succínico. El ácido succínico obtenido se usó para producir un poliéster y se evaluó este polímero. Como resultado, se descubrió que el

polímero tenía una YI de 2, una viscosidad reducida (η_{sp}/c) de 2,3, y una cantidad de grupos carboxilo terminales de 24 equivalentes por tonelada.

Ejemplo comparativo 3-3

5 El ácido succínico se produjo de acuerdo con el mismo método que en el Ejemplo comparativo 3-2, excepto que la temperatura de cristalización se cambió a 40 °C. Además, el ácido succínico obtenido se usó para producir un poliéster y se evaluó este polímero. Como resultado, se descubrió que el polímero tenía una YI de 2, una viscosidad reducida (η_{sp}/c) de 2,4, y una cantidad de grupos carboxilo terminales de 25 equivalentes por tonelada.

10 Como se ha demostrado anteriormente, de acuerdo con los procesos para la producción de ácido succínico, que incluyen la etapa de alimentar una solución que contiene ácido succínico a un tanque de cristalización y descargar el ácido succínico sólido del tanque de cristalización mientras se evita que el tanque de cristalización se vacíe, se puede obtener un polímero que ha sido coloreado poco y tiene un bajo valor de YI regulando la temperatura del líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque de cristalización a 35-50 °C.

Ejemplo 4-1 (ejemplo de referencia)

20 Una cantidad dada de ácido succínico de calidad de aditivo alimentario (Kawasaki Kasei Chemicals Ltd.) se disolvió en una cantidad dada de agua caliente a 80 °C para preparar un líquido que contiene ácido succínico.

25 La cristalización del ácido succínico con enfriamiento por reducción de presión adiabática se realizó de la siguiente manera usando un matraz que tiene un diámetro interno de 86 mm y equipado con una camisa de vidrio (conductividad térmica, 1 W/(m °C); el espesor de pared, aproximadamente 1,5 mm) y un tanque de agitación que estaba hecho de acero inoxidable SUS304 según lo dispuesto en la norma JIS G 4304 (conductividad térmica, 15 W/(m °C)) y equipado con impulsores de cuatro palas que se habían dispuesto en dos etapas y tenía un diámetro de 50 mm y cada una de las palas tenía una anchura de 15 mm y orientadas hacia abajo a 45° y con cuatro deflectores con una anchura de 10 mm. En la figura 11 se muestra un diagrama de flujo del aparato.

30 Se introdujeron quinientos mililitros de un líquido que contenía 30 % en peso de ácido succínico preparado de antemano en el tanque de agitación en el que se pasó agua caliente a 80 °C a través de la camisa. El contenido se agitó girando los impulsores de palas a 500 rpm para disolver completamente el líquido que contiene ácido succínico. Después de que se determinó que el ácido succínico se había disuelto, se interrumpió el suministro de agua caliente a la camisa y la presión interna del tanque de agitación se redujo gradualmente de la presión atmosférica para enfriar el interior del tanque. El vapor que se había vaporizado como resultado de la reducción de presión se introdujo en un condensador, a través de la cual pasaban 5 °C de agua fría y de ese modo se condensaba y recuperaba. La presión se redujo a 2 kPa durante aproximadamente 1 hora para reducir de este modo la temperatura interna del tanque de cristalización a 20 °C.

40 A continuación, los contenidos se agitaron continuamente durante 1 hora más mientras se mantenían la presión y la temperatura. Posteriormente, el líquido que contenía ácido succínico se alimentó de forma continua a 300 ml/min manteniendo la presión interna y la temperatura del tanque de cristalización a 2 kPa y 20 °C, respectivamente. Simultáneamente, una suspensión de ácido succínico se descargó intermitentemente desde el tanque de agitación a un tanque de descarga de la suspensión a intervalos de aproximadamente 15 minutos para que el nivel de líquido en el tanque de cristalización se mantuviera constante.

50 Esta cristalización continua se continuó durante 6 horas. A continuación, se detuvo la alimentación continua del líquido que contenía ácido succínico y la descarga intermitente de la suspensión de ácido succínico y el contenido se agitó continuamente durante 1 hora más mientras se mantenía la presión. La suspensión se descargó por completo y el interior del tanque de cristalización se examinó posteriormente. Como resultado, no se observó una incrustación visible de ácido succínico en el interior del tanque de cristalización.

Ejemplo comparativo 4-1

55 Usando el mismo aparato que en el Ejemplo 4-1, la cristalización por enfriamiento indirecto del ácido succínico se realizó de la siguiente manera. Un líquido que contenía 35 % en peso de ácido succínico que se había preparado previamente se introdujo en el tanque de agitación en el que se pasaba agua caliente a 80 °C a través de la camisa. El contenido se agitó girando los impulsores de palas a 500 rpm para disolver completamente el líquido que contiene ácido succínico. Después de que se determinó que el ácido succínico se había disuelto, la temperatura del agua caliente que se suministra a la camisa se redujo a 20 °C durante aproximadamente 1 hora para disminuir la temperatura interna del tanque de cristalización a 20 °C. Después de que la temperatura interna llegó a 20 °C, los contenidos se agitaron continuamente durante 1 hora más mientras se mantenía la temperatura.

65 A continuación, el líquido que contenía ácido succínico se alimentó continuamente a 250 ml/min mientras se regulaba la temperatura del agua fría que pasaba a través de la camisa para que la temperatura interna del tanque de cristalización se pudiera mantener a 20 °C. Simultáneamente, una suspensión de ácido succínico se descargó

intermitentemente desde el tanque de agitación al tanque de descarga de la suspensión a intervalos de aproximadamente 15 minutos. En el momento en que se inició la alimentación continua del líquido que contenía ácido succínico al tanque de cristalización, la temperatura del agua fría fue de 19,0 °C.

5 La cristalización continua se continuó durante 6 horas mientras se regulaba la temperatura del agua fría que se suministraba a la camisa de modo que la temperatura interna del tanque de cristalización se mantuviera a 20 °C. La temperatura del agua fría que pasó a través de la camisa después de las 6 horas fue de 17,5 °C. La alimentación continua del líquido que contenía ácido succínico y la descarga intermitente de la suspensión de ácido succínico se detuvieron y el contenido se agitó continuamente durante 1 hora más mientras se mantenía la temperatura de 20 °C.

10 La suspensión se descargó por completo y el interior del tanque de cristalización se examinó posteriormente. Como resultado, se observó una incrustación de cristales de ácido succínico que tenía un espesor de varios milímetros sobre toda la superficie del interior del tanque de cristalización.

15 **Ejemplo comparativo 4-2**

La cristalización por enfriamiento del ácido succínico con un intercambiador de calor externo se realizó de la siguiente manera usando un cristizador equipado con: un tanque de agitación de mezcla completa que estaba equipado con una pala de ancla hecha de SUS304 y tenía un diámetro interno de 350 mm y una capacidad de 63 l (sin deflector); un intercambiador de calor externo (intercambio de calor de doble tubo; área de superficie de transferencia de calor, 0,8 m² (el tubo interno tenía un diámetro interno de 35,7 mm, diámetro externo de 42,7 mm y espesor de pared de 3,5 mm; el tubo externo tenía un diámetro interno de 67,9 mm, diámetro externo de 76,3 mm y espesor de pared de 4,2 mm)); y una bomba centrífuga para hacer circular una suspensión a través del tanque de cristalización y el intercambiador de calor. Un diagrama de flujo del aparato se muestra en la figura 12.

25 Se introdujeron ácido succínico y agua en el tanque de alimentación de líquido que contiene ácido succínico para preparar un líquido que contenía 30 % en peso de ácido succínico. Se hizo pasar vapor a través de la camisa para regular la temperatura a aproximadamente 70 °C. Se introdujeron aproximadamente 50 l del líquido que contenía ácido succínico preparado en el tanque de cristalización y el contenido comenzó a agitarse a 50 rpm. Simultáneamente, se inició la circulación de la suspensión a través del intercambiador de calor. Bajando gradualmente la temperatura establecida del controlador de temperatura (TIC), la temperatura del tanque de cristalización se redujo a 20 °C durante aproximadamente 3 horas. A continuación, la temperatura establecida del TIC se mantuvo a 20 °C y los contenidos se envejecieron durante aproximadamente 1 hora más. Posteriormente, el líquido que contenía ácido succínico se alimentó desde el tanque de alimentación de líquido que contenía ácido succínico al tanque de cristalización a aproximadamente 25 l/h y, simultáneamente, se descargó una suspensión a intervalos de aproximadamente 15 minutos mientras se regulaba el nivel de líquido del tanque de cristalización. La suspensión descargada se sometió a separación de sólido-líquido con un separador centrífugo tipo cesta para separar la suspensión en una torta húmeda y un licor madre. Esta operación continua se continuó durante aproximadamente 4 horas.

40 La temperatura de la entrada de refrigerante fue de 13 °C inmediatamente después del inicio de la operación continua, pero disminuyó a 6 °C durante la operación continua de 4 horas.

45 El coeficiente global de transferencia de calor U del intercambiador de calor durante la operación de cristalización se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula de cálculo.

$$\text{Coeficiente global de transferencia de calor } U \text{ [kcal/h/m}^2\text{/}^\circ\text{C]} = (Q \text{ [kcal/h]}) / (\text{área de la superficie de transferencia de calor } S \text{ [m}^2\text{)]} / (\Delta T \text{ [}^\circ\text{C]})$$

50 En la fórmula de cálculo, Q indica la cantidad de calor [kcal/h] intercambiada por el intercambiador de calor y se calcula utilizando la siguiente fórmula de cálculo.

$$\text{Cantidad de calor intercambiado por el intercambiador de calor } Q \text{ [kcal/h]} = (\text{cantidad de calor de refrigerante } F \text{ [kg/h]} \times (\text{calor específico del refrigerante [kcal/kg/}^\circ\text{C]}) \times [(\text{temperatura de salida del refrigerante [}^\circ\text{C]}) - (\text{temperatura de entrada del refrigerante [}^\circ\text{C]})]$$

Además, ΔT indica la diferencia de temperatura media logarítmica dentro del intercambiador de calor y se calcula utilizando la siguiente fórmula de cálculo.

$$60 \quad \text{Diferencia de temperatura media logarítmica } \Delta T \text{ [}^\circ\text{C]} = (\Delta T_1 - \Delta T_2) / \ln (\Delta T_1 / \Delta T_2)$$

En la fórmula de cálculo,

$$65 \quad \text{Diferencia de temperatura de la entrada del intercambiador de calor } \Delta T_1 = (\text{temperatura de entrada del proceso del intercambiador de calor [}^\circ\text{C]}) - (\text{temperatura de salida del refrigerante del intercambiador de calor [}^\circ\text{C]})$$

Diferencia de temperatura de salida del intercambiador de calor $\Delta T_2 = (\text{temperatura de salida del proceso del intercambiador de calor } [^{\circ}\text{C}]) - (\text{temperatura de entrada del refrigerante del intercambiador de calor } [^{\circ}\text{C}])$.

5 El valor calculado del coeficiente global de transferencia de calor U fue de $350 \text{ kcal/h/m}^2/^{\circ}\text{C}$ inmediatamente después de la cristalización continua, pero llegó a $170 \text{ kcal/h/m}^2/^{\circ}\text{C}$ a las 4 horas.

Ejemplo 5-1 (ejemplo de referencia)

10 El ácido succínico se produjo de la siguiente manera de acuerdo con el proceso para la producción de ácido succínico mediante cristalización por vaporización que se muestra en la figura 13 y la figura 14.

(1) Líquido bruto

15 El ácido succínico (fabricado por Kawasaki Kasei Chemicals Ltd. (calidad de aditivo alimentario)) se mezcló con agua corriente en un tanque de materia prima con camisa 20 y se pasó vapor a través de la camisa para mantener el interior del tanque 20 a aproximadamente 70°C . De este modo, se preparó una solución acuosa de ácido succínico al 30 % en peso.

20 (2) Introducción de líquido en el Cristalizador 10, etc.

La solución acuosa de ácido succínico preparada de este modo se descargó del tanque 20 con una bomba de alimentación de líquido bruto P_1 , se diluyó a una concentración de ácido succínico de aproximadamente 6,5 % en peso mediante la adición de agua corriente al mismo y, después, se alimentó a un cristalizador 10. La alimentación de la solución acuosa de ácido succínico al cristalizador 10 se realizó hasta que el nivel de líquido L en el cristalizador 10 llegó a estar por encima del extremo superior del tubo de aspiración 2 como se muestra en la figura 13 (a). A continuación, las palas giratorias 3 y 4 se hicieron girar a 225 rpm. Por tanto, la solución acuosa de ácido succínico se hizo circular a lo largo de las direcciones indicadas por las flechas en la figura 13 (a).

30 (3) Reducción de la presión interna del cristalizador 10 y concentración

El grado de vacío en el cristalizador 10 se redujo gradualmente y la presión y la temperatura del líquido se redujeron a 2 kPa y 20°C , respectivamente. El vapor de agua que se había acumulado en la cámara de vaporización 8 como resultado de la vaporización que había acompañado a la reducción de presión se descargó a través de una salida de vapor de 1 g. En paralelo, la solución acuosa de ácido succínico presente en el tanque 20 se alimentó intermitentemente sin diluirse con agua corriente, de modo que el nivel de líquido L en el cristalizador 10 se mantuvo en un intervalo dado. Por tanto, la solución acuosa de ácido succínico en el cristalizador 10 se concentró.

35 (4) Descarga de ácido succínico

40 Después de que la concentración de la suspensión de ácido succínico en el cristalizador 10 había alcanzado el 30 % en peso, la alimentación de la solución acuosa de ácido succínico desde el tanque 20 al cristalizador 10 cambió de alimentación intermitente a alimentación continua. La velocidad de alimentación de la solución acuosa de ácido succínico se reguló a 50 l/h. Además, la suspensión en el cristalizador 10 se descargó intermitentemente a través de un puerto 1e de descarga de suspensión mientras se regulaba el nivel de líquido L . La descarga de la suspensión se realizó a intervalos de 15 minutos (tiempo de residencia, 2 horas). Esta operación de descarga de ácido succínico continuó durante 6 horas (3 veces el tiempo de residencia). Durante esta operación, el nivel de líquido L se mantuvo por encima de la superficie superior del tubo de aspiración 2 dentro del cristalizador 10. Por otra parte, la descarga a través de una salida clarificada de licor madre $1f$ no se realizó.

50 La suspensión descargada después de continuar la operación de descarga durante ese período se sometió a separación sólido-líquido con un separador centrífugo de tipo cesta 22 para separar la suspensión en una torta húmeda y un licor madre. La torta húmeda recuperada se secó en un secador de vacío (no mostrado) (80°C , 50 Torr). Posteriormente, las partículas obtenidas se examinaron para la distribución del tamaño de partícula de acuerdo con un método de tamizado (norma JIS: Z 8815). Se obtuvo una mediana de diámetro de la distribución del tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula se aproximó por la distribución de Rosin-Rammler para calcular un número de uniformidad. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Ejemplo 5-2 (ejemplo de referencia)

60 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 5-1, excepto que en (4) anterior, la velocidad de alimentación de la solución acuosa de ácido succínico se cambió a 67 l/h, la descarga de la suspensión se realizó a intervalos de 15 minutos (tiempo de residencia, 1,5 horas), y esta operación de descarga de ácido succínico continuó durante 4,5 horas (3 veces el tiempo de residencia). Los resultados se muestran en la Tabla 8.

65 **Ejemplo 5-3 (ejemplo de referencia)**

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 5-1, excepto que la velocidad de rotación de las palas giratorias 3 y 4 se cambió a 337 rpm. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

5 **Ejemplo 5-4 (según la presente invención)**

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 5-3, excepto que se añadió una suspensión de cristales semilla de ácido succínico en (4) de la siguiente manera. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

(Adición de cristales semilla de ácido succínico)

10 El ácido succínico (fabricado por Kawasaki Kasei Chemicals Ltd. (calidad de aditivo alimentario)) se pulverizó previamente utilizando un molino de corte de mesa para obtener cristales semilla de ácido succínico que habían pasado a través de un tamiz de malla 100 (150 μm). Los cristales semilla de ácido succínico se añadieron a una solución acuosa saturada de ácido succínico preparada previamente, para dar como resultado una concentración de suspensión de 30 % en peso. Por tanto, se preparó una suspensión de cristal semilla.

En (4) anterior, la suspensión de cristal semilla se introdujo intermitentemente en el cristalizador 10 a intervalos de 30 minutos. La velocidad de introducción fue de 2,5 l/h (que correspondió a aproximadamente 5 % en peso del ácido succínico descargado del cristalizador 10).

20 **Ejemplo 5-5 (según la presente invención)**

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 5-4, excepto que la velocidad de introducción de la suspensión de cristal semilla se cambió a 1,2 l/h (que correspondía a aproximadamente 2 % en peso del ácido succínico descargado del cristalizador 10). Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Ejemplo 5-6 (ejemplo de referencia)

30 Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 5-3, excepto que la solución acuosa de ácido succínico se hizo circular externamente en (4) de la siguiente manera. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

(Circulación externa de solución acuosa de ácido succínico)

35 En (4) anterior, una bomba de circulación de suspensión P₂ (bomba centrífuga con un impulsor abierto; presión de descarga, 0,2 MPaG) se accionó para conducir la circulación externa. Esta circulación se realizó a aproximadamente 8 m³/h, de modo que la suspensión en el tubo para la circulación de la suspensión (50A) tenía una velocidad lineal de 1,0 m/s. Por otra parte, no se pasó refrigerante a través del intercambiador de calor de la suspensión 21.

40 **Ejemplo 5-7 (ejemplo de referencia)**

El ácido succínico se produjo de la siguiente manera de acuerdo con el proceso para la producción de ácido succínico enfriando la cristalización que se muestra en la figura 15.

45 Como el tanque de cristalización, se utilizó un tanque de cristalización de tipo agitación completa (tipo CSTR) (diámetro interno, 350 Φ ; capacidad, 63 l; altura, 600 mm) equipado con una pala de ancla como pala de agitación y con deflectores. Como el intercambiador de calor 33, se hizo uso de un intercambiador de calor de doble tubo (área de la superficie de transferencia de calor, 0,8 m²; el tubo interno tenía un diámetro interno de 35,7 mm, diámetro externo de 42,7 mm y espesor de pared de 3,5 mm; el tubo externo tenía un diámetro interno de 67,9 mm, diámetro externo de 76,3 mm y espesor de pared de 4,2 mm). Como la bomba 32a, se utilizó una bomba centrífuga.

50 El ácido succínico (fabricado por Kawasaki Kasei Chemicals Ltd. (calidad de aditivo alimentario)) se mezcló con agua corriente en un tanque de materia prima con camisa 20 y se pasó vapor a través de la camisa para mantener el interior del tanque 20 a aproximadamente 70 °C. De este modo, se preparó una solución acuosa de ácido succínico al 30 % en peso.

55 Cincuenta litros de la solución acuosa de ácido succínico se alimentaron al tanque de cristalización 30 a través de un tubo 31 de alimentación de líquido bruto. El agitador 30a se hizo girar a una velocidad de rotación de agitación de 50 rpm. La bomba 32a se hizo funcionar para hacer circular la solución acuosa de ácido succínico presente en el tanque de cristalización 30 a través de un tubo 32 de circulación y el intercambiador de calor 33. Esta circulación externa se realizó a un caudal de 4 m³/h (presión de descarga, 0,15 MPa).

60 Posteriormente, se usó un controlador de temperatura (TIC) para regular el caudal del refrigerante del intercambiador de calor 33 para reducir así la temperatura del líquido presente en el tanque de cristalización de 30 a 20 °C durante 2 horas. A continuación, la temperatura del líquido en el tanque de cristalización 30 se mantuvo a 20 °C y el líquido se envejeció durante 1 hora.

Posteriormente, mientras se mantiene la velocidad de circulación externa a $4 \text{ m}^3/\text{h}$, la solución acuosa de ácido succínico se alimentó continuamente a 50 l/h a través del tubo 31 de alimentación de líquido bruto. Simultáneamente, la suspensión en el tanque de cristalización 30 se descargó intermitentemente a través de una línea de descarga 34a a intervalos de 15 minutos (tiempo de residencia, 2 horas) mientras se regulaba el nivel del líquido. Esta operación de descarga de ácido succínico continuó durante 6 horas (3 veces el tiempo de residencia).

La suspensión descargada después de continuar la operación de descarga durante ese período se sometió a separación sólido-líquido con un separador centrífugo de tipo cesta para separar la suspensión en una torta húmeda y un licor madre. La torta húmeda recuperada se secó en un secador de vacío ($80 \text{ }^\circ\text{C}$, 50 Torr). Posteriormente, las partículas obtenidas se examinaron para la distribución del tamaño de partícula de acuerdo con un método de tamizado (norma JIS: Z 8815). Se obtuvo una mediana de diámetro de la distribución del tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula se aproximó por la distribución de Rosin-Rammler para calcular un número de uniformidad. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

15 **Ejemplo comparativo 5-1**

El ácido succínico comercial (fabricado por Kishida Chemical) se examinó para determinar la distribución del tamaño de partícula de acuerdo con un método de tamizado (JIS:Z 8815). Se obtuvo una mediana de diámetro de la distribución del tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula se aproximó por la distribución de Rosin-Rammler para calcular un número de uniformidad. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Ejemplo comparativo 5-2

Se introdujeron doscientos gramos de solución acuosa de ácido succínico al 30 % en peso que tenía una temperatura de $70 \text{ }^\circ\text{C}$ en un matraz extraíble con camisa de 500 ml que estaba hecho de vidrio y tenía un diámetro interno de 86 mm y estaba equipado con cuatro deflectores que tenían una anchura de 10 mm y con impulsores de cuatro palas inclinadas que se habían dispuesto en dos etapas y tenían un diámetro de 50 mm y en el que las palas tenían una anchura de 15 mm y orientadas hacia abajo a 45° . Se pasó agua caliente que tenía una temperatura de $70 \text{ }^\circ\text{C}$ (tanque de circulación termostática controlada por programa) a través de la camisa y los contenidos se mantuvieron en agitación a una velocidad de rotación de agitación de 300 rpm.

A continuación, la temperatura del agua caliente que pasaba a través de la camisa se redujo linealmente de $70 \text{ }^\circ\text{C}$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 horas por medio del tanque de circulación termostático controlado por programa. Después de que la temperatura hubo disminuido a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, los contenidos se envejecieron durante 1 hora más. A continuación, la suspensión se filtró con un filtro de vacío y se separó en una torta húmeda y un licor madre. La torta húmeda se secó en un secador de vacío y las partículas resultantes se examinaron para determinar la distribución de tamaño de partícula con un método de tamizado (norma JIS:Z 8815). Se obtuvo una mediana de diámetro de la distribución del tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula se aproximó por la distribución de Rosin-Rammler para calcular un número de uniformidad. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

40

[Tabla 8]

	Tiempo de residencia (h)	Velocidad de relación de agitación (rpm)	Velocidad punta (m/s)	Concentración de la suspensión (% en peso)	Distribución del tamaño de partículas		Aparato	Continuo/Discontinuo	Adición de cristales semilla (% en peso)	Circulación de la bomba (m ³ /h)
					Mediana del diámetro (µm)	Número de uniformidad				
Ejemplo 5-1	2	225	4,0	30	547	3,63	Tipo DP	cristalización continua	-	-
Ejemplo 5-2	1,5	225	4,0	29	553	3,05	Tipo DP	cristalización continua	-	-
Ejemplo 5-3	2	337	6,0	30	446	3,45	Tipo DP	cristalización continua	-	-
Ejemplo 5-4	2	337	6,0	30	252	3,45	Tipo DP	cristalización continua	5	-
Ejemplo 5-5	2	337	6,0	29	360	4,64	Tipo DP	cristalización continua	2	-
Ejemplo 5-6	2	337	6,0	29	224	3,38	Tipo DP	cristalización continua	-	8
Ejemplo 5-7	2	50	0,8	28	113	3,07	Tipo CSTR	cristalización continua	-	4
Ejemplo comparativo 5-1	-	-	-	-	368	2,19	-	-	-	-
Ejemplo comparativo 5-2	-	300	0,8	28	584	3,28	Tipo CSTR	Cristalización discontinua	-	-

Tal como se muestra en la Tabla 8, el ácido succínico obtenido en los ejemplos 5-1 a 5-7 tenía un número de uniformidad de 3 o mayor y tenía una distribución más estrecha y una mayor uniformidad en el diámetro de partícula que el ácido succínico del ejemplo comparativo 5-1 (número de uniformidad, 2,19).

- 5 El ácido succínico obtenido en los Ejemplos 5-4 a 5-7 tenía un diámetro promedio de partícula (mediana del diámetro) de 400 μm o menos. Por el contrario, el ácido succínico obtenido en el ejemplo comparativo 5-2 tenía un diámetro promedio de partícula (mediana del diámetro) de 584 μm , que era demasiado grande.

- 10 Una comparación entre el Ejemplo 5-3 (no se añadieron cristales semilla), El ejemplo 5-4 (se añadieron cristales semilla a 2,5 l/h), y el ejemplo 5-5 (se añadieron cristales semilla a 1,2 l/h) muestra que el número de uniformidad fue el mayor en el ejemplo 5-4. Además, cuanto mayor sea la cantidad de cristales semilla añadida, menor es el diámetro promedio de partícula (mediana del diámetro).

Descripción de los números de referencia

15

- 1 Tanque
- 2 Tubo de aspiración
- 3, 4 Pala giratoria
- 5 Placa deflectora
- 6 Eje de rotación
- 7 Motor
- 8 Cámara de vaporización
- 10 Cristalizador
- 20 Tanque de materia prima con camisa
- 21 Intercambiador de calor de la suspensión
- 22 Condensador
- 23 Separador centrífugo de tipo cesta
- 25 Tanque de licor madre clarificado
- 30 Tanque de cristalización
- 33 Intercambiador de calor

<110> Mitsubishi Chemical Corporation

20

<120> Método de preparación de ácido succínico

<130> W501881

25

<150> JP2010-059578

<151> 16/03/2010

<150> JP2010-060674

<151> 17/03/2010

30

<150> JP2010-085561

<151> 01/04/2010

<150> JP2010-089048

<151> 06/04/2010

35

<150> JP2010-179896

<151> 11/08/2010

<160> 9

40

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 24

<212> ADN

45

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> cebador

ES 2 792 824 T3

	<400> 1 acgaagtgac tgctatcacc cttg	24
5	<210> 2 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> cebador	
	<400> 2 cagaacttta ctgcatccgc aca	23
15	<210> 3 <211> 36 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> cebador	
	<400> 3 gtggatgaga caggactatc tagagctaca gtgaca	36
25	<210> 4 <211> 33 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
30	<220> <223> cebador	
	<400> 4 agaattgatt ataggtcact aaaactaatt cag	33
40	<210> 5 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> cebador	
45	<400> 5 gtaggtatca cccatgcaca agttg	25
50	<210> 6 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> cebador	
55	<400> 6 cctagtatcg taacccccga ttc	23
60	<210> 7 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
65	<220> <223> cebador	

ES 2 792 824 T3

	<400> 7 gttttcccag tcacgacgtt g	21
5	<210> 8 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> cebador	
	<400> 8 actggcattg atgtgatcc agca	24
15	<210> 9 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> cebador	
25	<400> 9 ctggtgcca tttgcaagc tca	23

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para producir ácido succínico que comprende una etapa de cristalización para producir ácido succínico sólido a partir de un líquido que contiene ácido succínico en un tanque de cristalización equipado con un agitador, en el que la cristalización se realiza continuamente y en el que el proceso comprende: descargar el ácido succínico cristalizado de forma continua o intermitente desde el tanque de cristalización; alimentar un líquido que contiene ácido succínico de manera continua o intermitente al tanque de cristalización para mantener el nivel del líquido del tanque de cristalización para que esté dentro de un intervalo dado; y realizar una operación, durante al menos una parte de la etapa de cristalización, en una condición de agitación de una potencia requerida para agitar por unidad de volumen del líquido que contiene ácido succínico de $0,4-3 \text{ kW/m}^3$, en el que el líquido que contiene ácido succínico tiene una concentración de ácido succínico de 10-45 % en peso, y en donde, en la etapa de cristalización, los cristales semilla de ácido succínico se introducen de manera continua o intermitente en el tanque de cristalización, y los cristales semilla comprenden cristales obtenidos pulverizando al menos una parte del ácido succínico que se ha descargado del tanque de cristalización.
2. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se realiza una operación para que el líquido que contiene ácido succínico en el tanque de cristalización tenga una temperatura de 25-60 °C.
3. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con la reivindicación 2, en el que durante la cristalización, una diferencia entre una temperatura del líquido que contiene ácido succínico presente en el tanque de cristalización y una temperatura a la cual el líquido que contiene ácido succínico introducido en el tanque de cristalización se convierte en una solución saturada de ácido succínico, es de 10-45 °C.
4. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el líquido que contiene ácido succínico tiene un tiempo de residencia promedio en el tanque de cristalización de 1-5 horas.
5. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende una etapa de reducción de presión para reducir una presión interna del tanque de cristalización, durante la operación de cristalización, a un valor inferior a la presión de la atmósfera ambiental.
6. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la presión interna del tanque de cristalización es 0,5-20 kPa.
7. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la pulverización se realiza con un pulverizador húmedo.
8. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la pulverización se lleva a cabo con al menos uno seleccionado de una unidad de circulación para descargar una suspensión de ácido succínico presente en el tanque de cristalización y devolver la suspensión al interior del tanque de cristalización y una bomba dispuesta en una unidad para alimentar un líquido que contiene ácido succínico al tanque de cristalización.
9. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que los cristales semilla tienen un diámetro de partícula promedio en volumen de 200 μm o menos y una cantidad de los cristales semilla es 0,001-20 % en peso de la cantidad de ácido succínico recuperado.
10. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el líquido que contiene ácido succínico incluye un disolvente, siendo el disolvente un líquido seleccionado de entre disolventes cetónicos, disolventes que contienen nitrógeno, disolventes de ácido carboxílico, disolventes alcohólicos y agua.
11. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que cuando se realiza la cristalización, el líquido que contiene ácido succínico se enfría al menos 10 °C desde la temperatura que tenía el líquido que contenía ácido succínico cuando se introdujo en el tanque de cristalización.
12. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el líquido que contiene ácido succínico se alimenta a una fase líquida presente en el tanque de cristalización.
13. El proceso para producir ácido succínico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el líquido presente en el tanque de cristalización tiene una temperatura que es más baja que la temperatura de la superficie de la pared del tanque de cristalización.

FIG. 1

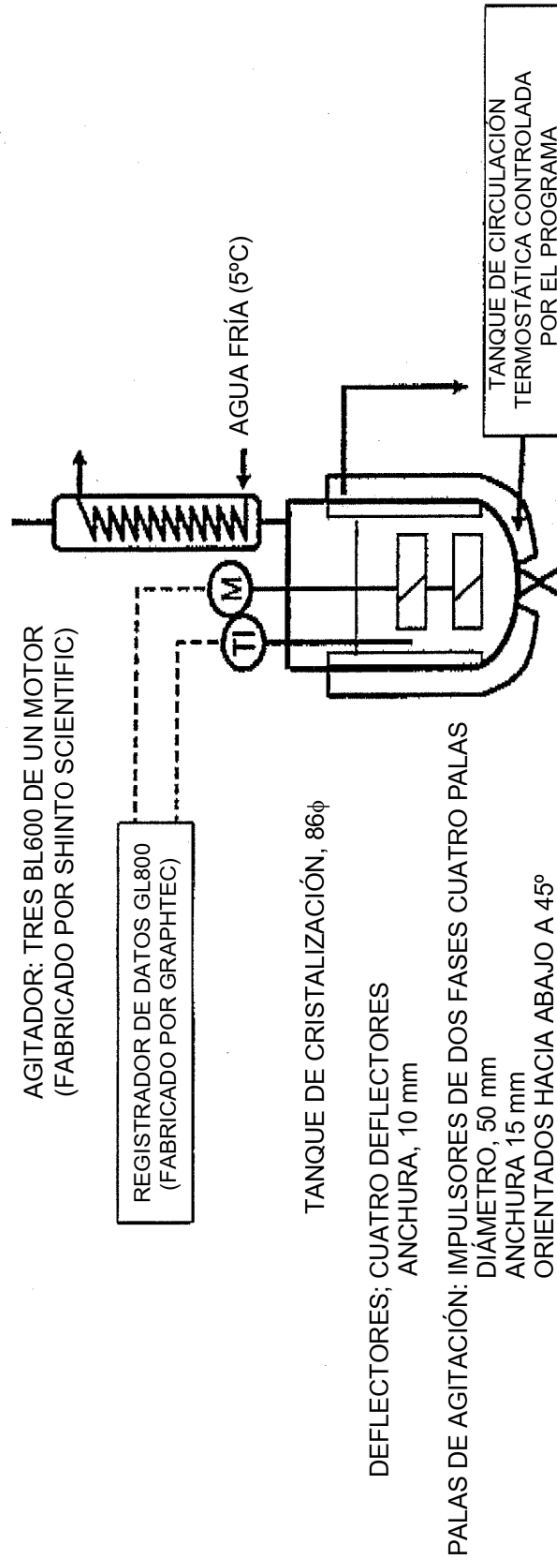


FIG. 2

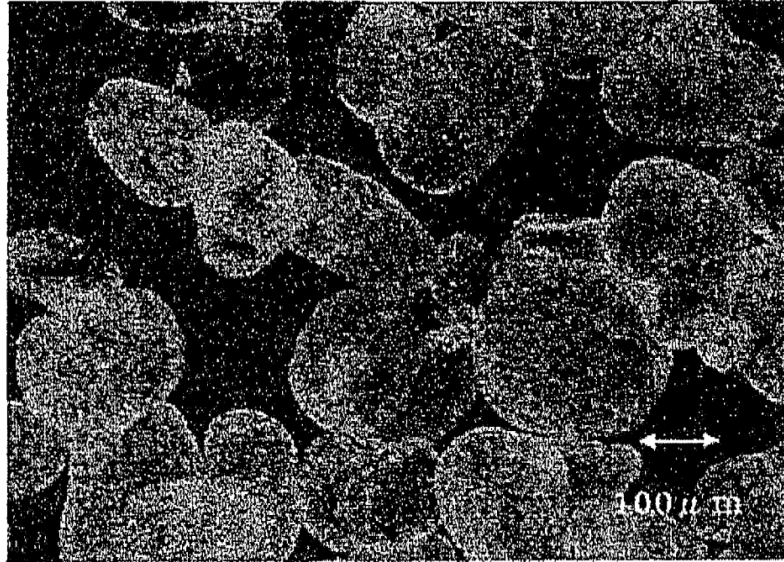


FIG. 3

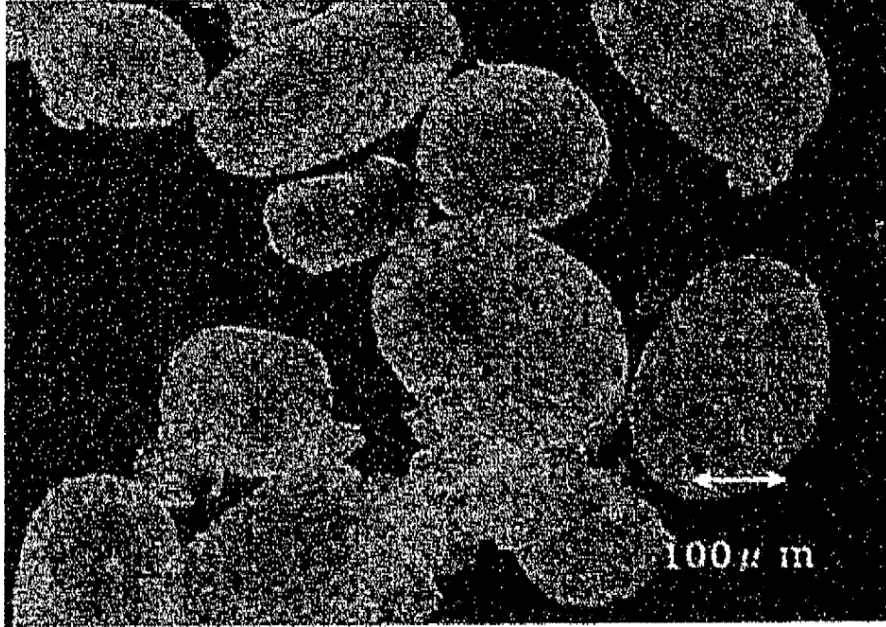


FIG. 4

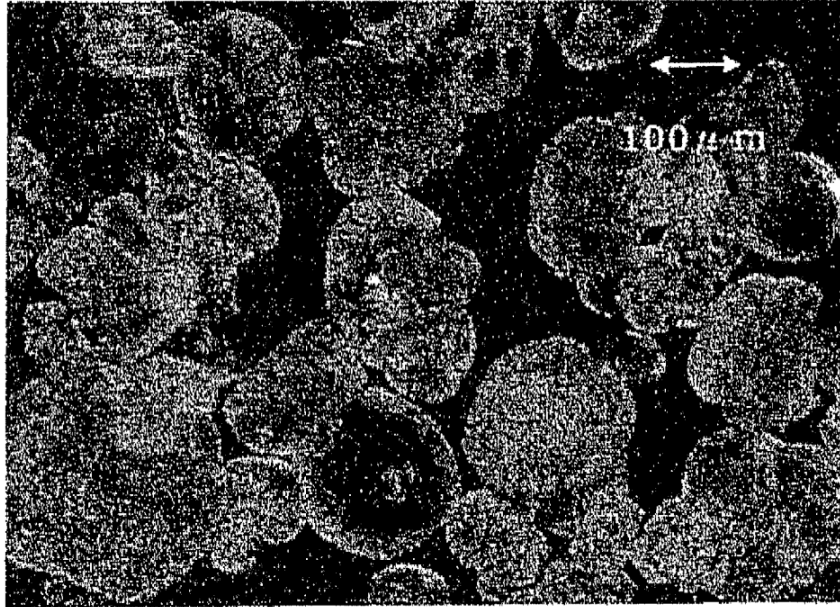


FIG. 5

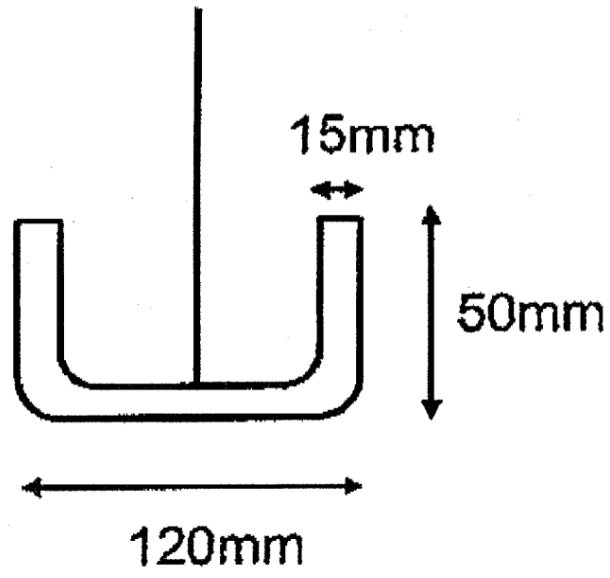


FIG. 6

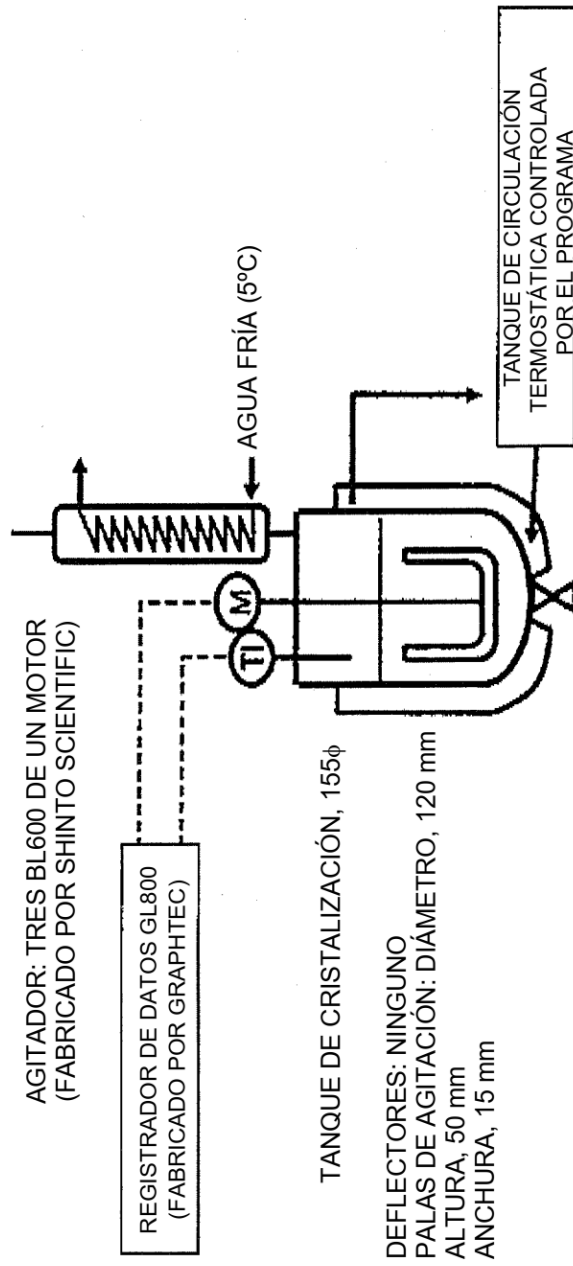


FIG. 7

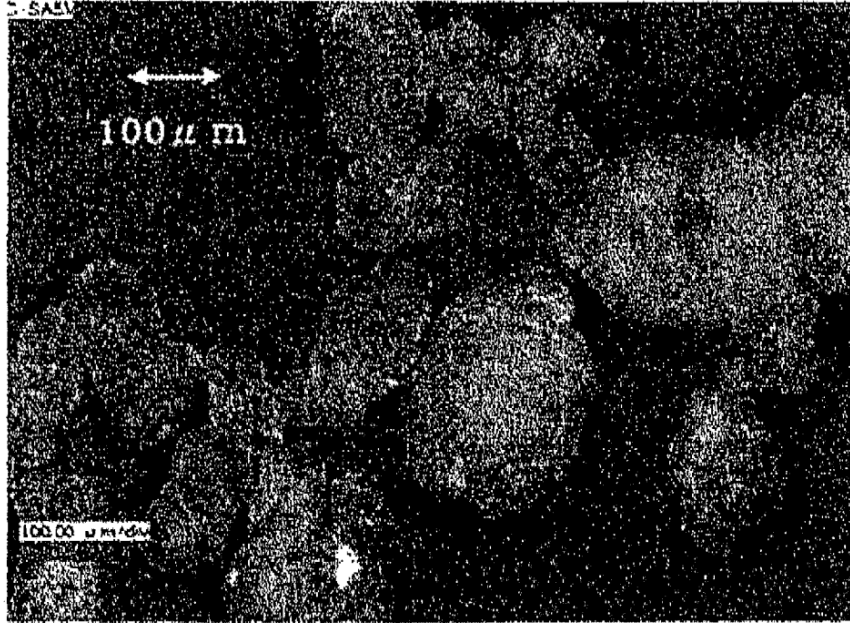


FIG. 8

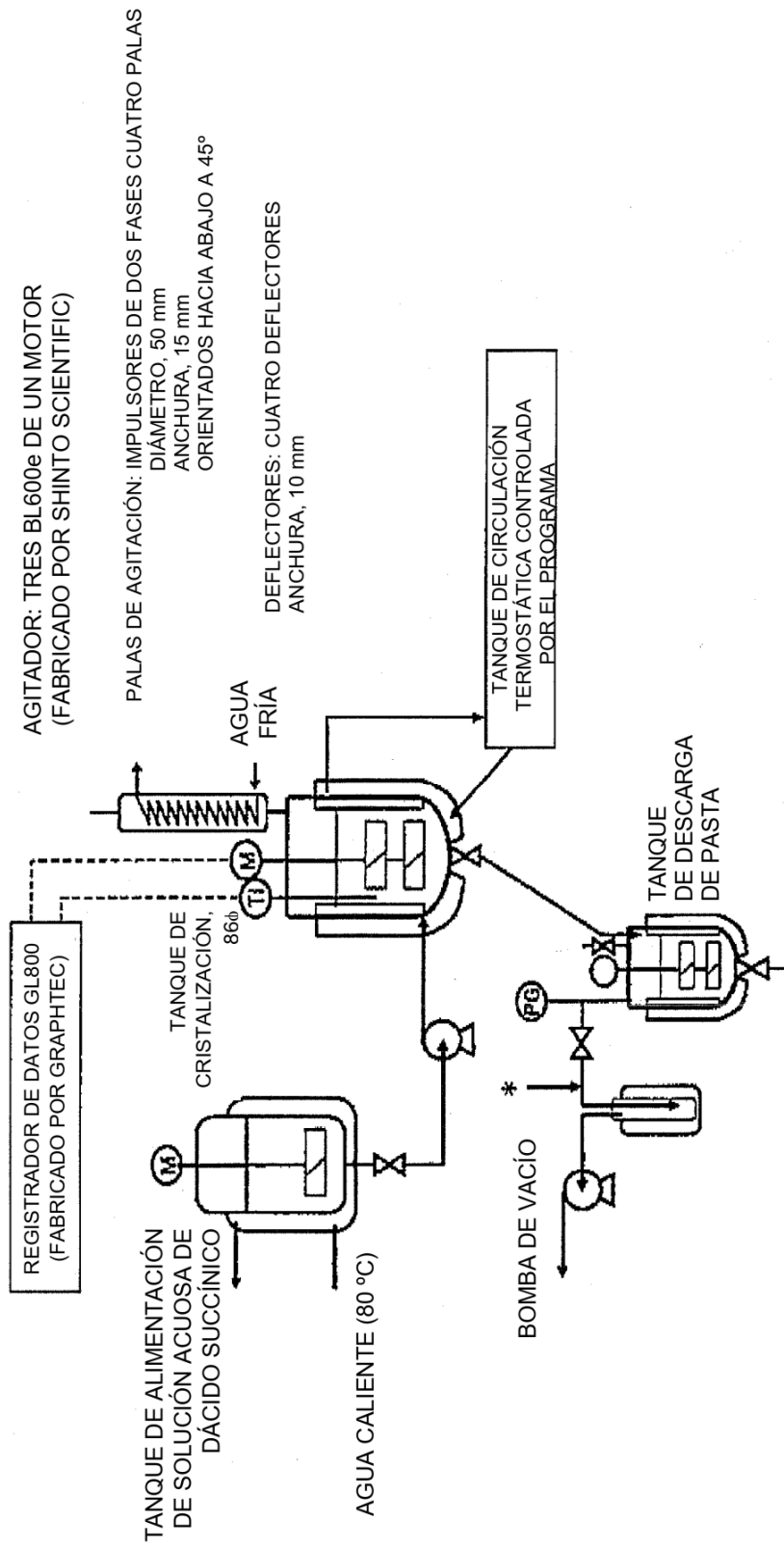


FIG. 9

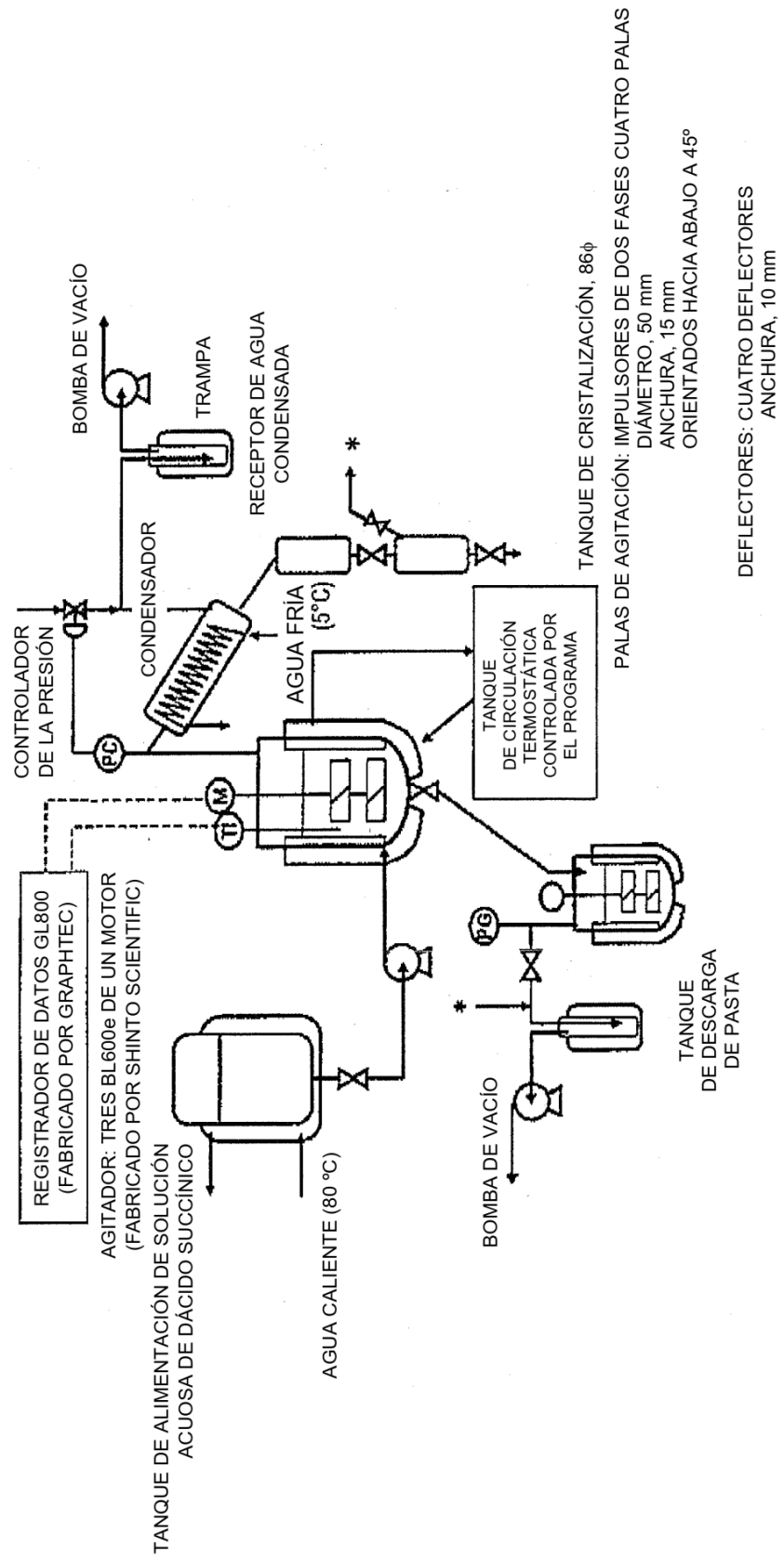


FIG. 10

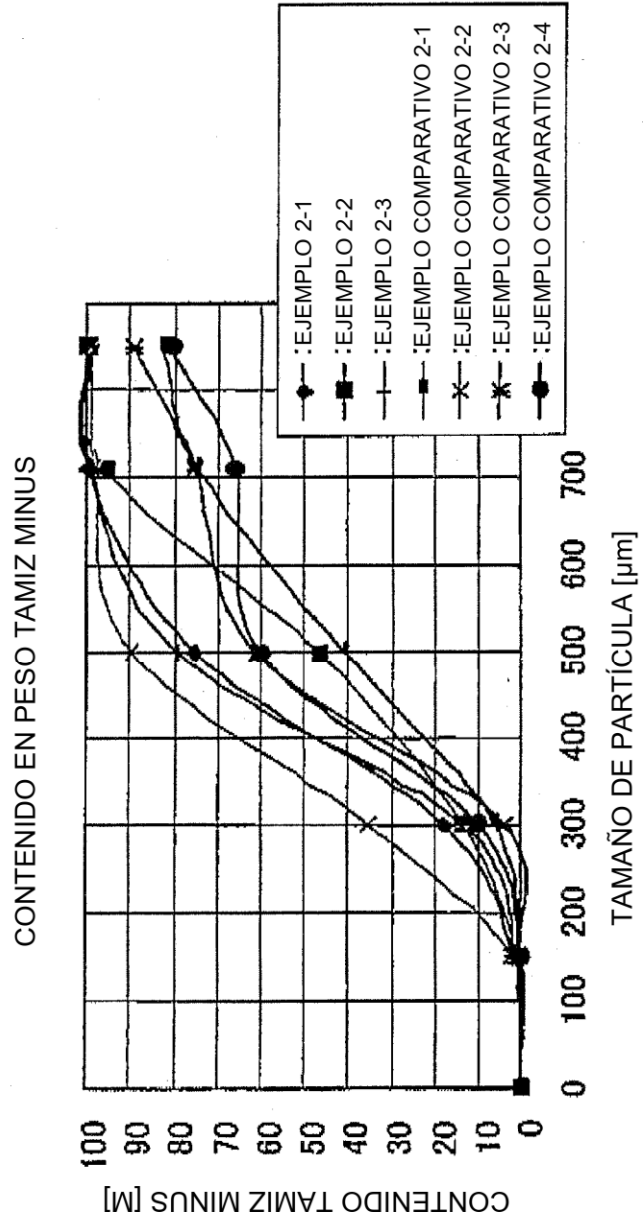


FIG. 11

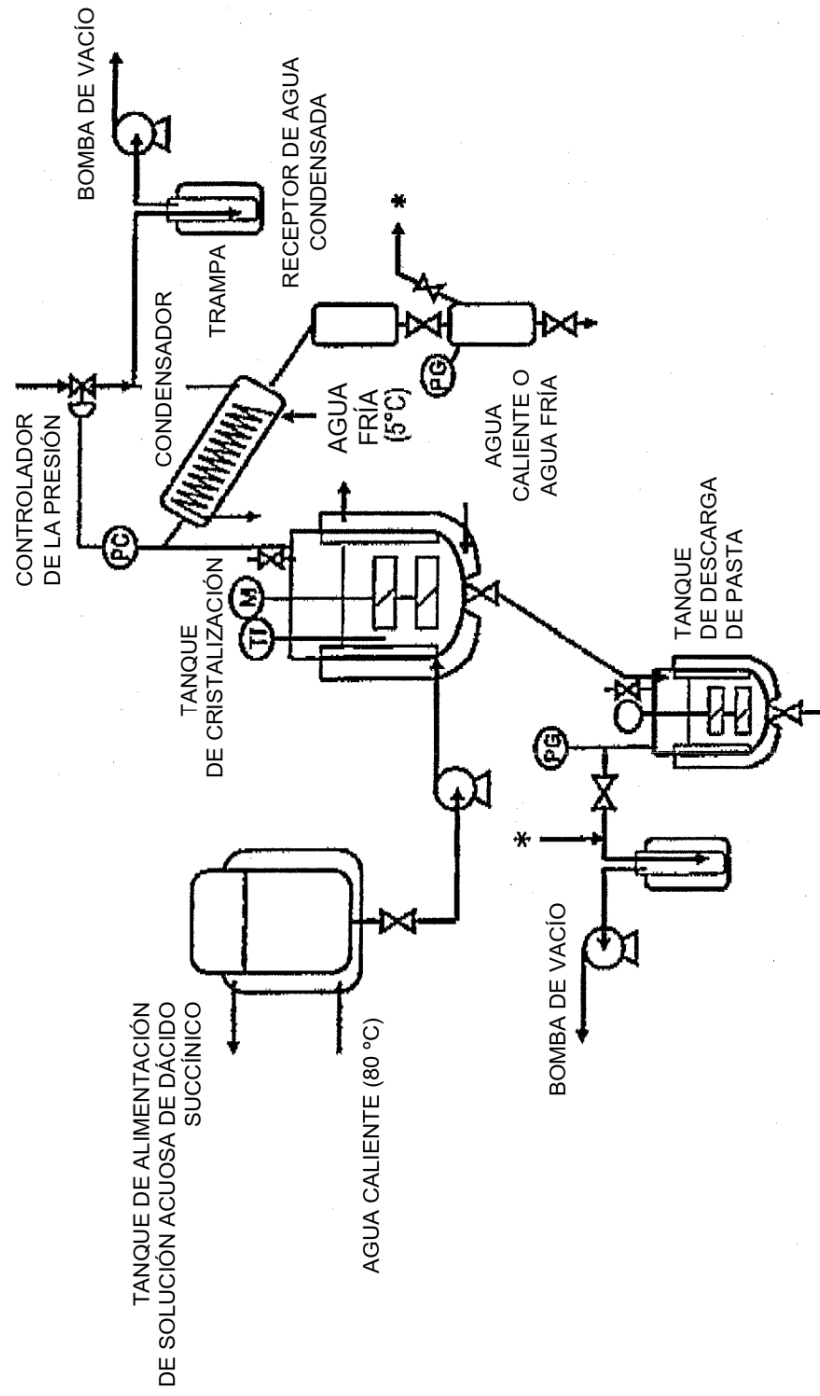


FIG. 12

TANQUE DE ALIMENTACIÓN
DE SOLUCIÓN DE DÁCIDO SUCCÍNICO

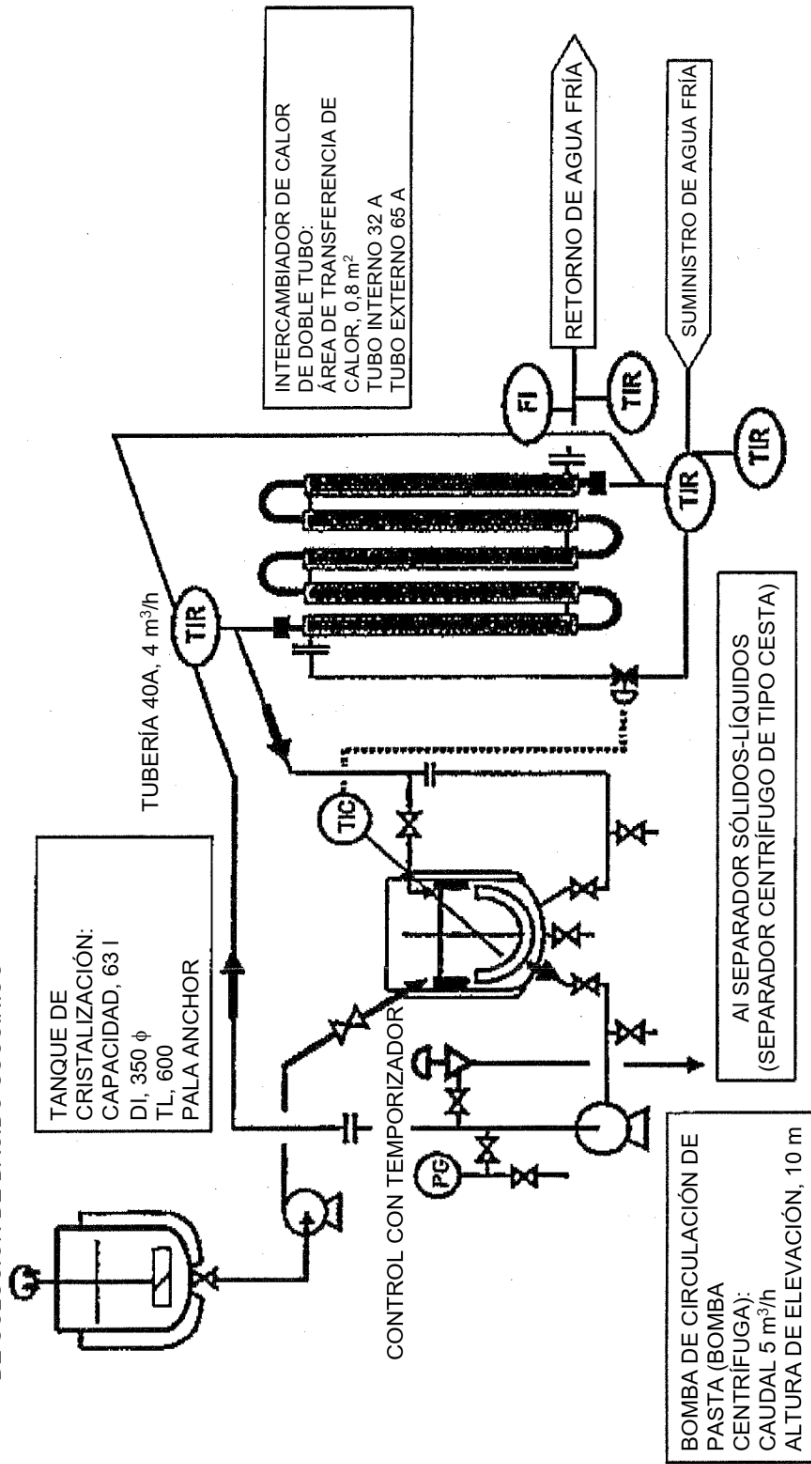


FIG. 13 (a)

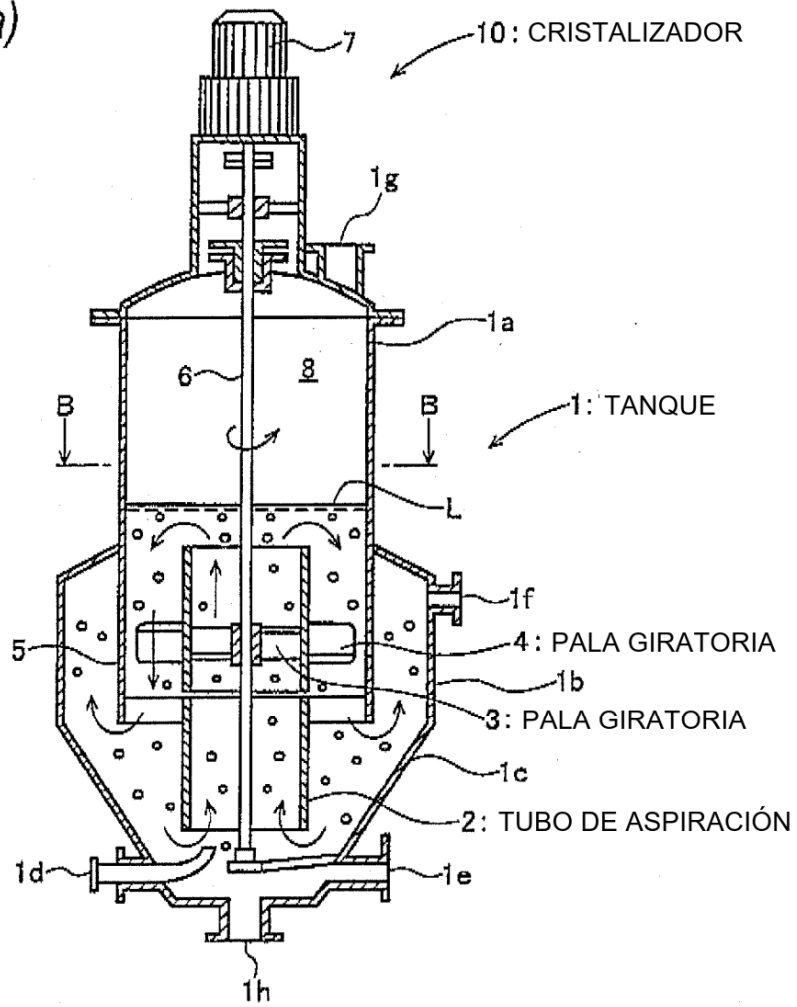


FIG. 13 (b)

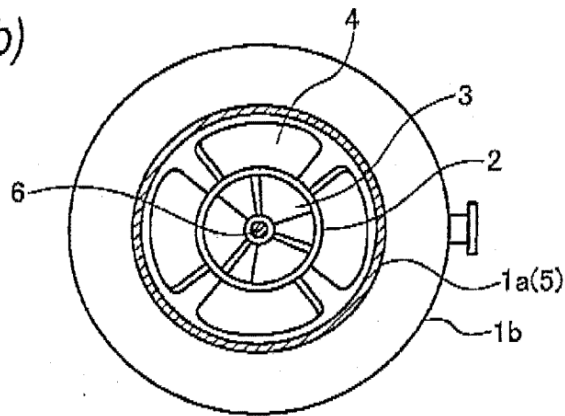


FIG. 14

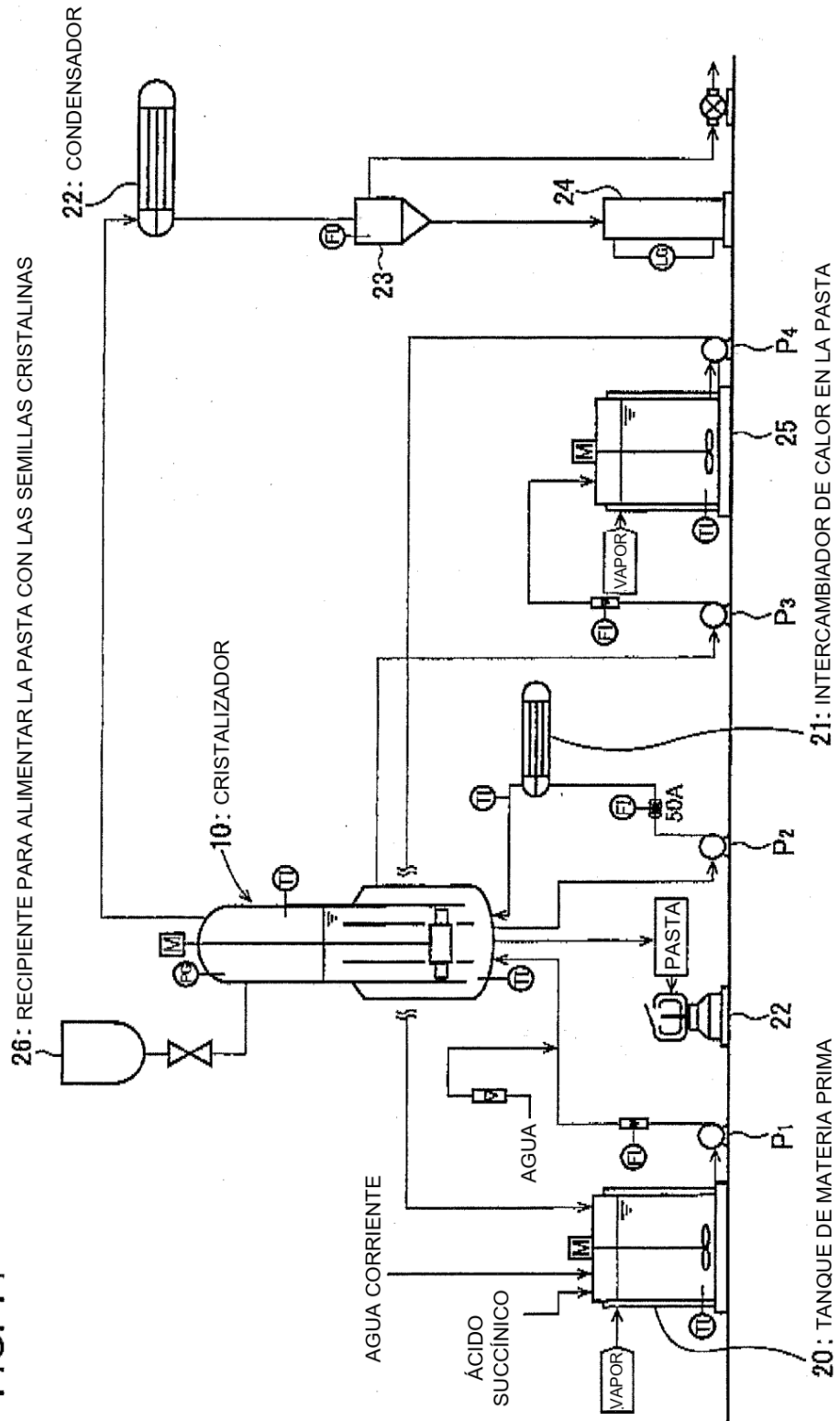


FIG. 15

