

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580024156.2

[51] Int. Cl.

C12P 13/02 (2006.01)

C12P 7/40 (2006.01)

C12P 7/62 (2006.01)

C07C 233/05 (2006.01)

C07C 57/04 (2006.01)

[43] 公开日 2007年6月27日

[11] 公开号 CN 1989251A

[22] 申请日 2005.7.1

[21] 申请号 200580024156.2

[30] 优先权

[32] 2004.7.19 [33] GB [31] 0416101.4

[86] 国际申请 PCT/EP2005/007131 2005.7.1

[87] 国际公布 WO2006/007957 英 2006.1.26

[85] 进入国家阶段日期 2007.1.17

[71] 申请人 西巴特殊化学水处理有限公司

地址 英国西约克郡

[72] 发明人 D·米斯特里 J·S·库拉

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 权陆军 李炳爱

权利要求书 3 页 说明书 11 页

[54] 发明名称

单体及其聚合物的制备方法

[57] 摘要

一种由相应的烯键式不饱和腈制备烯键式不饱和酰胺或烯键式不饱和羧酸或其盐的方法，其中在水介质中在生物催化剂的存在下对所述腈实施水合或水解反应，其中所述腈包含多于 2ppm 的丙烯醛，并且所述酰胺或羧酸或其盐包含少于 2ppm 的丙烯醛。所述方法可以用于从包含高水平丙烯醛的低品质丙烯腈制备高纯度的丙烯酰胺或丙烯酸(盐)。适合的生物催化剂包括红球菌属的微生物。

1. 一种由相应的烯键式不饱和腈制备烯键式不饱和酰胺或烯键式不饱和羧酸或其盐的方法，其中在水介质中在生物催化剂的存在下对所述腈实施水合或水解反应，其中所述腈包含多于 2 ppm 的丙烯醛，并且所述酰胺或羧酸或其盐包含少于 2 ppm 的丙烯醛。

2. 根据权利要求 1 的方法，其中所述生物催化剂是能够产生腈水合酶的微生物。

3. 根据权利要求 1 的方法，其中所述生物催化剂是能够产生腈水合酶和酰胺酶的微生物。

4. 根据权利要求 1 的方法，其中所述生物催化剂是能够产生腈水解酶的微生物。

5. 根据权利要求 1-4 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂是红球菌属的微生物。

6. 根据权利要求 1-5 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂是紫红红球菌物种的微生物。

7. 根据权利要求 1-6 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂选自微生物紫红红球菌株 2368 (NCIMB 41164)、其突变体以及从紫红红球菌体 2368 或其突变体获得的腈水合酶。

8. 根据权利要求 1-6 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂选自微生物紫红红球菌 (J1)、其突变体以及从紫红红球菌 J1 或其突变体获得的腈水合酶。

9. 根据权利要求 1-5 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂是赤红球菌物种的微生物。

10. 根据权利要求 1-5 或权利要求 9 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂选自微生物赤红球菌 NCIMB 40833、其突变体以及从赤红球菌株 NCIMB 40833 或其突变体获得的腈水解酶。

11. 根据权利要求 1-5 或权利要求 9 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂选自微生物赤红球菌 NCIMB 40757、其突变体以及从赤红球菌株 NCIMB 40757 或其突变体获得的腈水解酶。

12. 根据权利要求 1-4 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂选自微生物 *Dietzia natronolimaios* NCIMB 41165、其突变体以及从 *Dietzia natronolimaios* NCIMB 41165 或其突变体获得的腈水合酶和

酰胺酶。

13. 根据权利要求 1-12 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂包括完整的细胞。

14. 根据权利要求 1-13 中任何一项的方法，其中所述生物催化剂包括破碎的细胞材料。

15. 根据权利要求 1-14 中任何一项的方法，其中所述酰胺为（甲基）丙烯酰胺。

16. 根据权利要求 1-15 中任何一项的方法，其中所述羧酸为（甲基）丙烯酸（盐）。

17. 根据权利要求 1-16 中任何一项的方法，其中所述腈包含至少 10 ppm 的丙烯醛。

18. 根据权利要求 1-17 中任何一项的方法，其中所述腈包含至少 20 ppm 的丙烯醛。

19. 根据权利要求 1-18 中任何一项的方法，其中所述腈包含最高达 500 ppm 的丙烯醛。

20. 生物催化剂用于减少烯键式不饱和单体中的丙烯醛目的用途。

21. 根据权利要求 20 的用途，其中所述烯键式不饱和单体选自（甲基）丙烯酰胺、（甲基）丙烯酸（或盐）以及（甲基）丙烯腈。

22. 根据权利要求 20 或权利要求 21 的用途，其中所述生物催化剂具有权利要求 2-19 中所限定特征中的任何一项。

23. 一种制备烯键式不饱和单体或包含烯键式不饱和单体的掺合物的聚合物的方法，其中所述单体由烯键式不饱和腈形成，所述方法包括下列步骤，

(i) 使所述烯键式不饱和腈与生物催化剂接触以形成所述烯键式不饱和单体，

(ii) 将所述烯键式不饱和单体与其他单体任选地混合以形成掺合物，以及

(iii) 对所述烯键式不饱和单体或掺合物实施聚合条件从而形成聚合物，

其中所述烯键式不饱和腈包含多于 2 ppm 的丙烯醛并且所述烯键式不饱和单体包含少于 2 ppm 的丙烯醛。

24. 根据权利要求 23 的方法，其中所述烯键式不饱和单体选自（甲基）丙烯酸和（甲基）丙烯酸（或盐）。

25. 根据权利要求 23 或 24 的方法，其中所述生物催化剂具有权利要求 2-8 中所限定特征中的任何一项。

26. 根据权利要求 23-25 中任何一项的方法，其中所述腈包含至少 10 ppm 的丙烯醛。

27. 根据权利要求 23-26 中任何一项的方法，其中所述腈包含至少 20 ppm 的丙烯醛。

28. 根据权利要求 23-27 中任何一项的方法，其中所述腈包含最高达 500 ppm 的丙烯醛。

单体及其聚合物的制备方法

本发明涉及由相应的烯键式不饱和腈制备烯键式不饱和酰胺或烯键式不饱和羧酸及其盐的方法。

技术背景

烯键式不饱和酰胺的制造是已知的，例如通过相应的腈水合为丙烯酰胺。US4820872 描述了利用黑铜矿催化剂的此类方法。通过浓硫酸与腈反应使烯键式不饱和腈转化为相应的烯键式不饱和羧酸也是已知的，例如如 EP-A-0330474 中所描述的。

化学反应的酶催化在文献中得到良好的证明。采用生物催化剂例如包含酶的微生物进行化学反应，或利用无微生物的酶，是众所周知的。已知通过使用生物催化剂将底物原材料转化为所需单体可以制备各种烯键化不饱和单体。

已知腈水合酶催化腈水合为相应的酰胺。腈水合酶一般可以由各种微生物合成，例如芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、*Bacteridium*、微球菌属 (*Micrococcus*)、短杆菌属 (*Brevibacterium*)、棒杆菌属 (*Corynebacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、黄色杆菌属 (*Xanthobacter*)、链霉菌属 (*Streptomyces*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、肠杆菌属 (*Enterobacter*)、欧文氏菌属 (*Erwinia*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、无色杆菌属 (*Achromobacter*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*)、红球菌属 (*Rhodococcus*) 以及 *Comomonas* 的微生物。

分别利用腈水合酶和腈水解酶作为催化剂由丙烯腈在工业规模生产丙烯酰胺和丙烯酸铵，这是已知的。当应用生物学生产这些产物时，希望采用能够产生高浓度的丙烯酰胺或丙烯酸铵水溶液并且还不被丙烯腈以及高浓度的丙烯酰胺或丙烯酸铵损害的酶。

许多参考文献已描述了腈水合酶在微生物中的合成。Arnaud 等人, *Agric. Biol. Chem.* 41: (11) 2183-2191 (1977) 描述了短杆菌属

物种 R312 中他们称之为“乙腈水解酶 (acetonitrilase)”的酶的特征, 所述酶将乙腈经由酰胺中间物降解为乙酸盐。Asano 等人, *Agric. Biol. Chem.* 46: (5) 1183-1189 (1982) 分离了绿针假单胞菌 (*Pseudomonas chlororaphis*) B23, 它产生腈水合酶以催化丙烯腈转化为丙烯酰胺, 从而产生 400 g/L 的丙烯酰胺。Yamada 等人, *Agric. Biol. Chem.* 50: (11) 2859-2865 (1986) 的名称为“Optimum culture conditions for production by *Pseudomonas chlororaphis* B23 of nitrile hydratase”的文章考虑了生长培养基中培养基组分的最优化, 包括添加用于腈水合酶合成的诱导物。发现甲基丙烯酰胺是这种生物最好的诱导物。甲基丙烯酰胺在培养开始时被包括在培养物中。

Nawaz 等人, *Arch. Microbiol.* 156:231-238 (1991) 的名称为‘Metabolism of acrylonitrile by *Klebsiella pneumoniae*’的文章描述了肺炎克雷伯氏菌 (*K. pneumoniae*) 的分离和生长及其后来快速利用丙烯腈并形成丙烯酰胺, 所述丙烯酰胺随后进一步水解为丙烯酸。利用增殖培养技术用丙烯腈作为唯一的氮源在 pH 7.5 时分离该生物。

已发现紫红红球菌 (*Rhodococcus rhodochrous*) 物种的各种菌株产生腈水合酶非常有效。EP-0 307 926 描述了紫红红球菌, 尤其是菌株 J1 在包含钴离子的培养基中的培养。腈水合酶可以用于将腈水合为酰胺, 并且特别是将 3-氰基吡啶 (cyanopyridine) 转化为烟酰胺。这种生物在 EP-0362829 得到进一步描述, 它描述了紫红红球菌物种的细菌的培养方法, 其包括至少一种尿素和钴离子用于制备具有腈水合酶活性的紫红红球菌细胞。具体描述的是紫红红球菌 J1。

紫红红球菌 J1 在商业上被用于由丙烯腈制造丙烯酰胺单体并且这个方法已被 Nagasawa 和 Yamada, *Pure Appl. Chem.* 67:1241-1256 (1995) 描述。

Yamada 和 Kobayashi, *Biosci. Biotech. Biochem* 60:1391-1400 (1996) 的综述文章用图说明了用于生产浓度最高达 50% 的丙烯酰胺单体的生物催化方法的开发。这篇综述描述了被开发用于工业产生丙烯酰胺的 3 代催化剂, 顶点为紫红红球菌 J1, 这种细菌要求钴作为腈水合酶的一部分, 它催化从丙烯腈形成丙烯酰胺。由于在培养基中存在作为诱导物的尿素, 所以腈水合酶在该细菌中以非常高的水平合成。

Leonova 等人, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 88: 231-241 (2000) 的名称为“Nitrile Hydratase of Rhodococcus”描述了紫红红球菌 M8 中腈水合酶的增长和合成。这种菌株的 NH 合成由培养基中的尿素诱导, 它也用作这种生物生长用的氮源。钴也是腈水合酶高活性所需的。这篇文献文章主要考察诱导作用和代谢作用。

Leonova 等人, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 88:231-241 (2000) 陈述了在俄罗斯在商业上利用紫红红球菌 M8 生产丙烯酰胺。俄罗斯专利 1731814 描述了紫红红球菌株 M8。

通过腈水解酶的作用从丙烯腈直接生产丙烯酸铵是已知的 (Hughes 等人, (1998) *Antonie van Leeuwenhoek* v 74 p107-118)。这篇论文描述利用固定的赤红球菌 (*Rhodococcus ruber*) 在 30°C 连续生产 1.3 M 丙烯酸铵, 该催化剂具有超过 47 天的半衰期。该腈水解酶还具有对丙烯腈为 30 微摩尔的极低 Km 值, 因此在最终的丙烯酸铵产物中丙烯腈的浓度为零。

Nagasawa 等人, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34:322-324 (1990) 还描述了紫红红球菌 J1 用于合成丙烯酸和甲基丙烯酸的用途。他们考察的是温度、丙烯腈浓度和 pH 条件对反应的作用。

在本申请提交日时未公开的国际申请号 PCT/EP04/013252 (案件参考号 BT/3-22351) 描述了一种新型微生物, 它是紫红红球菌株 2368 (NCIMB 41164) 或其突变体。这种微生物能够产生适合于将丙烯腈转化为丙烯酰胺或的腈水合酶。

在本申请提交日时也未公开的国际申请号 PCT/EP04/013251 (案件参考号 BT/3-22348) 描述了一种新型微生物, 它是 *Dietzia natronolimnais* NCIMB 41165 或其突变体。这种微生物能够产生于适合将丙烯腈转化为丙烯酰胺的腈水合酶或适合于制备丙烯酸或其盐例如丙烯酸铵的腈水合酶和酰胺酶两者。

当丙烯腈例如通过丙烯的氨氧化产生时, 它一般包含高水平的杂质, 例如丙烯醛。丙烯醛一般在丙烯腈制造过程中作为副产品出现。通常在丙烯腈中存在的丙烯醛的量将多于 2 ppm 并且通常显著高于这个量, 例如 20 ppm 并且有时多达 50 或 100 ppm 或更高。

微生物从废物流中去除杂质包括丙烯醛的能力已由 Wyatt 和 Knowles 在 *International Biodeterioration and Biodegradation*

(1995) p227-248 中描述。他们描述了利用活性生长培养物形式的微生物混合培养物来为混合废物流解毒。期望降解低水平的丙烯酸种类包括丙烯醛的活混合培养物将容易出现。

微生物为腈混合物解毒或从酰胺混合物中去除腈的用途已在 WO 98/27016 中得到描述。所述腈包括丙烯腈、乙腈和丙烯醛羟腈，因为他们提出丙烯醛以丙烯醛羟腈的形式存在，因此他们描述了他们的微生物将丙烯醛羟腈转化为酸的能力。描述了腈特别是存在于废物流中的那些的解毒，包括丙烯醛羟腈解毒为其酰胺和酸配对物。还描述了从酰胺制剂例如丙烯酰胺去除腈的解毒处理方法的用途。微生物被多重诱导以使得能够转化废物流中众多不同的腈。然而这个描述主要涉及废物流的解毒或从包含 ppm 水平腈的制备的酰胺溶液中去去除腈。没有提到从可能包含高水平丙烯醛的丙烯腈底物制备丙烯酰胺或者丙烯醛是制备高级别丙烯酰胺聚合物的已知问题且因此其去除是必需的事实。他们主要感兴趣的是腈或腈/酰胺的混合物。

用于生产丙烯酰胺或丙烯酸的丙烯腈是基本上纯化并且不含杂质例如丙烯醛，这是必需的。在丙烯酰胺单体或包含丙烯酰胺和/或丙烯酸的单体的掺合物中存在丙烯醛一般导致不受欢迎的聚合物交联。此类交联是不合需要的，因为在水溶性聚合物的制备中，不合需要的交联将导致至少部分不溶性聚合物的形成。因为丙烯醛引起不受控制的交联，所以它在包含用于形成有意交联的聚合物产物的添加剂的单体混合物中的存在也可能是不合需要的，因为此类产物对于特定应用可能是过度交联的。

因此在转化为丙烯酰胺或丙烯酸及其盐之前从丙烯腈中去除杂质例如丙烯醛是标准实践。一般地这通过在合适的聚合抑制剂例如对甲氧基苯酚的存在下蒸馏来完成。通常用于这个目的的丙烯腈中的丙烯醛水平必须始终少于 2 ppm，并通常少于 1 ppm。

GB-A-2114118 描述了去除丙烯腈和丙烯酰胺中的醛类杂质的方法。该方法陈述通过与弱碱性凝胶型聚苯乙烯-多胺型阴离子交换树脂接触可以去除丙烯腈和丙烯酰胺中的醛类杂质例如丙烯醛，所述树脂具有苯乙烯-二乙烯基苯基质以及第一和/或第二官能团。丙烯酰胺的品质得以提高，这使得能够生产具有令人满意的分子量的聚合物以在水处理和其他应用中用作絮凝剂。

EP-A-0110861 涉及从丙烯腈产物流中去除丙烯醛的方法。通过将回收柱的最大丙烯醛浓度区的 pH 维持在 5.25-7 从回收柱的粗丙烯腈产物流中去除丙烯醛。大部分丙烯醛通过底部流出物 (bottom stream) 离开柱。高纯度的丙烯腈从顶部流出物 (top stream) 中回收。

EP-A-0999207 揭示利用蒸馏纯化技术从化学制造产物流中去除醛类的方法。该方法描述了在化学制造法的过程中通过在蒸馏柱之前添加取代的芳族胺 (2-氨基苯胺、3,4-二甲基苯胺和 4-乙基苯胺) 馏出醛类例如丙烯醛时提高纯化效率。

US 5606094 描述了通过与化学清除剂例如次氯酸钠、羟胺、尿素、硫脲和硫酸氢钠反应从气体或液体混合物中去除丙烯醛的方法。这个方法特别涉及从也包含丙烯腈的气体或液体混合物中去除丙烯醛, 其中丙烯醛为选择性去除的。

此类去除丙烯醛的额外处理步骤既费钱又费时。因此希望提供避免从烯键式不饱和腈例如丙烯腈中个别去除丙烯醛的需要的办法。

发明内容

因此根据本发明我们提供了由相应的烯键式不饱和腈制备烯键式不饱和酰胺或烯键式不饱和羧酸或其盐的方法, 其中在水介质中在生物催化剂的存在下对所述腈实施水合和/或水解反应, 其中所述腈包含多于 2 ppm 的丙烯醛, 并且所述酰胺或羧酸包含少于 2 ppm 的丙烯醛。

发明详述

生物催化剂可以是完整的微生物细胞或破裂的微生物细胞形式的微生物, 它包含能够将烯键式不饱和腈转化为相应的酰胺或羧酸或其盐的一种或多种酶。酶可以是例如腈水合酶、腈水合酶和酰胺酶或腈水解酶。生物催化剂可以作为包含细胞材料的发酵液体培养基; 通过离心回收的细胞或破坏的细胞材料; 利用任何合适的悬浮介质例如水或生理学上相容的缓冲液制备的水性悬浮液来使用。可替代地, 生物催化剂可以是纯化的酶或从微生物中提取的酶混合物。

我们已发现利用生物催化剂将包含丙烯醛的腈转化为相应的酰

胺或羧酸，丙烯醛的浓度显著降低。发现丙烯醛的水平一般降低至低于 2 ppm，通常低于 1 ppm，并且通常在检测水平之下。因此可能无需通过腈制造者额外处理以将丙烯醛的水平降低到少于 2 ppm 即可利用烯键式不饱和腈。

在本发明的一个方面，该方法涉及由相应的腈制造烯键式不饱和酰胺，并且特别是由（甲基）丙烯腈制造（甲基）丙烯酸酰胺。优选地，生物催化剂是能够产生腈水合酶的微生物。

可替代地在本发明的另一种形式中，该方法涉及由相应的腈制造烯键式不饱和羧酸，并且特别是由（甲基）丙烯腈制造（甲基）丙烯酸（或其盐）。优选地，生物催化剂是能够产生腈水合酶和酰胺酶的微生物。

在本发明的进一步的形式中，该方法涉及由相应的腈制造烯键式不饱和羧酸，并且特别是由（甲基）丙烯腈制造（甲基）丙烯酸（或其盐）。优选地，生物催化剂是能够产生腈水解酶的微生物。

生物催化剂可以是例如选自芽孢杆菌属、*Bacteridium*、微球菌属、短杆菌属、棒杆菌属、假单胞菌属、不动杆菌属、黄色杆菌属、链霉菌属、根瘤菌属、克雷伯氏菌属、肠杆菌属、欧文氏菌属、气单胞菌属、柠檬酸杆菌属、无色杆菌属、土壤杆菌属、假诺卡氏菌属、迪茨氏菌属（*Dietzia*）以及红球菌属的微生物。生物催化剂特别是红球菌属的微生物，并且可以是紫红红球菌物种。一种合适的微生物菌株是如 EP-A-0307926 中所描述的紫红红球菌 J1。特别合适的生物催化剂是紫红红球菌株 2368（NCIMB 41164），它在我们未决的国际申请 PCT/EP04/013252（它已被分配了案件参考号 BT/3-22351）中得到描述和请求保护。生物催化剂可以是紫红红球菌株 2368 的突变体或从紫红红球菌株 2368 或其突变体获得的腈水合酶。适合于制备烯键式不饱和酰胺或酸及其盐的进一步的微生物是 *Dietzia natronolimnaios* NCIMB 41165，或者进一步的实例是赤红球菌 NCIMB 40833 以及进一步的赤红球菌 NCIMB 40757。

生物催化剂可以包括完整细胞或破裂细胞形式的细胞材料，并且任选包括发酵液体培养基。细胞材料可以包括微生物细胞组成成分中的任何一种，例如包括细胞壁材料、细胞核酸材料（例如 DNA 或 RNA）、细胞质或蛋白质。

在执行该方法的一种优选方式中，将包括微生物的生物催化剂引入到适合于进行微生物培养的水性介质中。一般可以形成生物催化剂例如微生物的完整细胞的悬浮液。腈例如丙烯腈或甲基丙烯腈被以这种方式进料给包含生物催化剂的水性介质，从而使得水性介质中的（甲基）丙烯腈浓度维持在最高达6重量%。腈例如丙烯腈或甲基丙烯腈更优选进料给反应介质并且允许反应持续直至烯键式不饱和单体达到所需水平，特别是30-55重量%，所述烯键式不饱和单体为酰胺例如丙烯酰胺或甲基丙烯酰胺，或羧酸例如丙烯酸（或盐）或甲基丙烯酸（或盐）。最优选地浓度为大约35-50重量%。

在本发明方法中使用的腈将包含多于2 ppm的丙烯醛（基于腈总重量按重量计算）并通常显著高于这个值，例如20 ppm并且多达50或100 ppm或更高。

在另一方面，本发明还包括为了减少烯键式不饱和单体中的丙烯醛而使用生物催化剂。我们已发现生物催化剂可以用于降低烯键式不饱和单体中的丙烯醛水平，所述烯键式不饱和单体选自（甲基）丙烯酰胺、（甲基）丙烯酸（或盐）以及（甲基）丙烯腈。在本发明的这个方面，生物催化剂可以包括上述优选特征中的任何一种。

本发明的一个特别的优点是可以方便地制备从（甲基）丙烯腈获得的单体而无需去除丙烯醛。因此，丙烯酰胺和丙烯酸单体的生产方法可以得到简化。此外，现在可能直接从包含高水平丙烯醛（大于2 ppm，例如至少5 ppm，并且甚至至少10 ppm）的低纯度丙烯腈生产这些单体。通过这种方法生产的单体是高品质的，并且包含少于2 ppm的丙烯醛，并且通常为无法检测的水平或没有丙烯醛。因此，由单体或包含（甲基）丙烯酰胺和（甲基）丙烯酸（或盐）的单体掺合物可以方便地制备无有害的丙烯醛作用的聚合物，所述单体或单体掺合物直接从包含高水平丙烯醛的丙烯腈获得。

在本发明的一个进一步的方面，我们提供了烯键式不饱和单体或包含烯键式不饱和单体的掺合物的聚合物的制备方法，所述单体由烯键式不饱和腈形成，所述方法包括下述步骤，

(i) 使烯键式不饱和腈与生物催化剂接触以形成烯键式不饱和单体，

(ii) 将烯键式不饱和单体与其他单体任选地混合以形成掺合

物，以及

(iii) 对烯键式不饱和单体或掺合物实施聚合条件，从而形成聚合物，

其中烯键式不饱和腈包含多于 2 ppm 的丙烯醛，并且烯键式不饱和酰胺或羧酸单体包含少于 2 ppm 的丙烯醛。

优选地，烯键式不饱和单体选自(甲基)丙烯酰胺和(甲基)丙烯酸(或盐)。

在本发明的这个方面，生物催化剂可以包括上述优选特征中的的任何一个。一般地腈中存在的丙烯醛的量如上所述。

烯键式不饱和单体可以在本方法中单独使用以形成均聚物，或者它可以与其他可聚合的化合物包括烯键式不饱和单体混合以形成单体混合物，所述单体混合物聚合以形成烯键式不饱和单体的共聚物。任何合适的共聚单体都可以用于这个目的，优选在烯键式不饱和单体是水溶性的时。希望共聚单体应是水溶性的或可能是水溶性的，例如酞。一般地，共聚单体包括(甲基)丙烯酰胺、(甲基)丙烯酸(或盐)、亚甲基丁二酸(或盐)、马来酸(或盐)、马来酞、乙烯基磺酸(或盐)、烯丙基磺酸(或盐)、2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸(或盐)、(甲基)丙烯酸二甲氨基乙酯(或季铵盐)、二甲氨基丙基(甲基)丙烯酰胺(或季铵盐)、N-乙烯基吡咯烷酮、N-乙烯基甲酰胺、乙酸乙烯酯、丙烯腈、C₁₋₃₀醇的(甲基)丙烯酸酯。上述酸单体的盐可以是任何适合的阳离子，但优选碱性金属或铵盐。

本发明方法特别适合于制备高分子量的水溶性或水溶胀性聚合物。聚合物可以是例如线性的、分支的或交联的。优选地，聚合物是高分子量基本溶于水的，它显示至少 3 dl/g 的特性粘度(IV)(在 1M 氯化钠中于 25℃ 时利用悬浮的水平粘度计进行测量)。聚合物通常将具有至少 4 dl/g 的特性粘度，并且一般明显更高，例如至少 7 或 8 dl/g。在许多情况下，聚合物将具有至少 10 或 12 dl/g 的 IV 并且可以高达 20 或 30 dl/g。

根据本发明方法制备的水溶性或水溶胀性聚合物可以是阳离子的、阴离子的、非离子的或两性的。它可以是基本为线性的或可替代地是分支的或交联的。通过将支化剂或交联剂掺合到单体混合物中来制备交联或分支聚合物。交联剂或支化剂可以是例如双或多功能材

料，它与聚合物链上的侧基官能团反应，例如能够与侧基羧基基团反应的多价金属离子或胺化合物。然而，优选的交联剂或支化剂将是聚烯键式不饱和化合物，它聚合成为两条或更多条聚合物链。一般地此类交联剂包括亚甲双丙烯酰胺、四烯丙基氯化铵、三烯丙基胺和二丙烯酸乙二醇酯。聚合物可以是高度交联的，并因此是水不溶性而是水溶胀性的。可替代地，聚合物可以是水溶性的并且基本为线性或轻微分支的，例如利用少于 10 ppm 的交联/分支单体进行制备。在交联聚合物、分支的水溶性聚合物或线性水溶性聚合物制备中，重要的是单体是不含丙烯醛的，因为这可以导致不可预知的交联或分支水平，它将对聚合物的特性具有有害的影响。

通过本发明方法制成的特别优选的聚合物包括丙烯酰胺或甲基丙烯酰胺的均聚物或共聚物。希望共聚物包括上述共聚单体中的任何一种，但优选地它是丙烯酰胺与丙烯酸钠的共聚物或丙烯酰胺与（甲基）丙烯酸二甲氨基乙酯的季铵盐和酸盐的共聚物。特别优选的丙烯酰胺均聚物或共聚物具有高分子量并且显示如上所述的高特性粘度。

一般通过对烯键式不饱和单体或包含烯键式不饱和单体的单体混合物实施聚合条件来形成聚合物。这可以通过加热或照射来完成，例如利用紫外线。将优选的聚合引发剂引入单体或单体混合物中以引发聚合。希望这可以通过使用氧化还原引发剂和/或热引发剂来完成。一般地氧化还原引发剂包括还原剂，例如亚硫酸钠、二氧化硫，以及氧化化合物例如过硫酸铵，或适合的过氧化物，例如叔丁基氢过氧化物等。氧化还原引发可以采用最高达 10,000 ppm（基于单体的重量）的氧化还原偶的每种组分。尽管氧化还原偶的每种组分通常优选少于 1000 ppm，但一般为 1-100 ppm，通常为 4-50 ppm。还原剂与氧化剂的比率可以是 10:1-1:10，优选 5:1-1:5，更优选 2:1-1:2，例如大约 1:1。

通过使用单独的或与其他引发剂系统例如氧化还原引发剂组合的热引发剂也可以完成聚合。热引发剂将包括在升高的温度释放自由基的任何适合的引发剂化合物，例如偶氮化合物，例如偶氮二异丁腈（AZDN）、4,4'-偶氮二-（4-氰基戊酸）（ACVA）。基于单体的重量，热引发剂一般以最高达 10,000 ppm 的量使用。然而，在大多数

情况下,热引发剂的使用范围为 100-5,000 ppm,优选 200-2,000 ppm,通常为大约 1,000 ppm。

一般地水溶性单体的水溶液可以通过如下方式聚合,通过溶液或整体聚合,以提供水溶液或凝胶,或通过反相聚合,其中单体的水溶液悬浮在水不混溶液体中并聚合形成聚合珠,或可替代地通过将水性单体乳化为有机液体并随后完成聚合。EP-A-150933、EP-A-102760 或 EP-A-126528 中给出了反相聚合的实例。

下列实施例意欲举例说明本发明而不以任何方式进行限制。

实施例 1

丙烯酰胺的制备

将紫红红球菌株 2368 (0.11 克干细胞) 并包含腈水解酶加到水 (625g) 中。将反应混合物搅动加热至最高 25℃。

以将丙烯腈浓度维持在最多为 3% 的速度将包含 50 ppm 丙烯醛的丙烯腈进料给反应器。300 分钟后丙烯腈完全转化为终浓度接近 50%w/w 的丙烯酰胺。对丙烯酰胺的分析显示它不含丙烯醛至检出限之下。

对低水平 (低于 5 ppm) 的丙烯醛有用的分析方法是 GC-MS, 并且对高于这个水平的丙烯醛可以使用 GC-FID。

实施例 2

利用包含 500 ppm 水平的丙烯醛的丙烯腈溶液研究丙烯醛的减少。因此:

将紫红红球菌 2368 (0.01 克干细胞) 加到 25ml 瓶中的丙烯腈 (1 克) 和水 (19.0 克) 和丙烯醛的混合物中。将瓶在 15℃ 持续搅动温育。定时取出样品并在通过 GC-FID 分析丙烯醛含量之前进行离心。10 分钟后混合物中的丙烯醛水平从 500 ppm 减少至检出限之下。

实施例 3

利用包含 500 ppm 水平的丙烯醛的丙烯腈溶液研究丙烯醛的减少。将紫红红球菌 J1 (0.01 克干细胞) 加到 25ml 瓶中的丙烯腈 (1 克) 和水 (19.0 克) 和丙烯醛的混合物中。瓶在 15℃ 持续搅动温育。定时取出样品并在通过 GC-FID 分析丙烯醛含量之前进行离心。10 分钟后混合物中的丙烯醛水平从 500 ppm 减少至检出限之下。

实施例 4

利用包含低于 2 ppm 水平的丙烯醛的丙烯腈重复实施例 1。对丙烯酰胺的分析显示它不含丙烯醛。

通过与实施例 1 比较,我们发现当使用有或没有丙烯醛存在的丙烯腈时,丙烯腈转化为丙烯酰胺的反应速度大致相同。

利用来自实施例 1 由包含 50 ppm 丙烯醛的丙烯腈制成的丙烯酰胺制备的高分子量聚合物具有与利用由包含 <2 ppm 丙烯醛的丙烯腈制备的丙烯酰胺的高分子量聚合物相似的品质。通过改变丙烯腈中的丙烯醛水平显示聚合物作为絮凝剂在废水处理应用中的表现没有差别。所制造的聚合物的溶解性和分子量也适合用于造纸应用中。